DOI: 10.16016/j.1000-5404.1996.06.016

大鼠脊髓缺血再灌流时脊髓神经元对躯体和内脏传入刺激的反应

伍亚民 廖维宏 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所第三研究室) 重庆, 630042

提 要 50只大鼠用乌拉坦麻醉,箭毒制动。通过阻断腹主动脉血流以模拟腰段脊髓的局部缺血和再灌流损伤,玻璃微电极记录 L_2节段脊髓单位放电(SCUDs),观察缺血再灌流时脊髓神经元对腓神经刺激(PNV),内脏大神经刺激(VLNV)及两者同时刺激(SV)的反应。结果在缺血前所记录的133个自发放电单位中,对3种刺激均产生兴奋(E)、抑制(I)及无反应(NR)3种形式的反应,表明大鼠 L_2节段脊髓存在躯体、内脏和躯体内脏反应性神经元,并有会聚和阻塞现象。在脊髓缺血再灌流时,神经元对 PNV、VLNV、SV 也产生 E、I、NR 3种形式的反应,提示脊髓缺血再灌流时神经元对躯体和内脏传入刺激的反应形式不受影响;但缺血时 SCUDs对 PNV、VLNV 产生反应的单位数减少,这表明脊髓缺血损伤时神经元对躯体和内脏传入刺激的反应性减弱,随着缺血损伤加重,脊髓神经元对躯体内脏信号的整合功能下降。

关键词 脊髓/损伤;再灌流损伤;内脏传入;躯体传入;大鼠
中图法分类号 R651.2

脊髓缺血再灌流损伤是近十几年人们研究的热点之一,目前已有不少这方面的病理、生化代谢及诱发电位改变的研究,但对神经元电活动规律研究较少。Hao等[1]观察了光化学致脊髓短暂性缺血时脊髓广动力型神经元对外周纤维传入的超敏反应情况,有关大鼠脊髓缺血再灌流时脊髓神经元放电的变化规律也已有文献报道[2]。本实验从观察脊髓神经元对内脏和躯体传入电刺激反应的角度,对大鼠脊髓缺血再灌流损伤时脊髓神经元整合作用的变化进行了初步探讨。

1 材料与方法

1.1 模型的制备

Wistar大鼠50只,体重200 g~260 g,雌雄不拘。用20%氨基甲酸乙酯(1 g/kg, ip)和1%的氯醛糖(50 mg/kg, ip)混合液麻醉后,行气管插管术,经背侧入路腹膜后分离腹主动脉,于左肾动脉分支点以上1 cm处穿套一根 Teflon橡胶线,将该线两端从一内径为3 mm的中空硅胶管中引出,通过橡胶线拉闭和放开腹主动脉不同时间而造成腰段脊髓不同程度的缺血再灌流损伤;分离出左侧内脏大神经,引线结扎,剪断后将其中枢端置于封闭的灌有温热石蜡油的有机玻璃小室内的两根白金丝电极上,用作内脏传入刺激;同时分离出大鼠左侧腓神经,置于双极银丝保护电极上,用作外周传入刺激。切除 T_{13}~L_1椎板,暴露 L_2节段脊髓。

1.2 脊髓神经元放电的记录与处理

大鼠麻醉成功,完成上述模型制备后,以箭毒制动,用ST-7型脑脊髓定位仪(日本 NARISHIGE)水平固定 L_2节段脊髓,呼吸机辅助呼吸,肛温维持在38℃,采用玻璃微电极(4 MΩ~10 MΩ)记录大鼠 L_2节段脊髓神经元的单位放电(SCUDs)。实验步骤如下:将 L_2节段脊髓等分为 A、B、C 3个平面,每个平面自脊髓背中央血管旁分别向左右两侧依次分为5个记录轨道,每两个相邻轨道间距0.25 mm,依这些轨道推进玻璃微电极,当记录到平稳且信噪比4/1以上的放电单位时,即按正常、缺血及再灌流的顺序,观察在这3种状态下同一放电单位神经元对内脏大神经刺激(Visceral large nerve volley, VLNV)、腓神经刺激(Peroneal nerve volley, PNV)及同时刺激(Simultaneous volley, SV)的反应(日本 SEN-3201型电子刺激器),刺激参数为:方波20 V~40 V,波宽1 ms,频率100 Hz,串长200 ms。实验完毕后根据微电极操纵器的读数参照旁胺天蓝的标记定位而确定放电单位的神经元分布。单位放电除作示波摄影外,还输出到磁带记录仪作记录。在对结果进行比较研究后,将需要的数据(放电信号)再送入本室研究的 IBM-PC微机直方图处理系统处理并描绘出序列密度直方图。

