

电刺激大鼠伏隔核对腹侧苍白球神经元自发放电的影响

贾媛媛¹, 马羽², 林宇涵¹, 关有良³, 孟飞⁴, 王军¹, 高东明^{*}

(1 辽宁医学院生理学教研室, 锦州 121000; 2 北京市神经外科研究所功能神经外科研究室, 北京 100050

3 辽宁医学院附属一院泌尿外科, 锦州 121000; 4 辽宁医学院附属一院神经外科, 锦州 121000)

【摘要】 目的: 研究电刺激大鼠伏隔核 (nucleus accumbens, NAC) 对腹侧苍白球 (ventral pallidum, VP) 神经元放电的影响, 探索电刺激 NAC 治疗药物成瘾的机制。方法: 本实验应用细胞外记录方法观察不同频率电刺激 (强度 0.4 mA, 波宽 0.06 ms, 时程 5 s, 频率 5, 10, 20, 50, 80, 100, 130, 150 和 200 Hz) 大鼠 NAC 对 VP 神经元放电的影响。结果: 刺激频率低于 20 Hz 时, 大多数 VP 神经元的放电频率无变化, 电刺激频率大于 20 Hz 可使大多数 VP 神经元的放电频率降低。结论: 本研究提示高频刺激 NAC 对药物依赖可能有治疗作用。

【关键词】 伏隔核; 腹侧苍白球; 电刺激; 药物依赖

Effect of electrical stimulation of the nucleus accumbens on the neuronal activities of ventral pallidum in the rats

Jia Yuanyuan¹, Ma Yu², Lin Yuhuan¹, Guan Youliang³, Meng Fei⁴, Wang Jun¹, Gao Dongming¹

(1. Department of Physiology, Liaoning Medical College, Jinzhou 121000; 2. Functional Neurosurgery Lab,

Beijing Neurosurgical Institute, Beijing 100050; 3. Urology, Liaoning Medical College, Jinzhou 121000;

4. Clinical Neurosurgery, Liaoning Medical College, Jinzhou 121000, China)

【Abstract】 Objective To study the effect of the electrical stimulation of the nucleus accumbens (NAC) on the neuronal activities of the ventral pallidum (VP) in rats. **Methods** Electrical stimulation (intensity 0.4 mA, width 0.06 ms, duration 5 s, frequency 5, 10, 20, 50, 80, 100, 130, 150 and 200 Hz) was delivered to the NAC. The firing rates of VP neurons were observed by extracellular recording. **Results** The Results showed under 20 Hz electric stimulation of the NAC has no effect. The stimulation of the NAC with a frequency higher than 20 Hz could induce an inhibitory effect on the spontaneous activity of the VP in rats. **Conclusion** This result suggests that high frequency stimulation of NAC might be an effective surgical procedure for the treatment of drug dependence.

【Keywords】 nucleus accumbens; ventral pallidum; electrical stimulation; drug dependence

伏隔核 (nucleus accumbens, NAC) 是联系边缘系统和锥体外系运动系统的关键部位, 是动机转化为行动的接口, 是药物精神依赖的神经生理学基础^[1]。国内外的许多学者认为 NAC 是治疗药物依赖的一个重要靶核团。近年来有文献报道, 损毁

NAC 可以减轻药物的精神依赖、抑制吗啡诱导的复燃^[2]。但是损毁 NAC 的远期疗效和并发症缺少进一步的随访和评价, 还牵涉伦理学等的争议。最近的研究结果表明高频刺激吗啡成瘾大鼠双侧 NAC, 能够有效地减轻大鼠吗啡精神依赖症状, 提示脑深

部刺激有可能成为功能神经外科戒毒的有效方法。目前有关不同频率电刺激 NAC 对成瘾过程中精神依赖的影响国内外鲜有报道。本实验采用细胞外记录,观察不同频率电刺激 NAC 对 VP 神经元放电的影响,为临床应用电刺激 NAC 方法治疗药物依赖提供实验依据。

材料和方法

1 材料

实验采用成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠 20 只(辽宁医学院实验动物中心提供),体重 220~250 g

