

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2007)17-1555-04

# 帕金森病模型大鼠腹内侧前额叶皮层神经元的活动变化

曹健<sup>1,2</sup>, 刘健<sup>1</sup>, 李强<sup>1</sup>, 冯洁<sup>1</sup>, 王涛<sup>1</sup>, 王爽<sup>1</sup>, 韩玲娜<sup>1</sup><sup>1</sup>西安交通大学医学院生理学与病理生理学系, 陕西 西安 710061; <sup>2</sup>西安医学院生理学教研室, 陕西 西安 710021)

## Changes of neuronal activity of ventromedial prefrontal cortex in the rat model of Parkinson's disease

CAO Jian<sup>1,2</sup>, LIU Jian<sup>1</sup>, LI Qiang<sup>1</sup>, FENG Jie<sup>1</sup>, WANG Tao<sup>1</sup>, WANG Shuang<sup>1</sup>, HAN Ling-Na<sup>1</sup><sup>1</sup>Department of Physiology and Pathophysiology, Medical College, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China, <sup>2</sup>Department of Physiology, Xi'an Medical College, Xi'an 710021, China

**【Abstract】** AIM: To observe and analyze the neuronal activity of ventromedial prefrontal cortex in normal and 6-OHDA-lesioned rats. **METHODS:** SD rat model of Parkinson's disease was established by lesion induction in substantia nigra compacta (SNc) by 6-hydroxydopamine. The neuronal activity of ventromedial prefrontal cortex in normal and 6-OHDA-lesioned rats was observed by capillary glass microelectrode extracellular recording method. **RESULTS:** The mean firing rates of ventromedial prefrontal cortex neurons in normal and PD rats were  $(2.3 \pm 0.9)$  Hz and  $(4.2 \pm 2.0)$  Hz, respectively. The mean firing rate of the neurons in PD rats was significantly increased compared to that in normal rats ( $P < 0.001$ ). **CONCLUSION:** The firing rate of ventromedial prefrontal cortex neurons is increased significantly in the rat model of PD, suggesting that substantia nigra (SN) inhibits the neuronal activity of the ventromedial prefrontal cortex neurons in the intact rat.

**【Keywords】** Parkinson's disease; 6-hydroxydopamine; prefrontal cortex; electrophysiology

**【摘要】**目的 观察和分析帕金森状态下腹内侧前额叶皮层中神经元的活动变化。方法 以6-羟多巴胺(6-OHDA)毁损黑质致密部(SNc)建立的PD模型大鼠为研究对象,采用玻璃微电极细胞外记录方法,记录和分析了PD状态下腹内侧前额叶皮层中神经元的电活动变化。结果 对照组与PD组大鼠腹内侧前额叶皮层神经元的放电频率分别为 $(2.3 \pm 0.9)$  Hz和 $(4.2 \pm 2.0)$  Hz。与对照组相比,PD模型大鼠腹内侧前额叶

皮层神经元的放电频率显著增高( $P < 0.001$ )。结论 6-OHDA单侧毁损SNc的DA能神经元后,腹内侧前额叶皮层神经元的放电频率显著增高,表明正常大鼠中黑质对腹内侧前额叶皮层起抑制性作用。

**【关键词】** 帕金森病; 6-羟多巴胺; 额叶前皮质; 电生理

**【中图分类号】** Q426.338.25 **【文献标识码】** A

## 0 引言

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种常见的神经系统退变性疾病,主要病变是黑质致密部(substantia nigra pars compacta, SNc)多巴胺(dopamine, DA)能神经元的变性坏死,从而导致整个基底神经节环路的功能改变<sup>[1]</sup>。大鼠的腹内侧前额叶皮层与基底神经节特别是纹状体具有密切的联系,还主要接受来自腹侧被盖区(ventral tegmental area, VTA)和SNc的DA能神经纤维投射,以及来自蓝斑的去甲肾上腺素(noradrenaline, NA)能和中缝背核的5-羟色胺(5-hydroxytryptamine 5-HT)能神经纤维投射。PD状态下基底神经节环路以及蓝斑核和中缝背核的神经元活动均有研究<sup>[2-3]</sup>,但腹内侧前额叶皮层神经元的活动变化至今未见报道。本实验我们以6-羟多巴胺毁损的PD模型大鼠为研究对象,采用玻璃微电极细胞外记录方法,观察和分析了PD状态下腹内侧前额叶皮层中神经元活动的变化。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 实验选用成年、雄性、健康的Sprague Dawley大鼠27只(体质量250~300g),由西安交通大学医学院实验动物中心提供。大鼠在标准环境中饲养,室温20~25℃,24h昼夜循环光照,自由摄食饮水。将大鼠随机分为两组:对照组( $n = 15$ )和PD组( $n = 12$ )。实验中所用药品均来自Sigma公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 帕金森病大鼠模型的建立** 采用6-羟多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)化学性毁损单侧SNc的DA能神经元的方法建立PD大鼠模型。大鼠用40g/L的水合氯醛(300mg/kg, ip)麻醉后,将头固定于脑立体定位仪上。给大鼠注射地昔帕米(25mg/kg,

