DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.01.003

侧脑室注射 GABA、PTX 对猫背海马神经元伤害性放电的影响

毕晓宁 刘祚周 廖维宏 (生理学教研室)

提 要 本实验观察了侧脑室注射γ－氨基丁酸及其拮抗剂印防己毒对背侧海马伤害性相关神经元诱发放电的影响。实验结果如下:〈1〉侧脑室注射γ－氨基丁酸可使多数背海马伤害性兴奋神经元的增频反应明显减弱($P<0.01$);与此同时,多数背海马伤害性抑制神经元的减频反应亦明显减弱($P<0.01$)。侧脑室注射γ－氨基丁酸对伤害性无关神经元有不同程度的激活作用。〈2〉侧脑室注射印防己毒对背海马伤害兴奋神经元及伤害性抑制神经元的伤害性反应,有呈现对抗性反应的,有加强的,还有无改变的。〈3〉侧脑室注射印防己毒可以使外源性γ－氨基丁酸对多数伤害性兴奋神经元的抑制作用明显减弱($P<0.01$)。

上述结果提示: 伤害性刺激时背海马伤害性相关神经元的诱发反应形式与脑内γ－氨基丁酸水平密切相关。

关键词 海马;γ－氨基丁酸;印防己毒;神经元,传入

本室以往工作表明,海马与伤害性反应关系密切。海马内同时存在对伤害性刺激起不同反应的伤害性兴奋神经元和伤害性抑制神经元。它们的电活动受针刺穴位及外源性吗啡的影响[1],刺激中脑导管周围灰质及中缝大核[2]均能抑制伤害性兴奋神经元的诱发放电或使伤害性抑制神经元脱抑制。γ－氨基丁酸(GABA)是脊椎动物中枢神经系统中一种主要的抑制性神经递质,有资料表明 GABA 及其协同剂均有明显的抗伤害性作用[3-6]。本实验采用侧脑室微量注射的方法,观察了外源性 GABA 及其拮抗剂印防己毒(PTX)对海马内两类不同性质伤害性相关神经元的影响。

实 验 方 法

实验用健康雄性家猫 34 只,体重 2.5—3.5 kg。在 20% 氨基甲酸乙酯和 1% α－氯醛糖混合液(分别为 600 mg/kg 体重及 30mg/kg 体重)腹腔麻醉下,行气管切开术、股动脉插管术及开颅术。分离右侧隐神经,安置刺激电极。由静脉注入筒箭毒(1mg/kg 体重),行人工呼吸。

按 Snider 图谱在坐标 A_{12}、$L_{4.5}$、H_9 处埋入侧脑室套管。以微量推进器向脑室内注药,1.5 min 注完。侧脑室注射药品均用生理盐水配制,注药容量均为 10 μl,所含剂量则分别是 GABA 1.5 mg,PTX 10 μg。伤害性电刺激参数为:波宽 0.5 ms、频率 100 Hz、串长 100 ms、强度 30—40 v(空载),每串间隔 15s,每3串为一轮。

将充灌有 3mol KCl 溶液的玻璃微电极插入背侧海马(A_{4-6}, L_{4-6}, $H_{7.5-10}$)作细胞外放电记录。所得结果用 Applc－Ⅱ微机进行密度序列处理,并打印成直方图。统计学采用双尾 t 检验去。