2 方法

2.1 电刺激及记录 大鼠在 20% 氨基甲酸乙酯 (0.8 ml/100 g 体重) 腹腔麻醉下,固定在脑立体定位仪(西北光学仪器厂)上,行常规开颅术。按 Paxinos & Watson 大鼠脑图谱,将刺激电极(同心圆电极 NEX100 外径 0.25 mm,直流阻抗 3~6 M Ω)插入 NAC(坐标 AP 2.2 mm, LR 1.6 mm, H 6.6 mm)。电刺激采用 A320R 型隔离刺激器(美国 WPI 公司)。刺激参数为:单脉冲,强度 0.4 mA,波宽 0.06 ms,刺激时程 5 s,刺激频率分别为 5, 10, 20, 50, 80, 100, 130, 150, 200 Hz。腹侧苍白球(ventral

pallidum, VP) 神经元放电采用单管玻璃微电极(电极尖端直径小于 2 μ m,电阻在 5~15 M Ω 之间,管内灌注含 1% 滂胺天蓝的 3.0 mol/L NaCl 溶液)进行细胞外记录。借助微电极推进器将微电极缓缓插入 VP(AP -0.26 mm, LR 2.2~2.8 mm, H 7.4~8.3 mm)。神经元单位放电经 DAM80 微电极放大器(美国 WPI 公司)引导、滤波(300~3000 Hz)、显示于示波器上,再经 spike2 生物信号采集系统(英国 CED 公司)输入计算机处理,再现原始波形,同时生成序列密度直方图。实验过程中只对放电幅度稳定在同一水平的信号且信噪比大于 3/1 的神经元放电信号进行记录。

2.2 组织学检测 电生理记录完毕后,通过玻璃微电极电泳滂胺天蓝标记记录位点(-20 μ A, 30 min)。大鼠在过量麻醉下,经心脏灌注生理盐水 100 ml 随后用 4% 多聚甲醛的 0.1 mol/L 磷酸缓冲液 100 ml 灌流固定 15~20 min,迅速取出完整的脑组织,放入同样固定液中进行后固定 4 h,再将组织移入 30% 的蔗糖磷酸缓冲液中(pH = 7.4)过夜至沉底。次日行冰冻切片,片厚 30 μ m,焦油紫染色,光镜下观察,刺激及记录部位均正确的大鼠才能进行统计学处理(Fig 1)。