收稿日期 2007-04-18; 接受日期 2007-06-16

基金项目 国家自然科学基金(30370464)

通讯作者: 刘健. Tel (029)82655160 Email liujian@mail.xjtu.edu.cn

作者简介: 曹健. 硕士, 助教. Tel (029)86177560 Email: lit-

tlegrass123@163.com

ip)以保护去甲肾上腺素能神经元. 根据 Paxinos-Watson<sup>[4]</sup>脑定位图对右侧 SNc 进行定位,坐标位置:前囱前 5.0~5.3 mm;中线旁开 1.9~2.1 mm;脑膜下 7.1~7.4 mm. 用微型电钻在颅骨上钻一个直径约 3 mm 的小孔,用针头剥离硬脑膜. 用 10  $\mu$ L 的 Hamilton 微量注射器与玻璃微电极相粘,尖端直径约 50  $\mu$ m,分两个位点在 SNc 内注射 6-OHDA(手术之前现配制,4 $^{\circ}$ C 避光保存). 每点 2  $\mu$ L (2  $\mu$ g/ $\mu$ L),给药速度 1  $\mu$ L/min,注射完毕后留置 5~10 min,退出玻璃微电极,彻底消毒止血后缝合伤口,待清醒后放置笼内饲养. 术后 1wk 给大鼠颈部皮下注射阿朴吗啡 (0.05 mg/kg),观察大鼠的旋转行为. 若大鼠在药物注射后 1~15 min 即出现向健侧旋转,每 1 min 旋转大于 5 圈,并且 5 min 超过 20 圈者可视为 PD 模型成功,列为实验对象<sup>[5-6]</sup>.

1.2.2 电生理记录 PD 模型成功的大鼠在 SNc 损毁后 2 wk,记录同侧腹内侧前额叶皮层神经元的电活动. 大鼠用 200 mg/L 的乌拉坦 (1.2 g/kg, ip)麻醉,行气管和静脉插管术后将头固定于脑立体定位仪上,根据 Paxinos-Watson 大鼠脑立体定位图谱,确定右侧腹内侧前额叶皮层的位置:前囱前 2.2~3.2 mm,中线旁开 0.3~0.8 mm,脑膜下 4.5~6.5 mm. 玻璃微电极细胞外方法记录腹内侧前额叶皮层的神经元放电,电极尖端直径 1~2  $\mu$ m,阻抗 10~30 M $\Omega$ ,充灌液为 0.5 mol/L 醋酸钠 (内含 20 mg/L 的滂胺天蓝). 细胞放电经 MEZ-8201 微电极放大器显示于 VC-10 记忆示波器,以观察电位波形和细胞放电形式,同时信号输入监听器监听. 将信噪比大于 3:1 的、稳定的单细胞放电,经生物电信号采集与分析系统进入计算机后,作实时观察、储存和进行频率及放电形式的分析,采样时间 5~10 min. 整个实验过程中监测大鼠心电图,直肠温度维持在 (37.0 $\pm$ 0.5) $^{\circ}$ C.

1.2.3 腹内侧前额叶皮层神经元的确认和放电形式分析 腹内侧前额叶皮层的神经元通常有比较宽的动作电位 (>1 ms),放电频率较慢 (0.1~5 Hz),呈现为不规则放电伴有爆发式活动<sup>[6]</sup>.

