DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.03.022
第25卷第3期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 3
2003年2月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Feb. 2003

文章编号:1000-5404(2003)03-0237-03

论著

吗啡导致猕猴海马神经元自发放电节律转变

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 分析吗啡对猕猴海马神经元自发放电节律的影响。方法 分析注射吗啡后猕猴海马神经元自发放电节律变化情况,并用数学方法加以验证。结果 在吗啡作用下海马神经元自发放电节律会发生转变,纳络酮可以逆转这种转变,共观察到4种转变形式。为了研究这种转变的动力学机制,用数学模型模拟吗啡对神经元自发放电节律的影响,得到了与在体实验一致的结果。结论 在吗啡作用下海马神经元自发放电节律发生转变。利用数学模型研究发现节律转变的原因是吗啡改变了膜上钠、钾、超极化电流等离子通道的功能所致,节律转变的过程存在着混沌规律。

关键词:吗啡;海马;自发放电;放电节律;混沌吸引子
中图法分类号:R329.28;R338.26;R996 文献标识码:A

Pattern and dynamic changes of spontaneous discharge of hippocampal neurons induced by morphine 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 observe the effect of morphine on the pattern of spontaneous discharge of hippocampal neurons in rhesus monkey. Methods Changes of the spontaneous discharge of hippocampal neurons induced by morphine in rhesus monkey were analyzed and confirmed by a mathamatic model. Results Changes of the rhythm pattern of spontaneous discharge of hippocampal neurons induced by morphine were found. The morphine effect could be inhibited by naloxone. Four kinds of changes were found. All these phenomena could be simulated from a neuron dynamic model involving sodium current, potassium current T-type calcium current, sag current, persistent sodium current, A current, leak current and applied current. Conclusion The rhythm pattern can be modified by Na^+ channel and K^+ channel and A current channel of their neurons.

Key words: morphine; hippocampus; spontaneous discharge; discharge rhythm; chaos attractor

吗啡是一种常用外源性阿片类镇痛药,长期应用后可发生耐受、心理/生理依赖、戒断综合症和自身觅药行为。伴随阿片类药物应用产生的阿片耐受与依赖不仅是一个医学问题,更是一个日趋严重的社会问题。边缘系统中的海马是脑内重要痛觉调制部位,长期以来解剖学和电生理的研究已证实伤害性的体感或内脏刺激的信息都可到达海马,海马在吗啡耐受形成过程中起着重要作用[1]。神经元的放电是神经系统传递信息的重要方式,因此研究吗啡作用下海马神经元放电规律的变化对揭开阿片耐受之谜是十分有帮助的。

随着非线性理论在生物科学的应用,人们发现放电节律能较全面、准确地反映神经放电所包含的信息[2]。我们前期的分析工作发现猕猴海马神经元自发放电存在周期放电、阵发放电、整数倍放电、不规则放电4种放电模式。本研究在此基础上探讨了吗啡对猕猴海马神经元自发放电节律的影响,并用神经元数学模型进行了数值模拟,得到了近似的结果。

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[3]: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,1岁半左右。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

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

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 4 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。

吗啡（沈阳第一制药厂），纳络酮（Sigma 公司），侧脑室给药。8 只猕猴，在每只猕猴上记录海马神经元自发放电 10 min 左右，经侧脑室注入 5 mg/kg 吗啡，比较注入吗啡前后海马神经元自发放电的变化情况。

1.2 数值模拟

在 Wang[4] 模型和 Hutcheon[5] 模型基础上建立一种包含 8 种电流的神经元兴奋动力学模型，电流分别为：快钾电流 I_k、快钠电流 I_{Na}、T 型钙电流 I_T、超极化激活的 h 电流 I_h、持续钠电流 $I_{Na(p)}$、漏电流 I_L、膜偏电流 I_{app}、与超极化有关的钾电流 I_A，模型数学形式如下：

$$C_m dV/dt = -I_t - I_h - I_{Na} - I_k - I_{Na(p)} - I_L - I_A + I_{app}$$

$$dX/dt = \varphi_x(X_\infty(V) - X)/\tau_x(V)$$

其中 V 为跨膜电位，X 为 I_k、I_{Na}、I_T 的激活变量，跟参数的取值见文献[3,4]。

2 结果和分析

2.1 吗啡对海马神经元自发放电节律的影响

8 只猕猴注射吗啡后有 3 只观察到放电节律改变。在这 3 只猕猴的 7 个细胞放电序列我们观察到，注射吗啡后海马神经元自发放电节律发生了转变，一共观察到 4 种转变形式。

2.1.1 周期 1 放电节律向周期 2 节律的改变 见图 1A，海马神经元自发放电节律为周期 1 放电，当注入吗啡后，神经元放电节律转变成周期 2 放电。实验中观察到神经元放电首先经过一段时间“混乱”的，看似无规律的放电状态，进而放电节律逐渐转变成周期 2 放电节律，画出“混乱”状态不规则放电的回归影响映射图可发现其 ISI 的一阶回归映射显现一定的几何结构，其与角等分线的交点对应于周期 1 节律时的映象分布点，其余象点有方向的分布于两条直线段上，映射的迭代过程具有明显的伸缩与折叠操作的特点，A 为部分放大后的图形。

