

## 应用多电极记录技术研究海马切片癫痫样放电的起始点和传播方向\*

宫新伟<sup>1)</sup> 杨帆<sup>2)</sup> 刘建盛<sup>2)</sup> 陆钦池<sup>2)</sup> 龚海庆<sup>1)</sup> 梁培基<sup>1)</sup> 张溥明<sup>1)\*\*</sup>

(<sup>1)</sup>上海交通大学生命科学技术学院, 上海 200240; (<sup>2)</sup>上海交通大学医学院, 上海 200127)

**摘要** 弄清癫痫样放电的起始位置和传播方向对研究癫痫机制及其临床治疗有重要意义. 为了解决这一问题, 应用微电极阵列对低镁人工脑脊液诱导的 Sprague-Dawley (SD)大鼠海马切片的癫痫样放电进行记录. 分别用癫痫样放电的两种成分: 场电位和多单元信号来确定癫痫样放电的起始位置和传播方向. 首先计算并比较了海马切片锥体细胞层位置电极记录的癫痫样放电场电位的起始时间, 由起始时间的先后关系确定癫痫样放电在锥体细胞层的起始位置和传播方向. 然后用整个切片上记录的癫痫样放电的多单元信号动作电位序列进行互相关分析, 进一步确定了癫痫样放电在整个海马切片内的起始位置和传播方向. 结果显示, CA3 区的癫痫样放电具有比 CA1 区更高的幅度和更长的持续时间, 表明 CA3 区有更高的兴奋性. 对于记录到的同步癫痫样放电, CA3b 区场电位和多单元信号均比 CA3c 和 CA1 区出现更早, 起始位置和其随后位置之间的传播延时与二者之间的距离成正相关. 因此, 在低镁模型的大鼠海马切片中, 癫痫样放电起始于 CA3b 区并分别向 CA3c 和 CA1 区传播.

**关键词** 微电极阵列, 海马切片, 低镁癫痫模型, 癫痫样放电

**学科分类号** R338.8, R742.1

**DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2010.00065

许多类型的癫痫样活动都是起始于大脑中的一个区域, 然后传播至其他区域<sup>[1]</sup>. 弄清癫痫样活动在大脑中的起始位置和传播方向对揭示癫痫产生的机制及其在临床上的治疗具有重要意义. 海马是最容易产生癫痫样活动的脑区之一, 并且由于其片层化的结构<sup>[2]</sup>, 海马切片被广泛用于癫痫样活动特性的研究中. Dzhala 和 Staley<sup>[3]</sup>用 5~6 个钨丝微电极对大鼠海马切片内癫痫样放电的起始位置和传播方向进行了研究. Colom 和 Saggau<sup>[4]</sup>用电压敏感染料和光学记录技术对豚鼠、小鼠和大鼠海马切片在多种癫痫模型下癫痫样放电的起始位置进行了研究. 这些研究由于所使用技术的限制, 如微电极记录中电极数目的限制, 光学记录中光源带入的噪声及对膜电位间接检测所导致的误差, 使得用这些技术对癫痫样放电活动起始点和传播方向的研究难以达到理想的效果. Hill 等<sup>[5]</sup>用微电极阵列对大鼠海马切片癫痫活动簇发放电(burst)信号的传播路径进行了研究, 通过对不同区域簇发放电电位随时间变化的比较, 提示了簇发放电可能的起始位置和传播方

向. 由于簇发放电峰值的大小在海马切片不同区域存在差异, 而且始层、锥体细胞层与放射层、腔隙细胞层波形是不同的, 所以该方法难以清晰地反映整个切片内簇发放电随时间的变化, 因此还需要其他方法来进一步验证癫痫样放电的起始和传播.

对海马切片进行低镁人工脑脊液灌流, 可以诱导出海马神经元自发的癫痫样放电活动, 这种低镁模型是一种被广泛接受的颞叶癫痫模型<sup>[6-7]</sup>. 我们在大鼠海马切片上建立了低镁癫痫模型, 用微电极阵列对低镁模型下大鼠海马切片癫痫样放电信号进行记录. 通过应用互相关函数等分析方法对大鼠海马切片癫痫样放电信号进行分析, 研究癫痫样放电在海马切片内可能的起始点和传播方向.

\* 国家自然科学基金资助项目(60775034), 上海交通大学医工合作专项资助项目(YG08PETZD05).