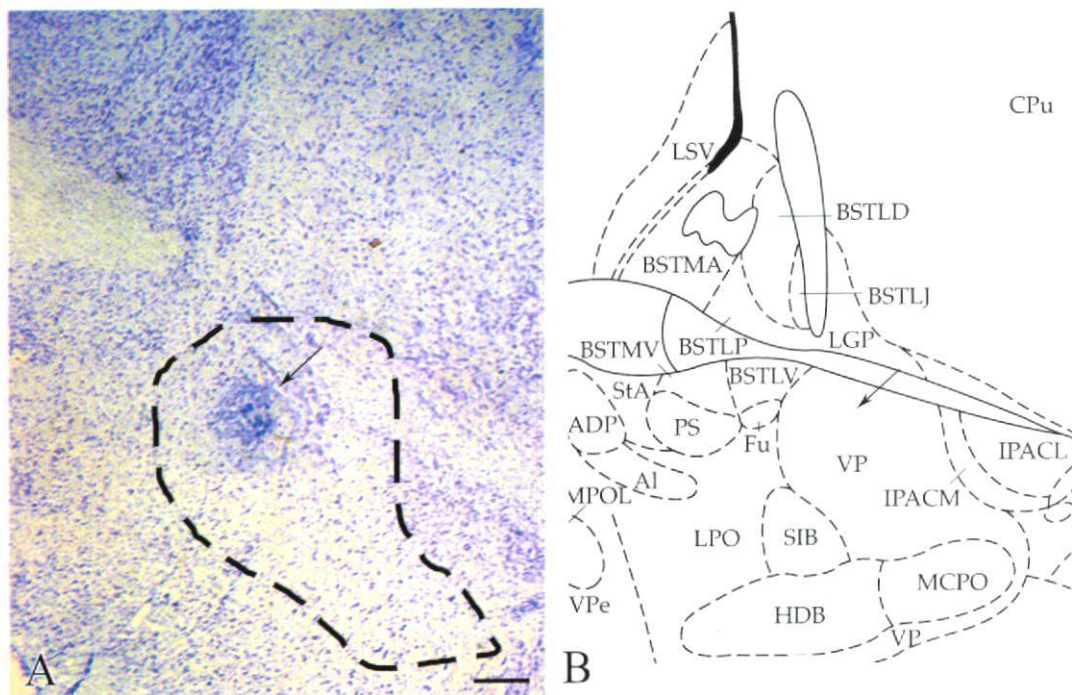


Fig 1 Labelling of extracellular recording site in ventral pallidum of a rat. A: Cresyl violet-stained coronal section through the ventral pallidum which is demarcated by the dashed line. The arrow points to the labeling of pontamine sky blue (Nissl $\times 40$). B: The figure from the Rat Brain Atlas (Paxinos & Watson), showing the corresponding the labelling site. Bar = 200 μ m.

2.3 神经元放电形式分析 根据神经元放电间隔直方图 (interspike interval histogram, ISH) 鉴别神经元的放电形式。每个神经元 ISH 的生成至少包含 300 个动作电位, 直方图采样 bin 宽 4 ms。依据 ISH 将神经元放电形式分为: (1) 规则放电, ISH 呈对称性分析; (2) 不规则放电, ISH 呈随机分布; (3) 爆发式放电, ISH 呈明显的逐渐衰减的正偏态分布。

统计学处理: 根据下面公式判断电刺激前后神经元放电频率变化: $R = (\text{处理后放电频率} / \text{处理前放电频率} - 1) \times 100\%$ [3,4], $R > 20\%$ 为兴奋型反应; $R \leq 20\%$ 为抑制型反应; 介于两者之间为无反应。所得数据应用 SPSS 16.0 统计软件处理, 统计资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。

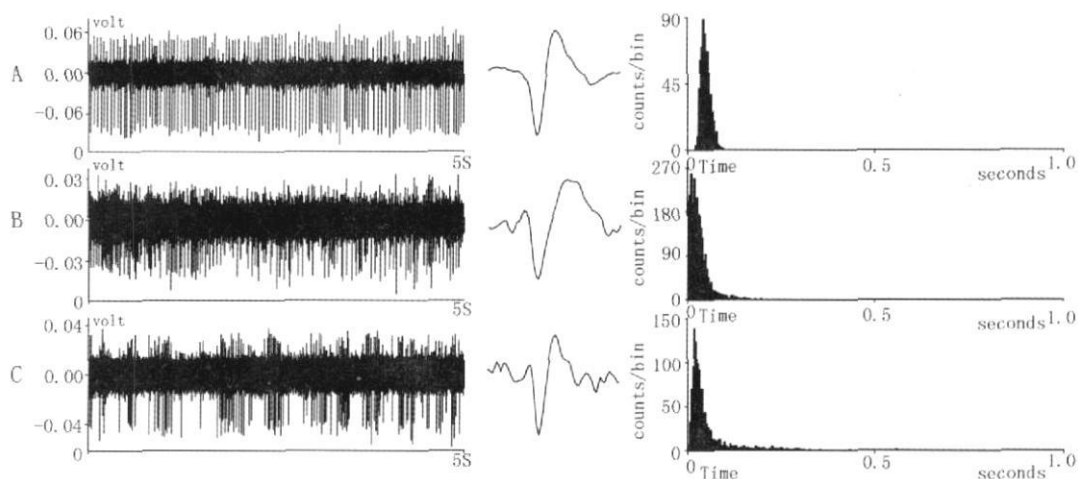


Fig 2 Firing patterns of VP neurons in rats. A: Regular firing; B: Irregular firing; C: Burst firing. IH: Primitive waveform; Middle: Extracellular action potential of VP neurons; RE: Interval histogram.

