DOI: 10.16016/j.1000-5404.1999.05.011

大鼠海马 CA1区长时程增强的发育变化*

熊 鹰** 蔡文琴*** 李希成 隋建峰 (第三军医大学基础医学部生理学教研室) 重庆, 400038

提 要 目的: 探讨大鼠发育过程中海马 CA1区 LTP的变化。方法: 刺激海马 CA3区 Schaffer侧枝,在 CA1锥体细胞层记录 LTP。结果: 1月龄大鼠海马 CA1区 LTP诱出率最低, 2 6月龄大鼠诱出率均高于 1月龄大鼠;串刺激后, 2月龄大鼠平均峰潜期显著缩短,而 1 6月龄大鼠无明显变化;各年龄组大鼠 PS峰值在串刺激后均明显增加,但 1月龄大鼠 PS增幅最小, 2月龄大鼠 PS增幅最大, fEPSP斜率的变化与 PS增幅的变化基本一致。结论: LTP随发育进程有明显的变化, 2月龄大鼠 LTP效应强于其他年龄组大鼠。

关键词 长时程增强;发育;海马

中图法分类号 R338.1

发育是一个贯穿生命始终的过程。从功能的角度可以将大鼠发育过程大致分为发育早期(3月龄以前)、成年期(3~ 12月龄)和发育晚期(或称衰退期, 12月龄以上)[1]。长时程增强(Long-term potentiation, LTP)是一种快速建立而持久作用的突触反应性增强,由于具有协同性、特异性、长时性等特点,被认为是学习、记忆的神经基础[2]。关于 LTP在发育过程中的变化,有少数研究者在海马和皮层脑片上进行了观察,认为大鼠小于 2周不能在海马诱导 LTP的产生,而其它脑区,如视皮层、躯体感觉皮层的 LTP在出生后一周消失,与海马 LTP发育变化不一样[3,4]。目前关于 LTP发育的研究多采用离体脑片的方法,以在体 LTP记录的方法研究不同发育阶段尤其是发育早期 LTP变化的报道很少。本实验采用在体 LTP记录的方法研究发育过程中大鼠 LTP的变化特点。

1 材料与方法

1.1 动物

Wistar大鼠,年龄分别为1 2 6月龄。本校实验动物中心提供。

1.2 在体 LTP记录方法

以 25%乌拉坦和 1%氯醛糖混合液(3 ml/kg, ip)麻醉大鼠,除去与海马相对应的颅骨和硬脑膜,将刺激电极推置于 CA3区辐射层(P: 3.2, LR: 2.3, H: 3.0),刺激 Schaffer侧枝。记录电极采用金属绝缘电极,直径 0.2 mm,阻抗 <5kΩ,用微电极推进器推置于 CA1区锥体细胞层(P: 4.0, LR: 2.3, H: 2.0),记录锥体细胞层的突触反应和细胞放电。以刺激器和隔离器输出频率 0.5 Hz,波宽 0.1 ms的方波进行单刺激,其刺激强度相当于引起突触反应和峰电位最大振幅 50%的强度,以此作为测试刺激。将刺激所诱发的场兴奋性突触后电位(fEPSP)和群体峰电位(PS)经前置放大器输至双线示波器和 Dantec-2000 C型神经肌电记录仪。开始记录时,调节刺激强度使 PS振幅和 fEPSP斜率分别为其最大值的 50%~ 60%。在诱发 LTP时,先至少记录 15 min的 CA1区锥体细胞对单个脉冲刺激 Schaffer侧枝的反应,待电位反应平稳后施予串刺激,频率 100 Hz,串长 1 s,强度、波宽与测试刺激相同。15 min后,用测试刺激进行检测,连续观察 60 min,如果串刺激后 PS振幅增大 30%以上,并持续超过 30 min,即可认为该动物的海马 Schaffer侧枝与 CA1区锥体细胞的突触部位产生了 LTP现象。

1.3 统计学处理

峰潜期为从刺激伪迹到 PS波峰的时间。突触传递增强的计算方法是串刺激后单脉冲诱发的 PS的振幅与串刺激前单脉冲诱发的 PS的振幅平均值之差再除以该平均值,即以 PS增幅的相对百分率作为衡量 LTP效应的指标。不同组之间 LTP强化程度的比较采用串刺激后某一时间段内振幅增大的百分率以 *t*检验比较差异是否显著。

2 结果

2.1 LTP诱出率的比较

海马 CA1区群体电位波形主要由 fEPSP和叠加于其上的 PS两个成份组成。无论以 PS或 fEPSP为指标, 1月龄大鼠 LTP的诱出率均是最低,虽然 2月龄大鼠 LTP诱出率稍高于 6月龄大鼠,但两者差异不显著($P > 0.05$),见图 1。