\*\* 通讯联系人.

Tel: 021-34204015, E-mail: pmzhang@sju.edu.cn

收稿日期: 2010-07-26, 接受日期: 2010-08-30

## 1 材料和方法

### 1.1 多电极记录系统

我们使用平面微电极阵列(microelectrode array, MEA, Multi Channel System, MCS GmbH, Germany)对海马切片细胞进行胞外记录. MEA 底板为  $49\text{ mm} \times 49\text{ mm}$  的透明石英玻璃(图 1a), 在中心约  $1.4\text{ mm} \times 1.4\text{ mm}$  区域内, 60 个电极排列成  $8 \times 8$

的平面矩阵(4 个角上空缺)(图 1b). 每个微电极的直径为  $30\text{ }\mu\text{m}$ , 相邻两个电极间的间距为  $200\text{ }\mu\text{m}$ . 电极阵列由玻璃环塑封, 形成灌流槽. 信号经  $1200\times$  放大器(单端放大, 带通  $1\sim 3\text{ }000\text{ Hz}$ )放大后用商业软件(MCRack, Multi Channel System, MCS GmbH, Germany)进行采样, 采样频率为  $20\text{ kHz}$ , 并存储于计算机上用于离线分析.

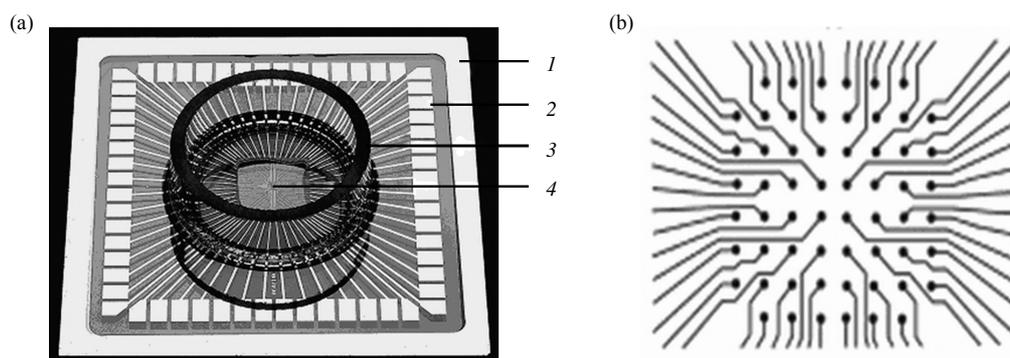


Fig. 1 The microelectrode array

(a) The microelectrode array. 1: The glass base; 2: The contact pads; 3: The glass ring; 4: The electrodes arranged in an array. (b) The detailed arrangement of electrodes in the array.

### 1.2 急性海马切片的制备

实验采用出生后 2 周左右的雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠, 腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 ( $60\sim 75\text{ mg/kg}$ ) 麻醉后, 快速取出全脑放入通有  $95\% \text{ O}_2\text{-}5\% \text{ CO}_2$  混合气体、 $0\sim 4^\circ\text{C}$  的人工脑脊液(artificial cerebrospinal fluid, ACSF)中. 人工脑脊液的成分为(单位  $\text{mmol/L}$ ):  $\text{NaCl } 119$ ,  $\text{KCl } 2.5$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{ } 1.0$ ,  $\text{MgCl}_2\text{ } 1.3$ ,  $\text{CaCl}_2\text{ } 2.5$ ,  $\text{NaHCO}_3\text{ } 26.2$ , 葡萄糖  $10.0$ . 待脑组织冷却后(约  $3\text{ min}$ ), 取出迅速剥离海马, 用振动组织切片机(Vibratome, 1000 plus, Sectioning System, USA)切取厚度为  $400\text{ }\mu\text{m}$  横向海马切片, 置于孵育箱中室温下孵育  $1.5\sim 2\text{ h}$ . 孵育结束后取出切片置于 MEA 中心, 用 ACSF 灌流, 速度为  $1\text{ ml/s}$ , 温度用控温仪(Thermostat HC-X, Multi Channel Systems, MCS GmbH, Germany)维持在  $32^\circ\text{C}$ , 同时将  $\text{Ag/AgCl}$  细丝浸入灌流液作为参考电极. 记录  $5\text{ min}$  的放电活动作为基准后, 将灌流液改为低镁 ACSF(不加  $\text{MgCl}_2$ , 其他成分与正常 ACSF 相同), 持续灌流  $60\text{ min}$ . 实验动物的使用及操作过程符合国家及实验动物提供单位制订的有关实验动物福利的规则和制度.