2 结果

2.1 脊髓神经元自发放电

50只大鼠共记录到133个自发放电单位,其中 A平面记录了56个单位,B平面39个单位,C平面38个单位。它们对 PNV、VLNV及 SV均可产生兴奋(Excitation, E)、抑制(Inhibition, I)和无反应(Non-response, NR) 3种形式的反应。具体结果见表1。

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

表 1 L_2脊髓神经元对 PNV、VLNV和 SV的反应 (%)

Tab 1 The responses of L_2 spinal cord neurons to PNV, VLNV and SV (%)

SCHP*	No. of neuron	PNV			VLNV			SV		
		E	I	NR	E	I	NR	E	I	NR
A	56	18 (32.14)	16 (28.57)	22 (39.29)	14 (25.00)	20 (35.71)	22 (39.29)	15 (26.79)	13 (23.21)	28 (50.00)
B	39	20 (51.28)	3 (7.69)	16 (41.03)	14 (35.90)	9 (23.08)	16 (41.02)	13 (33.33)	9 (23.08)	17 (43.59)
C	38	13 (34.21)	7 (18.42)	18 (47.37)	12 (31.58)	8 (21.05)	18 (47.37)	13 (34.21)	8 (21.05)	17 (44.74)
Total	133	51 (38.34)	26 (19.55)	56 (42.11)	40 (30.08)	37 (27.82)	56 (42.10)	41 (30.83)	30 (22.56)	62 (46.62)

*: SCHP, spinal cord horizontal plane; Note: The number is percentage in brackets

2.2 缺血再灌流时脊髓神经元对躯体和内脏传入刺激的反应

在缺血前记录的 133个自发放电单位中,完成整个实验全程的有 29个单位,其中 2 min组 18个单位, 5 min组 6个单位, 10 min组 5个单位,缺血再灌流时对 PNV、VLNV及 SV的反应形式与正常对照时的反应形式一样,均有 E、I、NR 3种反应,但不同组间不同刺激时的 3种反应尚有一定差别,具体结果见表 2

表 2 缺血和再灌流时 PNV、VLNV、SV对 SCUDs的影响

Tab 2 Effects of PNV, VLNV and SV following ischemia and reperfusion on SCUDs

Times* (min)		Total No. of neuron	PNV			VLNV			SV		
			E	I	NR	E	I	NR	E	I	NR
	C	18	6	3	9	6	3	9	8	4	6
2	O	18	5	2	11	6	1	11	8	3	7
	R	18	7	3	8	5	4	9	9	2	7
	C	6	2	3	1	4	1	1	4	1	1
5	O	6	2	1	3	3	1	2	2	1	3
	R	6	2	2	2	5	1	0	5	0	1
	C	5	3	0	2	1	3	1	1	2	2
10	O	5	2	1	2	3	0	2	3	0	2
	R	5	3	1	1	4	0	1	3	0	2

* Time: the duration of occlusion and reperfusion of abdominal arteria; C: control, O: occlusion, R: reperfusion

3 讨论

脊髓作为一个躯体、内脏的低级反射中枢,对躯体和内脏传入信号有重要的整合作用,因而,从脊髓细胞水平去探讨躯体和内脏的相关性,历来受到国内外学者的重视[3,4]。但他们多是研究猫胸段脊髓在正常生理条件下的神经元电活动情况,对异常 (缺血缺氧损伤) 情况下神经元行为改变规律研究较少。本实验以大白鼠为实验对象,观察了 L_2节段脊髓神经元在正常、缺血及再灌流损伤时对 PNV、VLNV和 SV的反应情况,以此进一步分析脊髓神经元整合功能在 SCI时的变化规律。从表 1结果中可以看出大鼠 L_2节段脊髓神经元对躯体和内脏传入刺激有类似的反应,对 PNV、VLNV及 SV均有 E、I、NR 3种反应形式,这说明大鼠 L_2节段脊髓存在有躯体、内脏及躯体内脏反应性神经元。根据旁胺天蓝标定神经元的分布情况,多数神经元位于脊髓 I–V板层。其中躯体内脏反应性神经元对腓神经和内脏大神经的传入有会聚作用,且有易化和抑制两种表现形式;躯体反应性神经元仅对躯体传入刺激产生反应,内脏反应性神经元亦仅对内脏传入刺激起反应,但两者都有兴奋性反应和抑制性反应两种形式,而无反应的神经元一部分不仅对躯体传入而且对内脏传入均无反应,我们称之为躯体内脏无相关性神经元,另一部分无反应的神经元则对躯体、内脏的分别传入刺激产生反应,当两者同时作用时则表现为无反应即放电频率无明显改变,这说明外周和内脏传入之间存在相互阻塞或/和抑制等作用形式。

