

藜芦碱引起神经元放电峰峰间期慢波振荡

段建红, 段玉斌, 韩 晟, 胡三觉

(第四军医大学神经科学研究所, 陕西 西安 710032)

摘要:为了研究 Na 通道失活门与受损背根节神经元放电型式的关系,在大鼠背根节慢性压迫模型上记录单纤维自发放电,观察与分析了 Na 通道失活门抑制剂藜芦碱(veratridine)引起峰峰间期慢波振荡的型式和特征。结果表明:在阻断 Na 通道失活门之后,受损背根节神经元产生的慢波振荡具有变化幅度大和振荡时程长的特征,可分成 V、倒 II、整数倍、弥散和复合等 5 种基本型式。

关键词:背根节;自发放电;藜芦碱;慢波振荡;钠通道失活门

中图分类号:Q421 文献标识码:A 文章编号:1000-673X(2002)01-0049-04

神经元放电的时间序列,即动作电位的峰峰间期(interspike interval, ISI)序列被认为蕴含丰富的神经感觉信息^[1,2],但是由于 ISI 序列的复杂多变,至今对这种时间编码的基本型式及其发生机制了解很少。藜芦碱是一种 Na 通道失活门抑制剂,近年发现藜芦碱可在海马 CA1 神经元引发不同型式的阵发放电,不仅可用作癫痫发作的细胞模型^[3],还提示 Na 通道失活门在形成放电型式过程中起着重要作用。

背根节作为躯体感觉信息传入的第一站,其神经元放电的频率与时间型式在决定感觉的性质与强度方面占据重要位置。已有证据表明受损背根节神经元的异位自发放电是引起自发痛与痛觉过敏的信号来源^[4,5]。新近的研究还进一步发现该放电序列的型式与 Na 通道的分布及活性变化密切相关^[6,7],然而 Na 通道失活门在其中发挥什么作用并不清楚。本研究拟采用藜芦碱阻断受损背根节神经元 Na 通道失活门,观察 ISI 序列可能发生的变化与特征,为了解 Na 通道失活门与放电型式的关系以及进一步探索放电时间型式的编码意义奠定基础。

1 材料与方法

1.1 动物及手术

实验选用健康的成年 Sprague-Dawley 大鼠,体重 150-300g,雌雄不拘,由本校实验动物中心提供。依文献^[8]所述制备背根节慢性压迫模型:在麻醉和消毒条件下,暴露一侧第 5 腰椎(L5)的椎间孔,将一 L 形不锈钢柱(长 4mm,直径 0.5-0.8mm)插入 L5 椎间孔,以形成对背根节的持续压迫。术后

2-10 天,在混合麻醉下进行腰部椎板切开术,在 L1-L2 和 L4-L5 分别制备两个浴槽。在 L4-L5 浴槽内,充分暴露受损的 L5 背根节,并在外周端结扎与切断坐骨神经,以中断外周感受器的传入冲动。在 L4-L5 浴槽内加入 35-37℃的人工脑脊液,其成分为(mmol/L):NaCl 150, KCl 5, CaCl₂ 2, MgCl₂ 1, Glucose 10, Tris 5。实验时可根据需要置换成含有 3 μ mol/L veratridine 的人工脑脊液。在 L1-L2 浴槽内分离 L5 背根,并用 35-37℃的液体石蜡覆盖。在立体显微镜下,从 L5 背根分离神经细束,把外周端悬挂在白金丝电极上,在邻近的皮下组织插入参考电极,引导来自受损背根节神经元的自发放电,并在记忆示波器上显示。动物体温用数控恒温热板保持在 37-38℃之间。

1.2 自发放电记录

根据放电的波幅和波形是否相同,确定是否为单纤维放电。在计算机上记录单根纤维动作电位的 ISI 序列和放电密度直方图,用 ISI 时间序列散点图显示放电型式。

2 结 果

2.1 自发放电的一般性质

在大鼠背根节慢性压迫动物模型中所造成的损

收稿日期:2001-06-11

基金项目:国家自然科学基金重点项目(30030040)、国家重点基础研究规划“脑功能和脑重大疾病的基础研究”(G1999054000)项目
作者简介:段建红,硕士生,电话(029)3374590,

E-mail: sjhu@fmmu.edu.cn.

