DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.03.023
第25卷第3期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 3
240 2003年2月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Feb. 2003

论著

文章编号:1000-5404(2003)03-0240-05

猕猴海马神经元自发放电节律及其确定性研究

朱志茹,隋建峰,高 洁,熊 鹰,张长城,张光辉,李希成 (第三军医大学基础医学部生理学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 阐明海马神经元自发放电的动力学机制。方法 分析长时间顺序记录的猕猴海马神经元自发放电的动作电位间期序列(ISI)。结果 观察到4种放电节律,并利用一种新的检测时间序列非稳定周期轨道的方法分析ISI序列,发现ISI有周期1、周期2、周期3非稳定周期轨道存在,表明海马神经元自发放电序列具有确定性动力学机制。结论 海马可能是利用神经元放电节律的非线性行为进行信息的编码、传输与处理。

关键词:海马;自发放电;放电节律;非稳定周期轨道;确定性机制
中图法分类号:R329.28;R338.26 文献标识码:A

Pattern and determinant mechanism of spontaneous discharge from hippocampal neurons in rhesus monkey

ZHU Zhi-ru, SUI Jian-feng, GAO jie, XIONG Ying, ZHANG Chang-cheng, ZHANG Guang-hui, LI Xi-cheng (Department of Physiology, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To clarify the dynamic mechanism of the spontaneous discharge of hippocampal neurons in rhesus monkey. Methods The interspike interval (ISI) sequences of discharge of the hippocampal neurons were analyzed. A newly developed unstable periodic orbit (UPO) identification method was used to analyze the ISI sequences. Results Four kinds of spontaneous discharge rhythms were found. Highly significant unstable period-1, period-2 and period-3 in ISI were identified. Significantly determinant dynamic mechanism of the sequences of hippocampal spontaneous discharge was indicated. Conclusion Hippocampus is likely to code, transmit and process information by the nonlinear characteristics of the discharge of neurons.

Key words: hippocampus; spontaneous discharge; discharge rhythm; nonstable periodic orbits; determinant mechanism

在中枢神经系统中,海马属于边缘系统,是与学习记忆和情绪、行为功能密切相关的重要脑区,对海马神经元编码及其信息传递机制的研究有十分重要的意义。长期以来人们一直用放电频率作为评价其神经活动的指标,海马神经元活动仅仅用放电频率的变化来描述,使得很多信息丢失。随着非线性动力学在生命科学领域的广泛应用,发现神经放电的节律表现出复杂的非线性动力学特征[1],神经系统可能是利用神经放电节律的非线性行为进行信息的编码、传输与处理。我们采用用一种新的非线性动力学分析方法UPO法[2]分析了放电节律的确定性机制。UPO法概念的基础是将所观察到的神经元活动抽象成用非稳定周期轨道(Unstable periodic orbits, UPO)的分级所描述的动力学图。UPO理论认为:在动力学系统的相空间坐标表达中,周期轨道是平衡状态。如果所有周期轨道都是不稳定的,那么系统的事件演化就不会稳定在它们中的任意一个上,系统的行为在一系列接靠这些周期轨道的地方不断徘徊。混沌系统在其相空间表达中对应一个奇异吸引子结构,这个结构是由无穷多的不稳定周期轨道构成,不稳定周期轨道构成了非线性动力学特征的"骨架"。UPO存在于耗散混沌系统中,且分层排列。如果找到了UPO,则可以认为该系统就是确定性的[3]。利用这种方法,已经在一些生物数据中找到了UPO[4,5],但是还没有见到关于猕猴海马神经元自发放电确定性的报道。

本研究在前人记录的猕猴海马神经元自发放电的基础上,观察了海马神经元自发放电的节律,并对非周期自发放电的峰峰间期(Interspike interval, ISI)序列,利用Pual改进的UPO方法进行了分析[2]以判定海马神经元自发放电的确定性因素。

