DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.03.021
第25卷第3期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 3
234 2003年2月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Feb. 2003

论著

文章编号:1000-5404(2003)03-0234-03

不同鼠龄和学习记忆成绩大鼠海马锥体细胞自发放电差异性研究

高 洁,隋建峰,朱志茹,黎海蒂 (第三军医大学基础医学部生理学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 结合非线性理论初步探讨不同鼠龄和学习记忆成绩大鼠海马锥体细胞(PC)的自发放电特征。方法 将实验大鼠按鼠龄和学习记忆成绩分组。年龄组分老年组(16~19月)和青年组(3~4月);学习记忆组分成绩好、差组,进行在体单电极细胞外记录。结果 海马锥体细胞自发放电序列峰峰间隔(ISI)分布图在各组均无明显规律;老年组锥体细胞自发放电ISI复杂度(C)小于年轻组,成绩差组小于成绩好组($P<0.05$);老年组三联优势模式百分比(PF)明显低于年轻组($P<0.01$),成绩差组低于成绩好组($P<0.05$)。结论 神经元ISI复杂度和优势模式百分比与年龄、记忆能力有一定相关性,提示对神经元复杂度与优势模式的分析有助于揭示神经元自发放电的信息编码特征。

关键词:海马;锥体细胞;自发放电;复杂度;优势模式
中图法分类号:R329.28;R338.26;R338.64 文献标识码:A

Differences of spontaneous discharges of hippocampal pyramidal cells in rats of different age and memory groups

GAO Jie, SUI Jian-feng, ZHU Zhi-ru, LI Hai-di (Department of Physiology, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the characteristics of spontaneous discharges of hippocampal pyramidal cells (PC) in rats in age and memory groups with the help of nonlinear theory. Methods Rats were randomly divided into age group and memory group. Age group included aged group (16—19 months) and young group (3—4 months) whereas memory group included good memory and poor memory groups in adult. Extracellular single cell recording was performed *in vivo*. Results No characteristics of the rhythm of spontaneous discharges of hippocampal pyramidal cells in distribution figure of interspike interval (ISI) were found, but the loss of complexity (C) and low percentage of favored patterns (PF) were found in age and poor memory groups. Conclusion The ISI complexity and the PF of the hippocampal pyramidal cells are correlated to age and memory, suggesting that the analysis of the complexity and favored patterns may be helpful for the discovery of the characteristics of the information coding in spontaneous discharges of hippocampal pyramidal cells.

Key words: hippocampus; pyramidal cells; spontaneous discharge; complexity; favored pattern

神经元电活动是神经系统传输和编码内外环境信息的基本方式之一。生物电信息的传输主要是通过在神经纤维上动作电位传导和突触化学传递来实现。动作电位以固有的幅度和波形呈不衰减长距离传播,从而实现神经元生物电信息的传输。现代电生理学认为动作电位串内蕴含丰富的信息。近年有研究报道应用非线性理论分析方法发现外周神经自发放电节律存在特定的变化规律[1],但中枢神经系统自发放电节律是否存在上述规律鲜有报道。海马是与学习记忆相关的重要脑区,其自发放电是否存在与之有关而用传统线性分析方法未能发现的规律?本研究通过细胞外记录不同大鼠海马锥体细胞的自发放电,结合非线性分析方法,对其电生理特性进行初步探讨。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

选用健康Wistar大鼠(第三军医大学实验动物中心提供)46只,体重120~300 g,雌雄不拘。按鼠龄分为老年大鼠组(16~19月),青年大鼠组(3~4月);另将成年大鼠通过爬杆、避暗行为测试分为学习记忆成绩好、差组。

1.2 手术、信号采集及微电极定位

大鼠以25%氨基甲酸乙酯腹腔麻醉后(1 g/kg),固定于脑立体定位仪开颅,按Pellegrino大鼠脑立体定位图谱于左侧海马对应的颅骨部位钻孔,在解剖显微镜下掀去硬脑膜,用微电极推进器将充灌1 mol/L醋酸钠加2%滂胺天蓝溶液的玻璃微电极缓慢推入海马(Bregma P:3.0, L:3.0, H:2.5~3.0 mm),作细

