DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.08.018
第25卷第8期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 8
2003年4月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Apr. 2003

文章编号:1000-5404(2003)08-0695-03

论著

大鼠视皮层神经元电学特性的发育变化

王仕军,范慧民,秦 伟,阴正勤 (第三军医大学附属西南医院眼科,重庆 400038)

提 要:目的 揭示大鼠发育过程中视皮层神经元的电生理特性和发育不同步性。方法 对出生后14、28 d龄大鼠视皮层进行脑片膜片钳全细胞记录和神经元标记,并根据输入阻抗对神经元分类及电生理特性分析。结果 当视皮层神经元的输入阻抗(Input resistance, IR)减小时,突触后电流(Postsynaptic currents, PSCs)的峰值增大,上升时间和下降时间延长。在出生后14 d(睁眼前),以中间型为主(59.2%),成熟型为14.9%;28 d(睁眼后2周)以成熟型为主(56.3%),幼稚型为12.5%。结论 在大鼠生后的发育过程中,视皮层神经元的电学特性逐渐成熟,但成熟程度与年龄并不完全相关。

关键词:大鼠;视皮层;发育;电生理学
中图法分类号:R322.91;R329.2;R338.8 文献标识码:A

Developing changes of electrophysiological properties of visual cortical neurons in rats

WANG Shi-jun, FAN Hui-min, QIN Wei, YIN Zheng-qin (Department of Ophthalmology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore the electrophysiological properties and the disparity of visual cortical neurons in developing rats. Methods Whole-cell patch clamp recording and intracellular labeling of brain slices were performed on rats at postnatal 14 and 28 days. The electrophysiological data were analyzed according to the cellular input resistance and resting membrane potential. Results When the input impedance of visual cortical neurons(IR) was lower, increased peak value of postsynaptic currents(PSCs), prolonged rise and decay time were found. At postnatal 14th day(before eyes opened), the intermediate cells and mature cells were 59.2% and 14.9% respectively, but at postnatal 28th day(14 days after eyes opened), the mature cells and immature cells were 62.5% and 12.5% respectively. Conclusion During the period of postnatal development, the visual cortical neurons become mature gradually, but maturation is not completely correlated with age.

Key words: rat; visual cortex; development; electrophysiology

视觉发育过程中,随着视觉经验的增加,视皮层神经元电学特性逐渐成熟[1]。而大鼠海马在生后2~4周内,即使同一天龄的颗粒细胞在形态学和电学特性上存在着明显的差异,不同成熟状态的细胞在发育过程中同时存在[2]。然而,视皮层神经元电学特性的发育是否也不完全同步呢?对这一问题的回答有助于探讨视皮层发育的可塑性机制。

1 材料和方法

1.1 动物

采用出生后14、28 d龄健康Wistar大鼠各10只(第三军医大学实验动物中心提供),雌雄不限。

1.2 脑片的制备

配制新鲜人工脑脊液(Artificial cerebrospinal fluid, ACSF)[2]后,乙醚麻醉动物,快速断头,取出大脑,浸入0 ℃氧饱和的ACSF,参照大鼠脑立体定位图谱[3],采用振动切片机(Vibratome 1000, Ted Pella, 美国)在冠状平面上将脑块切成厚度为300 μm的薄片,移入氧饱和的ACSF中,室温下(18~25 ℃)孵育1 h备用。

1.3 玻璃记录电极的制备

应用电极拉制器(Sutter P-97, Flaming/brown, 美国),用二步拉制法拉制电极,电极尖端直径约1~2 μm,阻抗5~10 MΩ。电极内液的成分及其浓度(mmol/L)为:葡萄糖酸钾145,氯化镁2,HEPES 5,EGTA 0.5,ATP 2。

1.4 全细胞记录

取一片备用的脑片,放入全浸式脑片槽中。室温下氧饱和的ACSF循环灌流(3~4 ml/min)。在解剖显微镜(SZ1145, Olympus, 日本)下,双极钢丝刺激电极置于脑白质,玻璃记录电极置于视皮层4层。利用膜片钳放大器(Axopatch 200B, Axon, 美国)特定的测试方波电脉冲以"盲法"寻找细胞。得到细胞后,将膜

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39770258)
作者简介:王仕军(1964-),男,四川省大邑县人,实验师,主要从事临床视觉电生理和视觉基础方面的研究,发表论文10篇。电话:(023)67854403
收稿日期:2002-11-28;修回日期:2003-01-22

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

电压钳制在－70 mV，给予幅度0.4 mA，时程100 μs的电刺激诱发PSCs。PSCs由膜片钳放大器放大后，通过Axon.1200型模数转换器转换传输入计算机，应用Axon公司的Clampex8.1软件采集数据。

1.5 统计学方法

数据以$\bar{x}\pm s$表示，应用Clampfit8.1和SPSS软件进行t检验和χ^2检验。

2 结果

2.1 不同发育阶段视皮层神经元膜学特性和突触后电流比较

共获得43例视皮层神经元。生后14 d(睁眼前)的神经元反应(如图1)与生后28 d(睁眼后14 d)的神经元反应(如图2)相比较，视皮层神经元的输入阻抗(Input resistance，IR)降低，突触后电流的峰值(Peak value)、上升时间(Rise time)和下降时间(Decay time)增大，见表1。