根据放电间隔图 (interspike interval histogram, ISIH)和相关的几个参数鉴别神经元的放电形式. 每一神经元放电间隔图的生成最少包含 1000 个左右的动作电位,bin 宽 4 ms. 依据 ISIH 将神经元的放电形式分为:①规则放电, ISIH 呈对称性分布;②不规则放电, ISIH 为随机分布;③爆发式放电, ISIH 呈明显的逐渐衰减的正偏态分布. 从 ISIH 中我们还测量和计算了众数 (mode),不对称指数 (asymmetry index) 及变异系数 (coefficient of variation),以协助判断神经

元放电形式的变化. 众数指最高频率的放电间隔 (interspike interval, ISI);不对称指数为众数与平均 ISI 的比值,反映放电间隔图的形状,该值小于 1 表示正偏态分布,变异系数是放电率的标准差与平均 ISI 之比,反映神经元活动的规律性<sup>[6-7]</sup>.

1.2.4 组织学定位 电生理记录完毕后,通过玻璃微电极电泳滂胺天蓝标记最后一个记录位点 (-20  $\mu$ A, 15 min). 大鼠经乌拉坦深度麻醉,剪开胸腔,暴露心脏,经左心室进入主动脉灌注生理盐水 150 mL,随后用 40 g/L 多聚甲醛 150 mL 灌注固定. 取脑,固定 4 h,再置于 200 g/L 的蔗糖溶液中过夜,行连续冠状冰冻切片 (40  $\mu$ m),确定被记录神经元的位置.

统计学处理:采用 SPSS13.0 软件,对记录点在腹内侧前额叶皮层内的神经元电活动进行统计分析,实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示. 对照组和 PD 组大鼠腹内侧前额叶皮层神经元放电频率的比较采用独立样本 *t* 检验,两组大鼠放电形式的比较采用  $\chi^2$  检验,以 *P* < 0.05 为检验水准.

## 2 结果

实验分别记录和分析了对照组 27 个 (*n* = 15) 和 PD 模型组 24 个 (*n* = 12) 腹内侧前额叶皮层神经元的电活动. 两组大鼠腹内侧前额叶皮层神经元的平均放电频率、平均 ISI、众数、不对称指数和相关系数见表 1,放电形式变化见表 2.

表 1 对照组和帕金森病模型组大鼠腹内侧前额叶皮层神经元放电频率和放电参数的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	神经元 ( <i>n</i> )	平均放电频率 (Hz)	平均放电间隔 (ms)	众数 (ms)	不对称指数	变异系数
对照	27	2.3 $\pm$ 0.9	507 $\pm$ 207	23 $\pm$ 29	0.06 $\pm$ 0.09	1.11 $\pm$ 0.40
模型	24	4.2 $\pm$ 2.0 <sup>b</sup>	322 $\pm$ 189 <sup>b</sup>	23 $\pm$ 19	0.10 $\pm$ 0.09	0.88 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>*P* < 0.05, <sup>b</sup>*P* < 0.01 vs 对照.

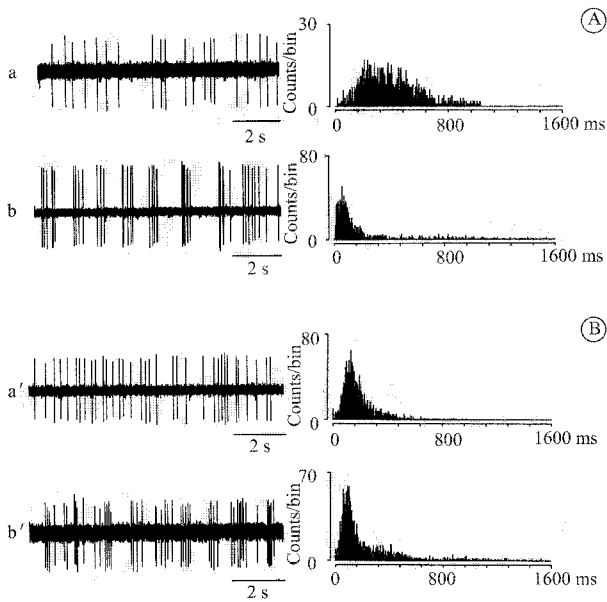
表 2 对照组和帕金森病模型组大鼠腹内侧前额叶皮层神经元放电形式的比较 [*n*(%) ]

组别	神经元 ( <i>n</i> )	不规则放电	爆发式放电
对照	27	7(25.93)	20(74.07)
模型	24	10(41.67)	14(58.33)

