

# 微电泳荷包牡丹碱对联合皮层抑制C类纤维传入诱发皮层单位放电的影响

冯鉴强 陈培熹

(生理学教研室)

**提 要** 电刺激大脑皮层前外侧回联合(ALA)对隐神经C类纤维传入诱发的体感皮层单位放电(C-CED)有明显的抑制作用,能使C-CED的积分值显著减小,提示大脑皮层联合区可能对C-CED有调制作用;在体感皮层内微电泳 $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)能使C-CED明显减小,积分值衰减,呈剂量效应依赖关系,表明GABA能直接抑制体感皮层内对C类纤维传入反应的神经元,提示这些神经元可能有GABA受体存在;微电泳GABA受体阻断剂荷包牡丹碱(BCL)能使ALA对C-CED的抑制作用显著地减弱,进一步提示电刺激ALA可能引起脑内释放GABA,直接作用体感皮层内对C类纤维传入发生反应的神经元,对C-CED产生抑制作用。

**关键词** 大脑皮层联合区 C类纤维 荷包牡丹碱 单位放电

前文曾报道,隐神经C类纤维传入可以抵达大脑皮层体感I区(SI),引起特异的潜伏期较长的C类纤维皮层诱发电位(C-CEP)<sup>[1]</sup>和皮层诱发放电(C-CED)<sup>[2]</sup>;电刺激大脑皮层前外侧回联合区(ALA)对C-CEP有明显的抑制作用,侧脑室注射GABA受体阻断剂BCL能部分地减弱电刺激ALA对C-CEP的抑制作用<sup>[3]</sup>,提示大脑皮层联合区可能参与对C-CEP的调制过程,ALA对C-CEP的抑制作用可能部分地与内源性GABA的释放有关。本研究以C-CED为指标,观察电刺激ALA对C-CED的影响,并在体感皮层内微电泳GABA和BCL,分别观察对C-CED和ALA抑制C-CED作用的影响,以进一步探讨GABA在联合皮层抑制C类纤维传入诱发体感皮层电反应效应中的作用。

## 材 料 和 方 法

实验用猫20只,体重1.8~2.8公斤。静脉注射1%氯醛糖(80mg/kg)麻醉。在1%普鲁卡因局麻下切开气管并插管。于头顶正中线处切开头皮,开颅,暴露右侧大脑皮层SI区和ALA。分离左侧隐神经,结扎并剪断外周端;在近中段依次放置铂丝刺激电极、银-氯

化银阻滞电极和记录电极,以分别作刺激神经,阻滞神经的A类纤维传导和记录隐神经复合动作电位之用。

实验时,静脉注射4%三碘季铵酚使动物麻醉,同时给予人工呼吸。肛温维持在37~39℃。

刺激隐神经用单个或串方波电脉冲,波宽0.1~0.3ms,强度20~25V,每秒1次。刺激ALA用藏于金属套管内的两极电极,刺激电脉冲由电子刺激器产生,并经恒流恒压的隔离器输出。刺激参数:波宽0.2ms,强度0.1mA,每秒100次,持续刺激1分钟。

用改良的Mendell和Wall<sup>[4]</sup>极化电流阻滞技术阻滞隐神经A类纤维的传入,阻断电流50~350 $\mu$ A。

用五管或七管的玻璃微电极,中心管充以3M氯化钠(NaCl)溶液,引导SI区的单位放电。各周围管分别充以0.5M GABA(pH 4.5)、0.05M BCL(pH 4.0)和0.165M NaCl(pH 7,作对照管)。微电泳药物时,电流强度为5~40nA,持续时间为0.5~2分钟。不给药时,各管分别通以5~10nA的反向滞留电流。微电极引导的细胞外单位放电,经微电极放大器(MEZ-8201,日本光电产

