

· 实验研究 ·

C类神经纤维传入对小脑浦肯野细胞放电间隔的影响:简单锋电位间隔变化

吴 杰 陈培熹

(生理学教研室)

提 要 用数学随机点过程理论和信号分析方法建立起来的统计分析方法分析 31 个小脑浦肯野细胞(PC)放电简单锋电位(SS)的时间间隔特征,并观察刺激C类和A类纤维对其影响。按标准化间隔直方图的短间隔分布峰值(pdf)可将 PC-SS 分为低峰组($n=14$)和高峰组($n=17$),刺激C类纤维后,前者 pdf 值变化不显著,峰斜率(λ 值)明显减小;后者 pdf 值明显减小, λ 值变化不显著。刺激A类纤维后,低峰组 pdf 值增加, λ 值减小,高峰组无显著性变化。表明C类和A类纤维传入均可影响 PC-SS 短间隔分布,但作用不同。联合间隔分布图显示 PC-SS 较集中于短-短部分,连续短间隔数目较多。刺激C类纤维后联合间隔分布图趋于弥散,连续短间隔数目减小;而刺激A类纤维后无明显影响。表明C类纤维传入可影响 PC-SS 放电前后间隔的关系,而A类纤维传入无此影响。刺激C类纤维后 PC-SS 放电间隔均值增大,长间隔均值亦增大,但短间隔均值变化不显著,提示C类纤维传入主要通过长间隔引起间隔均值增大;刺激A类纤维后影响不明显。

关键词 小脑;浦肯野细胞;放电间隔;C类纤维;A类纤维

中图分类号 R338.8

神经元单位放电之间的时间关系包含了神经系统大量的信息,分析神经元放电间隔的变化将有助于了解中枢神经系统活动规律。C类纤维在外周神经中含量最多,向中枢输入大量信息。探讨C类纤维传入如何诱发中枢电反应对揭示C类纤维的生理功能及中枢活动机制具有重要意义。我们曾报道^[1~3],C类神经纤维传入可以到达小脑皮层,引起特异的诱发电位和浦肯野细胞(Purkinje cells, PC)放电反应。小脑PC放电包含有简单锋电位(simple spike, SS)和复杂锋电位(complex spike, CS),代表小脑内两个传入系统的活动^[4]。本文观察C类纤维传入时 PC-SS放电间隔的变化,并与A类纤维传入加以比较,对阐明小脑神经网络如何处理C类纤维传入信息具有重要意义。

材 料 与 方 法

动物与处理 实验用猫,体重1.5~3.2kg。静脉注射1%氯醛糖(60mg/kg)麻醉。详细实验方法见前报道^[1,3]。用玻璃微电极记录小脑PC的单位放电。PC放电特征为在频率较高

(约10次/秒)的SS活动背景下出现频率较低(约1次/秒)的CS,后者表现为一个大的去极化波后跟随数个小去极化波^[3,5,6]用磁带记录仪记录PC放电,根据窗口鉴别器的不同削波水平和方向将SS与CS分离,分别输入微机进行放电间隔分布(标准化间隔直方图)^[7]、联合间隔、连续短间隔及放电间隔均值等定量分析,检查刺激C类纤维对放电间隔的影响,并与刺激A类纤维进行比较。

统计学方法 文中对放电间隔分布、联合间隔、连续短间隔的变化用配对 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有显著性;间隔均值变化用分组 t 检验来判断每一个放电单位的变化,组间变化用方差分析,均以 $P<0.05$ 为差异有显著性。

结 果

刺激C类和A类纤维对PC-SS间隔分布的影响 以标准化间隔直方图(normalized interspike interval histogram, NISIH)表示放电间隔的分布,显示各种放电间隔出现的概率密度函数(pdf)。分析了31个PC-SS自发放电,所有

NISIH在短间隔部分均出现较大的分布峰,最大峰值(pdf值)平均为 0.033 ± 0.015 ,分布参数(斜率 λ 值)为 25.47 ± 17.40 ;在长间隔部分pdf值较小,分布范围较大(图1A'),其中有12例在长间隔部分有小的分布峰(图1A)。根据短间隔分布峰值的大小又可分为低峰组($n=14$)和高峰组($n=17$),前者最大峰值为 0.021 ± 0.008 , λ 值为 35.76 ± 19.50 ;后者的最大峰值为 0.042 ± 0.012 , λ 值为 16.9 ± 9.4 ,二组间最大峰值、 λ 值的差异均有显著性($P < 0.05$)。