1 材料与方法

1.1 数据采集

将本室以前采集的猕猴海马神经元自发放电原始资料的

作者简介:朱志茹(1974-),女,河北省保定市人,硕士研究生,助教,主要从事生物医学信号处理及生物系统建模方面的研究。电话:(023)68752254

收稿日期:2002-10-08;修回日期:2002-12-23

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

磁带记录, 输入 Power lab/4sp(AD Instrument) 记录系统并贮存, 采集软件为 chart4.1, 然后传换成 Matlab 文件后, 利用峰电位处理软件包(本室自编)处理得到动作电位的峰峰间期(Interspike interval, ISI)序列。

原始数据采集过程为[6]: 选用健康成年猕猴 8 只, 编号 No1 ~ No8, 体重为 5 kg 左右, 雌雄不拘。由腹腔注射 3% 戊巴比妥钠(30 mg/kg), 将猕猴麻醉并将其固定在立体定位仪上, 在右侧颅骨埋植一个内径为 18 mm 的不锈钢基座, 按 Snider 猴立体定位图谱, 基座中心位置定位大致对应于海马位置。基座前后各放置一个固定头部用的支架, 基座中心放置慢性微推进器, 所有部件用牙科水泥通过螺丝牢牢固定在颅骨上, 手术后休息四周开始清醒状态下的电生理记录。4 周后, 利用脑立体定位仪, 根据 Snider 猴立体定位图谱, 借助慢性微电极推进器, 将玻璃电极插入海马, 玻璃电极尖端直径 2 ~ 4 μm, 电极阻抗 4 ~ 6 MΩ, 记录海马神经元自发放电, 用磁带贮存。

1.2　数据处理

应用 Paul 等[2] 提出的 UPO 检测方法, 测定 ISI 是否存在 UPO, 该方法在延迟坐标嵌入相空间重构的基础上, 利用建立在系统局部动力学特征上的算法。经过变换的数据点将集中在 UPO 的周围, 通过观察变化数据的分布峰就可以寻找 UPO。使用替代数据多重实现和极值统计的方法检验变换数据分布峰的统计显著性。

2　结果和分析

2.1　海马神经元自发放电的节律形式分类及特征

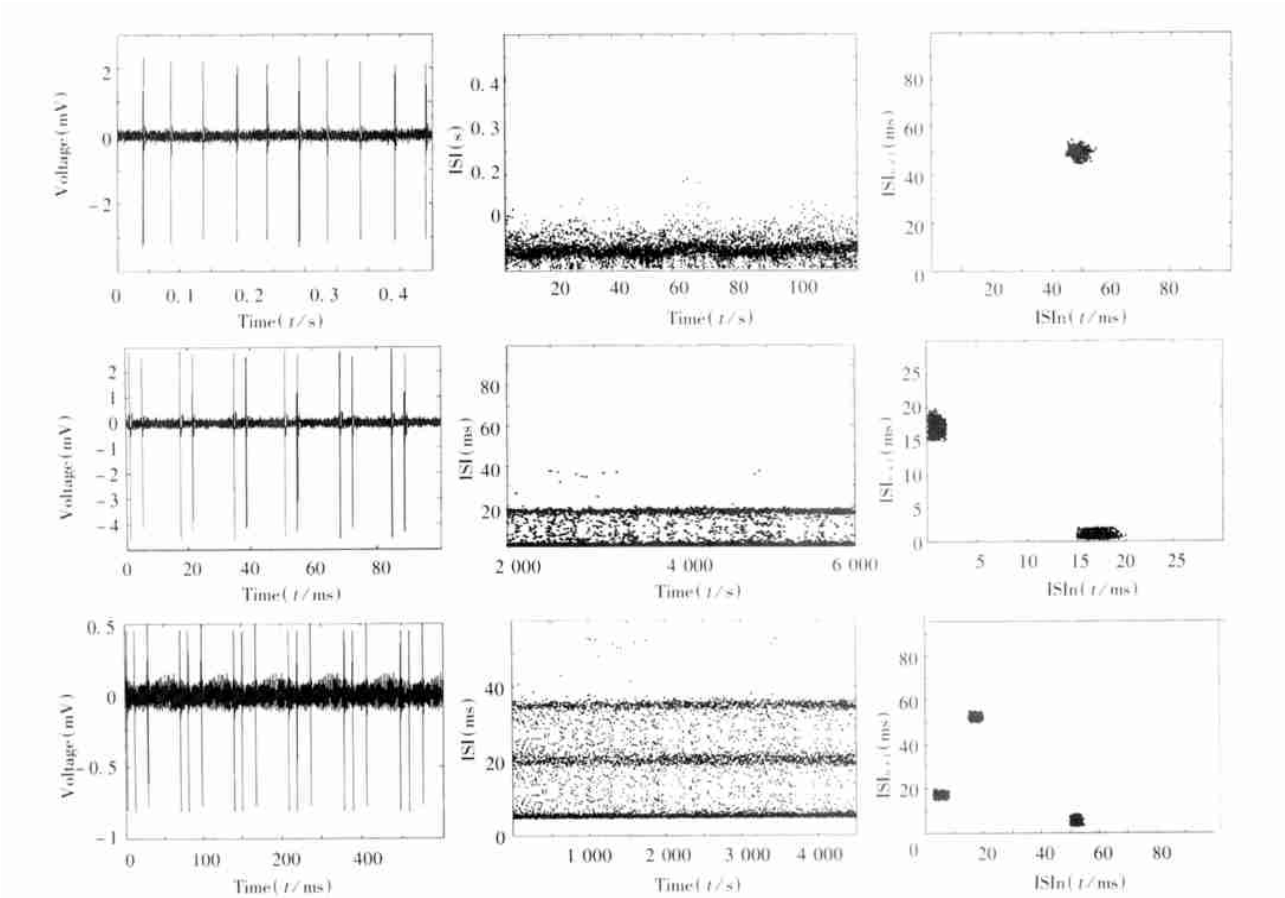
我们分析了 8 只猕猴的海马神经元自发放电, 根据相邻动作电位间期的重复取值规律, 我们将弥猴海马神经元自发放电的节律形式分为周期节律、阵发周期节律、整数倍节律、非周期节律四种形式。