表 1 不同频率电刺激大鼠 NAC 对 VP 神经元放电影响的构成比

刺激频率 (Hz)	兴奋		抑制		无作用		合计
	n	%	n	%	n	%	
5	2	6.67	7	23.33	21	70.00	30
10	4	13.33	10	33.33	16	53.33	30
20	8	26.67	15	50.00	7	23.33	30
50	9	30.00	18	60.00	3	10.00	30
80	8	26.67	17	56.67	5	16.67	30
100	7	23.33	18	60.00	5	16.67	30
130	8	26.67	18	60.00	4	13.33	30
150	7	23.33	20	66.67	3	10.00	30
200	6	20.00	23	76.67	1	3.33	30

2 不同频率电刺激 NAC 对大鼠 VP 神经元放电的影响

结果

1 VP 神经元的自发放电

实验中共记录了 84 个 VP 神经元自发放电活动, 其自发放电频率较快, 平均为 (15.61 ± 11.48) Hz。VP 神经元表现为三种放电形式: 规则放电、不规则放电和爆发式放电 (Fig 2)。其中多数为不规则放电 (66.67%, 56/84), 其次是规则放电 (28.57%, 24/84), 爆发式放电所占比例最小 (4.76%, 4/84)。

共记录了大鼠 30 个 VP 神经元对不同频率 NAC 电刺激的反应。当刺激频率小于 20 Hz 时, 大多数

VP神经元的放电频率无明显的变化。刺激频率在20 Hz~200 Hz时(表1),电刺激NAC抑制大多数VP神经元的放电活动(Fig 3),电刺激NAC兴奋少数VP神经元的放电活动(Fig 4),且随着刺激频率

的增加,受抑制的神经元数量明显增多,抑制程度与刺激频率呈正相关($P < 0.01$, $r = 0.918$, Fig 5)。刺激频率为100 Hz时,放电频率由刺激前的(14.75 ± 16.63) Hz降为(6.66 ± 12.03) Hz($P < 0.01$)。

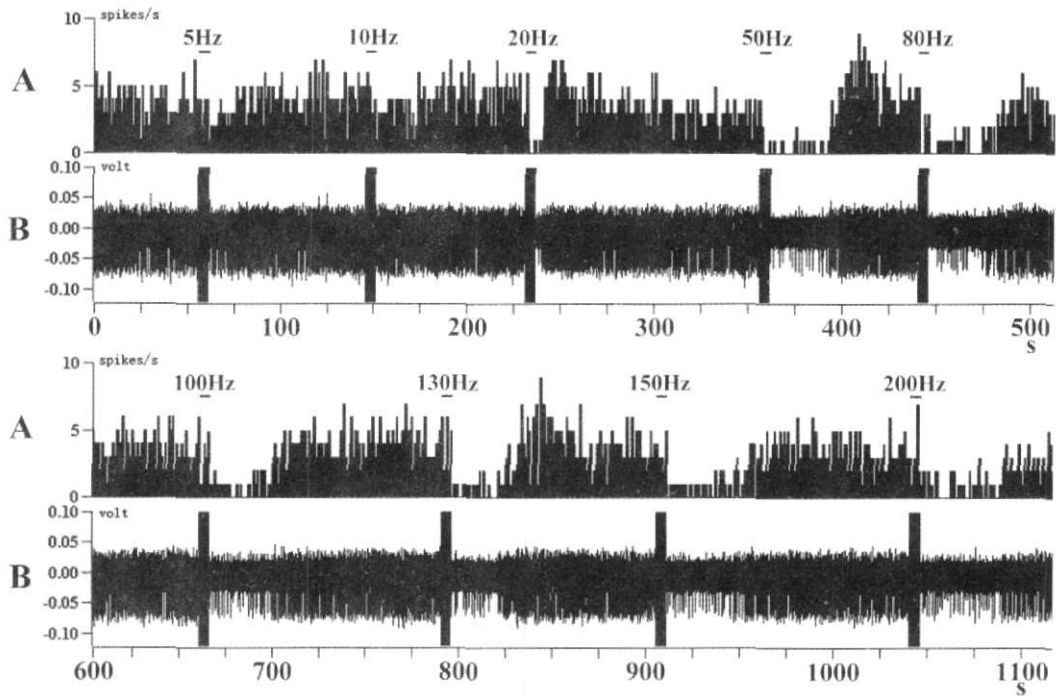


Fig 3 Inhibitory effects of electrical stimulation of NAC with different frequencies on the firing rate of aVP neuron in a rat A: sequence histogram; B: original chart recording The bars on the top of the figure indicate the period of electrical stimulation of NAC.