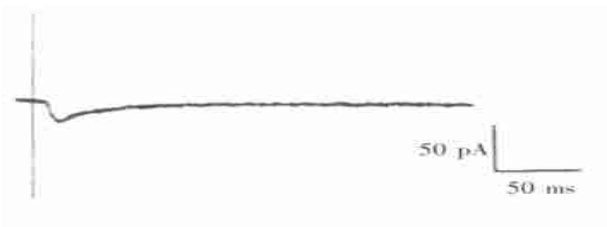


图1 生后14 d(睁眼前，幼稚型)神经元的突触后电流

Fig 1 Neuronal PSCs at postnatal 14th day (before eyes open, immature type)



图2 生后28 d(睁眼后14 d，成熟型)神经元的突触后电流

Fig 2 Neuronal PSCs at postnatal 28th day (14 d after eyes open, mature type)

表1 大鼠视皮层神经元PSCs特性($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 PSCs of visual cortical neurons of rats($\bar{x}\pm s$)

Group	n	Peak value(pA)	Rise time(ms)	Decay time(ms)	IR(MΩ)
14 d	27	40.13±18.84	11.62±3.87	37.56±10.77	183.07±27.16
28 d	16	57.21±21.33*	17.90±7.34*	51.03±16.51*	149.96±33.27*

*: $P<0.05$ *vs* 14 d

2.2 不同IR成熟度视皮层神经元PSCs的特性和分布

同天龄大鼠或同一只大鼠的不同脑片甚至是同一脑片上，视皮层神经元的IR存在差异，为此，根据IR大小将视皮层神经元分为幼稚型(IR＞180 MΩ，见图1)、中间型(120 MΩ＞IR＜180 MΩ，见图3)和成熟型(IR＜120 MΩ，见图2)。结果表明，随着天龄的增长，幼稚型神经元减少而成熟型神经元增多，见表2。而且，在不同年龄段，不同类型神经元的数量不同，出生后14 d的神经元以中间型为主，而28 d的神经元以成熟型为主，见表3。



图3 中间型神经元的突触后电流

Fig 3 PSCs of intermediate type neuron

表2 不同成熟度的视皮层神经元PSCs特性($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 PSCs of visual cortical neurons at different mature degrees ($\bar{x}\pm s$)

	n	Peak value(pA)	Rise time(ms)	Decay time (ms)
Immature	9	34.63±14.97	8.86±3.03	32.61±16.32
Intermediate	21	46.13±15.74*	13.92±8.16	39.46±15.5
Mature	13	59.68±13.67*	19.73±7.28*	50.01±15.89*

*: $P<0.05$ *vs* immature

表3 不同成熟度视皮层神经元在不同年龄阶段的分布(%)

Tab 3 Distribution of visual cortical neurons at different mature degrees at different age(%)

Group	n	Immature	Intermediate	Mature
14 d	27	7(25.9)	16(59.2)	4(14.9)
28 d	16	2(12.5)	5(31.2)	9(56.3)

3 讨论

在哺乳动物出生后早期，视皮层的发育受环境的影响，出生后14 d睁眼，开始接受形觉刺激，视皮层神经元突触修饰速度加快，28 d时达到一定的成熟阶段，即接近关键期末[4]。因此，本实验选择睁眼前2周(14 d)和睁眼后2周(28 d)的大鼠，观察其电学特性的发育。研究发现，大鼠睁眼后28 d比睁眼前14 d，视皮层神经元的输入阻抗的显著下降($P<0.05$)，PSCs的上升时间和下降时间均显著延长($P<0.05$)。在发育过程中，神经元膜学特性的变化反映了细胞膜上离子通道密度的变化，输入阻抗的降低主要是由于细胞膜上K^+离子通道密度的逐渐增高所致[5]。PSCs上升和下降时间取决于突触间隙神经递质的释放和清除，以及突触后通道的动力学特性。

不同脑区的发育电生理学研究表明，幼稚型神经元的IR较高而成熟型神经元的较低[2]。本实验根据神经元IR大小，将其分为幼稚型、中间型和成熟型。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

结果显示，成熟型神经元的PSCs峰值和上升和下降时间显著高于幼稚型和中间型，这与年龄发育对 PSCs 结果是一致的。提示不同成熟程度的视神经元有着不同的电生理特性。

本实验显示大鼠睁眼前(生后 14 d)，成熟神经元数占神经元总数的 14.9%，而睁眼后 14 d 却占 56.3%。表明不同成熟状态的细胞在发育过程中同时存在，越成熟的大鼠，成熟型细胞愈多而幼稚型细胞愈少，视皮层的成熟是一逐渐完成的过程。在大鼠睁眼后，形觉刺激发挥作用，促进了视皮层发育成熟，其作用可能在于消除多余的与功能不相适应的突触，逐步巩固并确定有用的突触联系[7]。其发生的原因可能是突触形成的启动是按照一个明确不变的程序发生的[8]。视皮层神经元的这种不同步成熟的发育特性可能正是可塑性存在的基础。

