DOI:10.16016/j.1000-5404.1988.03.002

清醒大鼠侧脑室内注入红藻氨酸引起海马单位癫痫样电活动的研究

郭 庆 刘祚周 廖维宏（生理学教研室）

提 要 清醒大鼠侧脑室内注入红藻氨酸后，在海马内发现了正性、负性及无关单位等三种单位电反应。大多数正性单位来源于组织学上与海马锥体细胞相对应的海马复合峰电位细胞；同时，大多数海马复合峰电位细胞在注入红藻氨酸后表现为正性单位的放电形式。在注入红藻氨酸后的早期，正性单位主要集中于CA_3区。本文推测：（1）正性单位可能是红藻氨酸引起海马神经元癫痫样电活动的典型表现；负性单位的放电特征可能是其受海马中间抑制性神经元活动影响或是其过度去极化的结果；（2）海马内的锥体细胞比中间神经元对红藻氨酸的致癫作用更为敏感，CA_3区内的某些锥体细胞可能在红藻氨酸致癫过程中起着“起搏细胞”的作用。

关键词 癫痫，颞叶性；红藻氨酸；癫痫—化学诱导；海马—药物作用

红藻氨酸（kainic acid，KA）是一种新型的神经毒剂及颞叶癫痫致癫剂。海马对KA神经毒理作用的反应阈值最低[1-4]。以往的研究虽然从行为学、病理学及神经化学等角度对KA的致癫作用作过许多探讨，但迄今对KA致癫过程中在体海马神经元的活动特征仍缺乏研究，而研讨这一问题对明确KA致癫作用的海马生理和解剖学基础显然有着重要意义。

业已证明，正常大鼠海马内有复合峰电位（complex spike，CS）细胞和θ细胞等放电形式，两者分别是海马锥体细胞和中间神经元放电形式的反映[5-6]。据此，本实验用同步记录海马脑电图和海马单位电活动的方法，观察分析了海马单位电活动对侧脑室注入KA的反应类型及其在海马不同区域的分布和功能意义。

材料和方法

实验组及对照组分别用119只及10只体重为280～320g的健康雄性Wistar大鼠。首先用25%乌拉坦及1%氯醛糖混合液腹腔注射麻醉，然后行气管插管、立体定位及开颅术。术后动物清醒后，以0.1%α-筒箭毒腹腔注射制动，施予人工呼吸。参照Pellegrino图谱[7]，将侧脑室插管在Bregma线后方1.0mm；尖状缝左侧2.5mm处垂直插至皮层下3.0mm进入左侧侧脑室。用pH7.4的Elliott氏人工脑脊液（ACSF）[8]将KA（Sigma公司产品）配成浓度为（1μg/1μl的溶液，于10min内经侧脑室插管注入KA 1μg。对照组的10只动物中单纯注入Elliott氏ACSF。用常规方法同步记录左侧海马脑电图及单位电活动，以Apple-II微机分析单位放电频率，必要时作示波照相记录。左侧背海马的探查范围为[7]：嘴尾侧：2.8～4.8mm；内外侧：矢状面左侧0.5～5mm；背腹侧：水平面背侧1～3mm。每个单位记录完毕，用膀胺天蓝法作微电极尖端组织学定位。实验完毕后，经侧脑室插管注入1%亚甲基蓝以标记插管位置；海马脑电图记录电极用普鲁氏蓝法作尖端定位。

结 果

一、海马脑电图活动的改变

在注入KA后1～5min，海马脑电图中开始出现散发性棘波。注入KA后30～40min可见典型的癫痫发作间期及发作期的脑电图改变。注入KA 3～5h后，棘波的幅度及发生频率可逐渐降低。

二、海马单位电活动对KA的反应

在实验组的119只动物中共记录了358个单位。

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

其中，在注入KA前后连续记录的有68个单位(CA_1～CA_4区内分别有16、15、19和18个单位）；只在注入KA后观察记录的单位（称为非连续记录的单位）有290个，其中，在注入KA后的前20min内及90min以后所观察的非连续记录的单位分别有132个单位（CA_1～CA_4区内分别有32、29、37和34个单位）及158个单位（CA_1～CA_4区内分别有39、35、42和42个单位）。

根据海马单位放电对KA的反应形式和频率及其与海马脑电图中棘波的时相对应关系，我们将海马单位电活动对KA的反应分为如下三种类型：

（一）正性单位：以4～15个动作电位组成的高频丛状放电为主要形式，每一丛状放电的出现在时间上与海马脑电图中棘波的出现相对应；在棘波与棘波之间，单位放电停止或只有散在的自发放电。丛内的放电频率可高达200～300次/s，是正常情况下所罕见的（图1）。