作者简介:高 洁(1977—),女,山西省晋中市人,硕士研究生,主要从事学习记忆的神经生物学方面的研究。电话:(023)68752254

收稿日期:2002-10-08;修回日期:2002-12-20

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

胞外记录。电极尖端直径约 1 μm, 直流电阻 10~20 MΩ。微电极引导的电活动经微电极放大器(NIHON KOHDEN MEZ-7200)用 Power lab/4sp(AD Instrument)系统采集分析。所用软件为 CHART4.1, 采样频率为 10 kHz, 同步监听放电信号。在无外界刺激情况下稳定记录放电 300~1 000 s 作为自发放电[2]。随后对采集信号进行神经元筛选, 并通过波形、频率等特征剔除中间神经元, 以确保分析单一海马锥体细胞。海马锥体细胞与中间神经元的区别标准如下: 如果锋电位波宽(w)小于 250 μs, 频率(r)> 0.04 w−3.5 是中间神经元; 而主峰电位波宽(w)大于 250 μs, r< 0.04 w−3.5 是锥体细胞[3]。实验结束后, 将玻璃微电极通以 5~6 μA 直流电(接负极), 做连续冰冻切片, 以确定记录部位。

1.3　统计学处理

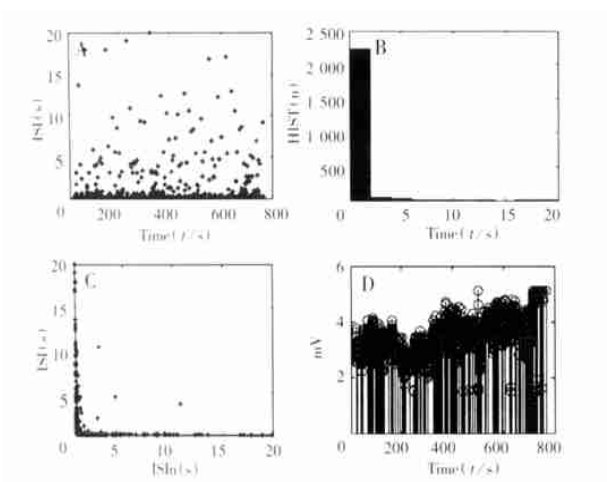
应用本教研室锋电位分析软件将采集信号先转化为 ISI 序列, 并进行复杂度、平均频率、三联优势模式分析。所有数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 采用 SPSS10.0 软件进行 t 检验和相关性分析。

2　结果

实验连续记录到 146 个神经元, 经锋电位分析软件筛选得到 58 个锥体细胞: 老年组 11 个, 年轻组 16 个; 学习记忆成绩好组 18 个, 成绩差组为 13 个。

2.1　海马锥体细胞自发放电特征

海马锥体细胞自发放电呈简单和复杂锋电位两种形式, 复杂锋电位以 2~7 个锋电位组成, 且大多幅度逐渐减低, 间隔逐渐加大。实验以简单锋电位居多。海马锥体细胞自发放电 ISI 分布图包括散点图、回归图等, 无明显规律, 见图 1。



A: Scattering map; B: Histogram of ISI distribution; C: Returning map; D: Number of spike

图 1　ISI 分布图

Fig 1　Distribution of ISI

2.2　各组大鼠海马锥体细胞 ISI 复杂度的差异

老年组 11 个锥体细胞和年轻组 16 个锥体细胞 ISI 复杂度分别为 0.63±0.10 和 0.80±0.23; 学习记忆成绩好、差组分别为 0.97±0.13 和 0.80±0.24。即老年组锥体细胞自发放电 ISI 复杂度小于年轻组($P< 0.05$), 成绩差组复杂度小于成绩好组($P< 0.05$), 见图 2。