缺血再灌流时,对 PNV、VLNV及 SV的反应形式与正常对照时的反应形式一样,均有 E、I、NR 3种表现,这说明缺血再灌流损伤并不影响脊髓神经元对躯体和内脏传入刺激的反应形式;根据我们及其他学者[1,2,5]以前的研究,神经元在缺血 (缺氧缺糖) 的不同

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

状态下,总体变化趋势为随着缺血程度的加重,其兴奋性先高后低,尔后可能发生迟发性神经元坏死。这从本研究中正常的 133个神经元自发放电,经过缺血及再灌流损伤后,仅剩下 29个神经元以观察其对躯体、内脏神经传入反应的事实得到说明,而且随着缺血时间的加长,能记录到电活动的神经元数目相应减少 (从 2 min时的 18个到 10 min的 5个),因此,总体上讲,缺血再灌流时虽然神经元的反应形式不变,但神经元对 3种刺激的反应应有差别,因为腹主动脉血流受阻时神经元兴奋性较相应的正常对照高,这时虽对躯体和内脏传入刺激也产生 E、I、NR 3种形式的反应,但已不完全等同于正常时的反应;同样腹主动脉血流再灌时亦不完全等同于正常及腹主动脉血流阻断时的反应,此时神经元的兴奋性相对于血流阻断时有所下降,腹主动脉血流再灌而脊髓血流未及时恢复缺血加重时其兴奋性甚至低于正常。也就是说,遭受缺血及再灌流损伤打击的神经元对躯体和内脏传入刺激的反应性发生了改变。从表 2中可以看出,在缺血时对 PNV、VLNV和 SV产生反应的 SCUDs数减少,而无反应的单位数相对多于正常对照组,说明脊髓神经元在缺血状态下对身体和内脏传刺激的反应性减弱,或躯体传入信号和内脏传入信号在脊髓神经元中的阻塞作用加强。具体机理有待深入研究。

(本文 SCUDs记录得到本单位陈恒胜实验师的大力协助,特此致谢!)

参考文献

1 Hao JX, Xu XJ, Yu YX *et al*. Transient spinal cord ischemia induces temporary hypersensitivity of dorsal horn wide dynamic range neurons to myeliated, but not unmyelinated, fiber input. J Neurophysiol, 1992; 68(2): 384

2 伍亚民,廖维宏.缺血再灌流对大鼠脊髓神经元放电的影响.第三军医大学学报, 1996; 18(4): 320

3 吕国蔚.脊髓背角细胞生物学研究的进展.生理科学进展, 1986; 17(4): 302

4 Cervero F, Connell L A. Distribution of somatic and visceral primary afferent fibres within the thoracic spinal cord of the cat. J Comp Neurol, 1984; 230: 88

5 Jiang C, Haddad G G. Differential responses of neocortical neurons to glucose and/or O_2 deprivation in the human and rat. J Neurophysiol, 1992; 68(6): 2165

(收稿: 1996-01-02;修回: 1996-06-12)

(编辑　张大春)

Effects of ischemia and reperfusion on changes of responses of neurons in spinal cord to somatic and visceral afferent volleys in rats

Wu Yamin, Liao Weihong (Research Institute of Field Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 630042)

Abstract After the model of local ischemia and reperfusion in the lumbar part of the spinal cord was established by occlusion of the abdominal aorta (AA) in 50 Wistar rats anesthetized with urethane and braked with curare, the spinal cord unit discharges (SCUDs) in L_2 spinal cord was recorded with the glass microelectrode to investigate the responses of the neurons to peroneal nerve volley (PNV), visceral large nerve volley (VLNV) and simultaneous volleys of both kinds (SV). From the analysis of the records of 133 SCUDs, it was found that there were three kinds of responses of neurons, namely, excitation (E), inhibition (I) and non-reponse (NR) in L_2 spinal cord to all the three kinds of volleys after AA occlusion and reperfusion. These findings suggest that there are neurons responsive to somatic, visceral and viscerosomatic afferent volleys in L_2 spinal cord and ischemia and reperfusion do not significantly affect the forms of responses of the neurons to the three kinds of volleys. Whereas the fact that SCUDs responsive to PNV and VLNV were decreased under ischemic state suggests that ischemia reduces the reactivity of neurons to somatic and visceral afferent volleys.

Key words spinal cord injuries; reperfusion injury; somatic afferent volley; visceral afferent volley; rat

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