2.1.1　周期节律(Periodic thythm)　其 ISI 规律地重复取值。根据 ISI 的取值特征的不同, 我们又将周期节律分为: 周期 1、周期 2、周期 3 等。

周期 1(Period one): 重复放电的各次 ISI 基本相等, 一次动作电位构成 1 个周期, 其 ISI 随时间变化规律地分布在一条水平线上。其 ISI 时间序列的一阶回归映射为一个点(如图 1 上)

周期 2(Period two): 其 ISI 重复地交替取一大一小两个值, 两次动作电位构成 1 个周期, 其 ISI 随时间变化规则地分布在两条直线上。周期 2 放电的 ISI 的时间序列为两个点(如图 1 中)。

周期 3(Period three): 其 ISI 重复地交替取 3 个大小不同的值, 3 次动作电位构成一个周期, 其 ISI 随时间变化规则地分布在 3 条水平线上, ISI 的一阶回归映射图为 3 个点(如图 1 下)。



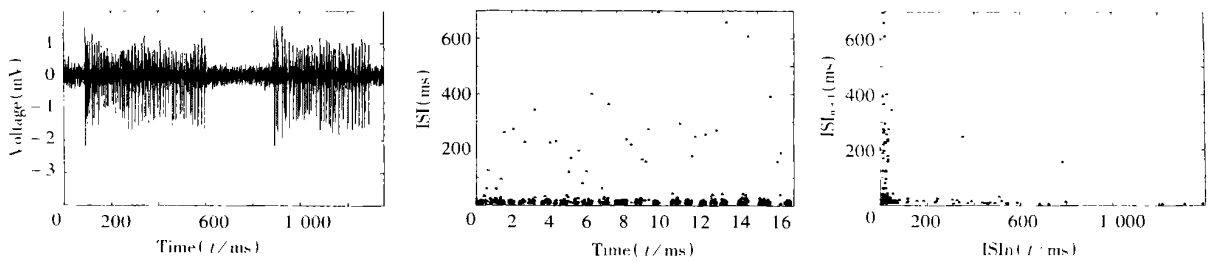
Upper: Period one; Middle: Periodic two; Lower: Integer three; Left: The spontaneous firing of a hippocampal neuroni; Middle: The ISI time series of the potential trains; Right: return map of the ISI series by plotting the ISIn *vs* ISI_{n+1}