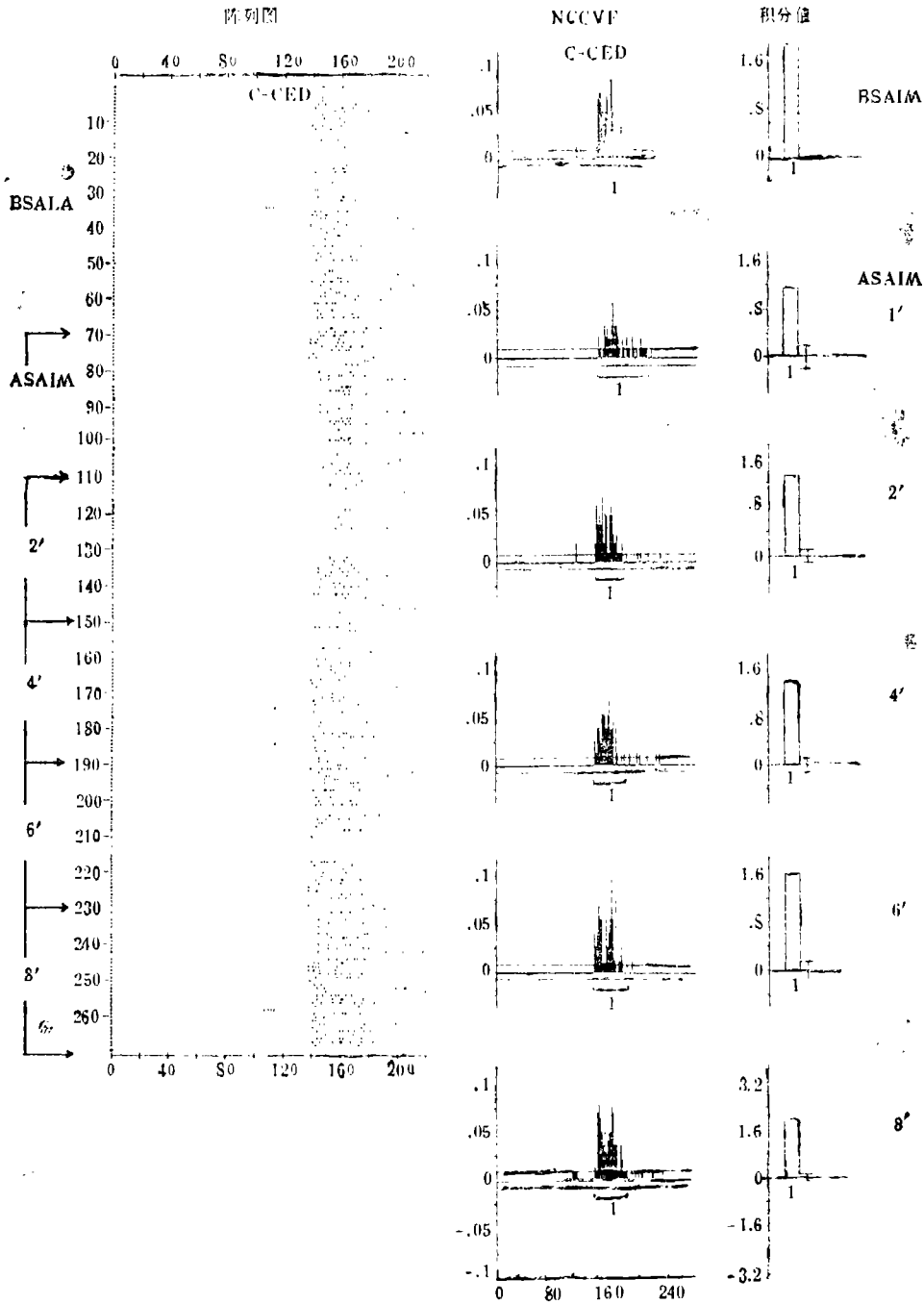


图 1 电刺激ALA对C-CED的影响

左图是细胞放电的阵列图，显示电刺激 ALA 后C-CED的变化。横座标代表每次刺激后时间 (ms)，纵座标表示同步信号的序列(同步信号的发生与刺激隐神经的电脉冲同时出现,即也代表刺激隐神经的电脉冲序列)。中图是刺激 ALA 前后C-CED的 NCCVF, 横座标为刺激后时间 (ms)。右图的直方柱是中图相对应的NCCVF 中 C-CED 的峰面积的积分值, 右侧竖线为 SD, BSALA 为刺激 ALA 前, ASALA 为刺激 ALA 后

品) 放大处理后输入 SBR-1 型双线示波器显示, 并监听, 同时送入 Apple II 微机应用数

学随机点过程理论<sup>[6]</sup>对单位放电进行多种定量分析(标准化互协方差函数, NCCVF 和积分

值),实验结果用打印机打印并存入磁盘;单位放电亦同时被储存在四道磁带录音机(RM 6-5304,日本光电产品),以作进一步分析。

监视和记录隐神经复合动作电位。

### 结 果

#### 电刺激 ALA 对 C-CED 的影响

以方波电脉冲刺激 ALA 后 1 分钟, C-CED 的放电个数和积分值明显减小, 2~6 分钟后, C-CED 逐渐恢复, 8 分钟后恢复至对照水平(图1)。图2是20个细胞的统计结果。停刺激 ALA 后 1、2、4 和 6 分钟, C-CED 的积分值分别减小  $38.8 \pm 4.8\%$  ( $\bar{x} \pm s$ , 后同)、 $30.8 \pm 5.6\%$ 、 $26.7 \pm 5.2\%$  和  $21.7 \pm 6.2\%$ ,  $P$  值均小于 0.01; 刺激后 8 分钟, C-CED 的积分值减小  $9.8 \pm 5.2\%$  ( $P > 0.05$ )。结果表明, 电刺激 ALA 对 C-CED 有明显的抑制作用。