实验结束后,向侧脑室注入 1% 亚甲基兰 20 μl 标示埋管位置,海马记录电极位置用普鲁士兰染色法进行组织学鉴定。

实 验 结 果

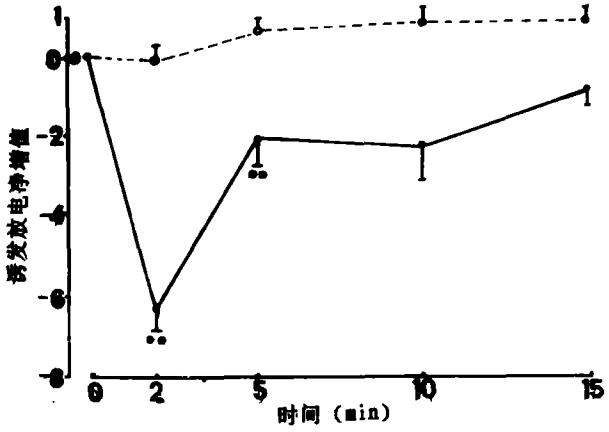
一、侧脑室注射 GABA 对背海马神经元电活动的影响

1 对伤害性兴奋神经元电活动的影响

共观察了 42 个伤害性兴奋神经元的电活动。比较注射 GABA 前后同一神经元诱发放电频率的改变,以伤害性刺激后神经元放电频率的秒净增值(刺激前后 15 s 内放电频率的秒平均值之差)为指标。其中,有 28 个(67%)神经元在注射 GABA 后 2 min 和 5 min 时伤害性诱发放电秒净增值由注射前的 2.57±0.49 次(均值± 标准误,下同)下降到 −1.06±0.42 次和 0.97±0.49 次。两者与注射前

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

相比差异均非常显著(P<0.01)(见图1)。从图1可见，GABA抑制效应以给药后2min最明显。于注射后5－15 min伤害性兴奋神经元的电活动出现恢复的趋势，但未恢复到注射前对照水平。在2min时仅有3个神经元伤害放电略增加，其余神经元在注射GABA后伤害性放电无明显变化。

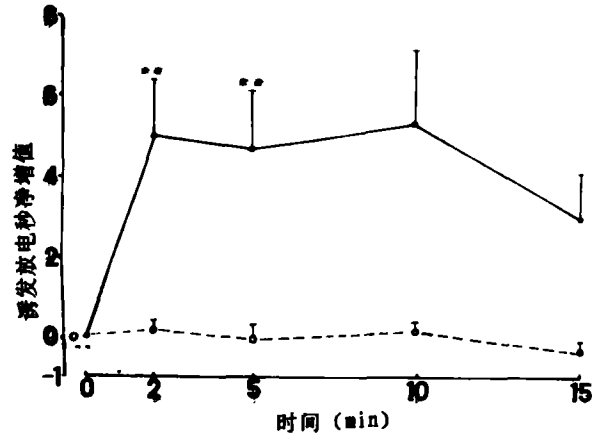


○ 注射前对照， — ○ 注射生理盐水
·—· 注射GABA ** P<0.01

图 1. 侧脑室注射 *GABA* 对背海马伤害性兴奋神经元电活动的影响

2. 对伤害性抑制神经元电活动的影响

在所观察记录的23个伤害性抑制神经元中，有17个(74%)在注射GABA后2 min和5 min时伤害性诱发放电的秒净增值由注射前的−3.38±1.1次增加到1.59±0.64次和1.27±0.53次。两者与注射前相比差异均非常显著(P<0.01)(见图2)。注射GABA后10－15 min开始恢复，但未恢复到注射前的对照水平。其余6个神经元中仅有2个在注射GABA后抑制反应进一步加深，另外4个放电频率无明显变化。



○ 注射前对照； — 注射生理盐水
·—· 注射GABA ** P<0.01

图2. 侧脑室注射 *GABA* 对背海马伤害性抑制神经元电活动的影响

3. 对伤害性无关神经元电活动的影响

共观察了16个神经元的电活动，其中50%的神经元于注射GABA 2 min时，由伤害性无关转变为伤害性兴奋；有12%转变为伤害性抑制，38%不发生反应。上述结果提示外源性GABA对背海中一些伤害性无关神经元有激活作用。

侧脑室注射等量生理盐水对所观察的9个伤害性兴奋神经元、5个伤害性抑制神经元及4个伤害性无关神经元的电活动均无明显影响。

二、侧脑室注射 *PTX* 对背海马神经元电活动的影响

共观察记录了44个神经元。其中伤害性兴奋神经元18个，伤害性抑制神经元10个，伤害性无关神经元16个。结果显示PTX对这些神经元的伤害性反应的影响很不一致。对伤害性相关神经元的伤害性反应，既有呈现对抗的，也有加强的，还有不发生变化的(表1、2)。在伤害性无关神经元中，有50%的神经元放电频率不发生变化；18.75%转化为伤害性兴奋；31.25%转化为伤害性抑制(表3)。