图 1　周期放电节律

Fig 1　Spontaneous discharge period thythms

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

2.1.2 阵发周期节律(Periodic rhythm with interruption) 放电节律特征表现为放电交替地处于发放状态与休止状态;在发放状态,ISI规律地重复取值,其节律形式表现为周期1。放电次数为数次至数百次不等,休止状态为数百毫秒的静息休止状态,各次休止期间的变异较大。ISI序列变异较小,ISI的一阶映射为一个点,类似于周期1节律,休止期的时程变异较大,没有明显可辨的规律性,见图2。



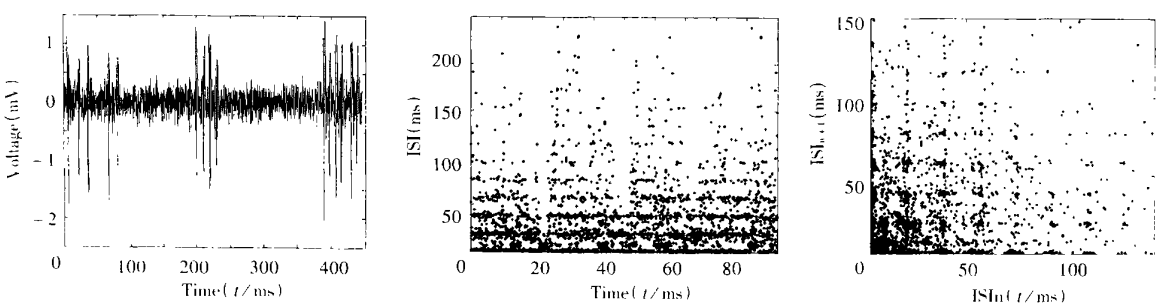
Left: The spontantaneous firing of hippocampal neuron; Middle: Sequence of ISI; Right: Return map of the ISI series

图2 阵发周期节律

Fig 2 Periodic rhythm with interruption

2.1.3 整数倍节律(Integer multiples rhythm) 整数倍放电节律的特点是:存在一个基础ISI(Basic interspike interval, BISI),所有的ISI均为BISI的整数倍。整数倍放电在散点图上表现为清晰的分层现象,其ISI越大,出现的频率越小;以ISI为纵坐标的统计图上的呈现指数递减的多峰现象。

2.1.4 非周期节律(Nonperiodic rhythm) 放电节律形式很不规则,其ISI变异较大,取值没有明显可辨的规律,回归映像多呈彗星状。



Left first: the spontaneous firing of a hippocampal neuron; Left second: sequence of ISI; Right second: the return map of ISI; Right first: hist of ISI series

