

中缝大核呼吸位相转换效应的研究*

王玉田 王楠** 刘磊

(山东医科大学生理教研室, 济南)

近年来,有关中缝大核(Nucleus Raphe Magnus, NRM)的生理功能研究进展很快,已知其在镇痛^[1]和心血管^[2]等活动中均具有重要的调节作用。然而,有关于它在呼吸活动中的作用,目前所知甚少。尽管近期实验发现电刺激 NRM 可以对膈神经放电产生明显的抑制作用^[3],但仍没有证据表明它是否参与了呼吸节律的起源。本工作采用电化学刺激方法,对 NRM 的基本呼吸效应,特别是在呼吸位相转换中的作用,做了进一步的观察,并发现 NRM 具有明显的呼吸抑制和位相转换效应。

一、方 法

选用健康家兔 47 只,体重 2—2.5kg,雌雄不拘,20% 乌拉坦 1g/kg 静脉麻醉,气管插管,断双侧迷走神经,三碘季铵酚 3mg/kg 静脉注射维持肌松,人工呼吸,持续监测肛温,物理加温维持动物体温在 36.5—37.5℃。

按 Sawyer's 兔脑定位方法,将动物腹位固定于立体定向仪。自颈背部暴露一侧膈神经,分离、剪断,于中枢端脱鞘约 1—1.5cm,挂于双极引导电极,神经浸泡于温热液体石蜡油中。

1. 电刺激实验 按坐标将外径为 0.5mm,内芯为 0.15mm 的不锈钢同心圆双极绝缘电极(尖端裸露 0.5mm)下入 NRM 区域内(坐标: RL,0; P,14; H,-9.5 至 -10.5^[4])。刺激采用波宽为 0.3ms、频率为 100 次/s 的方波电串脉冲。长串脉冲持续 6—10s (600—1000 个脉冲),短串脉冲持续 0.4s (40 个脉冲)。短串脉冲的起始落位由动物自身膈神经放电控制,膈神经放电首先经过频率积分器和呼吸标准脉冲发生器处理产生标记膈神经放电起始的吸气脉冲(I)和膈神经放电终止的呼气脉冲(E),再由 I 或 E 脉冲触发刺激器,经一定的延时线路即可使刺激落位于呼吸周期中任一选定的时刻。用多导生理记录仪同步描记膈神经放电(监测呼吸时相)、膈神经放电积分信号(呼吸时程统计指标)和刺激记号(标记刺激的落位)。

2. 化学刺激实验 按坐标将外径为 0.8mm 的不锈钢导管理植注射部位上 2mm 处。注射时将连有微量注射器的不锈钢微注射管(外径 0.37 mm)插入上述导管,尖端探出导管约 2mm 达注射部位,包括 NRM 及其周围 1—1.5mm 的范围内。注药容积为 4 μ l,均在 30s 内注闭。膈神经放电经 TQ-19 医用处理机做膈神经序列脉冲密度直方图处理,由 x-y 函数绘图仪描记。

实验结束后,向刺激或注药部位通阳极电流 0.2mA,30s,利用亚铁氰化钾蓝色反应观察

本文 1986 年 5 月 5 日收到。

* 中国科学院科学基金资助的课题。

** 现在美国伊利诺斯大学生理系。

刺激和注射部位是否准确。

统计学处理采用 t 检验 (双尾法), 判断实验与对照组间的差异显著性, 所有数据均以 $\bar{X} \pm SE$ 表示。

二、结 果

1. 长串电脉冲刺激 NRM 的呼吸抑制效应 家兔 22 只, 给予 NRM 施以不同强度的长串电脉冲刺激 (串长 6—10s), 结果诱发出了明显的呼吸抑制效应。表现为低强度 (2V) 刺激时, 膈神经积分峰值减低, 而由于吸气时程和呼气时程的缩短致使呼吸频率稍有增快, 效应随刺激强度的增加而趋于明显。当刺激达 4V 或更高时, 如图 1 所示, 多数动物可以出现膈神经放电的完全终止, 停刺后放电立即出现, 且在幅度与频率上均较刺前有所增加, 并可持续数分钟。但亦有例外, 少数动物在强度达 8V 时, 仍未出现放电的完全终止, 而代之一低幅度的痉挛性放电。