参考文献：

[1] Caleo M, Maffei L. Neurotrophins and plasticity in the visual cortex[J]. Neuroscientist, 2002, 8(1): 52—61.
[2] Liu Y B, Lio P A, Pasternak J F, *et al*. Developmental changes in membrane properties and postsynaptic currents of granule cells in rat dentate gyrus[J]. J Neurophysiology, 1996, 76(2): 1074—1088.
[3] Cepeda C, Walsh J P, Buchwald N A, *et al*. Neurophysioloical maturation of rat caudate neurons: evidence from in vitro studies[J]. Synapse, 1991, 7(4): 278—290.
[4] Fox K. Critical period control in sensory cortex[J]. Curr Opin Neurobiol, 1994, 4(1): 112—119.
[5] Tepper J M, Sharp N A, Koos T Z, *et al*. Postnatal development of the rat neostriatum: electrophysiological, light-and electron-microscopic studies [J]. Dev Neurosci, 1998, 20(2—3): 12535—12550.
[6] Debanne D. Associative synaptic plasticity in hippocampus and visual cortex: cellular mechanisms and functional implications[J]. Rev Neurosci. 1996, 7(1): 29—46.
[7] Meredith G E, Blank B, Groenewegen H J. The didtribution and compartmental organization of the cholinergic neurons in nucleus accumbens of the rat[J]. Neuroscience, 1989, 31(2): 327—345.
[8] 蔡文琴，李海标. 发育神经生物学[M]. 北京：科学出版社，1999. 111—113.

(编辑 王 红)

文章编号：1000-5404(2003)08-0697-02

个案与短篇

重症肝炎并发自发性细菌性腹膜炎 87 例临床分析

Clinical analysis of 87 cases of severe viril hepatitis cocurrent with spontaneous bacterial peritonitis

程 玲[1]，田 进[1]，袁翠云[2] ([1] 贵州铝厂职工医院传染科，贵阳 550058；[2] 开封市传染医院，开封 475001)

自发性细菌性腹膜炎是重症病毒性肝炎常见的并发症，由于其临床表现差异大而易造成漏诊。本研究总结了 87 例重症肝炎并发自发性细菌性腹膜炎的诊治经验，报告如下。

1 临床资料

1.1 一般临床资料

本组 87 例男 81 例，女 6 例，年龄 15～70 岁。诊断标准为：①符合 1995 年 5 月北京病毒性肝炎学术会议修订的重型肝炎诊断标准[1]；②符合自发性细菌性腹膜炎的诊断标准，即：腹水白细胞＞0.5×10^9/L，多形核白细胞(PMN)＞ 50%；若白细胞＞0.3×10^9/L，PMN＞50%结合临床诊断；腹水培养有致病菌生长可确诊。87 例病人中，不规则发热 58 例(66.67%)，腹痛或腹部压痛 41 例(47.69%)，腹水急剧增加或顽固不退 81 例(93.85%)，血象增高者 46 例(52.28%)。

1.2 细菌培养及药敏试验

①87 例重症肝炎伴腹膜感染者血培养及腹水标本用镜检、血液真菌培养基、沙堡罗培养基等检查。未检出细菌但达到诊断标准者为 25.3%(22/87)，细菌培养阳性率者为 74.7%(65/87)。其中血培养阳性率 31.0%(27/87)，腹水培养阳性率 25.3%(22/87)，血及腹水均有菌者占 18.4%(16/87)。细菌培养显示：革兰阴性菌中大肠埃希菌 28 株(43.1%)、肺炎克雷伯菌 15 株(23.1%)、铜绿假单胞菌 13 株(20%)、变形杆菌 3 株(4.6%)、产气肠杆菌 2 株(3.0%)、革兰阴性需氧芽孢菌 1 株(1.5%)，革兰阳性菌中表皮葡萄球菌 3 株(4.6%)、金黄色葡萄球菌 1 株(1.5%)、需氧芽孢菌 1 株(1.5%)、草绿色链球菌 1 株(1.5%)、白色念珠菌 2 株(3.0%)、酵母菌 2 株(3.0%)。复菌数 6 例，分别为大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌，大肠埃希菌与白色念珠菌，革兰阴性球菌与金黄色葡萄球菌，表皮葡萄球菌与白色念珠菌。②几种主要细菌药敏用琼脂扩散法敏感试验，判断标准以厂家指定的抑菌环大小为准，其结果：大肠埃希菌对氨苄西林、庆大霉素、诺氟沙星和头孢曲松敏感分别为 9、9、23 及 23

(下转 704 页)

作者简介：程 玲(1967—)，女，重庆市人，主治医生，主要从事传染病肝病方面研究，发表论文 9 篇。电话：(0581)4898497

收稿日期：2002-08-05；修回日期：2002-12-28

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net