刺激C类纤维后,低峰组最大峰值从刺激前的 0.021 ± 0.008 增至 0.028 ± 0.015 ,但差异不显著($P > 0.05$,图1C), λ 值从 35.76 ± 19.50 减至 20.01 ± 8.80 ($P < 0.02$,图1C);

高峰组最大峰值从 0.042 ± 0.012 减至 0.034 ± 0.016 ($P < 0.02$,图1C'), λ 值从 16.90 ± 9.40 增至 19.70 ± 12.60 ($P > 0.05$,图1C')。表明C类纤维传入可影响PC-SS短间隔的分布,主要使低峰组的 λ 值减小和高峰组的最大峰值减小。

刺激A类纤维后,低峰组最大峰值从刺激前的 0.021 ± 0.008 增至 0.037 ± 0.018 ($P < 0.02$)、 λ 值从 35.76 ± 19.50 减至 20.65 ± 13.10 ($P < 0.05$,图1B);高峰组最大峰值从 0.042 ± 0.012 增至 0.043 ± 0.012 ($P > 0.05$)、 λ 值从 16.90 ± 9.40 减至 16.50 ± 13.20 ($P > 0.05$,图1B')。表明A类纤维传入主要影响PC-SS低峰组的短间隔分布,而不影响高峰组。这与C类纤维传入的影响不尽相同。

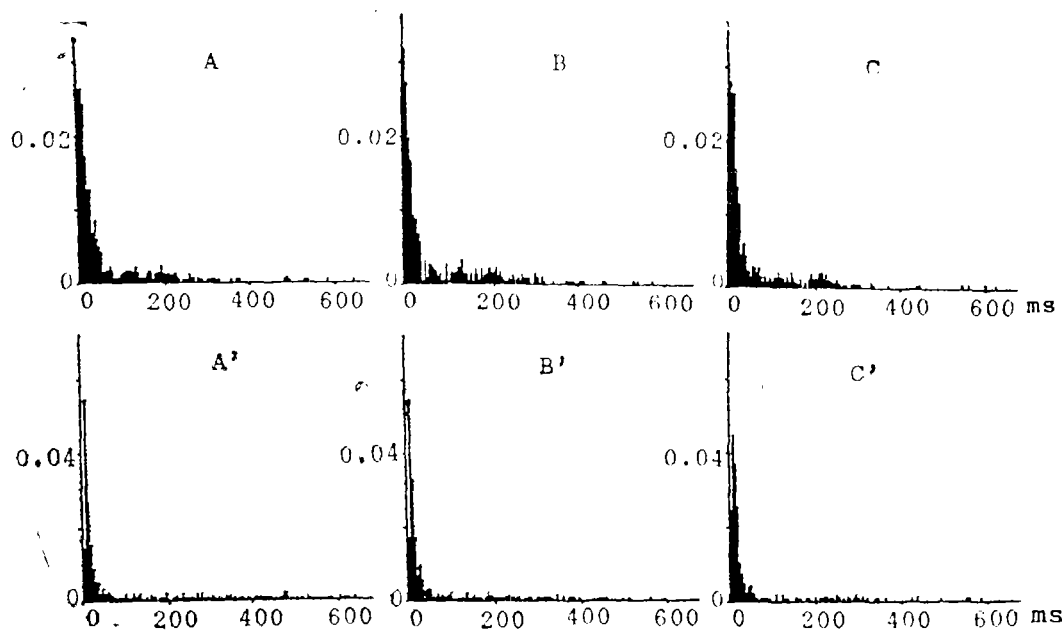


图1 刺激C和A纤维对PC-SS pdf和 λ 的影响

A,A': 自发放电, B,B': 刺激A类纤维后, C,C': 刺激C类纤维后。A-C: pdf 低峰型的 NISIH, A'-C': pdf 高峰型的 NISIH。NISIH中横座标为间隔(ms),纵座标为间隔分布的pdf值(反映某种间隔出现的机率)。横座标单位为ms

刺激C类和A类纤维对PC-SS放电联合间隔的影响 联合间隔直方图(joint inter-spike interval histogram, JISIH)反映各种前后放电间隔的分布情况。31个PC-SS的JISIH分布比较集中在短-短间隔,很少分布在长-长间隔,少部分在短-长和长-短间隔(图2A)。刺激