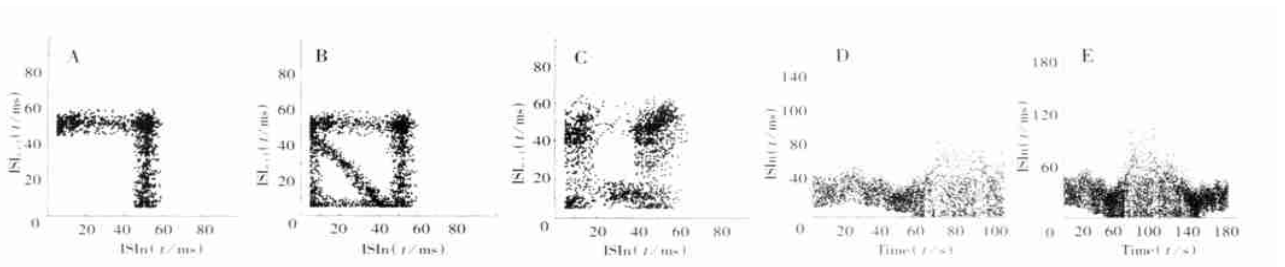
2.1.2 周期 1 节律向整数倍节律的改变 见图 1B，神经元放电为周期 1 放电节律，当注入吗啡后，神经元放电节律从周期 1 节律转整数倍节律，这种整数倍节律是整数倍节律的 1 种特殊形式，只有 3 个整数倍，类似于周期 3 节律，但 3 种 ISI 呈整数倍，所以是整数倍的一种特例。实验中观察到 ISI 经过了一段“混乱”的放电状态后节律发生了改变，其 ISI 的一阶回归映射显现一定的几何结构，其与角等分线的交点对应于周期 1 节律时的映象分布点，其余象点有方向的分布于四边形的其余 3 个顶点上，映射的迭代过程具有明显的伸缩与折叠操作的特点。

2.1.3 周期 2 节律向整数倍节律的改变 见图 1C，神经元放电为周期 1 节律放电，注入吗啡后自发放电节律从周期 2 放电转变成整数倍放电。为了看清未注入吗啡前放电节律，对左图进行局部放大，即图 C 可以看到，呈“口”字形。

2.1.4 周期 1 向非周期转变 见图 1D，神经元放电为周期 1 节律放电，注入吗啡后自发放电节律从周期 1 放电转变成非周期放电节律，其回归影像图形状为以一个圆球为中心发散地向外扩展开。

2.2 纳络酮对吗啡作用的影响

测试吗啡作用后，侧脑室注入 5 mg/kg 的纳络酮，可以看到，放电节律又逐渐恢复到周期 1 放电，见图 1E，可见纳络酮逆转了吗啡的作用。



A: The periodic transition from period one to period two; B: The periodic transition from period one to integer multiples rhythm; C: The periodic transition from period two to integer multiples rhythm; D: The periodic transition from period two to nonperiodic rhythm; E: The periodic transition from nonperiodic rhythm to period one induced by naloxone

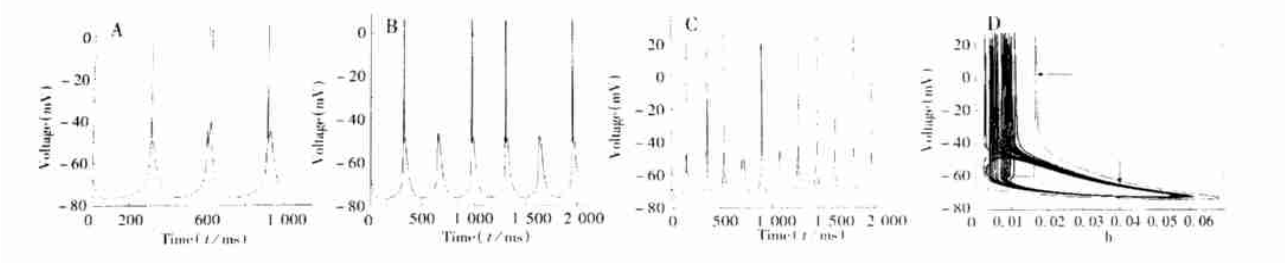
图 1 吗啡作用下放电节律的转变回归映像局部放大图

Fig 1 Amplification of one part of the return map induced by morphine

2.3 值模拟结果

当 I_{app} 为－0.8 nA，g_{Na} 为 80 ms/cm²，并加入少量随机扰动，模拟实验条件下的放电，当 A 通道最大电导从 1 到 2.3 ms/cm² 的值时，神经元展现出了从周期 1 放电到周期 2 放电节律的分岔，见图 2A，不考虑 A 电流的影响，取 g_{Na} 为 42 ms/cm²，I_{app} 分别取从－0.45～－1.8 nA 的值，可观察到膜电位从静息状态转变为阈下周期震荡、到周期 2 放电、到整数倍放电节律的分岔过程，见图 2B。

