DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.06.016

海马 CA1区 GABA受体亚型药物干预后对兔 P3波的影响

虞乐华* 吴南顺** 吴宗耀 (第三军医大学附属西南医院理疗科) 重庆,400038

提 要 目的: 探讨海马 CA1区氨基丁酸 A受体(GABAAR)、氨基丁酸 B受体(GABABR)活动对 P3波的影响机制。方法: 10只健康家兔,用听 Obdball方案,被动条件记录 Pz点 P3波。导管埋植术后,采用海马 CA1区微量注入 GABAAR选择性拮抗剂 Bicuculline,GABABR激动剂 Baclofen,观察干预 GABA受体亚型对兔 P3波的影响。结果: Bicuculline(3、6、12μmol/L)呈一定量效依赖衰减 P3b波电压振幅,Baclofen(6.25,12.5,25 mmol/L)呈明显量效依赖延长、阻抑 P3b波。外源性 GABA(100 mmol/L)可翻转 Bicuculline(12μmol/L)、Baclofen(25 mmol/L)对 P3b波振幅的抑制,但其潜伏期延长。结论: 海马 CA1区 GABAAR IPSP(Inhibitory postsynaptic potential)可能即是 P3b振幅的重要组成。GABABR的活动可减弱 P3b波发生相关神经元兴奋的易化。

关键词 P_3波; CA_1;氨基丁酸; Bicuculline; Baclofen
中图法分类号 R338.26

海马是 P3波起源、学习、记忆形成及多种认知功能损害性疾病发生的重要结构,其 CA1区有着丰富的氨基丁酸 A受体(GABAAR)和氨基丁酸 B受体(GABABR),并参与调制海马功能[1]。CA1区 ABAAR GABABR活动与 P3波发生是否有直接相关,尚未见文献报道。为此,我们采用兔 P3波研究模型,观察海马 CA1微量注药干预 GABAAR或 GABABR后对兔 P3波的影响,并探讨其相应机制。

1 材料与方法

5~6月龄、体重 2.5~3 kg健康家兔 10只,性别不拘,分两批进行实验。2%戊巴比妥钠按 2 ml/kg体重静脉麻醉后,将家兔固定在日产脑立体定位仪 NARISHIGE SN-1型上。暴露头顶区,在双侧 CA1区: AP+5.0 L4.0 H-6.0,埋植导管(9号针制作),Pz点(前囟后 5 mm,矢状缝左 2 mm)埋植螺丝电极(直径 1 mm),以牙科水泥固定。生理盐水配制 Bicuculline 3、6、12μmol/L, Baclofen 6.25、12.5、25 mmol/L, GABA 100 mmol/L。

P3波的测试与过程: 将兔固定于保定盒中,采用奇异方案(Oddball paradigm)刺激。总刺激为 400个短声,其中 500 Hz短声为规律刺激,占 85%,1 000 Hz短声作为稀有刺激,占 15%,为靶刺激,随机分布于 500 Hz短声中,两种短声的持续时间均为 100 ms,间隔 2 s,扬声器置于兔头前上方 30 cm处,双耳结声。用 Danten公司 Neuromatic 2 000C型肌电图-诱发电位仪记录。参考电极置鼻根,地电极置耳尖。电极阻抗小于 5 kΩ,带通 0.5~100 Hz,灵敏度 20μV/格,扫描时间 1 000 ms,叠加 30次,重复测试至少 1次。峰潜伏期及峰-峰值波幅均以游标测定。

预实验排除药物对 P3波的后遗影响后,将实验分 2批进行: 第一批 CA1区埋管后 5只家兔与 Pre(手术后注射前)、Saline(生理盐水)、Bicuculline 3、6、12μmol/L微量注射或第二批微量注射 Baclofen 6.25、12.5、25 mmol/L,余同第一批,5种处理因素随机编排组合。各兔每只每次只行一种处理,每日一次,并记录 P3波电位。第一批兔 CA1区微量注入 12μmol/L Bicuculline后,即给予 100 mmol/L GABA,并分别记录电位变化,第二批动物则分别微量注入 25 mmol/L Baclofen、100 mmol/L GABA,记录相应 P3波,以观察外源 GABA对 Bicuculline或 Baclofen所致 P3波效应的翻转作用。CA1微量注射方法与定位判定: 插入内注射导管,缓推入药液 5μl,推液过程控制在 3 min,其中 CA1区为两侧先后注射共 10μl,推液完毕应留针 2 min,再插入外导管内蕊,以免药液溢返。5 min后即可记录 P3波电位。实验完毕,以上方法推注 5μl美蓝,后作连续厚切片,以检查定位的准确性。