C类纤维后 JISIH 的短-短间隔分布明显减少,长-长间隔分布增多,分布明显趋于弥散(图2B);而刺激A类纤维后 JISIH 的分布无明显变化(图2C)。经统计学处理,31个PC-SS在刺激C类纤维后联合短间隔的数目减少,从刺激前的 $50.2 \pm 4.4\%$ 减至 $34.8 \pm 3.6\%$ ($P <$

0.01); 而联合长间隔的数目增多, 从 $13.2 \pm 2.4\%$ 增至 $21.8 \pm 2.8\%$ ($P < 0.05$), 但刺激

A类纤维后 PC-SS联合短间隔和联合长间隔数目无显著性变化(图2D)。

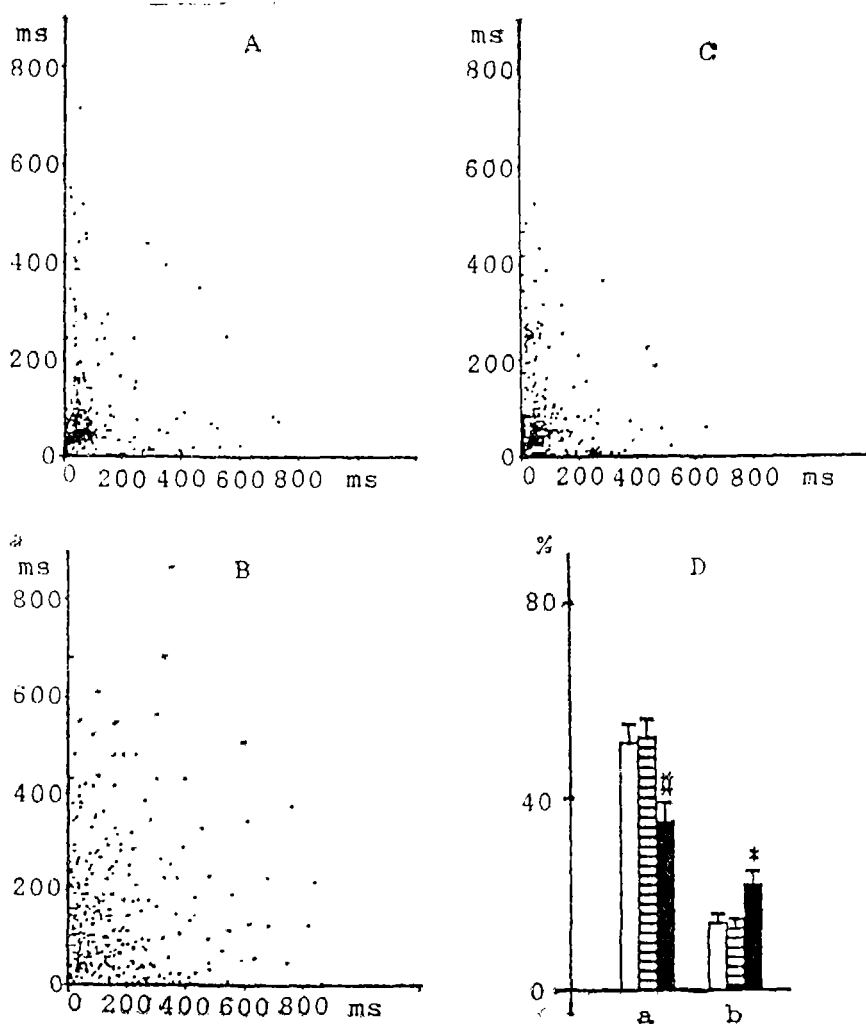


图2 刺激C类和A类纤维对PC-SS JISI影响

A, B, C为 PC-SS的JISI, 横座标为前间隔, 纵座标为后间隔。A: 自发放电, B: 刺激C类纤维后, C: 刺激A类纤维后, D: 31例PC-SS联合间隔数目统计图。横座标a为联合短间隔, b为联合长间隔, 纵座标为联合间隔数占总间隔数的百分数。空柱为自发放电、横条柱为刺激A类纤维、黑柱为刺激C类纤维。柱上竖线为标准差(s), *, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$

刺激C类和A类纤维对PC-SS连续短间隔的影响 从连续短间隔(continu short inter-spike interval, CSISI)直方图中观察到, PC-SS可出现1~9个CSISI, 通常随着CSISI数目的增多, 其出现的百分比逐渐减小(图3A)。刺激C类纤维后, PC-SS 1~2个CSISI出现的百分比明显增大, 而6个以上的CSISI明显减小或