通讯作者:胡三觉

伤神经元,术后 3-10 天期间,其自发放电的出现率显著升高^[8]。在我们观察的 101 例损伤背根节神经元自发放电中,依据其动作电位 ISI 的动力学特征,可分为周期,其 ISI 基本相等;阵发,在短阵放电之间有不规则的间断;不规则,其 ISI 很不规则和整数倍,其 ISI 为基础 ISI 的整数倍等四种型式,与以往报道基本相同^[8-10]。在实验条件不变的情况下,放电型式可稳定记录数小时。本实验记录的放电波形为单相峰,波宽较窄(约 1ms),纤维的传导速度在 5-40m/s 属于 A 类纤维。

2.2 ISI 慢波振荡的主要特征

在有自发放电的神经元,在 L4-L5 浴槽内加入 3 μ mol/L veratridine 后,部分神经元的 ISI 序列经过数秒或数分钟潜伏期即转变为振荡形式。其中大部分振荡的 ISI 由大到小然后又由小到大依次连续变化,整个 ISI 变化的轨迹在散点图上形成形状各异的振荡波,也即是说,在振荡波谷处放电密度较高,波峰处放电密度较低。当 veratridine 浓度维持相对恒定时,振荡波可持续出现数小时。

该 ISI 振荡有下述特征:(1)振荡周期较长,多数在 30-120s 范围,故称慢波振荡。其中振荡的时程多数在 10-40s 范围内,个别在 1-10s 或超过 100s,振荡的间隔多数在 30-80s,也有少数振荡的间隔超过 100s。(2)ISI 变化的幅度即振荡幅度较大,其 ISI 振荡最小值在 2ms 左右,最大值可达

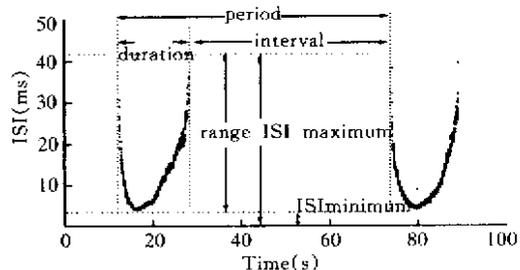


Fig.1 Parametric measuring of slow wave oscillation. The x-axis is the time while the y-axis represents the interspike intervals (ISIs) in the series

40ms,表明放电频率可在几十到几百 Hz 范围内变动(图 1)。(3)在 ISI 连续变化过程中往往出现突然转折,暂称其为拐点(图 2b)。

2.3 ISI 慢波振荡的基本型式

依据 ISI 慢波振荡过程在 ISI 散点图上显示的形状,可分为 5 种基本型式:

2.3.1 V 形

在这种型式的振荡中,ISI 逐渐由大到小又由小到大依次连续变化,且 ISI 在波谷处形成一个较平缓的拐点。在散点图上,整个 ISI 的变化过程比较平滑(图 2a)。在观察到的 78 根振荡放电纤维中,有 42 根(53.9%)呈现 V 形振荡。