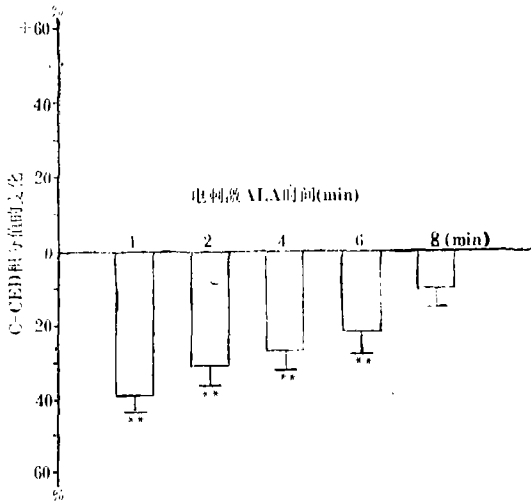


图 2 电刺激 ALA 对 C-CED 影响的统计结果  
\*\*,  $P < 0.01$ , 后同

#### 微电泳 GABA 对 C-CED 的影响

在 11 个细胞观察到, 微电泳 GABA (30 nA) 时, C-CED 明显减少, 停止微电泳 GABA 后 C-CED 恢复至电泳前的水平(图3 右图), 表明微电泳 GABA 对 C-CED 有抑制作用。图 3 左图示微电泳 5 种不同剂量 (5 nA、10 nA、15 nA、30 nA 和 40 nA) 的 GABA 对 C-

CED 的积分值的影响。结果表明, 随着 GABA 剂量增大, 对 C-CED 的抑制作用也增大, 呈剂量反应关系。

在对照组, 从对照管(内充以 0.165 NaCl 溶液) 通以正极电流 30 nA 时, C-CED 的积分值衰减  $4.2 \pm 5.1\%$  ( $P > 0.05$ ,  $n = 8$ ), 与微电泳前 C-CED 的积分值比较, 无统计学差异。

#### 微电泳 BCL 对 ALA 抑制 C-CED 作用的影响

在 11 个细胞观察了微电泳 BCL 对 ALA 抑制 C-CED 作用的影响。实验步骤为: ①微电泳 BCL (30 nA) 1~3 分钟, 观察 BCL 对 C-CED 的影响; ②在微电泳 BCL (30 nA) 的同时, 观察 ALA 对 C-CED 抑制作用的影响; ③在微电泳 NaCl (30 nA) 的同时, 观察电刺激 ALA 对 C-CED 抑制作用的改变(对照组)。

实验结果显示微电泳 BCL (30 nA) 对 C-CED 无明显影响; 但微电泳 BCL (30 nA) 后, 电刺激 ALA 对 C-CED 的抑制作用明显减弱。停止刺激 ALA 后 1、2、4、6 和 8 分钟, C-CED 的积分值分别衰减  $13.9 \pm 5.6\%$  ( $P < 0.05$ )、 $19.2 \pm 10.2\%$  ( $P > 0.05$ )、 $11.9 \pm 6.7\%$  ( $P > 0.05$ )、 $8.8 \pm 6.0\%$  ( $P > 0.05$ ) 和  $4.3 \pm 7.9\%$  ( $P > 0.05$ )。与无微电泳 BCL 组(图 1) 比较, 刺激 ALA 后 1~2 分钟, 对 C-CED 的抑制作用明显减弱, 两者差异非常显著 ( $P < 0.01$ ), 表明体感皮层内微电泳 BCL 能部分地减弱电刺激 ALA 对 C-CED 的抑制作用。

在对照组, 在微电泳 NaCl (30 nA) 的同时, 停止刺激 ALA 后 1、2、4、6 和 8 分钟, C-CED 的积分值分别衰减  $35.5 \pm 11.5\%$ 、 $31.1 \pm 11.8\%$ 、 $29.6 \pm 8.6\%$ 、 $19.9 \pm 6.2\%$  ( $P$  值均小于 0.05) 和  $2.9 \pm 5.8\%$  ( $P > 0.05$ ), 与无微电泳组(图 2) 电刺激 ALA 后 1、2、4 和 6 分钟对 C-CED 的抑制作用分别比较, 无统计学差异。