消失(图3B)。但刺激A类纤维后 PC-SS连续短间隔数目无明显变化(图3C)。经统计学检验, 31个 PC-SS 在刺激C类纤维后1个CSISI的数目增多, 从 $30.9\% \pm 3.3\%$ 增至 $41.1\% \pm 17.9\%$ ($P < 0.05$, 图3D1), 其余变化不显著(图3D2, 3)。刺激A类纤维后 PC-SS的CSISI数目变化均无显著性(图3D)。

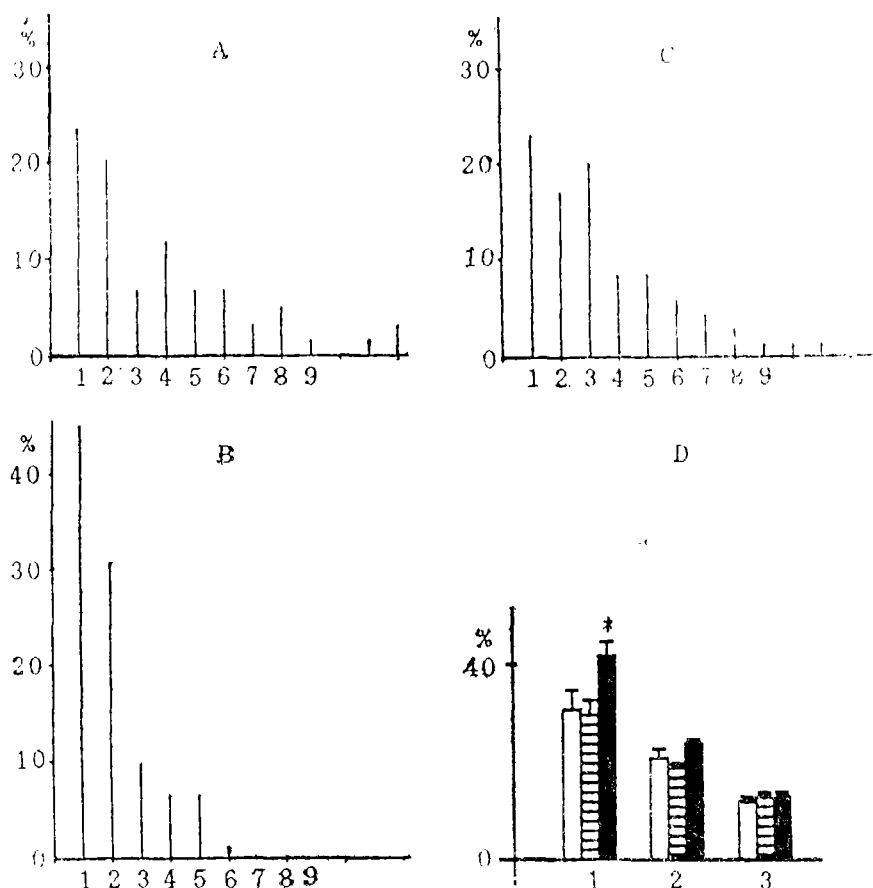


图3 刺激C类和A类纤维对PC-SS CSISI的影响

A, B, C 为连续短间隔直方图, 横坐标为连续短间隔数目, 纵坐标为出现的百分比。A: 自发放电, B: 刺激C类纤维后, C: 刺激A类纤维后, D: 31个PC-SS 1~3个连续短间隔数目的统计图。空柱为自发放电, 横条柱为刺激A类纤维。黑条柱为刺激C类纤维。柱上竖线为标准差(s), * $P < 0.05$ 。纵坐标为连续短间隔出现的百分数

刺激C类和A类纤维对PC-SS放电间隔均值的影响

1. 对总间隔均值 (total mean inter-spike interval, TMISI) 的影响 31个自发放电的PC-SS中有7个PC-SS的TMISI为 184.2 ± 16.3 ms, 24个为 112 ± 16.1 ms; 刺激C类纤维后, 前者($n=7$)TMISI减小, 经分组 t 检验^[8], 其中3例有显著性($P < 0.05$), 后者($n=24$)TMISI增大, 其中14个有显著性($P < 0.05$)。31个中有21个自发放电的TMISI为 126.0 ± 5.4 ms, 10个为 88.1 ± 34.6 ms; 刺激A类纤维后, 前者($n=21$)TMISI减小, 其中8个有显著性($P < 0.05$); 后者($n=10$)TMISI增大, 其中5个有显著性($P < 0.05$)。经卡方检验, 刺