三、*PTX* 对外源性 *GABA* 作用的影响

共观察记录了22个神经元。其中伤害性兴奋神经元12个，伤害性抑制神经元5个，伤害性无关神经元5个。在12个伤害性兴奋神经元中，有9个神经元注射PTX后削弱或翻转了GABA对该神经元的抑制作用。注射PTX后2 min时伤害性刺激诱发放电秒净增值与注射前比较差异非常显著(P<0.01)，其余3个无反应。在5个伤害性抑制神经元中，有4个注射PTX后影响不明显，仅在一个神经元对抗了GABA对该神经元的作用。在5个伤害性无关神经元中有2个对抗了GABA的伤害性

表 1 侧脑室注射 *PTX* 对伤害性兴奋神经元诱发放电频率的影响

时间(min)	单位数	增加	降低	无改变
2	18(100%)	8 (44.4%)	2(11.1%)	8(44.4%)
5	18(100%)	9 (50 %)	4(22.2%)	5(27.8%)
10	18(100%)	11(61.1%)	0(0 %)	7(38.9%)
15	18(100%)	8 (44.4%)	2(11.1%)	8(44.4%)

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

表2 侧脑室注射 PTX 对伤害性抑制神经元诱发放电频率的影响

时间(min)	单位数	增加	降低	无改变
2	10(100%)	3(30%)	6(60%)	1(10%)
5	10(100%)	3(30%)	3(30%)	4(40%)
10	10(100%)	4(40%)	4(40%)	2(20%)
15	10(100%)	3(30%)	4(40%)	3(30%)

表3 侧脑室注射 PTX 对伤害性无关神经元诱发放电频率的影响

时间(min)	单位数	增加	降低	无改变
2	16(100%)	3(18.75%)	5(31.25%)	8(50 %)
5	16(100%)	6(37.75%)	5(31.25%)	5(31.25%)
10	16(100%)	3(18.75%)	6(37.5 %)	7(43.75%)
15	16(100%)	4(25 %)	4(25 %)	8(50 %)

易化作用,其余3个无反应。

讨 论

海马是情绪等高级神经活动的重要中枢之一。刘祚周等[1]观察到海马与痛觉关系密切,可能与痛的情绪反应有关[7]。GABA 是中枢神经系统的一种抑制性神经递质。近年来有许多学者报道 GABA 在镇痛机理中起重要作用。在哺乳类,GABA 受体激动剂、GABA 降解酶抑制剂、GABA 摄取抑制剂均有抗伤害性作用[3~6]。本实验观察了经侧脑室给予 GABA 时背海马神经元电活动的改变。结果表明,当脑内 GABA 增加时,多数背海马伤害性兴奋神经元的诱发放电受到明显抑制。经统计学处理与注射前相比差异非常显著($P<0.01$)。与此相反,多数记录到的伤害性抑制神经元呈现不同程度的抑制解除,或者转化为增频反应。上述结果提示,背海马伤害性兴奋神经元和伤害性抑制神经元的电活动与脑内 GABA 含量密切相关。有意义的是,本实验所得结果与本室报道的针刺穴位及静脑注射吗啡[1]刺激中脑导水管周围灰质以及刺激中缝大核[12]对背侧海马伤害性兴奋神经元和伤害性抑制神经元的影响十分相似。因此,可以推测 GABA 对背海马伤害性相关神经元的影响,可能是 GABA 抗伤害性作用的反映。或者是 GABA 镇痛机理的一个组成部份,通过影响海马对痛觉的感受,从而影响痛的情绪反应。