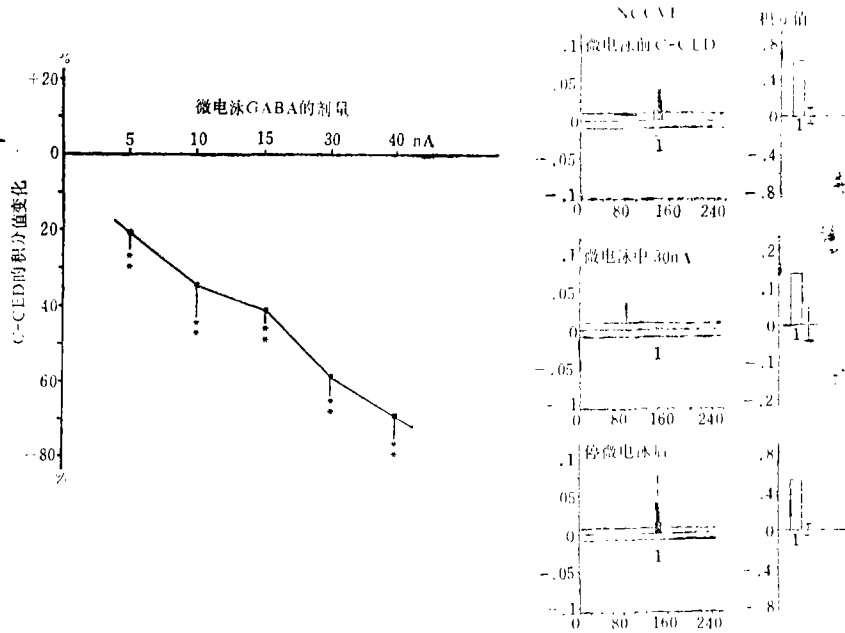


图3 微电泳 GABA 对 C-CED 的影响

右图示微电泳 GABA (30nA) 时, C-CED 的NCCVF和积分值变化, 左图示微电泳5种不同剂量的 GABA 对 C-CED 的积分值影响的统计结果 (n = 11)

### 讨 论

我们曾报道, 电刺激 ALA 对 C-CEP 有明显的抑制作用<sup>[3]</sup>, 本文又观察到, 电刺激 ALA能使 SI 区的 C-CED显著减少, 进一步表明 ALA 可能参与调制体感皮层对 C类纤维传入诱发的电反应。

GABA 是中枢神经系统中主要的抑制性递质之一。Krnjevic 等<sup>[6]</sup>使用微电泳技术观察到 GABA 对大脑皮层神经元的自发放电和谷氨酸诱发放电均有明显的抑制作用。后来, 他们进一步发现微电泳 GABA 可引起神经元膜电位出现超极化, 同时伴有膜对 Cl<sup>-</sup>电导的增加, 这一现象与刺激皮层引起的抑制性突触后电位非常相似<sup>[7]</sup>。因此, Krnjevic 等人认为 GABA对皮层神经元有明显的抑制效应, 提示它可能是大脑皮层内重要的抑制性递质。Keller 等<sup>[8]</sup>用免疫细胞化学方法观察到老鼠皮层 SI 区有 GABA 能神经元, 并指出 GABA 能神经元代表了发生在皮层内的各种抑制过程

的解剖物质。进一步的研究还观察到, GABA 参与视觉皮层对外周传入信息的感受和处理过程。Sillito 等看到, GABA 受体拮抗剂BCL能减弱或阻断视觉刺激对视皮层神经元的抑制作用, 也能使许多视皮层神经元增大对光刺激的感受野范围。以上结果表明, GABA 与大脑皮层的功能活动有密切的关系, 可能是重要的抑制性递质, 并参与视觉皮层对外周传入信息的分析和整合作用。

我们的前文曾指出, 侧脑室注射GAGA能使 C-CEP 的幅值明显变小, 潜伏期延长<sup>[3]</sup>, 表明 GABA 对 C-CEP 有抑制作用。本文在体感皮层 SI 区微电泳 GABA 时能使C-CED 的放电数明显减少, 并呈剂量反应关系, 进一步表明 GABA 对 C-CEP 和 C-CED 均有抑制作用, 是直接作用于对 C类纤维传入产生反应的体感皮层神经元的, 也表明这些神经元存在 GABA 受体。并提示大脑皮层的 GABA 能神经元可能参与体感皮层对 C类纤维传入信息的分析和处理过程。