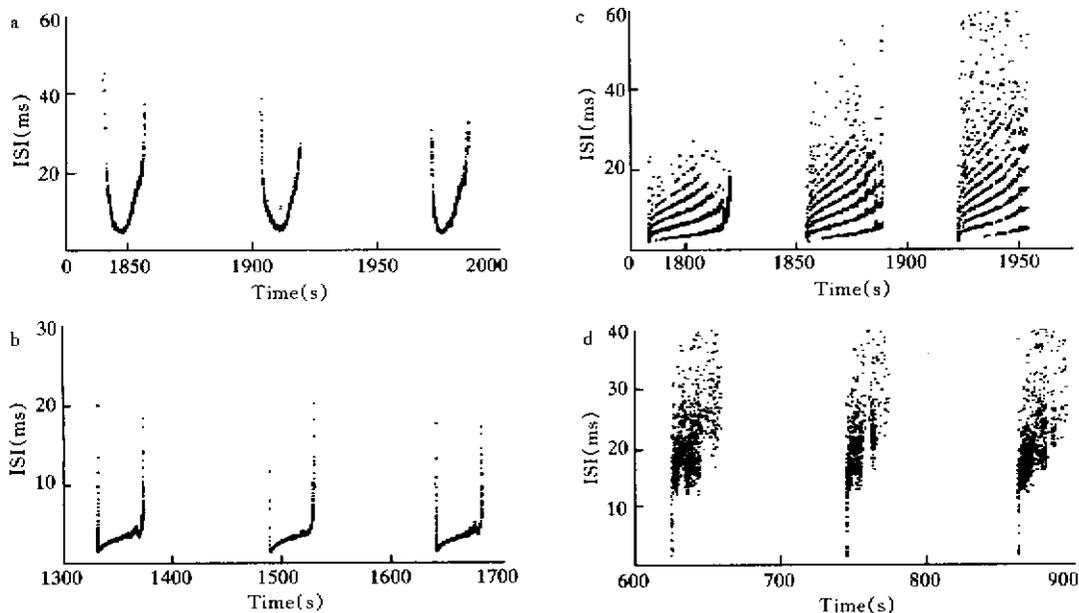


Fig.2 Basic patterns of slow wave oscillation of ISI series induced by veratridine recorded from different dorsal root ganglion neurons. (a) V pattern (b) Reversal II pattern (c) Integer multiple pattern (d) Diffusive pattern

2.3.2 倒 II 形

ISI 也是由大到小又由小到大依次连续变化,与 V 形不同的是,在散点图上,其下降支与上升支较为陡峭,且下降支与波谷以及波谷与上升支之间有两个明显的拐点,而且在两个拐点之间的波谷 ISI 变化比较平缓(图 2b)。在观察到的 78 根振荡放电纤维中,有 20 根(25.6%)呈现倒 II 形振荡。

2.3.3 整数倍形

ISI 在连续变化的过程中显示分层结构,各层的 ISI 为基础 ISI 的整数倍(图 2c)。在 78 根振荡放电纤维中,有 6 根(7.7%)呈现这种振荡型式。

2.3.4 弥散形

ISI 的整个振荡过程为不规则变化,在散点图上呈现随机样弥散分布(图 2d)。在 78 根振荡放电纤维中,有 5 根(6.4%)为此类振荡。

2.3.5 复合形

在散点图上,ISI 序列呈现出两种或两种以上

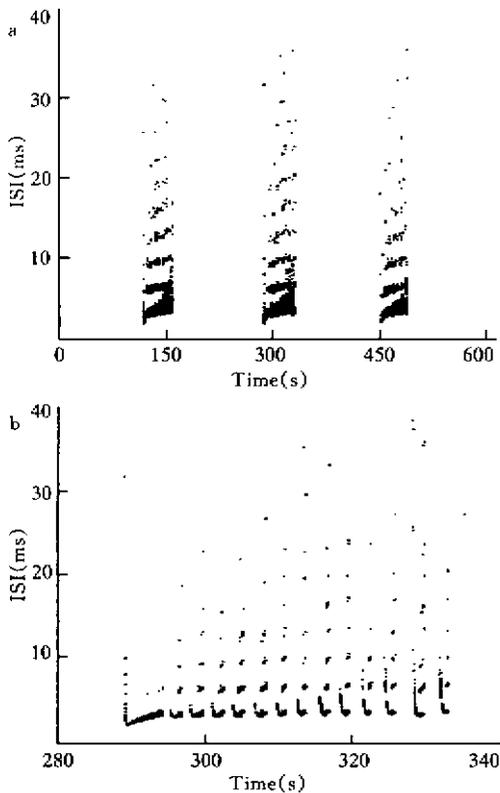


Fig.3 Compound pattern of slow wave oscillation of ISI series. (a) Three compound oscillation recordings were from a dorsal root ganglion neuron. (b) An extended record of that shown in the middle of (a). Note that one large oscillation involves many short oscillations with integer multiple