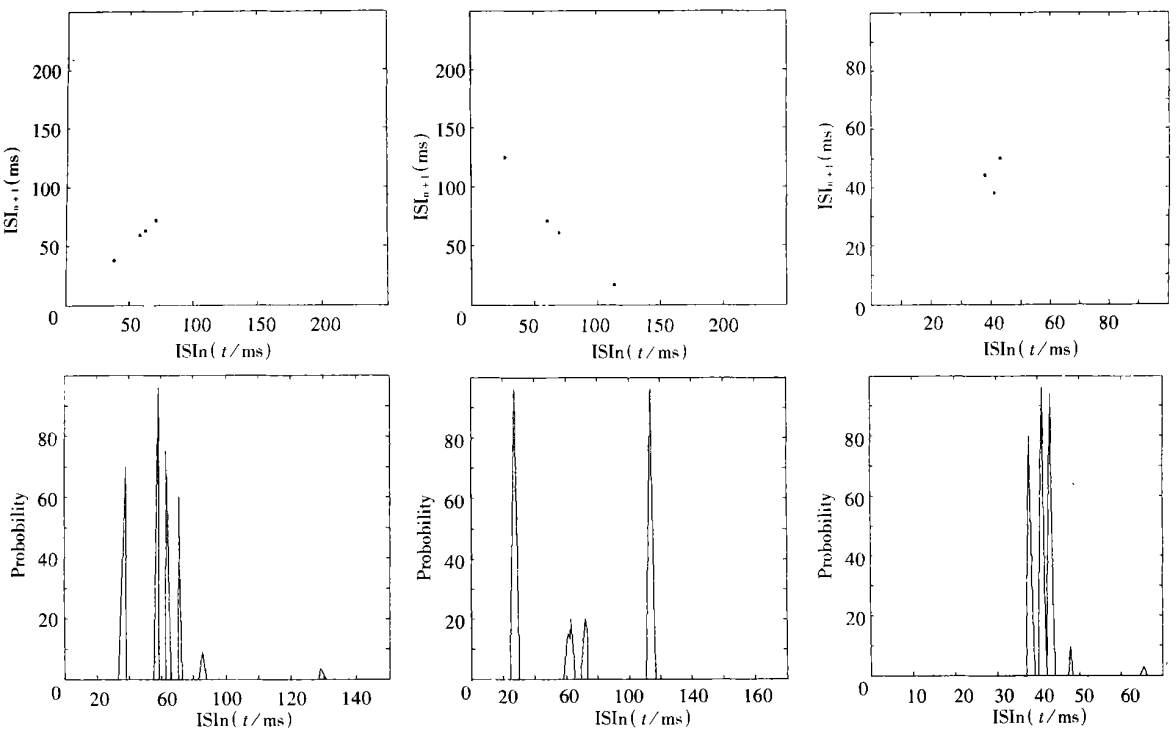
图3 整数倍节律

Fig 3 Integer multiples rhythm

2.2 辨别非周期放电节律的非稳定周期轨道

猕猴海马神经元自发放电多数为非周期放电节律,其ISI序列没有明显的几何结构,回归映像多呈"彗星"状,那么海马神经元这种不规则的放电是随机现象还是其自身的确定性机制,用通常的线性分析和随机变量的统计学方法很难作出判断。我们用UPO法来判断其确定性。方法是:用峰峰间期值的延迟嵌入生成相空间,并做轨道密度几率增强变换,原始数据的相空间轨道密度将在混沌吸引子的非稳定周期轨道附近富集。计算变换数据的分布,替代数据也做变换,最后根据位于替代数据最大尖峰外面的概率说明变换数据的密度。对数据进行周期1变换后发现高置信比(>95%)的周期1UPO。周期1轨道在角平分线上,共有4个,其中一个统计显著性为96%。非稳定周期轨道理论认为,混沌吸引子是由无穷多的非稳定周期轨道构成的。对系统UPO发现的越多,就越能精确了解系统的动力学结构。在辨认周期1轨道的窗口上,我们对轨道进行进一步的分级。同样发现了高置信比的周期2轨道和周期3轨道,从图上可以看以看到2组周期2轨道,分布在对角线对称的点对,其中一对的最大统计高于95%。有1组周期3轨道位于三角形3个顶点,其最大统计概率高于95%,这说明非周期放电也具有确定性机制。

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



Upper: The family of unstable period orbits; Lower: Maximal statistic probability of period; Left: Unstable Period-1; Middle: Unstable period-2; Right: Unstable period-3

图 4　不稳定周期轨道

Fig 4　Identify unstable period orbits in time series of non-period firing

3　讨论

作为神经系统功能单位的神经元如何编码和传递信息, 是研究神经系统功能的基础。神经元的放电是神经系统长距离传递信息的重要方式。1926 年, Adrian 提出了频率编码的概念, 认为神经元放电串的唯一重要特征就是放电频率, 神经元是通过放电频率来进行编码和信息传递的。这一提法被大量的实验所支持[7], 频率一直是评价神经功能活动的重要指标, 人们认为神经系统是通过单一神经元上冲动的频率大小或参加这一信息传递的神经元数目多少来编码的。但是, 因为放电频率实际上是放电的时间平均频率, 所以频率编码必然会丢失很多信息。越来越多的证据表明, 神经元放电活动常常表现出非线性行为[8,9], 这使得对神经元放电的机制有了进一步认识。本实验观察了猕猴海马神经元自发放电节律, 发现共有 4 种放电节律。实验结果表明: 放电节律能更全面、准确地反映神经放电所包含的信息, 更可能是神经信息编码的基础。神经系统可能是利用神经放电节律的非线性行为进行信息的编码、传输与处理。