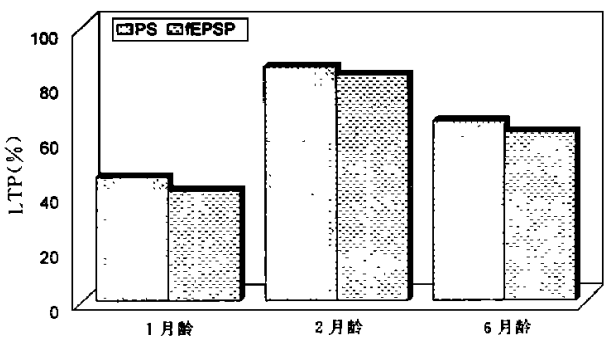


图 1 发育早期和成年大鼠 LTP诱出率的比较

Fig 1 Comparison of the probability of the induction rate of LTP between early developmental stage and adult rats

* 国家自然科学基金资助项目, No. 39670249

** 熊 鹰,男, 33岁,讲师,博士

*** 组织学与胚胎学教研室

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

2.2　串刺激前后各组大鼠海马 CA1区 PS峰潜期的比较,见表 1

串刺激(TS)后,2月龄大鼠平均峰潜期较串刺激前显著缩短($P < 0.05$),1、6月龄大鼠平均峰潜期无明显的缩短($P > 0.05$)。

2.3　各组大鼠串刺激后 PS及 fEPSP斜率增幅的比较

见图 2,1、2、6月龄各组大鼠 PS峰值在串刺激后均明显增加,其中 2月龄大鼠 PS增幅的百分率较其他两组升高得更为显著($P < 0.05$),平均峰潜期较串刺激前显著缩短,持续时间达 1 h以上。1月龄组大鼠串刺激后,PS增幅百分率升高最小,与 2月龄小鼠相比差异显著($P < 0.01$)。fEPSP的变化与 PS的变化基本一致,见图 3。表明 2月龄组大鼠 LTP效应明显强于其他年龄大鼠。

表 1　串刺激前后海马 CA1区 PS峰潜期的变化(t /ms,$\bar{x} \pm s$)

Tab 1　Changes of spike latency of PS in hippocampal CA1 area before and after tetanic stimulus(t /ms,$\bar{x} \pm s$)

Group (Month)	n	Pre-TS	Post-TS
1	7	3.21± 0.53	2.97± 0.41
2	8	3.11± 0.29	2.59± 0.21*
6	7	3.09± 0.43	2.76± 0.42

* : $P < 0.05$ *vs* pre-TS

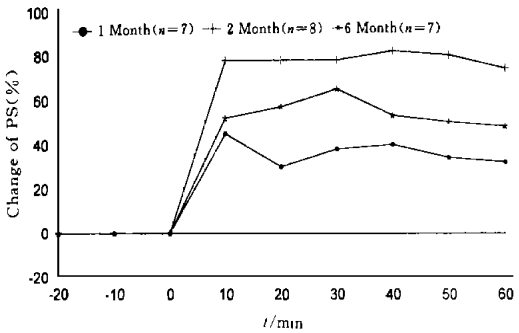


图 2　串刺激后发育早期大鼠和成年大鼠 PS峰值的比较

Fig 2　Comparison of PS amplitude after tetanic stimulation between early developmental stage and adult rats

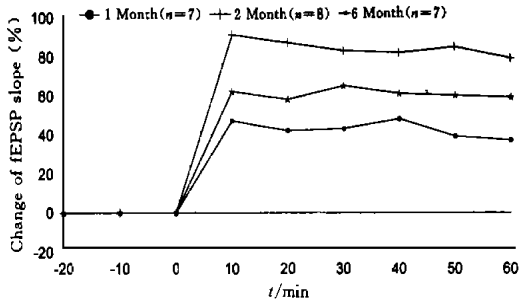


图 3　发育早期和成年大鼠刺激后 fEPSP斜率的比较

Fig 3　Comparison of fEPSP slope after tetanic stimulation between early developmental stage and adult rats

3　讨论

LTP现象最先是在整体动物上发现的[5],后来才发展到在离体脑片上进行研究。以整体动物为实验对象可以完整地反映机体生理状态,有离体脑片不具备的优越性。来自 CA3区锥体细胞的 Schaffer侧枝与 CA1区锥体细胞树突形成突触,刺激 Schaffer侧枝使 CA1区锥体细胞任何树突层受刺激均可诱出 LTP。常用 PS振幅增大或 fEPSP斜率增大来判定突触传递是否强化以及是否出现 LTP[6]。本实验以频率 100 Hz,串长 1 s的强直刺激在各年龄组均不同水平地诱发出 LTP,其持续时程与文献报道一致。

LTP的发育变化近来引起一些学者的兴趣。Ito[7]发现 NMDA受体 ε1亚单位基因敲除小鼠 LTP的幅度降低,在 2~3周减少到最低。Teyler的实验表明大鼠生后 6~10 d在海马和皮层就可诱出 LTP,生后 15 d LTP的幅值最高。Barnes[8]曾报道 28~32月龄大鼠 LTP效应远较 10~16月龄大鼠差,而且在空间分辨学习任务中记忆力也较差,表明发育过程中 LTP效应与学习、记忆紧密相关。本实验研究了 1、2、6月龄大鼠在体 LTP的发育变化,结果显示,1月龄大鼠 LTP的诱出率最低;串刺激后,2月龄大鼠平均峰潜期较串刺激前显著缩短,1、6月龄大鼠无明显变化;各年龄组大鼠 PS峰值以及 fEPSP斜率在串刺激后均明显增加,2月龄大鼠 PS和 fEPSP斜率增幅的百分率较其他两组升高得更为显著。这些结果表明,随发育的进程,海马 CA1区 LTP现象由弱到强,进而减弱,2月龄大鼠 LTP效应明显强于其他年龄大鼠,这一特点与学习记忆行为的发育变化基本吻合。