前文曾报道,侧脑室注射 BCL 能部分地减弱 ALA 对 C-CEP 的抑制作用<sup>[3]</sup>,提示电刺激 ALA 对 C-CEP 的抑制作用可能与内源性 GABA 的释放有关。本文在 SI 区内微电泳 BCL 后,电刺激 ALA 对 C-CED 的抑制作用亦部分地明显减弱,进一步表明电刺激 ALA 后,可能通过 GABA 能神经元释放 GABA,直接作用于对 C 类纤维传入产生反应的体感皮层神经元上的 GABA 受体,对 C-CED 产生抑制作用。Mitchell 等<sup>[9]</sup>用阳极电刺激大脑皮层引起皮层抑制时,发现脑脊液中 GABA 的释放量增加约 90%。Srinivasan 等<sup>[10]</sup>也观察到,电刺激离体培养的鼠皮层脑片时,培养液中 GABA 的释放量增加了 2 倍。这些实验结果支持了本文有关刺激大脑皮层联合区可能通过 GABA 能神经元释放 GABA 而抑制 C-CED 的设想。

综上所述,ALA 对 C-CED 可能有调制作用,GABA 能明显地抑制 C-CED,可能参与体感皮层对 C 类纤维传入信息的分析处理过程,并参与 ALA 对 C-CED 的抑制效应。

#### 参 考 文 献

1. 陈培熹,等.刺激隐神经 C 类纤维诱发体感皮层电反应(平均诱发电位).生理学报 1986, 38(1):1
2. Chen Peixi. Responses of cerebral somatosensory neurons to stimulation of A

- and C-fibers. Neuroscience Letters Suppl 1983;12:532
3. 冯鉴强,陈培熹.γ-氨基丁酸在联合皮层抑制体感皮层慢痛反应中的作用.广东生理学通报 1989;6(1,2):8
4. Mendell LM and Wall PD. Presynaptic hyperpolarization: A role for fine afferent fibers. J Physiol 1964;172:274
5. 邵学思,陈培熹.神经元放电活动的统计信号分析 I. 神经元放电反应的定量分析.生物物理学报 1988;4(4):322
6. Krnjević K, et al. Ionophoretic studies of neurons in the mammalian cerebral cortex. J Physiol 1963;165:274
7. Krnjević K, et al. Is γ-aminobutyric acid an inhibitory transmitter? Nature 1966;211:1372
8. Keller A, et al. Synaptic organization of GABAergic neurons in the mouse Sm I cortex. J Comp Neurol 1987;262:1
9. Mitchell JF, et al. Release of <sup>3</sup>H-γ-aminobutyric acid from the brain during synaptic inhibition. Nature 1969;224:663
10. Srinivasan V, et al. The effect of electrical stimulation and high potassium concentrations on the efflux of [<sup>3</sup>H] γ-aminobutyric acid from brain slices. J Neurochem 1969;16:1235

# INFLUENCE OF MICROIONTOPHORESIS OF BICUCULLINE ON THE INHIBITION OF ASSOCIATION CORTEX UPON CORTICAL UNIT DISCHARGES EVOKED BY C-FIBERS INPUTS

Feng Jianqiang    Chen Peixi

(Department of Physiology)

Experiments were performed on cats, anaesthetized with chloralose and immobilized by flaxidil. The results showed that electrical stimulation of cerebral anterior lateral association area(ALA) had an obvious inhibitory effect on the cortical unit discharges which were evoked by C-fibers inputs of saphenous nerve (C-CED) and recorded in the primary somatosensory cortex(S I), the integration of C-CED being reduction. It was suggested that cerebral association area might play a role in the modulation of C-CED. During microiontophoresis of  $\gamma$ -aminobutyric acid(GABA) in S I, C-CED was decreased considerably and its integration reduced, this inhibition was in a dose dependent fashion, indicating that GABA could depress directly the neurons of somatosensory cortex responding to C-fibers inputs and that there were GABA receptors on these neurons. Microiontophoresis of bicuculline(BCL), an antagonist of GABA receptors, could block the inhibitory effect of ALA stimulation on C-CED remarkably, showing further that electrical stimulation of ALA could cause brain to release GABA which acted directly on the neurons of somatosensory cortex responding to C-fibers inputs.

**Key words**    Cerebral association area    C-fiber    Bicuculline    Unit discharges