DOI:10.16016/j.1000-5404.1991.05.004

海马脑片CA_1区LTP的诱出以及3种致惊厥剂对其影响

肖敏毅 刘祚周（第三军医大学训练部 生理学教研室）630038

提 要 本文采用离体海马脑片技术，观察大鼠海马CA_1区突触传递的长时程增强(LTP)，并比较3种致惊厥剂对其诱出的影响。结果发现：短串电刺激在大多数脑片有效地诱出LTP；印防己毒素（PTX）在诱发痫样电活动的同时，易化LTP诱出；红藻氨酸（KA）则阻滞LTP诱出；梭曼（Soman）没有诱发明显的痫样电活动，但阻滞LTP诱出。结果提示：PTX和KA诱发的痫样电活动对LTP诱出的不同影响可能因其各自产生机制不同所致；Soman对诱发场电位的影响可能除通过胆碱能系统外，还通过如谷氨酸能系统等非胆碱能系统。

关键词 海马；印防己毒素；红藻氨酸；梭曼

海马突触传递的长时程增强（Long-term Potentiation,LTP）被认为可能是学习记忆基础的突触可塑性机制之一[1]。大鼠离体海马脑片CA_1区锥体细胞传入通路具有产生LTP的能力，为研究这一现象提供了有用的工具[2]。实验证明海马LTP的诱发需要谷氨酸递质的一种受体亚型NMDA受体参与[1][3]。乙酰胆碱酯酶的强抑制剂梭曼（Soman）、谷氨酸的结构类似物红藻氨酸（Kainic Acid,KA）以及γ-氨基丁酸的拮抗剂印防己毒素（Picrotoxin,PTX）均可引起边缘性惊厥，作用于海马；但它们对海马LTP是否有不同影响尚未见报道。本实验拟在大鼠离体海马脑片CA_1区建立LTP有效的诱出方法，观察上述3种致惊厥剂对LTP诱出的影响，推测其可能的机制。

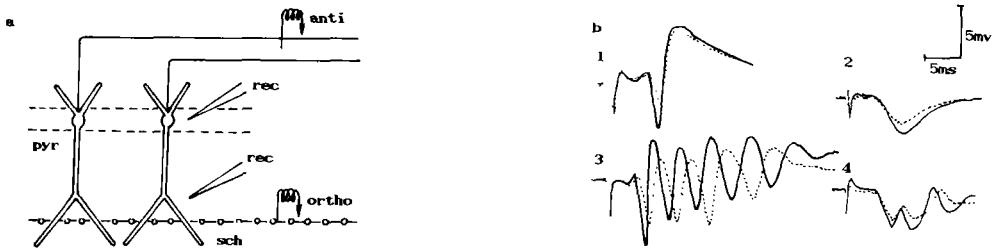
1 材 料

健康大白鼠离体海马脑片。断头开颅，剥离海马，沿海马槽纤维走向切为厚约400μm的薄片，置于浴槽中孵育，用pH7.4、温度34℃的改良人工脑脊液（Artificial Cerebrospinal Fluid,ACSF）[4]持续灌流，并通以混合气体。

2 方 法

在解剖显微镜直视下，放置双极刺激电极和玻璃微记录电极（附图a）。用刺激器经隔离器输出方波脉冲刺激，记录到的诱发群体峰电位（Population Spike,PS）和场兴奋性突触后电位（field Excitatory Postsynaptic Potential,fEPSP）输入IBM-PC/AT 286微机适时处理。记录时，调节刺激强度使记录到的PS振幅和fEPSP斜率分别为其最大值的50%左右，记录15min对单脉冲刺激的反应，稳定后施予频率100Hz、脉冲数90或45的串刺激诱发LTP，其后施予单脉冲检测刺激，记录60min。PS振幅或fEPSP斜率在串刺激后增大20%以上，持续超过15min即认为这种增大代表了Schaffer侧枝-连合纤维通路与CA_1区锥体细胞树突之间突触传递的LTP[5]。（附图b）某一组脑片LTP的诱出率以串刺激后产生LTP的脑片数除以接受串刺激的脑片数，乘以100%表示。给药采用将药物加入ACSF中灌流给药的方式。

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



附图 电极放置和串刺激前后场电位观察

a. 刺激电极和记录电极的放置示意图。b. 锥体层(左)和放射层（右）记录的场电位。实线为串刺激后20 min记录，虚线为对照；1、2为正常ACSF灌流，3、4为含PTX的ACSF灌流。

Fig. Experimental arrangement (a)and the effects of brief tetanization (b).

a,diagram showing the arrangement of stimulating(stim)and recording(rec)electrodes. Abbreviation: pyr—stratum pyramidale, Sch—Schaffer collaterals; anti—antidromic stimulation; ortho—orthodromic stimulation. b, extracellular responses from stratum pyramidale (left column) and stratum radiatum(right column) .20min after tetanus (solid), control (dotted) . 1, 2—normal ACSF perfusion, 3, 4—PTX-contained ACSF perfusion.