激C类纤维后SS的TMISI增大与刺激A类纤维后的增大比较, 差异有显著性($P < 0.025$); 但刺激C类纤维后SS的TMISI减小与刺激A类纤维后的减小比较, 差异无显著性($P > 0.05$)。

2. 对长间隔均值 (long mean inter-spike interval, LMISI) 的影响 刺激C类纤维后, 有22例SS的LMISI增大, 其中15个有显著性($P < 0.05$); 9个减少, 其中3个有显著性($P < 0.05$)。刺激A类纤维后有12个PC-SS的LMISI增大, 其中6个有显著性($P < 0.05$); 19个减小, 其中5个有显著性($P < 0.05$)。经卡方检验, 刺激C类纤维后SS的LMISI增大与刺激A类纤维后的增大比较, 差异有显著

性($P<0.01$),但刺激C类纤维后SS的LMISI减小与刺激A类纤维后的减小比较,差异无显著性($P>0.05$)。

3. 对短间隔均值(short mean inter-spike interval, SMISI)的影响 刺激C类纤维后,31个PC-SS中有18个SMISI减小,其中11个有显著性($P<0.05$);有13个增大,其中3个有显著性($P<0.05$)。刺激A类纤维后,有24个SS的SMISI减小,其中18个有显著性($P<0.05$),有7个增大,其中仅1个有显著性($P<0.05$)。经卡方检验,刺激C类纤维与A类纤维后SS的SMISI变化间差异均无显著性。

附表总结了刺激C类和A类纤维对PC-SS MISI的影响。

附表 刺激A类和C类纤维对MISI的影响

		SS($n=31$)	
		刺激A-fiber	刺激C-fiber
MTISI	减小	21 (8)	7 (3)
	增大	10 (5)	24 (14)
MLISI	减小	19 (5)	9 (3)
	增大	12 (6)	22 (15)
MSISI	减小	24 (18)	18 (11)
	增大	7 (1)	13 (3)

注:表中数字为刺激后间隔均值发生变化的细胞个数,括号内数字为经t检验,变化有显著性意义的个数

讨 论

单位放电的信息内容主要包含在放电时间间隔的变化之中^[9]。通常单位放电具有很大的随机性,只有使用随机点过程理论及数理统计方法才能降低单位放电活动中存在的随机性影响^[11]。因此本文使用建立在随机点过程理论基础上的分析方法,分析小脑PC-SS的时间间隔,检查C类纤维传入对其影响。

过去研究放电间隔的分布多用放电间隔直方图^[10],不同样本的数值通常无法定量比较。而本文使用NISIH估计间隔的概率密度函数^[7],则可以定量比较不同样本量的放电间隔分布特性。

本文从NISIH中观察到,刺激C类纤维可以影响PC-SS短间隔分布,且与自发放电的分布类型有关,对低峰型的影响主要表现为分布斜率减小,对高峰型则主要为最大分布峰值减小。而刺激A类纤维只影响低峰型,使其pdf峰值增大, λ 值减小,不影响高峰型。表明C类纤维传入可影响PC-SS短间隔的分布,且与A类传入的影响不同。

联合间隔直方图反映两个相邻间隔之间的关系。本文观察到,刺激C类纤维后使JISI从短-短集中型转变为分散型,即短-短间隔减少,而长-长间隔增多,表明C类纤维传入使PC-SS从短-短间隔模式向长-长间隔模式转变;此外,刺激C类纤维后PC-SS 1个连续短间隔出现的百分比增大,说明C类纤维传入还具有使长串短间隔(簇状放电)串长减少的趋势。而刺激A类纤维则对PC-SS放电前后间隔的相互关系无明显影响。

放电间隔均值为平均放电率的倒数,可反映神经元兴奋的水平。由于神经元自发放电的随机性波动较大,故用平均放电率的高低来表示某一人为因素(刺激或给药)作用后神经元兴奋水平的改变,只能用人为的标准进行判断,不能排除自发放电随机波动的干扰。而放电间隔均值则可借助于方差,用统计学处理定量比较,可以判断某段放电变化是否有意义。附表显示,刺激A类或C类纤维后,在放电间隔有变化的例数中只有一部分例数变化有统计学意义。如刺激A类纤维后,21个TMISI减小,其中13个减小无显著性,仍属变化不显著例,只有8个的减小有显著性,属减小例;10个增大中只有5个有显著性属增大例。即31个刺激A类纤维后8个TMISI减小,5个增大,18个变化不明显。表明用放电间隔为指标,观察刺激后的变化较用放电率为指标更精确。从附表观察到,31个刺激C类纤维后有3个TMISI减小(9.8%),14个增大(45.1%),变化不显著占45.1%;而刺激A类纤维后有25.8%减小,16.1%增大,58.1%不明显。经卡方检验,刺激C类纤维后TMISI增大的比率高