非稳定周期轨道为揭示海马神经元自发放电编码提供了新途径, Pual 等在传统 UPO 理论基础上, 研制出一种新的可用于研究神经元系统复杂性行为的非线性动力学分析方法。这个方法利用系统局部动力学特性的变换算法, 它的变换数据集中在个别的 UPO 上。这种变换提高了状态空间中 UPO 的概率测度。本研究用 Paul 的新方法分析了猕猴海马神经元非周期节律自发放电序列, 发现了具有高度统计显著性的非稳定周期 1、2、3 轨道, 说明猕猴海马神经元自发放电的动力学机制具有确定性。

总之, 通过分析我们观察到猕猴海马神经元自发放电节律形式, 并用 UPO 方法对海马神经元自发放电节律确定性机制进行了证明。我们推测, 海马可能是利用神经放电节律的非线性行为进行信息的编码、传输与处理。但遗憾的是放电节律如何编码、传递信息、编码什么信息目前并不十分清楚。

(致谢: 本研究所用猕猴海马自发放电原始资料是由本室张长城、张光辉、罗全生、李希成等老师在 20 世纪 80 年代进行海马记忆功能研究时完成的, 对他们无偿提供原始数据表示衷心感谢!)

参考文献:

[1] Ren W, Hu S J, Xu J X. Period-adding bifurcation with chaos in the in-

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

terspike intervals generated by an experimental neural pacemaker[J]. Int J Vifrucation and Chaos, 1997, 7(10): 709—712.
[2] Paul S O. Periodic Orbits: a new language for neuronal dynamics[J]. Biophysical J, 1998, 74(8): 2776—2785.
[3] Auervach D, Cvitanovic P, Eckmann J P. Exploring chaotic motion through periodic orbits[J]. Physical Rev Lett, 1987, 58(7): 2387—2389.
[4] Michel L E, Van Quen. Unstabel periodic orbits in human epileptic activity [J]. Physical Rev E, 1997, 56(10): 3401—3411.
[5] So P, Ott E, Sauer T, *et al*. Extracting unstable periodic orbits from chaotic time series data[J]. Physical Rev E, 1997, 55(12): 5398—5417.
[6] 夏武平, 张荣祖. 灵长类研究与保护[M]. 北京: 中国林业出版社, 1995. 401—404.
[7] Rieke F, Warlan D l. Spikes: exploting the neural code[M]. Cambridge, MA: MIT, 1997. 28—54.
[8] Braun H A, Wissing H. Oscillation and noise determine signal transduction in shark multimodel sensory cells[J]. Nature, 1994, 367(2): 337—340.
[9] Hoffman R E, Shi W X. Nolinear sequence-dependent structure of Nigral dopamine neuron interspike interval fire patterns[J]. J Biophysical, 1995, 69(1): 128—137.