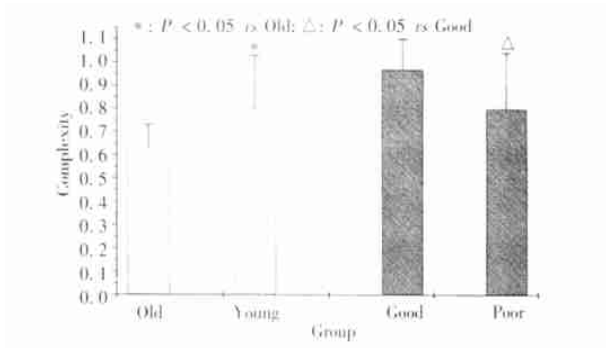


图 2　鼠龄和学习记忆对复杂度的影响

Fig 2　The effect of age and memory on C

2.3　各组大鼠海马锥体细胞自发放电三联优势模式百分比的差异

三联优势模式百分比在老年组与年轻组分别为 0.18±0.09 和 0.30±0.13; 成绩好组和成绩差组分别为 0.28±0.14 和 0.16±0.10。老年组明显低于年轻组($P< 0.01$), 成绩差组低于好组($P< 0.05$), 见图 3。

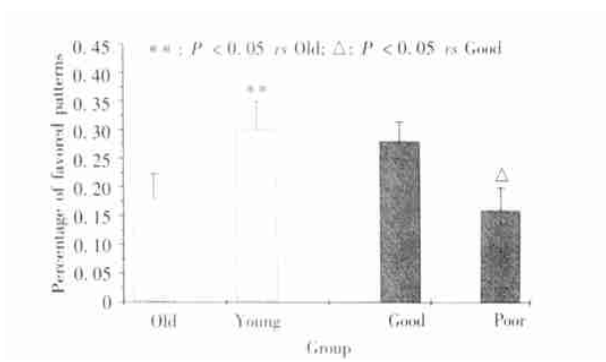


图 3　鼠龄和学习记忆对优势片段百分比的影响

Fig 3　The effect of age and memory on PF

2.4　各组大鼠海马锥体细胞自发放电平均频率的差异

老年组与年轻组分别为 5.10±3.52 和 7.52±4.17, 老年组大鼠放电频率与年轻组比较无差异($P> 0.05$); 成绩好组和成绩差组分别为 9.19±4.31 和 6.58±1.89, 成绩好组放电频率高于成绩差组($P< 0.05$)。

2.5　各组大鼠海马锥体细胞 ISI 复杂度、优势模式百分比和平均频率的相关性

只有老年组平均放电频率与复杂度呈负相关($P< 0.05$), 与优势模式百分比呈显著负相关($P< 0.01$), 其余指标各组都不相关, 见表 1。

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

表1 各组大鼠海马锥体细胞不同指标的相关性

Tab 1 Correlations of different indexes of pyramidal cells in each group

Index	Young		Aged		Good		Poor	
	r	*P*	*r*	*P*	*r*	*P*	*r*	*P*
C-F	−0.780	0.783	−0.576	0.049	0.071	0.977	0.251	0.432
C-PF	−0.104	0.713	0.243	0.446	−0.404	0.086	−0.317	0.315
F-PF	0.366	0.179	−0.78	0.008	−0.021	0.932	0.251	0.418

C: Complexity; PF: Percentage of FP; F: Frequency

3 讨论

神经元兴奋时的信息往往通过动作电位体现，凭肉眼观察只能对放电序列作出象阵发性、周期性、簇状等粗略描述。而且通常只分析动作电位平均频率的变化，提取信息也有限，无法反映神经系统的动力学改变。近年研究提示单个神经元的放电序列及放电脉冲间隔看似不规则，却可能蕴含某种信息。本实验应用线性分析方法平均频率和非线性分析方法对放电脉冲间隔的分布及序列特点进行分析，试图寻找规律。随着非线性理论的兴起，大量研究证实神经系统具有高度的非线性，而复杂度作为一个简单直观的非线性检测指标备受关注。根据 Lemlel 和 Ziv 的定义，由有限集合中的元素（个数为 α）所构成的序列（长度为 n）的复杂性 C(n)，将其归一化后为复杂度[4]。它代表该序列类似于随机序列的程度，随机序列的复杂性最高。有文献[5]报道复杂度的进行性丢失与生理性衰老（即老化）有关。本实验所得结果与文献报道一致，证明复杂度的变化确与年龄有关，即随着年龄增加有复杂度减少趋势（复杂性的丢失）；对学习记忆成绩差异组的分析发现亦有显著差异。但学习记忆能力的差异能否由海马神经元自发放电的差异体现出来，或海马神经元自发放电的差异能否导致学习记忆能力的不同，仍需进一步研究证实。