参考文献

1　Hoffmann H, Hunt P S, Spear N E. Ontogenetic differences in the association of gustatory and tactile cues with lithium chloride and footshock. Behavioral and Neural Biology, 1996, 53(2): 441

2　Bliss T V P, Collingridge G L. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. Na-

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

ture, 1993, 361(6427): 31
3 Bolshakov V Y, Siegelbaum S A. Regulation of hippocampal transmitter release during development and long-term potentiation. Science, 1995, 269(5237): 1730
4 Durand G M, Kovalchuk Y, Konnerth A. Long-term potentiation and functional synapse induction in developing hippocampus. Nature, 1996, 381(6577): 71
5 Bliss T V P, Gradner-Medwin A R. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. J Physiol, 1973, 232(2): 357
6 Scharfman H E. Postsynaptic firing during reptitive stimulation is required for long-term potentiation in hippocampus. Brain Res, 1985, 331(1): 267
7 Ito I, Sakimura K, Mishina M, *et al*. Age-dependent reduction of hippocampal LTP in mice lacking N-methyl-D-aspartate receptor epsilon 1 subunit. Neurosci-Lett, 1996, 203(1): 69
8 Barnes C A. Memory dificits associated with senescence: A neurophsiological and behavioural study in the rat. J Comp Physiol and Psychol, 1979, 93(1): 74

(收稿: 1998-07-14;修回: 1998-10-07)
(编辑 汪勤俭)

Developmental changes of long-term potentiation in hippocampus CA1 region in rats*

Xiong Ying, Cai Wenqin, Li Xicheng, Sui Jianfeng (Department of Physiology, Faculty of Basic Medical Sciences, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract **Objective**: To investigate the developmental changes of long-term potentiation (LTP) in the hippocampus CA1 region. **Methods**: Schaffer lateral branch in CA3 region was simulated to record LTP in CA1 region. **Results**: The probability of the induction of LTP in the CA1 region in 1-month-old rats was the lowest among all groups. The PS amplitude and fEPSP slope of different age rats were significantly increased after tetanic stimulation but the intensity of LTP in 2-month-old rats was stronger than those in 1-month-old and 6-month-old rats. **Conclusion**: There are obvious developmental changes of LTP and the intensity of LTP in 2-month-old rats is the highest.

Key words long-term potentiation; development; hippocampus; rat

* This project was supported by the National Natural Science Foundation of China, No. 39670249

(上接 331页)

3 讨论

本组异丙酚用于人流、脓肿切开引流等门诊手术,患者入睡快,苏醒也快,且醒后对手术无记忆,无恶心、呕吐及嗜睡等不良反应,可尽快的恢复正常活动,术后观察数小时即可离院。

异丙酚对心血管及呼吸系统有一定的抑制作用,用药后血压和心率明显下降,但基本稳定在正常范围内,可不予处理,这一现象与体血管扩张,外周阻力降低有关[1]。异丙酚可引起呼吸变浅、暂停及随之发生的 SpO_2降低等,一般持续时间短暂,不需作特殊处理,保持呼吸道通畅可自行恢复,有条件时可给予鼻导管吸氧。局部注射疼痛是异丙酚本身对血管内膜的刺激所致,预先注射利多卡因可减少疼痛发生率[2]。

本组截石位手术中 7例出现较剧烈的肢体活动以及用药后患者双下肢松弛并自腿架上滑落,这一现象说明:异丙酚在深镇静条件下有一定的肌松作用,提醒我们术前准备时应将患者双下肢固定于腿架上,以免术中双腿滑落而影响手术操作。

异丙酚不具备镇痛作用,在神经末梢丰富的部位如会阴部手术时,患者体动较多,而且随刺激增强而加剧,此时需加大异丙酚用量。异丙酚对心血管的抑制及对呼吸的抑制也加强[3],因此,凡是需要镇痛而时间又长的手术单独用异丙酚,效果不理想应适当辅助镇痛剂。

关键词 异丙酚;门诊手术
中图法分类号 R971

参考文献

1 郭忠武.新型静脉麻醉药异丙酚的药理作用.国外医学:麻醉学与复苏分册, 1989, 10(2): 101
2 Hiller A, Saarnivaara L. Injection pain, cardiovascular changes and recovery following induction of anaesthesia with propofol in combination with alfentanil or ligocaine in childern. Acta Anaesthesiol Scand, 1992, 36(9): 546
3 Sebel P S, Lowdon J D. Propofol: A new intravenous anesthesic. Anesthesiology, 1989, 71(5): 260

(收稿: 1998-11-23;修回: 1999-03-07)
(编辑 汪勤俭)

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