2.1 腹内侧前额叶皮层神经元的放电频率 对照组大鼠腹内侧前额叶皮层记录到的神经元的放电频率从 1.0 Hz 到 4.5 Hz,平均 (2.3 $\pm$ 0.9) Hz. 而 PD 模型组大鼠腹内侧前额叶皮层的神经元放电频率分布范围是 1.1~9.2 Hz,平均放电频率 (4.2 $\pm$ 2.0) Hz. 与对照组相比,PD 模型大鼠腹内侧前额叶皮层的神

神经元放电频率显著增加 ( $P < 0.001$ , 表 1)。

**2.2 腹内侧前额叶皮层神经元的放电形式** 对照组大鼠腹内侧前额叶皮层神经元呈现两种不同的放电形式, 其中 25.93% 为不规则放电, 74.07% 为爆发式放电。与对照组相比, PD 模型组不规则放电的神经元比例增加 (41.67%), 爆发式放电的比例下降 (58.33%) (图 1), 经  $\chi^2$  检验, 两者差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ , 表 2)。



左侧为神经元的原始放电图, 右侧为相应的神经元放电间隔直方图。A: 对照组; a: 不规则放电; b: 爆发式放电。B: 模型组; a': 不规则放电; b': 爆发式放电。

图 1 对照组与帕金森病模型组大鼠腹内侧前额叶皮层神经元放电频率和放电形式的比较

此外, 反应两组大鼠腹内侧前额叶皮层神经元放电形式的参数平均 ISI 和变异系数差异也有统计学意义。其中, 平均 ISI 由 ( $507 \pm 207$ ) ms 变为 ( $322 \pm 189$ ) ms, PD 组显著性缩短 ( $P < 0.01$ ), 也表明放电频率的增加。对照组大鼠变异系数为  $1.11 \pm 0.40$ , PD 组为  $0.88 \pm 0.29$ , PD 组显著性减小 ( $P < 0.05$ , 表 1)。

### 3 讨论

mPFC 是皮质-边缘系统-纹状体环路上的一个关键部分, 本实验用 6-OHDA 单侧毁损 SNc 后, 腹内侧前额叶皮层神经元的放电频率显著增加, 这与 PD 状态下该核团自身活动的改变有关。腹内侧前额叶皮层内的神经元主要包括锥体传出神经元和 GABA 能中间神经元<sup>[8]</sup> 与脑内许多神经核团发生联系, 主要接受来自于 VTA 的 DA 能神经纤维的支配。在锥体

细胞和中间神经元之间还存在着直接的突触联系, GABA 能神经元主要通过 GABA<sub>A</sub> 和 GABA<sub>B</sub> 受体起作用, GABA<sub>A</sub> 受体可存在于锥体细胞和 GABA 能中间神经元上, GABA<sub>B</sub> 受体位于神经元的突触后膜上。

实验证实脑室内或脑实质内给小剂量的 6-OHDA (150  $\mu$ g 或 8  $\mu$ g) 会引起儿茶酚胺能神经元的选择性破坏, 耗竭受损脑区的 DA、肾上腺素和去甲肾上腺素, 而其它神经递质的浓度并不改变。另外免疫组化实验发现 PD 阳性的大鼠在毁损右侧 SN 后, 脑组织酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH) 免疫组化染色可见注射 6-OHDA 的右侧 SNc 和 VTA 的 TH 阳性细胞消失, 而未注射的左侧相应区仍可见大量 TH 阳性的细胞<sup>[9-10]</sup> 表明在 PD 时, 毁损侧 VTA 中 DA 能神经元逐渐减少。VTA 发出 DA 能神经纤维主要投射到腹内侧前额叶皮层和伏隔核, 在腹内侧前额叶皮层内可与锥体传出神经元及 GABA 能中间神经元发生突触联系。可直接抑制锥体传出神经元, 或先激活 GABA 中间神经元再转而抑制锥体传出神经元。6-OHDA 单侧毁损 SNc 后, VTA 中的 DA 能神经元对腹内侧前额叶皮层锥体神经元的抑制性投射作用以及对 GABA 能中间神经元的激活作用减弱, 因而腹内侧前额叶皮层内的神经元活动增强, 放电增多。