### 1.3 电生理记录和数据分析

实验中产生的癫痫样放电表现为多个电极上同步出现的场电位(field potential, FP)和叠加其上的多单元信号(multiple unit activity, MUA), 其中 MUA 是由多个神经元发放的、多数不相互叠加的动作电位组成. 我们对原始信号进行  $1\sim 100\text{ Hz}$  带通滤波得到癫痫样放电活动的 FP. 将 FP 波形第一个负峰发生的时刻作为其起始时间, 通过对比该起始时间的比较确定癫痫样放电活动的起始位置和传播方向. 同时, 用宽度为  $1\text{ ms}$  的时间窗进行 0-1 化处理得到 FP 起始时间序列, 1 表示有 FP 起始时间落在该时间窗内, 否则为零. 对锥体细胞层位置处各电极记录的 FP 起始时间序列与电极 37 记录的序列做互相关分析, 根据互相关函数峰值的位置确定癫痫样放电的起始时间和传播方向. 由于腔隙分子层和放射层 FP 缺少与锥体细胞层 FP 对应的第一个负峰(图 2c), 因此该方法只用于锥体细胞层上癫痫样放电起始位置和传播方向的研究. 对原始信号进行  $200\sim 4\text{ }000\text{ Hz}$  带通滤波并用 4 倍标准差进行阈值检测后得到 MUA, 用  $1\text{ ms}$  宽度的时间窗进行 0-1 化处理得到动作电位序列, 其中 0 代表该时间窗内

没有动作电位发生，1 代表该时间窗内有动作电位发生。用互相关函数的分析方法对海马切片不同区域动作电位序列进行分析，互相关函数用贝叶斯自适应回归样条插值法(Bayesian adaptive regression splines, BARS<sup>[8]</sup>)拟合，从拟合曲线上可以得到相应区域间癫痫样放电的相关强度和传播延时，通过对延时的比较进一步确认癫痫样放电在锥体细胞层的传播，同时分析癫痫样放电在整个电极记录范围内的起始位置和传播情况。结合电极间距离和癫痫样放电在它们之间传播的延时可以估算癫痫样放电的传播速度。给定 MUA 动作电位序列  $x$  和  $y$ ，归一化的互相关函数计算方法如下：

$$C_{xy}(m) = \begin{cases} \frac{\sum_{n=0}^{N-|m|-1} x_n y_{n+m}}{R} & R = \sqrt{\sum x_i^2 \sum y_i^2} \quad m \geq 0 \\ C_{yx}(-m) & m < 0 \end{cases}$$

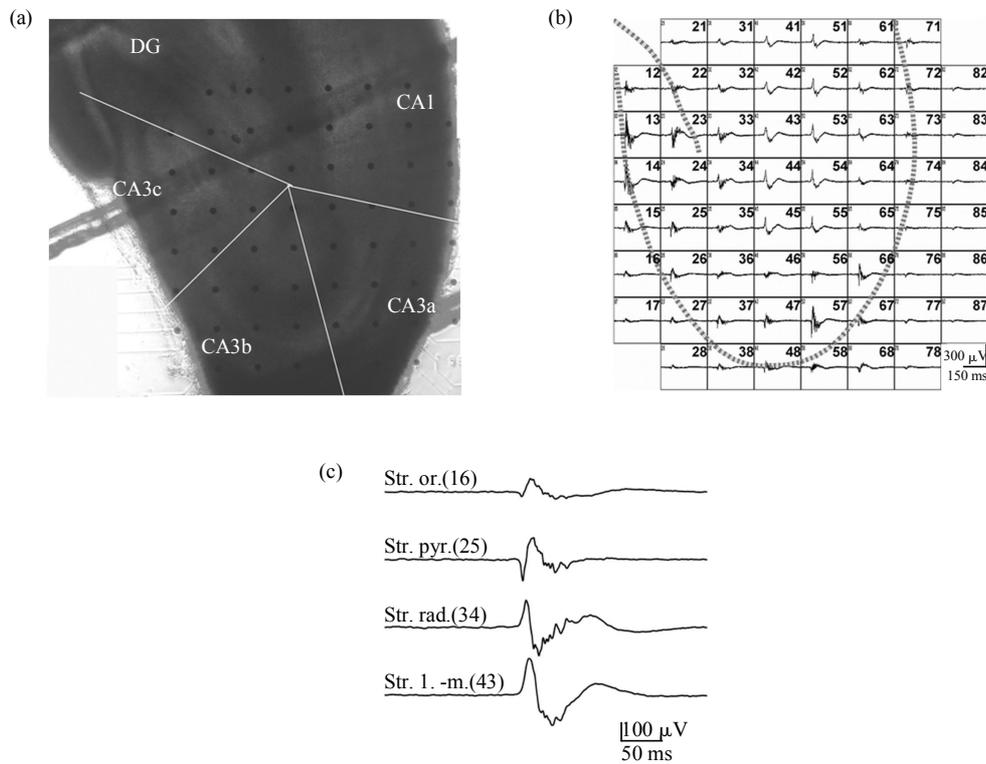
其中  $x_n$  为序列  $x$  在  $n$  时刻的值，而  $y_{n+m}$  表示序列  $y$  在  $n+m$  时刻的值， $N$  为序列的长度， $R$  表示归