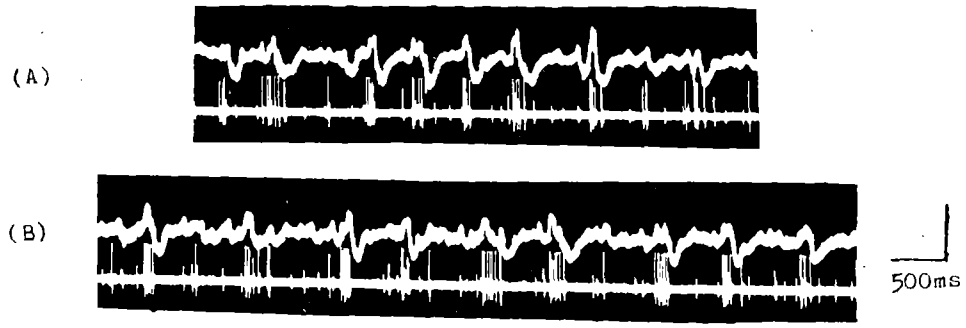


图1 注入KA后90min，一个正性单位的放电形式
电压标记：上线：1mV；下线：2mV。（A）和（B）是连续记录结果。

（二）负性单位：在海马脑电图中出现棘波时，这些单位对应性地出现放电活动的停止，而在棘波与棘波之间有较高频率的放电（图2）。



图2 注入KA后20min，一个负性单位的放电形式
电压标记：上线：1mV；下线：2mV。

（三）无关单位：这些单位的放电形式及频率在注入KA前后无显著改变，单位电活动与脑电图中棘波的出现无明显时相对应关系（图3）。



图3 一个无关单位的放电形式
电压标记：上线1mV；下线：2mV。

值得指出的是，正性或负性单位放电活动与棘波的时相对应关系不是固定不变的，单位放电活动的改变可与棘波同时出现，亦可在棘波之前或之后出现。另外，在注射KA后初期的某些无关单位可随时间的延长逐渐转化为正性或负性单位；某些负性单位在癫痫电活动加剧时可转化为正性单位。

在注入KA前，在连续记录的68个单位中，43个为CS细胞，占63.24%；25个为θ细胞，占

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

37.76%。在注入KA90min以后，43个CS细胞中有31个转变为正性单位，占72.09%（其总体率的95%可信限为56～85%）；1个转变为负性单位，占2.33%；11个是无关单位，占25.58%。这表明大多数海马CS细胞在注入KA后表现为正性单位的放电形式。

在连续记录的68个单位中，有38个单位在注入KA90min以后表现为正性单位的放电形式，其中31个来自CS细胞，占81.58%（其总体率的95%可信限为66%～92%）；7个单位来自θ细胞，占18.42%。这表明正性单位主要源自海马CS细胞。

三、正性单位在海马内的分布

在注入KA后的前20min内，所能记录到的正性单位较少；χ^2检验表明CA_3区内正性单位在三种类型的反应单位中所占的百分比显著高于海马其它三个区内的。但在注入KA90min以后，所能记录到的正性单位增多；χ^2检验表明此时CA_3、CA_4及CA_1区内正性单位在三种类型的反应单位中所占的百分比已无显著差异，但CA_2区内正性单位所占的百分比仍显著低于海马其它三个区内的(附表)。

附表　在注入KA后不同时间，正性单位在海马内的分布

	注入KA20min以内				注入KA90min以后			
	CA_1	CA_2	CA_3	CA_4	CA_1	CA_2	CA_3	CA_4
所观察的单位数	48	44	56	52	55	50	61	60
正性单位数	4	2	27	6	34	13	41	37
正性单位所占百分比	8.33%	4.55%	48.21%*	11.54%	61.28%*	26.00%**	67.21%*	61.76%*

* 与同一时间内海马其它区内的相应值比较，$p<0.01$

* 与注入KA后20min以内海马相同区内的相应值比较，$p<0.01$。

在对照组的10只动物中，海马脑电图及单位电活动在注入Elliott氏ACSF前后均无显著改变。

讨　论

我们发现在体海马单位电活动对KA的反应有正性、负性及无关单位等三种不同类型，正性或负性单位的活动与海马脑电图中棘波的时相对应关系不是固定不变的，这提示海马内神经元在KA致癫过程中所起的作用可能是不同的和可变的。由于无关单位或负性单位在癫痫电活动加剧时可转化为正性单位，因此上述三类单位可能并不是形态学上三种不同类型的神经元，而是海马神经元不同功能状态的反映。