（编辑 汪勤俭）

个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2003)03-0244-01

肝脏原发性神经内分泌癌1例

A case report of primary neuroendocrine carcinoma in liver

王德树, 吴国庆, 石 彦 （第三军医大学附属西南医院普通外科, 重庆 400038）

患者, 男, 61岁, 因间歇性心慌、气促、大汗、面部潮红半月, 腹部进行性胀痛、肛门停止排气排便6 d, 以肠梗阻入院。查体: 消瘦, 腹膨隆, 中上腹压痛, 肝区叩痛, 肠鸣亢进。肝功示: AST 56 IU/L, GGT 97 IU/L, TP 51.9 g/L, AIB 35.9 g/L, G 21 g/L, 余正常。血常规: WBC 17.6×10^9/L, N 0.88。肾功、尿常规及胸片正常。腹部立卧位X线片示: 低位肠梗阻。经持续胃肠减压等保守治疗后病情无好转。遂行剖腹探查术, 术中见结肠肝曲与肝脏及部分大网膜粘连, 肠管受压形成梗阻, 近端结肠、小肠明显扩张。探查肝脏发现肝表面多个灰白色结节, 直径1.5～4 cm, 以右肝后叶的最大, 直径4 cm, 质硬, 与正常肝组织界限清楚, 将左肝表面直径约2.5 cm结节切除送检, 其余肿块因太多无法逐一切除未切。术后患者每晚21:00左右即出现心慌气促、大汗淋漓、呼吸困难、面部潮红等症状, 经用奥曲肽、氢化可的松琥珀胆碱等对症处理后症状缓解。术后腹部情况恢复好, 切口如期拆线, 病理报告示: 送检肝结节内见癌组织, 细胞体积小, 核浓染, 胞浆少, 免疫组化CK(+), NSE(+), Vimzntin(−), SYN(+), 诊断: 肝脏原发性神经内分泌癌。

讨论

神经内分泌癌属APUD肿瘤, 又称嗜银细胞癌。目前对其来源仍了解较少, 多数学者认为由恶性过渡性干细胞分化而来, 有人提出体内神经内分泌细胞、旁分泌细胞、神经上皮内分泌细胞、APUD及Kulchitzky细胞等发生的癌统称为神经内分泌癌[1], 好发于支气管、消化管、胰腺等部位, 偶见于前列腺、腹膜后、胆囊、子宫颈等处。临床上发现的肝脏神经内分泌癌多为肠道、胰腺等处转移所致, 原发的罕见, 而且一般无类癌综合征[2]。本例为肠梗阻患者术中偶然发现肝脏病变, 术后病理诊断为肝脏原发性神经内分泌癌, 且术前术后均有发作性的大汗、呼吸困难、面部潮红等典型的类癌综合征表现, 实属罕见。分析可能的原因为: ①肝脏存在广泛的原发肿瘤灶; ②癌细胞合成、分泌5-羟色胺、血管活性肽、组织胺等生物活性物质的功能旺盛; ③肝脏功能受损后灭活处理上述物质的能力下降。肝脏神经内分泌癌常位于肝右叶, 多为1～2个结节, 少数为多个结节[3]。本例符合这一特点。该病病程长, 进展慢, 无特异性表现, 患者多以上腹胀、纳差等症状就诊, 超声或CT等检查仅能发现肝脏占位, 对确诊该病无意义, 虽然针吸或经内镜活检偶可确诊部分病例, 但由于获得的标本少且普通染色难以将其与其它小细胞性恶性肿瘤相鉴别, 故术前难以确诊, 往往依赖于术后病理诊断。电镜、免疫组化等技术对本病诊断价值较大, 其中NSE、CgA、SYN阳性是确诊本病的确切依据。

该病预后较好。手术是治疗该病最有效的方法, 部分病例经手术可完全治愈[4], 肝动脉化疗栓塞术对于不能切除的肝内分泌癌有一定疗效, 生长抑素类似物如奥曲肽等能缩小肿瘤体积, 控制类癌综合征, 有较好的临床应用前景。

关键词: 肝脏; 原发性; 神经内分泌癌
中图法分类号: R730.269; R735.702 文献标识码: B

参考文献:

[1] 李维华. 肺神经内分泌癌的分类及诊断[J]. 诊断病理学杂志, 1994, 1(3): 169—172.
[2] 黄吉夫. 肝脏胆道肿瘤外科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999. 205—206.
[3] 杨 冬, 范子荣, 周最明. 肝脏类癌的临床诊治[J]. 临床肝胆病杂志, 2001, 17(1): 5—6.
[4] Nave H, Mossinger E, Feist H, *et al*. Surgery as primary treatment in patients with liver metastases from carcinoid tumors: a retrospective unicentric study over 13 years[J]. Surgery, 2001, 129(2): 170—175.

（编辑 张大春）

作者简介: 王德树(1964—), 男, 四川省自贡市人, 副主任医师, 主要从事胃肠道疾病诊治方面的研究, 发表论文10余篇。电话: (023)48669565

收稿日期: 2002-03-20; 修回日期: 2002-06-06

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