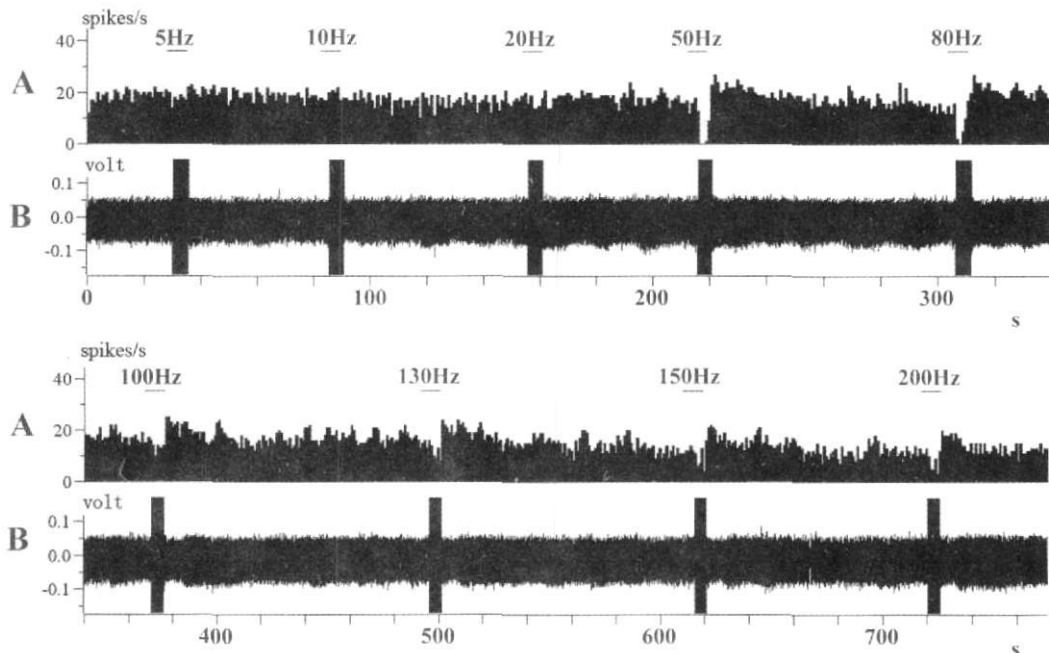


Fig 4 Excitatory effects of electrical stimulation of NAC with different frequencies on the firing rate of aVP neuron in a rat A: sequence histogram; B: original chart recording The bars on the top of the figure indicate the period of electrical stimulation of NAC.

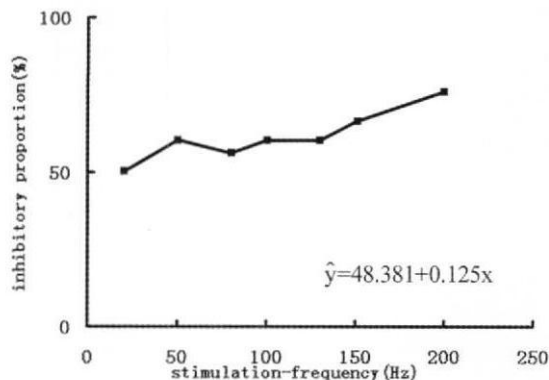


Fig 5 The relationship between stimulation-frequency and inhibitory proportion of VP neurons