PTX 是 GABA 受体阻断剂。本实验观察到 PTX 可以削弱或翻转 GABA 对多数伤害性兴奋神经元的抑制 用,效果非常显著($P<0.01$)说明 GABA 这种对抗伤害性兴奋神经元伤害性反应的作用可能是通过 GABA受体实现的。而单独注射 PTX 以阻断内源性 GABA的作用,发现其对背海马伤害性相关神经元的诱发反应影响不一致:有兴奋,有抑制,还有改变。说明 GABA只有在大剂量时才能对抗背海马伤害性相关神经元的伤害性反应。这与 Liebman 等[8]指出的 GABA 只有在大剂量时才有镇痛作用相一致。而生理条件下内源性 GABA 在背海马伤害性相关神经元的伤害性反应中所起的作用尚难肯定。

目前,伤害性信息对海马传入的确切途径及所涉及的神经递质尚未明了;GABA 镇痛作用的机制也不清楚。所以,要搞清 GABA 对海马伤害性相关神经元调节的确切途径及其生理意义,有待于进一步深入研究阐明。

参 考 文 献

1. 刘祚周,等。电针对海马单细胞放电的影响。生理学报 1981; 33: 328~334
2. Lao Weihong, et al. Effects of electrical stimulation of nucleus raphe magus on hippocampal units responding to visceral A-delta or C afferent volleys in the cat. Neurosci Lett Supplement 1987; 28: S42
3. 叶维冷,等。中缝背核内注射氨氧乙酸对大白鼠痛阈和针刺镇痛效应的影响。科学通报 1985; 11: 872~875

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

4. Sawynok J, et al. Involvment of GABA in the antinociceptive effect of γ-acetylenic GABA (GAG), antinhibitor of GABA-transaminase. Gen Pharmac 1983; 14: 603 ~ 607
5. Sawynok J, et al. On the involvment of GABA in the analgesia produced by baclofen, muscimol and morphine. Neuropharmac. 1982; 21: 397 ~ 403
6. Grognet T, et al. Comparison of the analgesic actions of THIP and morphine. Gen Pharmac 1983; 14: 585 ~ 589
7. 沈锷。痛觉和痛觉的调制。生理科学进展 1979; 10: 193 ~ 201
8. Liebman JM, et al. Antinociceptive effect of baclofen and muscimol upon intraventricularly administration. Eur J Pharmac 1980; 61: 225 ~ 230

(收稿: 1988. 3. 28, 修回: 1988. 11. 3)

Effects of Intracerebroventricularly Injected GABA, PTX on the noxious Discharges of Dorsal Hippocampal Neurons in the Cats

Bi Xiaoning, et al

(*Department of Physiology, Third Military Medical College*)

The effects of intraventricular administration of γ-amino-butyric acid (GABA) and its antagonist picrotoxin(PTX) on the discharges of dorsal hippocampal nociceptive neurons are investigated. The noxious discharge of 28 (67%) nociceptive exciting neurons (NENS) are depressed ($p<0.01$) while 17 of 23 (74%) nociceptive inhibiting neurons (NINS) exhibit disinhibition ($p<0.01$) after injection of GABA.. PTX administered intraventricularly can reverse the inhibitory effect of GABA on most of the NENS, but the effects of PTX itself are variable. These suggest that a large dose of GABA exerts an analgesic effect, while the role of the endogenous GABA may play in the endogenous antinociceptive system is not clear.

Key words Hippocampus/DE; Gamma amino-butyric acid; Picrotoxin; Neurons, afferent

(上接9页)

decreased markedly and the urinary 3-methylhistidine(3-MH) excretion and the protein degradation rate of the soleus muscle of the injured hind limb increased markedly. Infusion of 3-HOBNa for 3 consecutive days following burns could lower the urinary 3-MH excretion and the protein degradation rate of the soleus muscle with no significant influence on the skeletal muscle protein anabolism. Moreover, investigations revealed that there was no synergistic effect of insulin-ketone body combinatioan on the anti-catabolic capacity in burned rats.

Key words: Sodium hydroxybutyrate; Ketone bodies; Burn injury; Protein metabolism; 3-methylhistidine

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