正性单位具有与海马脑电图中棘波在时间上对应出现的高频癫痫样丛状放电，可能是KA引起海马神经元癫痫样电活动的典型表现。前人的研究已证实海马CS细胞及θ细胞分别是海马锥体细胞及中间神经元放电活动的反映[5-6]，结合本实验发现的大多数正性单位源自海马CS细胞；同时大多数海马CS细胞在注入KA后表现为正性单位的放电形式这一现象，我们推测海马锥体细胞可能比中间神经元更易受KA致癫作用的影响，从而更多更早地表现出癫痫样活动，

CA_2区内正性单位甚少；在注入KA后初期，正性单位主要集中于CA_3区，这提示CA_2区内的神经元对KA的致癫作用不敏感；而CA_3区内的某些锥体细胞则相反，在注入KA后可能首先表现出癫痫样丛状放电，进而作为癫痫活动的“起搏细胞”，通过突触联系或其它途径募集海马其它区域内的神经元产生继发性癫痫活动，后者可能作为新的“起搏点”，使癫痫电活动得以链式扩布。这样一种机制可能至少能够解释为什么在注入KA的后期（90min以后）比注入

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

KA后的初期（前20min内）能在海马其它区域记录到更多的正性单位这一现象。

负性单位的生理意义尚难确立，但其放电特征至少提示二种可能性的存在：（1）负性单位的放电暂停可能是神经元受海马中间抑制性神经元活动影响的结果，负性单位的存在可能表明海马内的抑制系统对防止癫痫电活动的产生和扩布发挥着重要作用；（2）负性单位的放电暂停也可能是神经元过度去极化的结果。显然，进一步进行在体海马细胞内记录对澄清这一问题将会有所裨益。

参考文献

1. Ben-Ari Y, et al. Injections of kainic acid into the amygdaloid complex of the rat: an electrographic, clinical and histological study in relation to the pathology of epilepsy. Neuroseience 1980; 5:515
2. Cavalheiro E, et al. Long-term effects of intrahippocampal kainic acid in rat: a method for inducing spontaneous recurrent seizures. Electroenceph. Clin Neurophysiol 1983; 54:63
3. Lancaster B, et al. Hippocampal electrophysiology after kainic acid treatment: a chronic model of focal epilepsy. Neurosci Abstr 1983; 9:908
4. Sperk G, et al. Kainic acid induced seizures: neurochemical and histopathological changes. Neuroscience 1983; 10:1301
5. Fox SE, et al. Electrophysiological charactristics of hippocampal complex spike cells. Exp Brain Res 1981; 41:399
6. Fox SE, et al. Localization and anatomical identification of theta and complex spike cells in dorsal hippocampal formation of rats. Exp Neurol 1975; 49:299
7. Pellegrino LJ, et al. A stereotaxic atlas of the rat brain. 2nd ed. Plenum Press, New York, 1979
8. Elliott KAC, et al. The use of brain slices. In Handbook of Neurochemistry. (ed. Lajtha A) Plenum Press, New York, 1969; 2:103

A Study of Epileptiform Hippocampal Unit Activity Induced by Introcerebroventrocular injection of Kainic Acid in the Awake Rat

Guo Qing, et al (Department of Physiology, Third Military Medical College)

After introcerebroventricular injection of kainic acid(KA) in the awake rat, three types of hippocampal unit responses, i. e. positive units, negative units and indifferent units, were recorded. Most positive units were hippocampal complex spike cells which correspond histologically to hippocampal pyramidal cells, and most hippocampal complex spike cells fired in positive bursts after KA treatment. In the early period after KA injection, the positive units were concentrated in CA_3 area. It was suggested that: (1) the activities of positive units may be considered as the typical epileptiform hippocampal unit activity induced by KA, and the firing characteristics of the negative units may be the result of influence of hippocampal inhibitory interneurons or that of the excessive cellular depolarization; (2) the hippocampal pyramidal cells were more sensitive to the epileptogenic effect of KA than the hippocampal interneurons, and some pyramidal cells in CA_3 area may serve as "pacemaker neurons" in KA induced epileptogenesis.

Key words: Epilapsy, temporal lobe; Kainic acid; Epilepsy/chemical induced; Hippocampus/ drug effects

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