讨 论

VP与椎体外系运动系统有着密切的联系。VP向其他的基底神经节、皮层、下丘脑等结构有着广泛的投射,但是它的主要投射区是丘脑和腹侧背盖区(ventral tegmental area, VTA)的奖赏环路。研究表明NAC-VP在奖赏环路中的药物强化、在把边缘系统转导为动机行为中起着重要的作用,损毁腹侧纹状体(包括VP)^[5],大鼠对吗啡的位置偏爱行为明显减少。用6-OHDA损毁VP也明显阻滞了大鼠的位置偏爱行为^[6]。高频刺激吗啡成瘾大鼠NAC可阻断注射吗啡诱导戒断大鼠恢复觅药行为^[7],并有效地减轻大鼠吗啡心理依赖症状^[8]。本实验观察到电刺激大鼠NAC,刺激频率大于20 Hz时可使大多数VP神经元的放电频率降低。本实验结果提示高频刺激NAC有效地减轻大鼠吗啡心理依赖症状对吗啡成瘾大鼠的作用,可能是由于高频电刺激NAC抑制了VP神经元的放电活动所致。

免疫化学研究表明,70%的VP传入纤维是主要起源于NAC^[9]的GABA能神经元的抑制性投射纤维^[10]。推测电刺激NAC可能兴奋了NAC神经元,使得GABA能神经元对VP的抑制作用增强。Usuda等运用顺行束路追踪证实NAC还投射到VTA, NAC-VTA投射纤维的神经递质也是GABA^[11],因此电刺激NAC可兴奋GABA神经元,增强对VTA的抑制

作用,使VTA神经元放电减少。另一方面,NAC又接受来自VTA和黑质的抑制性DA能纤维投射^[9]。这样,VTA神经元放电减少,使NAC的GABA神经元的放电活动加快,增强了NAC对VP的抑制作用,导致VP神经元的放电减少。

参 考 文 献

- [1] Day JJ, Carelli RM. The nucleus accumbens and Pavlovian reward learning [J]. *Neuroscientist* 2007, 13: 148-159
- [2] Wang B, Luo F, Ge XC, *et al*. Effects of lesions of various brain areas on drug priming or footshock-induced reactivation of extinguished conditioned place preference [J]. *Brain Res* 2002, 950: 1-9
- [3] 林凡凯, 辛艳, 高东明, 等. 电刺激大鼠束旁核对底丘脑核和丘脑腹内侧核神经元的影晌 [J]. *生理学报*, 2007, 59: 79-85.
- [4] Benazzouza, Gao DM, Ni ZG, *et al*. Effect of high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus on the neuronal activities of the substantia nigra pars reticulata and ventrolateral nucleus of the thalamus in the rat [J]. *Neuroscience* 2000, 99: 289-295.
- [5] Olmstead MC, Franklin KBJ. Differential effects of ventral striatal lesions on the conditioned place preference induced by morphine or amphetamine [J]. *Neuroscience* 1996, 71: 701-708.
- [6] Gong W, Neill D, Justice JB Jr. 6-Hydroxydopamine lesion of ventral pallidum blocks acquisition of place preference conditioning to cocaine [J]. *Brain Res* 1997, 754: 103-112
- [7] 倪伟刚, 周晓平, 胡小吾, 等. 高频电刺激伏隔核对吗啡诱导大鼠条件性位置偏爱行为的影响 [J]. *中国微侵袭神经外科杂志*, 2008, 13: 511-513.
- [8] 王丽丽, 王桂松, 赵永波, 等. 电刺激伏核对吗啡成瘾心理依赖大鼠行为学的影响 [J]. *立体定向和功能性神经外科杂志*, 2008, 21: 69-72.
- [9] Nestler EJ. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction [J]. *Nat Rev Neurosci* 2001, 2: 119-128
- [10] Tomkins DM, Sellers EM. Addiction and the brain: the role of neurotransmitters in the cause and treatment of drug dependence [J]. *CMAJ* 2001, 164: 817-821.
- [11] Usuda I, Tanaka K, Chiba T. Efferent projections of the nucleus accumbens in the rat with special reference to subdivision of the nucleus biotinylated dextran amine study [J]. *Brain Res* 1998, 797: 73-93.

(收稿日期: 2009-08-06)