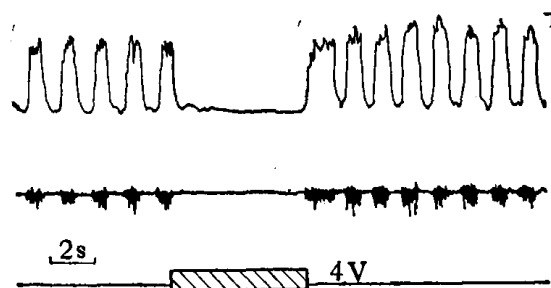


图 1 示 4V 强度的长串电脉冲 (100c/s) 刺激 NRM 所引起的膈神经放电的完全终止

上线: 膈神经放电积分; 中线: 膈神经放电; 下线: 刺激标记。

图中数字分别表示时标单位和刺激强度

2. 不同位相短串电脉冲刺激 NRM 的呼吸位相转换效应

1) 吸气相刺激。典型结果如图 2 (上图) 所示, 只要刺激的落位适当, 吸气相给予 NRM 施以一定强度的短串电脉冲刺激 (串长 0.4s, 含 40 个电脉冲), 可规律的引起吸气相的提前终止, 并跟随一缩短的呼气相, 即可以产生明显的吸气切断效应 (Inspiratory off-Switch, IO-S)。在吸气相中期给予强度为 0.2mA 短串刺激的 7 个实验序列中, 吸气时程和呼气时程分别减少为前对照的 0.71 ± 0.13 和 0.85 ± 0.07 (刺激时程/对照时程, $P < 0.001$)。实验中还发现 IO-S 效应有一定的刺激落位和强度依赖性, 表现为在落位一定时, 刺激需达一定的强度——阈强度, 方可产生 IO-S 效应, 并且, 该强度阈值并不是一个不变的常数, 而是在整个吸气相中不断变化, 如图 2 (下图) 所示, 随刺激落位的延迟, 逐渐减低。结果提示, 吸气相电刺 NRM, 可能兴奋了中枢吸气切断机制, 该机制的兴奋性在吸气相中不断变化, 逐渐升高。

2) 呼气相刺激。呼气相短串电脉冲刺激, 如图 3 (上图) 所示, 可以规律地产生明显的呼气缩短效应, 诱发提前出现一类似正常的吸气相, 促使呼气相向吸气相的转换。呼气相中期阈强度刺激 (0.1—0.3mA), 可使呼气时程缩短为原对照的 0.81 ± 0.20 ($P < 0.001$, $n = 43$)。与 IO-S 效应相似, 此效应亦呈现出一定的刺激落位和强度依赖性, 如图 3 (下图) 所示, 随刺激延迟时间的增加, 呼气缩短时间 (刺激开始到呼气结束) 变小, 二者呈直线负相关, $r = -0.7819$ ($P < 0.01$, $n = 62$, 强度为上述呼气相中期阈强度)。结果反映出在呼气相中, 呼气缩短效

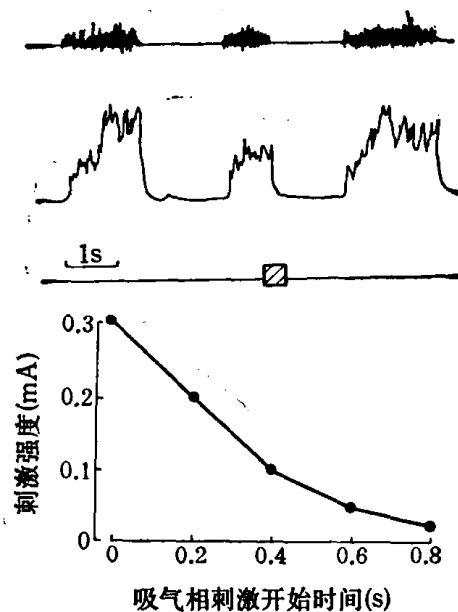


图2 吸气相短串电脉冲刺激 NRM 的吸气切断效应

上图: 示吸气开始 0.8s 后给予 NRM 施以强度为 0.05mA, 持续 0.4s 的短串电脉冲刺激, 使吸气相提前终止, 并跟随一缩短的呼气相, 诱发出明显的吸气切断效应。上线: 膈神经放电; 中线: 膈神经放电积分; 下线: 刺激标记。短横线为时标单位。