统计学分析: 所有数据以 $\bar{x}\pm s$表示,各实验处理因素均与生理盐水组自身对照,并用计算机进行显著性检验。

2 结果

2.1 CA1区微量注射 Bicuculline对兔 P3波的影响与 GABA的翻转作用

海马 CA1区埋植导管术后及微量注射生理盐水,均能在兔颅骨 Pz点记录到分化较好的听诱发 P3a、P3b波。各浓度 Bicuculline及 100 mmol/L GABA微量注射后兔 P3a波潜伏期

* 虞乐华,男,34岁,主治医师,讲师,博士,现在附属新桥医院康复理疗科 重庆,400037
** 现在重庆市第九人民医院 重庆,400700

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

及电压振幅无显著影响。3 6μmol/L Bicuculline对 P3b潜伏期均无显著影响,但呈一定量效依赖关系衰减 P3b波电压振幅,在 6μmol/L组达显著差异($P < 0.05$),12μmol/L则使 P3b波消失。用 100 mmol/L GABA,明显恢复 P3b波振幅,但潜伏期延长明显($P < 0.05$),见表 1　P3波见图 1A-D。

表 1　Bicuculline在 CA1区对 P3波的影响

Tab 1　Changes of P3 after use of Bicuculline in CA1($n = 5$)

		Pre	Saline	Bicuculline			GABA
				3μmol/L	6μmol/L	12μmol/L	100 mmol/L
P_{3a}	Latency(ms)	289.60± 19.87	293.60± 32.72	284.80± 23.05	310.00± 16.49	328.40± 27.25	318.00± 20.49
	Amplitude(μv)	8.64± 2.36	8.40± 2.71	7.04± 0.92	7.08± 1.58	8.60± 2.39	8.44± 2.52
P_{3b}	Latency(ms)	357.20± 23.82	374.00± 29.66	379.20± 38.25	380.80± 25.87	–	465.60± 38.43*
	Amplitude(μv)	5.92± 1.01	5.72± 1.35	5.40± 1.496	3.80± 1.72*	–	5.28± 1.21

*: $P < 0.05$ *vs* Saline

2.2　CA1微量注射 Baclofen对兔 P3波的影响与 GABA的翻转作用

海马 CA1区埋管术后与生理盐水微量注射处理,对兔 $P3_a$, $P3_b$波潜伏期、电压振幅无显著影响。Baclofen不同浓度(6.25~ 25 mmol/L)及 100 mmol/L GABA应用后,兔 $P3_a$波潜伏期、电压振幅的变化差异不显著。6.25 12.5 mmol/L Baclofen对 $P3_b$波振幅无明显影响,但 6.25 mmol/L Baclofen明显延长 $P3_b$波潜伏期($P < 0.05$),12.5 mmol/L组达非常显著延长($P < 0.01$),25 mmol/L Baclofen可使 $P3_b$波消失,随着 100 mmol/L GABA的微量注射,$P3_b$波振幅可完全恢复,但潜伏期非常明显延长($P < 0.01$),见表 2　P3波见图 2E-H。

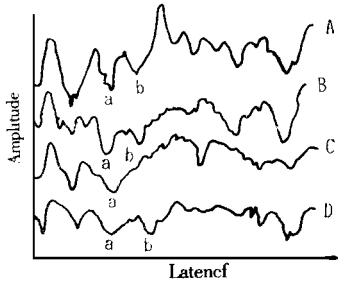


图 1　CA1区 Bicuculline对 P3波的作用

Fig 1　The effects of Bicuculline in CA1 on P3 potentials

A: Normal P3a, P3b; B: P3b amplitude became lower in 6μmol/L; C: P3b disappeared in 12μmol/L; D: P3b was detected again in 100 mmol/L GABA

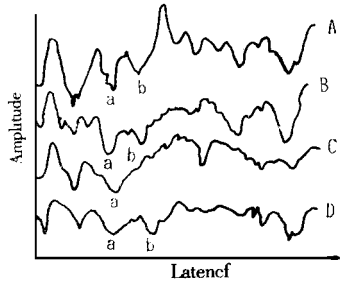


图 2　CA1区 Baclofen对 P3波的作用

Fig 2　The effect of Baclofen in CA1 on P3 potentials

E: Normal P3a, P3b; F: P3b latency increased in 12.5 mmol/L; G: P3b disappeared in 25 mmol/L; H: P3b recovered in 100 mmol/L GABA

表 2　Baclofen在 CA1区对 P3波的影响

Tab 2　Changes of P3 after use of Baclofen in CA1($n = 5$)