3 结 果

采用正常ACSF灌流观察脑片CA_1区LTP时，以顺向刺激诱发PS的振幅为指标，8例脑片中6例诱出LTP，诱出率75%，表现为PS振幅在串刺激后迅速增大，增大幅度很快达到最大，其后相对较快地下降，然后再以相对缓慢的速度下降。以fEPSP斜率为指标，10例脑片中7例诱出LTP，诱出率70%，其时程与前述相似。

在观察PTX、KA以及Soman对CA_1区LTP诱出的影响时，脑片制备后在正常ACSF灌流下孵育1_h再改用含上述某一种药物的ACSF持续灌流，30min后开始记录。发现PTX和KA均引起诱发场电位痫样电活动，分别以PS振幅和fEPSP斜率为指标观察LTP诱出，PTX (20μM) 灌流时分别在7例和8例脑片均诱出LTP，诱出率均为100%，而且所用串刺激脉冲数较少；KA (1.0μM) 灌流时分别在6例脑片中1例诱出LTP和6例脑片均未诱出LTP，诱出率分别为16.67%和0；Soman (0.2μg/ml) 灌流时未见引起明显的痫样电活动，但LTP诱出率亦显著下降，以PS振幅为指标8例中仅2例诱出，以fEPSP斜率为指标7例中1例诱出，LTP诱出率分别为25%和14.29%。在观察同样浓度的Soman对CA_1区诱发场电位的影响时，脑片正常孵育1.5h后改用含Soman的ACSF灌流20min，发现顺向刺激诱发的PS的振幅可逆地增大（附表），而逆向刺激诱发者不受影响。

附表 含Soman的ACSF灌流20min对顺向刺激诱发PS的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Tab. Effect of Soman-contained ACSF perfusion 20 min on the PS evoked by orthodromic stimulation ($\bar{x}\pm s$)

Time	PS amplitude (mV)	PS latency (ms)	PS width (ms)
Prior perfusion	6.65±0.5964	3.72±0.4782	3.07±0.3929
After perfusion 1st 15 min	8.94±1.1102**	3.58±0.7201	2.87±0.4510
2nd 15 min	8.62±0.9755**	3.69±0.5600	3.01±0.5102
3rd 15 min	7.11±0.9157	3.73±0.6029	3.08±0.3012
4th 15 min	6.77±0.8420	3.80±0.4818	3.11±0.3125

** Significant difference compared with prior Soman-contained ACSF perfusion. ($P<0.05$, 6 slices)

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

4 讨 论

已有实验证明在离体海马脑片上观察到的许多神经生物学特性与在体基本一致[4]，而且刺激大鼠海马Schaffer侧枝-连合纤维通路可使CA_1区锥体细胞产生LTP[6]，同时，顺向刺激诱发的PS的振幅和fEPSP的斜率变化可反映突触间传递效率的变化。因此，本实验在大鼠离体海马脑片CA_1区以上述振幅和斜率为指标对LTP以及影响其诱出的因素进行观察。结果表明，在本实验条件下，正常ACSF灌流时，大多数脑片可有效地诱出LTP，时程变化与文献报道一致[7]。PTX引起痫样电活动和对LTP诱出的某种程度的易化均可能是因突触后γ-氨基丁酸能介导的回返性抑制的减弱所致[8][9]。KA引起痫样电活动则可能与单个神经元和突触联系的某些特性改变有关[8]。同时，与PTX的易化作用相反，KA阻滞LTP诱出，说明两种药物诱发的痫样电活动对LTP诱出的影响可能因其产生机制不同所致。有报道KA对NMDA受体存在一定的拮抗作用[11]，KA对LTP诱出的阻滞可能与此有关。本室以前的工作表明Soman对大鼠离体海马脑片CA_1区诱发场电位的影响是通过突触部位的胆碱能系统[12]，本实验观察到Soman短时灌流只引起顺向刺激诱发的PS的振幅可逆地增大，说明作用部位在突触处，但这种增大提示似乎可能还有如谷氨酸能系统的非胆碱能系统起作用。Soman使LTP诱出率下降，说明其对LTP诱出有某种程度的阻滞作用，这亦支持其可能通过非胆碱能系统起作用，其具体的机制和意义尚待进一步阐明。