段玉斌等[6]报道损伤神经元自发放电存在周期规律，并可通过加周期的方式转化，即损伤神经自发放电存在周期一、二、三等节律，且放电节律可由周期一依次向周期二、三等转化，呈现加周期的方式。本实验未发现与外周神经损伤后自发放电 ISI 分布相似的规律，这可能与大鼠海马锥体细胞的正常功能相符。海马神经元作为感觉整合中枢随时都在接受和处理大量信息，通过联系其他脑区与以往的存储信息校对后形成记忆[7]。而且在整体实验中，神经网络联系的复杂性和动物整体机能状态随时都在变化，神经元携带的信息也随之千变万化。因此，海马锥体细胞 ISI 分布变化很大，可能蕴含的规律也更复杂。

本实验采用快速优势模式检测法，主要分析三联片段。所谓优势模式即某些片断模式在该放电序列出现的次数明显多于在随机序列可能出现的次数。早在 20 世纪 80 年代就有人发现狗海马神经元具有特定的放电模式。文献[8]报道自由活动和麻醉动物中枢的不同核团神经元自发放电都存在优势模式，并且认为优势模式的出现可能与神经网络的动力学调整及行为输出的某种特性有关。本实验表明近 96.5% 被检测神经元都有最优三联优势模式，而且不同神经元具有相同的优势模式，如 111 或 110 或 101（ISI 在 0～35 ms 为 1，35～70 ms 为 2，……ISI 大于 350 ms 为 0，因此 111 即是相邻的三个神经元 ISI 分别都在 0～35 ms）但以 111 居多，在长时间记录中始终存在。但也有认为其随着行为的消失而消失[9]。本实验表明各组三联优势模式百分比差异明显，提示海马锥体细胞自发放电优势模式可能与海马参与编码某种信息有关，但是否为学习记忆相关信息，有待进一步探讨。

参考文献：

[1] 段玉斌，管 忠，胡三觉，等. 损伤神经元自发放电节律的转化方式[J]. 第四军医大学学报，1999，(3)：213－215.

[2] Tetko I V, Villa A E. A pattern grouping algorithm for analysis of spatiotemporal patterns in neuronal spike trains. 2. Application to simultaneous single unit recordings[J]. J Neurosci Methods, 2001, 105(1): 15－24.

[3] Wiebe S P, Staubli U V. Recognition memory correlates of hippocampaltheta cells[J]. J Neurosci, 2001, 21(11): 3955－3967.

[4] 顾凡及，宋如垓，王炯炯. 不同状态下脑电图复杂性探索[J]. 生物物理学报，1994，10(3)：442－446.

[5] Di Mascio M, Di Giovanni G, Di Matteo V, *et al*. Reduced chaos of interspike interval of midbrain dopaminergic neurons in aged rats[J]. Neuroscience, 1999, 89(4): 1003－1008.

[6] 段玉斌，管 忠，胡三觉. 损伤神经放电节律变化中的混沌与阵发现象[J]. 生物物理学报，1998，14(3)：466－472.

[7] Wiener S I, Berthoz A, Zugaro M B. Multisensory processing in the elaboration of place and head direction responses by limbic system neurons[J]. Cognitive Brain Res, 2002, 14(1): 75－90.

[8] Tetko I V, Villa A E. A pattern grouping algorithm for analysis of spatiotemporal patterns in neuronal spike trains. 1. Detection of repeated patterns[J]. J Neurosci Methods, 2001, 105(1): 1－14.

[9] 王 铭，顾蕴辉，孙泽今，等. 快速检测神经元放电串中优势模式[J]. 北京医科大学学报，2000，32(6)：533－535.

（编辑 汪勤俭）

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