		Pre	Saline	Baclofen			GABA
				6.25 mmol/L	12.5 mmol/L	25 mmol/L	100 mmol/L
P_{3a}	Latency(ms)	272.00± 21.68	262.80± 15.14	287.60± 19.20	281.61± 28.68	282.00± 20.49	285.60± 26.21
	Amplitude(μv)	8.96± 2.13	9.32± 2.23	8.32± 1.22	7.68± 1.03	8.04± 1.53	8.60± 1.59
P_{3b}	Latency(ms)	367.20± 22.57	380.00± 29.34	419.60± 15.84*	464.40± 26.77**	–	490.00± 24.50
	Amplitude(μv)	4.84± 1.26	5.64± 1.60	4.60± 1.33	5.32± 1.45	–	4.52± 1.11

*: $P < 0.05$,**: $P < 0.01$ *vs* Saline

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

3 讨论

本实验应用家兔听觉诱发 P3波模型,结合脑区微量注射给药技术,研究了海马 CA1 GABAAR选择性拮抗剂 Bicuculline、GABABR激动剂 Baclofen对兔 P3波的影响,并观察外源 GABA的翻转效应。实验结果表明,兔海马 CA1区埋管术后与注射生理盐水后,均能记录到分化较好,较为稳定的 P3a、P3b波,且两组 P3a、P3b波潜伏期、电压振幅变化无明显差异。可以排除生理盐水及注射压力等对实验结果的干扰。本实验采用的是我科既往已建立的家兔 P3波研究模型[2]。本实验结果与生理盐水组处理自身对照比较,其有意义的电生理效应,可以认为是由药物干预所引起。另外,微量注射的药物只有 5μl,注射时间长达 2 min,还留针 2 min以防药液外溢,在整体实验结束后对 CA1区的验证均保证了药物直接注入 CA1区。

GABA是脑内主要的抑制性神经递质。GABA作用于明确的两类受体亚型,GABAA和 GABAB,分别产生快和慢突触后反应(IPSP),GABAA受体与 Benzadiazepine受体和 Cl^-通道偶联,GABAB受体则与 G蛋白偶联[3]。有报道 GABAAR的活动直接构成与记忆相关 LTD,训练后,隔区 GABAAR激动剂 Muscimol的微量注入实验有助于动物定位学习的掌握[4,5]。动物学习、记忆任务难以完成以及包括 P3波在内的长潜伏期阳性电位(PRS-PCPV)严重缺如或非常小,直接为脑中 GABAAR受损所致[6]。GABA受体功能障碍是动物抑郁样行为发生的直接原因,尽管是属 GABAA或 GABAB作用尚有争议[7]。临床上该类患者 P3波典型的表现为电压振幅的下降,不一定有潜伏期的异常。随着治疗的干预,症状缓解,P3波电压振幅升高至正常范围。很明显 GABA受体活动与 P3波的发生有某种直接关系。

本实验结果提示,可能 CA1区锥体神经元胞体 GABAAR之 IPSP即为兔 P3b波重要组成,这也符合脑慢波阳性大电位的锥体神经元起源理论。可见 Bicuculline选择性拮抗 GABAAR阻断相应快 IPSP发生,使 P3b波振幅衰减,乃至记录无法显示,故主要表现对 P3b波振幅影响而不是调节其潜伏期。Baclofen可能作用于 GABA能神经元 GABABR产生或增强慢 IPSP,以至对该神经元产生抑制作用,即发挥抑制之抑制效应(Inhibitory inhibition),增加其兴奋激活所需时程,或完全阻抑其兴奋发生,相应 P3b波的主要表现为潜伏期延长,最终也可影响电位发生。外源性 GABA对 Bicuculline、Baclofen电生理效应的翻转可能均为增加和增强 GABAAR IPSP活动所致,因此相应 P3b波振幅恢复,但同时对诸如上述 GABABR的激活反之又可增加该快 IPSP发生的过程,所以外源 GABA翻转的 P3b波潜伏期延长。这也提示生理状态下,内源性 GABA通过协调 GABAAR、GABABR等活动是正常 P3波(潜伏期、电压振幅)发生的必要条件。

参考文献

1 Verleger R, Heinde W, Butt C, *et al*. Reduction of P3b in patients with tempor-parietal lesions. Cognitive Brain Research, 1994, 2(3): 103

2 吴宗耀,沈菊彬. P300电位的动物实验研究.中华理疗杂志, 1995, 18(3): 134

3 Ouardouz M, Lacaille J C. Properties of unitary Ipscs in hippocampal pyramldal cells originating from different types of interneurons in young rats. J Neurophysiol, 1997, 71(13): 1939

4 Matasumoto R R. GABA receptors are cellular differences reflected in function? Brain Res Rev, 1989, 14(3): 203

5 Akhondzadeh S, Stone T W. Induction of a novel form of hippocampal long term depression by muscimol: involvement of GABAA but not glutamate receptors. Br J Pharmacol, 1995, 115(3): 527

6 Nagahara A H, Brioni J D, Mc Gaugh T L. Effects of intraseptal infusion of muscimol on inhibitory avoidance and posttraining administration. Psychobiology, 1992, 20(16): 198