参 考 文 献

1. Collinger GL. NMDA receptors-their role in long-term potentiation. Trends Neurosci 1987;10:288～293
2. Andersen PA, Sundberg SH, Sveen O,et al. Specific long-lasting potentiation of synaptic transmission in hippocampal slices. Nature(Lond)1977;266:736～737
3. Gustafsson B, Wigstrom H. Physiological mechanisms underlying long-term potentiation. Trends Neurosci 1988;11:156～163
4. Schwartzkroin PA. To slice or not to slice.In"Electrophysiology of isolated mammalian CNS preparation".edited by Kerkut GA, Wheal HV.p15～50
5. Hopkins WF.Frequency-dependent noradrenergic modulation of long term potentiation in the hippocampus. Science 1984;226:350～351
6. Doller HJ. Perforant pathway-evoked long-term potentiation of CA1 neurons in the hippocampal slice preparation. Brain Res 1985;333:305～310
7. Hass HL, Rose G.Long-term potentiation of excitatory synaptic trans-mission in the rat hippocampus:the role of inhibitory processes. J Physiol 1982;329:541～52
8. Wigstrom H, Gustafsson B. Facilitation of hippocampal long-lasting potentiation by GABA antagonists.Acta Physiol Scand 1985;125:159～172
9. Hablitz JJ. Picrotoxin-induced epileptiform activity in hippocampus:role of endogenous versus synaptic factors.J Neurophysiol 1984;51:1011～1027
10. Westbrook GL, Lothman EW. Cellular and synaptic basis of kainic acid-induced hippocampal epileptiform activity. Brain Res 1983;273:97～109
11. Lerma J, Kushner L, Zukin RS,et al.N-Methyl-D-aspartate activates different channels than do kainate and quisqualate.Proc Natl Acad Sci USA 1989;86:2083～2087
12. 薛毅珑 刘祚周 李希成。梭曼对大鼠离体海马脑片CA_1区锥体层诱发场电位的影响。中国应用生理学杂志 1988;4:156～160

(收稿：1991.02.06；修回：1991.07.26)

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

Long-term potentiation and the effects of 3 convulsants on its induction in hippocampal slices of rats

Xiao Minyi, Liu Zuozhou (Department of Physiology, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract Long-term potentiation (LTP) of synaptic transmission between the dendrites of the pyramidal cells of CA_1 region and the Schaffer-commissural pathway was induced with electric stimulation in the isolated hippocampal slices of rats. The effects of 3 convulsants, soman, kianic acid, and picrotoxin, on the induction of LTP in this region were observed. It was found that a short series of electric impulses could effectively induce LTP in most of the slices of the hippocampus and the amplitude of the population spikes showed a similar change as the field excitatory postsynaptic potential did in the rising phase. Picrotoxin could facilitate the induction of LTP when it evoked an epileptoform electric activity in the slices, kianic acid could also evoke an epileptoform activity but significantly blocked the induction of LTP, and soman could not evoke obvious epileptoform activity but blocked the induction of LTP. The above findings suggest that a short series of electric impulses can effectively induce LTP between the pyramidal cells and the Schaffer-commisural pathway in the CA_1 region, the effects of epileptoform activity on the induction of LTP depends on the mechanism to evoke the epileptoform activity, and the effects of soman on the induction of field potential may involve the noncholinergic system in the synaptic connections.

Key words hippocampus; picrotoxin; kainic acid; soman

急性甲醇中毒死亡一例报告

侯兆森（第三军医大学西南医院 康复医学科）630038

本文报告1例误饮甲醇（工业酒精）急性中毒死亡病例。

1 病 例 摘 要

李××、男性、36岁，工人。因双下肢无力10个月于1987年10月24日入院。缘于1987年初感双腿无力，僵硬并逐渐加重，行走困难伴有头昏、视力减退。曾在本院门诊多次检查四肢腱反射活跃，双侧Hoffmann's征（+）。入院前颈椎CT检查：发现颈$_{3-4}$，$_{6-7}$椎间盘突出，经推拿等治疗效果不满意。既往饮酒20余年，1次饮酒量可达500ml以上。曾多次酒后摔倒昏迷住院抢救清醒。入院时查体欠合作，表情淡漠，反应迟钝。心脏未闻杂音、律齐，心率80次/min。两肺呼吸音清晰。腹软、肝在剑突下4cm，质中等，无压痛，脾未扪及。

专科情况：颈软，颈椎棘突两侧无固定压痛，各问活动如常。四肢肌肉明显萎缩，上肢肌力5级，下肢肌力4级，肌张力增高，腱反射亢进，双侧Hoffmann's征（+），踝阵挛（+）。院诊断：（1）颈椎间盘突出症；（2）脱髓鞘疾病（酒精中毒？）。

（下转433页）

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