下图: 示吸气切断效应的强度阈值变化, 在吸气相中, 随刺激落位时间的延迟, 产生吸气切断效应所需的强度阈值不断减小

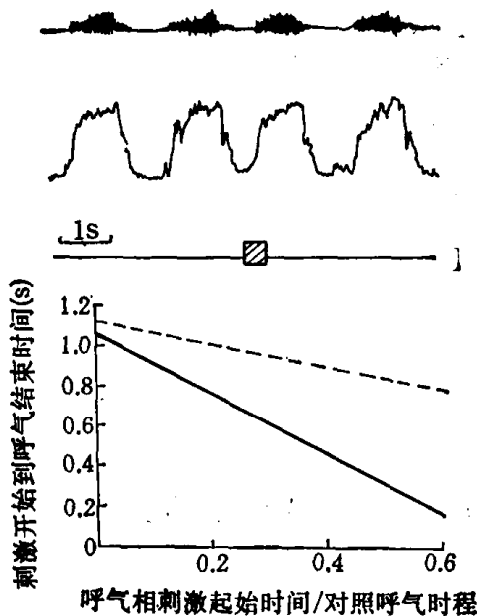


图3 呼气相短串电脉冲刺激 NRM 的呼气缩短效应

上图: 呼气开始 0.4s 后给予 NRM 强度为 0.1mA 的短串电脉冲刺激所诱发的呼气缩短效应 (即由呼气相向吸气相的位相转换效应)。

下图: 呼气缩短效应的刺激落位依赖性。随刺激落位时间的延迟, 产生呼气缩短效应所需时间变短 (即呼气缩短效应增强)

短串刺激的强度均为呼气中期呼气缩短效应的阈强度, ** $: P < 0.01$, ----对照, $y = 1.076 - 1.543x$, $r = -0.7819$, $n = 62$

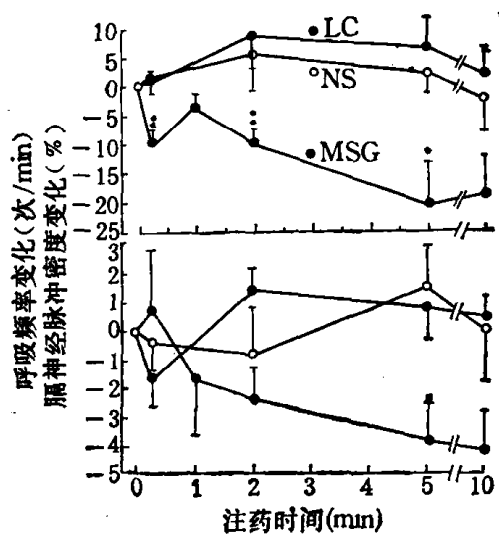


图4 NRM 核团内微量注射谷氨酸钠的呼吸抑制效应

横坐标表示注药开始后时间; 上图纵坐标为膈神经序列脉冲密度变化百分数 ($\frac{\text{注药后}-\text{前对照}}{\text{前对照}} \times 100\%$); 下图纵坐标为呼吸频率变化 (注药后-前对照); 图中各点及短线表示均数士标准误; MSG 为谷氨酸钠, NS 为生理盐水, LC 为区域对照与 NS 组比较, * $: P < 0.05$, ** $: P < 0.01$

应的强度阈值不断减低,效应逐渐增强。

3. NRM 核团内微量注射谷氨酸单钠的呼吸抑制效应 实验分三组,实验组($n=11$), NRM 核团内微量注射神经细胞体选择兴奋剂谷氨酸单钠 (Monosodium glutamate, MSG, 0.5 mol.) $4\mu\text{l}$, 以明确上述呼吸效应是否由核团内细胞体兴奋所致; 区域对照组 ($n=7$), 于 NRM 核团外 1—1.5mm 的区域内注射等量 MSG, 以判断 NRM 的呼吸效应是否具有核团特异性; 盐水组 ($n=8$), NRM 核团内注射生理盐水 (Normal saline, NS) $4\mu\text{l}$, 以排除注药的容积, 压力和速度等机械因素的影响。结果如图 4 所示, 盐水组注 NS 后, 观察 30min, 膈神经序列脉冲密度直方图显示膈神经放电密度和呼吸频率均无明显变化。而实验组注 MSG 后膈神经放电密度迅速减小, 于注药后 15s 达第一次高峰, 下降约 $9.97\pm 2.58\%$, 与盐水组比较统计学差异极为显著 ($P < 0.01$), 呼吸频率亦轻度加快, 但未达显著界限, 此种反应持续时间非常短, 很快即逐渐减弱。1min 后, 膈神经放电密度再度下降, 同时并伴有呼吸频率的减慢, 于注药后 5min 效应最为明显, 膈神经放电密度减小 $20.82\pm 7.67\%$ ($P < 0.05$), 呼吸频率减少 $3.9\pm 1.3\text{次/min}$ ($P < 0.05$), 此后效应即逐渐减弱出现恢复趋势。区域对照组注 MSG 后, 膈神经放电和呼吸频率变化均不明显, 与盐水组相比较, 无统计学意义。结果表明 NRM 内的某些神经元兴奋可以产生明显的呼吸抑制效应。