7 Nakagawa Y, Ishina T, Lslibashi Y, *et al*. Involvement of GABAB receptor system in action of antidepressants. Ⅱ: baclofen attenuates the effect of cesipramine whereas muscimol has no effect in learning helplessness paradigm in rats. Brain Research, 1996, 728(20): 225

(收稿: 1998-03-31;修回: 1998-09-10)

(编辑 冷怀明)

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

Changes of P3 potentials after intervention to GABAR subtypes in CA1 region in rabbits

Yu Lehua, Wu Nanshun, Wu Zongyao (Department of Rehabilitation Medicine, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract Objective: To explore the mechanism for the effects of GABAAR and GABABR on P3 potentials in CA1 region. Methods: P3 potentials at Pz site were recorded in 10 healthy rabbits. After the catheter was implanted, either Bicuculline, a selective antagonist to GABAAR, or Baclofen, an agonist to GABABR, was microinfused into the CA1 region to observe the effects of intervention of GABA subtypes on P3 potentials. Results: P3 amplitude was markedly decreased by Bicuculline in a dose-dependent manner (3, 6, 12 μmol/L) and P3 latency was increased by Baclofen in the same manner (6.25, 12.5, 25 mmol/L). The blocking effects of Bicuculline (12 μmol/L) or Baclofen (25 mmol/L) on P3 potentials could be reversed by microinfusion of GABA (100 mmol/L), but the latency was prolonged. Conclusion: GABAAR inhibitory postsynaptic potential in the CA1 region might be one important component of P3b amplitude and GABAR action can prolong P3b latency through reducing capacity of neurons to form P3b potential.

Key words P3; CA1; GABAR; Bicuculline; Baclofen; rabbit

锌剂对 Wilson氏病患者临床表现和影像学改变的影响

The effects of $ZnSO_4$ on the clinical features and image changes in patients with Wilson's disease

戴光明* 阴金波 苏士才** (第三军医大学附属新桥医院神经内科) 重庆, 400037

Wilson病患者长期用硫酸锌治疗后,临床症状和颅脑影像学异常信号获得明显改善,现报告如下。

1 临床资料

1.1 一般资料

患者 5例,均为男性,年龄 18~33岁,病程 2个月至 3年。临床及辅助检查均符合 Wilson氏病诊断。除例 1外,余 4例颅脑 CT均示程度不等的基底节、丘脑低密度影和脑萎缩。例 5又行 MRI检查,示基底节、丘脑、中脑、桥脑和小脑齿状核在 T_1 加权有片状低信号,边缘不清, T_2 加权呈高信号。该例确诊前被误诊为精神分裂症 3年。5例临床症状都很典型。

1.2 治疗结果

5例均予 2%硫酸锌液 15 ml, 3/日 (例 5最初联合服青霉胺 3.0 g/日)。15~30 d后, 5例病情都明显减轻。继续治疗一个月,例 1恢复学习,例 2能生活自理,例 3和例 4均可下床活动,例 5仍有明显肌张力增高和构音障碍。坚持治疗半年后,例 2和例 3亦恢复原工作,例 4仍有轻度构音障碍,能承担小商品销售工作,例 5尚留有轻度肌张力增高和构音障碍,能胜任收发室工作。1年后裂隙灯检查,例 4和例 5原角膜 K-F环颜色变浅,宽度变窄。余 3例原有的 K-F环消退,例 2和例 3复查了颅脑 CT,原双侧基底节和丘脑低密影明显减轻、缩小,例 5MRI复查,原基底节和丘脑的异常信号区明显吸收、缩小,脑干和小脑齿状核在 T_1 加权未见明显异常信号, T_2 加权仅隐约见稍高信号的点、片状影。脑电图复查例 1,由原轻度异常转为正常范围,余 4例均由原中-重度异常转为轻度异常脑电图。5例患者的血清铜和尿铜较治疗前明显改变 (铜蓝蛋白仍低)。随访 2~5年,病情稳定,无加重、恶化。

2 讨论

Wilson氏病系一种常染色体隐性遗传的铜代谢障碍疾病,但又是少数能有效对症治疗的遗传病之一。近年的研究和临床实践证明锌剂 (硫酸锌、醋酸锌、甘草锌等)是治疗 Wilson病安全有效的药物[1,2]。其作用机制有① 锌能竞争性地抑制铜在肠道吸收,使粪铜排出增加。② 锌能通过诱导肠和肝细胞合成金属硫蛋白 (Metallothionein),后者与铜亲和力高,使大部分铜呈

(下转 515页)

* 戴光明,女, 47岁,副主任医师,副教授,硕士
** 新疆乌鲁木齐市解放军 23医院 乌鲁木齐, 830006

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