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



A: The transition of discharge pattern from period-one to period-two pattern; B: The transition of discharge pattern from period-two to integer multiples; C: The transition of discharge pattern from period-one to integer multiples; D: Attractor orbit

图 2　不同参数取值时放电节律的转变

Fig 2　The transition of dischargepattern of membrane potential induced by change of parameter

取 g_A 为 5.0 ms/cm^2, I_{app} 为 −0.8 nA, , 当 g_{Na} 从 230 到 100 ms/cm^2 的值时, 神经元放电呈现从周期一到整数倍放电的转化过程, 见图 2C。当出现整数倍放电节律时, 做膜电位与 h 电流以的相平面图, 可见此节律对应于平面上的奇异吸引子结构, 见图 2D。

3　讨论

神经元的放电节律能够全面、准确地反映神经放电所包含的信息, 本研究分析了吗啡对猕猴海马神经元自发放电节律的影响。发现在吗啡作用下, 海马神经元自发放电节律会发生转变, 共观察到 4 种节律的改变: 周期 1 到周期 2、周期 1 到整数倍节律、周期 2 到整数倍节律、周期 1 到非周期放电节律。这四种情况下 ISI 的回归映像图都有明显的几何形状, 映射的迭代过程具有明显的伸缩与折叠操作的特点, 说明转变过程存在着混沌规律。纳络酮可以逆转吗啡的作用。

文献[6~9] 报道吗啡作用下, 会增加 K^+ 电流, 增加 K^+ 电导引起膜的超极化, 同时降低 Na^+、Ca^{2+} 离子通透性, 本校实验研究也得到相关的结论[10]。为了确定吗啡作用下放电节律转变的动力学机制, 把实验结果与数学模型的结果相对比, 相应参数的改变参照上述文献。可以看到当数学模型分别改变 K^+、Na^+ 通道电导和超极化电流, 产生的模拟放电序列改变与实验结果吻合得很好, 说明模型拟合的动力学机制可能就是神经元所遵从的规律。我们在模型中改变超极化电流所导致的放电序列的改变是由于加大超级化电流会引起膜电位超极化程度, 从而引起超极化激活的 h 电流的活动加剧。这种阈下超极化激活机制对超极化具有反弹作用, 在一定极化程度下引起膜电位震荡。做出膜电位与 h 电流的相平面图。发现运动轨道是奇异吸引子形状。这个吸引子包括两部分几何结构, 即阈下震荡形成的 A 相和放电过程形成的 B 相, 膜电位震荡对应轨线时而在 A 相中游历(表现为膜电位的阈下震荡), 时而在 B 相中游历(表现为放电)。轨线在两相中游历及在两相间跳跃服从混沌规律, 因而节律呈现不规则性; 增大 K^+ 电导可以引起对超极化反弹活动抑制作用的增大, 这会使得处于阈下震荡状态的膜电位靠近阈值造成其动力学状态在阈上的吸引子中游历的平均时间增大, 放电从阈下震荡到周期 1 到周期 2 放电的转变; 减小 Na^+ 通道最大电导会引起阈值增高, 造成系统状态在阈上吸引子中游历的平均时间减小, 放电呈现从周期 1 到整数倍节律的转变。

总之, 吗啡导致的海马神经元放电节律的转变原因是细胞膜上的离子通道功能发生了改变, 转变过程存在着混沌规律。

(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 20 世纪 80 年代在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] 方　圆. 促肾上腺皮质激素的中枢抗阿生镇痛效应肌起作用机制分析[J]. 生理科学进展, 1995, 26(2): 137−140.

[2] Hiffman 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.

[3] 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.

[4] Wang S J. Multiple dynamical odes of thalamic relay neurons: thythmic bursting and intermittent phase-locking[J]. Neuroscience, 1994, 59(1): 316−321.

[5] Hutcheon B, Miura R M, Yarom Y, *et al*. Low-threshold calcium current and resonance in thalamic neurons: a model of frequency preference[J]. J Neurophysiology, 2002, 71(2): 583−594.

[6] 张　敏, 聂　琳, 刘　磊. 兴奋性氨基酸介导的膜电流可被吗啡阻断[J]. 生理学报, 1995, 47(3): 253−258.

[7] Biser P S, Thayne K A, Fleming W W. Na^+-K^+ ATPase alpha-subunit isoform distribution and abundance in guinea-pig longitudinal muscle/myenteric plexus after exposure to morphine[J]. Brain Res, 2002, 931(2): 186−193.

[8] Arguelles C F, Torres L, Jorge E. Peripheral antinociceptive action of morphine and the synergistic interaction with lamotrigine[J]. Anesthesiology, 2002, 96(4): 921−925.

[9] Di-Sole F, Guerra L, Bagorda A. Naloxone inhibits A6 cell Na^+/H^+ exchange by activating protein kinase C via the mobilization of intracellular calcium[J]. Exp Nephrol, 2001, 9(5): 341−348.

[10] 谢　燕, 余争平, 朱光绪, 等. 吗啡对大鼠培养海马神经元钙离子作用机制研究[J]. 第三军医大学学报, 2002, 24(2): 155−157.

(编辑　汪勤俭)

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