于刺激A类纤维($P < 0.025$), 表明C类纤维传入比A类纤维传入更明显降低了PC-SS的兴奋水平。从附表比较刺激C类纤维后3种间隔的变化可见, 刺激C类纤维后14个(45.1%) TMISI增大, 15个(48.4%) LMISI增大, 3个(9.8%) SMISI增大, 表明刺激C类纤维引起放电间隔均值增大主要是由于增大了长间隔均值。本研究还观察到自发放电间隔均值大者, 刺激后常减小, 反之则常增大。表明C类或A类纤维传入引起PC-SS放电间隔均值的变化还与自发放电时的间隔均值有关。

参 考 文 献

1. 吴杰, 陈培熹. 隐神经C类纤维传入诱发小脑皮层电反应. 生理学报 1989;41(6):529
2. Wu J and Chen PX. Cerebellar elicited by stimulation of C-fiber in saphenous nerve in cat. Brain Res 1990;522(1):144
3. Wu J and Chen PX. Discharge response of cerebellar Purkinje cell to stimulation of C-fiber in cat saphenous nerve. 中山大学医学学报 1991; 12(3):167
4. Eccles JC. The cerebellum as a computer: patterns in space and time. J Physiol 1973; 229(1):1
5. Thach WT. Somatosensory receptive field of single unit in cat cerebellar cortex. J Neurophysiol 1976;30(2):675
6. 吴敏, 等. 刺激中缝背核区对猫小脑皮层浦肯野细胞电活动的影响. 生理学报 1987; 39(5):446
7. 曹阳, 陈培熹. 体感皮层神经元放电间隔的概率密度函数与分布参数. 生物物理学报 1989;5(2):119
8. 曹阳, 陈培熹. 体感皮层神经元自发放电对诱发放电反应的影响. 中国应用生理学杂志 1990;6(2):114
9. Glaser EM and Puchkin DS. In: Principle of neurobiological signal analysis. New York: Academic Press, 1976:291
10. Gerstein GL and Perkel DH. Simultaneously recorded trains of action potentials: analysis and functional interpretation. Science 1969;164:828
11. Yamamoto M. Stochastic properties of spontaneous unit discharge in somatosensory cortex and mesencephalic reticular formation during sleep-waking states. J Neurophysiol 1983;49(3):1182
(1991-04-20收稿 1991-11-07修回)

EFFECT OF C-FIBER INPUT ON INTER- SPIKE INTERVAL OF CEREBELLAR PURKINJE CELLS

Wu Jie Chen Peixi
(Department of Physiology)

The inter-spike intervals (ISI) of thirty-one cerebellar Purkinje cells (PC) were analysed with the statistic method which based on the stochastic point process theory and message analysis method, and the influences of stimulating C-and A-fibers of saphenous nerve on ISI were examined. According to the peak value of distribution of the short ISI in the normalized ISI histogram, the PC-SS was divided into two groups(low and high peak groups). The C-fiber input elicited the peak value (distribution slop) of low peak group decrease, but the peak pdf value had no significant change; the peak pdf value of high peak group decrease, but the peak value had no significant change. The A-fiber input elicited the peak pdf value of low peak group increase, the peak value decrease, but the high peak value group had no significant change. It was indicated that C- and A-fiber inputs could affect the short ISI distribution of PC-SS, but the effect of A-fiber input was different from the one of C-fiber input. The joint ISI distribution histogram of PC-SS showed that the joint ISI concentrated on the short-short area, and the numbers of the continuous short ISI were large. The C-fiber input elicited the dispersed tendency of the distribution of joint ISI and the numbers of continuous short ISI decrease; but the A-fiber input did not elicited changes. It was indicated that the C-fiber input could affect the relationship between front ISI and behind ISI, the A-fiber input, however, had no significant influence. The stimulation of the C-fiber caused the increases in mean value of total ISI and the mean value of long ISI, but the mean value of short ISI had no significant change, suggesting that the C-fiber input evoked the mean value of total ISI increase by increasing the mean value of long ISI. The stimulation of A-fiber had no significant influence.

Key words cerebellum; Purkinje cells; inter-spike intervals; C-fiber; A-fiber