型式振荡的组合分布。例如在一个振荡过程中有多个短时程振荡,并呈现整数倍分布(图 3)。在 78 根振荡放电纤维中,有 5 根(6.4%)呈现这种复合形振荡。

除了以上这几种比较常见的振荡类型外,还有短促阵发、波浪形等少见的特殊振荡形式。

3 讨 论

在经 veratridine 处理的大鼠海马脑片的细胞上产生的癫痫样放电^[3,11-13],与本文在受损背根节神经元上诱发的振荡放电相比有以下不同:其一,中枢海马 CA1 锥体神经元上产生的阵发放电时程较短,一般在 170-600 ms 范围,而背根节神经元的振荡时程可达 10-40 s;其二,海马 CA1 神经元 ISI 的变化幅度较小,一般在 20-50 ms 范围内,而背根节神经元的 ISI 变化幅度可宽至 2-40 ms。此外,背根节神经元的 ISI 振荡在散点图上还显示上述 5 种基本的型式,提示其 ISI 序列发生了多种不同的动力学变化,以往未见文献报道。因此,我们在初级感觉神经元上观察到的 ISI 振荡是一种新的放电时间型式,并且因其周期较长而命名为 ISI 慢波振荡。这种慢波振荡实际上是一种长时程的阵发放电。按照动力学上的理论,阵发放电可分为三种类型:I 型,阵发放电内的 ISI 逐渐涨大;II 型,阵发放电内的 ISI 由大到小又由小到大变化;III 型,阵发放电内的 ISI 基本相等^[14]。本文报道的 V 形和倒 II 形慢波振荡,由于其 ISI 序列也是由大到小又由小到大连续变化的,按其动力学可能属于 II 型阵发放电。至于其它三种类型振荡的发生动力学机制尚不清楚。

已经证实电压依赖的 Na 通道有六个主要的作用位点,某些毒素结合于 Na 通道的这些位点上,调变其功能。veratridine 是存在于藜芦属生物碱中的一种类固醇类化合物,它结合于 Na 通道的位点 2 上。这种毒素通过阻止 Na 通道的失活并将电压依赖性通道的激活电位转变成趋向超极化的状态,进而使得 Na 通道的激活维持在静息膜电位附近水平^[3,15]。这可能是 veratridine 致使神经元超兴奋,产生振荡放电的主要原因。有文献报道,自发放电的节律除了受 Na⁺ 通道激动剂和阻断剂的显著影响外,还受 K⁺ 和 Ca²⁺ 浓度及其通道阻断剂的影响,表明多种通道在自发放电节律的调制过程中起着重要的作用^[16,17]。因此,本文在背根节神经元观察到的多种振荡型式有可能是在 Na 通道电流增强的启动

下,多种通道活动共同参与的结果,对其形成的复杂动力学过程尚需进一步研究。

初级感觉神经元上的异常放电是导致机体痛觉过敏和病理性疼痛的原因。本文观察到的 ISI 慢波振荡,从其振荡时程和特征来看,有可能构成引发阵发性“跳痛”或“触发痛”的信号起源。因此,探明慢波振荡与疼痛感觉之间的关系不仅可能为临床上治疗此类疼痛提供依据,还可能揭示一种神经信息时间编码的方式。

参考文献:

- [1] Ferster D, Spruston N. Cracking the neuronal code[J]. *Science*, 1995,270:756-757.
- [2] Sejnowski T.J. Time for a new neural code?[J]. *Nature*, 1995,376:21-23.
- [3] Ootom S, Tian LM, Alkadhi KA, et al. Veratridine-treated brain slices: a cellular model for epileptiform activity[J]. *Brain Res*, 1998,789:50-156.
- [4] Song XJ, Hu SJ, Qreenquist KW, et al. Mechanical and thermal hyperalgesia and ectopic neuronal discharge after compression of dorsal root ganglia[J]. *J neurophysiology*, 1999,82:3347-3358.
- [5] Xie YK, Zhang JM, Marlen P, et al. Functional changes in dorsal root ganglion cell after chronic nerve constriction in the rat[J]. *J Neurophysiol*, 1995,73:1811-1820.
- [6] Amir R, Michaelis M, Devor M. Membrane potential oscillations in dorsal root ganglion neurons:role in normal electrogenesis and neuropathic pain[J]. *J Neurosci*, 1999,19:8589-96.
- [7] Xing JL, Hu SJ, Long KP. Subthreshold membrane potential oscillations of type A neurons in injured DRG[J]. *Brain Res*, 2001,901:128-136.
- [8] Hu SJ, Xing JL. An experimental modal for chronic compression of dorsal root ganglion produced by in tervertebral foramen stenosis in the rat[J]. *Pain*, 1998,77:15-23.
- [9] 龙开平,胡三觉,段玉斌,等. 受损背根节神经元自发放电节律的整数倍模式及其动力学变化[J]. *生理学报*, 1999,51:481-487.
- [10] Xing JL, Hu SJ, Xu H. Subthreshold membrane potential oscillations underlying integer multiples firing from the injured sensory neurons[J]. *Neuroreport*, 2001,12:1311-1313.
- [11] Alkadhi KA, Tian LM. Veratridine-enhanced persistent sodium current induces in CA1 pyramidal neurons[J]. *Neurosci*, 1996,71:625-632.
- [12] Tian LM, Ootom S, Alkadhi KA. Endogenous bursting due to altered sodium channel function in rat hippocampal CA1 neurons[J]. *Brain Res*, 1995,680:164-172.
- [13] Ootom S, Alkadhi KA. Action of carbamazepine on epileptiform activity of the veratridine model in CA1 neurons[J]. *Brain Res*, 2000,885:289-294.
- [14] Del Negro CA, Hsiao CF, Chandler SH, et al. Evidence for a novel bursting mechanism in rodent trigeminal neurons[J]. *J Biophysical*, 1998,75:174-182.
- [15] Ulbricht W. Effects of veratridine on sodium currents and Fluxes[J]. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 1998,133:1-54.
- [16] Matzner O, Devor M. Hyperexcitability at sites of nerve injury depends on voltage-sensitive Na⁺ channels[J]. *J Neurophysiol*, 1994,72:349-59.
- [17] Xing JL, Hu SJ. Relation between calcium-dependent potassium channel and ectopic spontaneous discharges of injured dorsal root ganglion neurons in the rat[J]. *Brain Res*, 1999,838:218-221.

SLOW WAVE OSCILLATION INDUCED BY VERATRIDINE IN INJURED DORSAL ROOT GANGLION NEURONS

DUAN Jian-hong, DUAN Yu-bin, HAN Sheng, HU San-jue
(Institute of Neuroscience, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract: In order to study relationship between inactive gate of sodium channel and patterns of discharges from injured dorsal root ganglion, spontaneous activities from single fibers of chronically compressed dorsal root ganglion neurons were recorded. We observed and analyzed patterns and characters of slow wave oscillation of interspike interval (ISI) recorded from injured dorsal root gaglion neuron fibers induced by veratridine, a blocker of inactive gate of sodium channel. It is suggested that the basic characters of slow wave oscillation in injured dorsal root ganglion have large varied amplitude and long cyclic duration, and that it can be divided into five basic patterns i.e.V type, reversal II type, integer multiple type, diffusive type and compound type.

Key Words: Dorsal root ganglion; Spontaneous activity; Slow wave oscillation; Veratridine; Inactive gate of sodium channel