此外, 腹内侧前额叶皮层还可以接受来自于蓝斑核的 NA 能神经纤维的支配, 同时也发出投射纤维支配蓝斑核。NA 能神经纤维的受体有  $\alpha$  和  $\beta$  两种亚型, 刺激蓝斑核可以使 IL (infralimbic area, IL) / PL (prelimbic area, PL) 区基本的神经元活动减弱, 并且使得细胞外的 DA 水平增加, 表明在 IL/PL 区 NA 可能会增强 DA 的释放<sup>[11-12]</sup>。此外腹内侧前额叶皮层还可以接受来自于中缝核群的 5-HT 能神经纤维的支配。以往研究发现, PD 时在蓝斑核和 DRN (dorsal raphe nucleus, DRN) 中有大量神经元坏死<sup>[2-3]</sup>, 因而抑制性的 NA 能和 5-HT 能神经纤维传入冲动减少。以上因素共同作用造成了腹内侧前额叶皮层神经元的增强, 表明正常情况下, 黑质对腹内侧前额叶皮层神经元起抑制性作用。

### 【参考文献】

- [1] Blandini F, Nappi G, Tassorelli C, et al. Functional changes of the basal ganglia circuitry in Parkinson's disease [J]. Prog Neurobiol, 2000, 62: 63-88.
- [2] Zarow C, Lyness SA, Mortimer JA, et al. Neuronal loss is greater in the locus coeruleus than nucleus basalis and substantia nigra in Alzheimer and Parkinson disease [J]. Arch Neurol, 2003, 60(3): 337-341.

- [ 3 ] Gustavo MM , Riquelme LA , Tseng KY , et al. Substantia nigra pars reticulata single unit activity in normal and 6-OHDA-lesioned rats effects of intrastriatal apomorphine and subthalamic lesion[ J ]. Synapse , 1997 , 27 : 278 - 293 .
- [ 4 ] Paxinos G , Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates [ M ]. 4th ed. Sydney : Academic Press , 1996 : 1 - 119 .
- [ 5 ] Schwarting RKW , Huston JP. Unilateral 6-hydroxydopamine lesions of meso-striatal dopamine neurons and their physiological sequelae [ J ]. Prog Neurobiol , 1996 , 49 : 215 - 266 .
- [ 6 ] Hassani OK , Mouroux M , Feger J. Increased subthalamic neuronal activity after nigral dopaminergic lesion independent of disinhibition via the globus pallidus [ J ]. Neuroscience , 1996 , 72 ( 1 ) : 105 - 115 .
- [ 7 ] Fedrowitz M , Lindemann S , Loscher W , et al. Altered spontaneous discharge rate and pattern of basal ganglia output neurons in the circling rat mutant [ J ]. Neuroscience , 2003 , 118 : 867 - 878 .
- [ 8 ] Hajos M , Hajos-Kircsok E , Sharp T. Role of the medial prefrontal

cortex in 5-HT<sub>1A</sub> receptor-induced inhibition of 5-HT neuronal activity in the rat [ J ]. Br J Pharmacol , 1999 , 126 : 1741 - 1750 .

- [ 9 ] 伦学庆 , 张春芬 , 章翔. 实验性帕金森病血浆及纹状体兴奋性氨基酸变化及其意义 [ J ]. 济宁医学院学报 , 1998 , 21 ( 1 ) : 21 - 23 .
- [ 10 ] 陈晓宇 , 姚玉芬 , 沈韶辉 , 等. 阿朴吗啡诱导黑质损毁大鼠腹侧被盖区 c-jun 表达 [ J ]. 中国临床解剖学杂志 , 2006 , 24 ( 1 ) : 81 - 83 .
- [ 11 ] Marek GJ , Aghajanian GK. 5-HT<sub>2A</sub> receptor or  $\alpha_1$ -adrenoceptor activation induces excitatory postsynaptic currents in layer V pyramidal cells of the medial prefrontal cortex [ J ]. Eur J Pharmacol , 1999 , 367 : 197 - 206 .
- [ 12 ] Kawahara H , Kawahara Y , Westerink BH. The noradrenaline-dopamine interaction in the rat medial prefrontal cortex studied by multi-probe microdialysis [ J ]. Eur J Pharmacol , 2001 , 418 : 177 - 186 .