三、讨 论

关于呼吸节律的起源问题, 目前仍倾向于吸气切断学说。该学说认为, 在延髓呼吸中枢存有呈渐增型放电的中枢吸气活动和兴奋性呈周期性变化, 在吸气相中逐渐升高的中枢吸气切断机制, 二者通过负反馈环路, 相互作用, 使呼吸呈现一定的节律性^[5]。前者可能位于延髓腹外侧的傍巨细胞核及其邻近结构内^[6,7], 而后者目前尚未有足够的证据确定其解剖部位。

本工作吸气相电刺 NRM, 观察到具有明显的 IO-S 效应, 且诱发该效应出现的强度阈值变化规律与 Cohen^[8] 等人电刺脑桥结合臂傍内侧核间接研究延髓内的吸气切断机制兴奋性变化趋势相一致, 加之 NRM 在解剖上位于延髓中线腹侧, 与孤束核, 结合臂傍内侧核及傍巨细胞外侧核等重要的呼吸核团有密切的纤维联系, 所以我们设想在 NRM 核团内, 可能存有一些具有吸气切断效应的神经元, 或者存有一些与延髓内吸气切断机制有密切联系的神元, 电刺 NRM, 直接或间接地兴奋了中枢吸气切断机制, 而产生了 IO-S 效应。有趣的是利用呼气相刺激, 我们又诱发出了明显的呼气缩短效应, 并且具有与 IO-S 相似的阈值变化特点, 这一结果提示在延髓呼吸中枢内, 可能存有类似 IO-S 的呼气切断机制 (Expiratory off-Switch, EO-S), 且此两种位相转换机制可以并存在同一结构内。可以设想在吸气相时, IO-S 机制处于逐渐去极化过程中, 阈值不断降低, 易于对外来刺激产生反应, 而兴奋; 相反在呼气相中, EO-S 机制易于兴奋。因此, 不同的位相刺激可以兴奋不同的位相转换机制, 从而促进呼吸的位相转换。低强度长串脉冲刺激 NRM 使呼吸幅度受抑制的基础上, 频率有所增加, 可能即是由于此两种机制顺序交替激动, 使吸气和呼气时程均缩短所致。

实验中还观察到, 长串电脉冲刺激, 主要使膈神经放电幅度降低, 当刺激达一定的强度时, 可以完全终止膈神经放电。另外已有研究表明电刺激 NRM 可以对孤束核呼吸相关神经元^[9] 和膈运动神经元^[3] 的放电活动产生一定的抑制作用, 提示 NRM 还有可能通过其下行抑制系统对各级中枢吸气活动产生直接或间接的抑制作用。

近期工作表明, 谷氨酸钠是一种有效的神经细胞体选择兴奋剂, 而对轴突纤维无明显作

用¹⁴⁰。本工作发现 NRM 核团内微量注射 MSG, 同样可诱发出类似长串电脉冲刺激的呼吸抑制效应。这表明电刺激所诱发的呼吸效应有核团内神经细胞体兴奋的参与。

综上所述, 本工作表明中缝大核内某些神经元具有一定的呼吸调制作用, 这些神经元有可能参与呼吸活动的中枢控制过程。

致谢: 本文曾承蒙张锡钧、王志均、韩济生和张镜如诸位教授审阅; 张敏、宋刚、李瑞峰给予技术协助, 谨此致谢。

参 考 文 献

- [1] 韩济生, 生理科学进展, **15**(1984), 294—300.
- [2] Yen, C. F., *Exp. Neurol.*, **76**(1983), 666—679.
- [3] Drelehen, R. L. et al., *Fed. Proc.*, **42**(1983), 331.
- [4] 周衍椒等, 生理学方法与技术(第一集), 科学出版社, 北京, 1984, 419—425.
- [5] von Euler, C., *Fed. Proc.*, **36**(1977), 2375—2380.
- [6] von, Euler, C., *J. Appl. Physiol.*, **55**(1983), 1647—1659.
- [7] 刘磊等, 华东区六省一市纪念中国生理学会成立 60 周年学术会议论文集, 上海, 1986, 117.
- [8] Cohen, M. I., *J. Physiol. (Lond.)*, **217**(1971), 133—153.
- [9] Sessle, B. J. et al., *Brain Res.*, **216**(1981), 145—161.
- [10] Goodchild, A. K. et al., *J. Neurosci. Meth.*, **6**(1982), 351—363.