编辑 王雪萍

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790(2007)17-1558-01

## 彩色多普勒超声诊断永存动脉干 1 例

王 兰 ( 解放军第 161 医院特诊科 湖北 武汉 430010 )

【关键词】彩色多普勒 超声诊断 永存动脉

【中图分类号】R445.1 【文献标识码】B

1 临床资料 患者女 35 岁。已婚，育有一子。主诉：皮肤、口唇青紫伴蹲踞 35 a。幼时在外院检查诊断为“先天性心脏病”，未做进一步检查及治疗。2 mo 前，因心慌、胸闷加重后来我院就诊。我们采用 GE Vivid7 彩色超声诊断仪，探头频率：3 MHz。受检者取平卧位或左侧卧位，应用二维及多普勒技术多切面扫查，超声显示：内脏正位，心房正位，心室右伴，房室连续关系正常。仅见一组半月瓣。于左心长轴切面见一明显增粗动脉干，内径约 4.5 cm，前移骑跨于室间隔上，骑跨率约为 50%。动脉壁前方未见右室流出道。心底短轴切面示：右室流出道包绕主动脉根部结构未见显示，肺动脉主干及其分支结构未见显示。胸骨上窝切面显示共同动脉干后内侧壁小弯侧发出一管腔结构，内径约 0.9 cm，其近端可见发出肺动脉左、右分支，内径分别约 0.7、0.6 cm，远端可见较丰富侧支循环血流信号。主动脉弓为右弓。大动脉瓣下可见一较大室间隔回声连续中断，缺损口径约 3.2 cm，收缩期可见左、右室血流射入大动脉。房间隔回声连续完整，房水平未见分流信号。超声诊断为复杂先天性紫绀性心脏病：①永存动脉干 (PTA)；②室间隔缺损；③右位主动脉弓；④侧支循环形成。数天后于武汉协和医院行心导管造影，结果示先天性心脏病，PTA (III 型) ①右上肺动脉起源于左锁骨下动脉，可能右上肺动脉起

源于主动脉弓内后缘，双下肺动脉起源于胸主动脉；②室间隔缺损；③右位主动脉弓及右位胸主动脉，伴分支异常，左腔上腔静脉。

2 讨论 PTA 又称为共同动脉干或共同主动脉-肺动脉干，是一组罕见的复杂先天性心脏病，发病率占先天性心脏病患者的 0.5% ~ 3%，预后差，存活率低，如未及时治疗，可发生不可逆肺血管严重病变，丧失手术机会。据报道，若无手术矫正，80% 的患儿于 1 岁以内死亡，自然成活至成年极罕见<sup>[1]</sup>。故本病应早诊断，尽快手术治疗，以提高存活率。PTA 主要系肺嵴及心球间隔发育缺陷，原始动脉干未能正常分隔发育成主肺动脉及主动脉所致，主动脉与肺动脉间隔不完全或缺如，同时伴有肺动脉锥体远端发育障碍及高位室间隔缺损形成。1949 年由 Collett 和 Edwards 将 PTA 分为以下四型<sup>[2]</sup>：I 型 (主肺动脉起自共同动脉干囊部上方的左后侧壁，然后发出左、右肺动脉)；II 型 (左、右肺动脉分别起自 PTA 起始部后壁，主动脉与肺动脉间隔缺如，没有主肺动脉)；III 型 (左、右肺动脉分别起自共同动脉干起始部侧壁，多伴有一侧肺动脉缺如)；IV 型 (左、右肺动脉均缺如)。心导管造影为诊断 PTA 金标准，超声工作者应特别注意左室长轴、胸骨上窝等多切面扫查，认真观察大动脉起源、位置、走行，注意与主-肺动脉窗、重型法乐四联症及肺动脉闭锁合并室间隔缺损相鉴别。超声心动图对 PTA 的诊断、分型和鉴别诊断亦具有重要的价值。

### 【参考文献】

- [ 1 ] Brown JW , Ruzmetov M , Okada Y , et al. Truncus arteriosus repair : Outcomes , risk factors , reoperation and management [ J ]. Eur J Cardiothorac Surg 2001 20( 2 ) 221 - 227 .
- [ 2 ] 刘延玲 , 熊鉴然 , 王浩 , 等. 临床超声心动图学 [ M ]. 北京 : 科学出版社 , 2001 : 455 - 472 .

收稿日期 2007-03-21 ; 接受日期 2007-05-08

作者简介 王 兰. 硕士, 主管技师. Tel ( 027 ) 60169103

编辑 袁天峰