一化系数。 $C_{xy}(m)$  定义为序列  $x$  与序列  $y$  以  $m$  为延时的相关性，这反映了信号  $x$  对  $m$  时刻后的信号  $y$  的总体影响。

## 2 结 果

本文所展示的数据处理结果来自于 1 片海马切片，另外 5 片切片上有相似的结果。所有统计结果来自于 6 片海马切片，以均值±标准误的形式表示。

将孵育 1.5~2 h 后的海马切片转移到 MEA 上，可以看到，海马(cornu ammonis, CA)大部分区域和齿状回(dentate gyrus, DG)部分区域的神经元活动都能被电极记录到(图 2b)。海马不同区域的划分参照 Wittner 和 Miles 及 Colom 和 Saggau 的描述<sup>[4,9]</sup>。由于在当前实验条件下无法清楚分辨出锥体细胞大小的差别及透明层消失的位置，实际操作中参照 Wittner 和 Miles 及 Andersen 等给出的海马分区图片<sup>[9-10]</sup>进行了大致的划分(图 2a)。

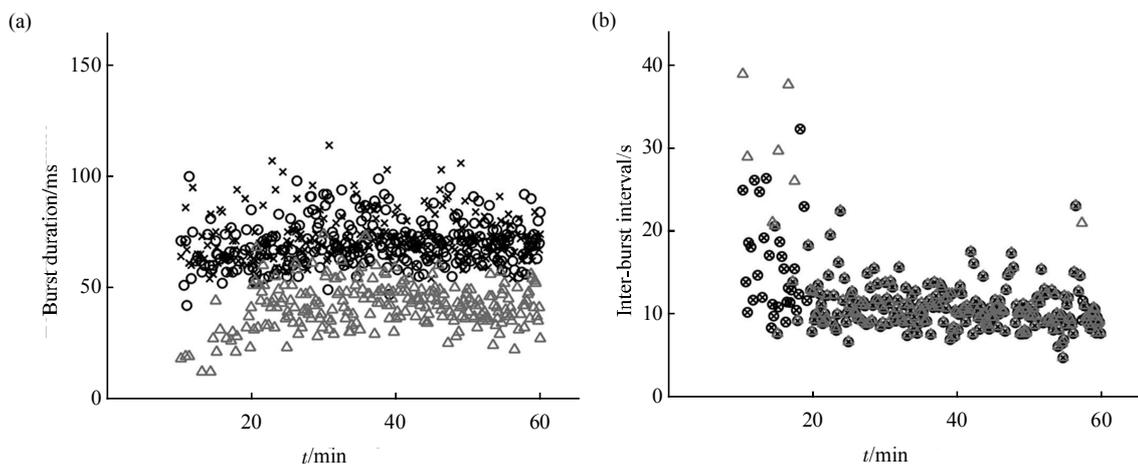


**Fig. 2 Epileptiform discharges recorded by MEA**

(a) One hippocampal slice of 2-week SD rat laying on MEA. The black dots were 60 recording electrodes. Several strips crossed the slice from upper right to lower left were a part of nylon mesh covering the slice to keep a better contact with electrodes. DG, CA1 and three subregions of CA3 were labeled. (b) Low-Mg<sup>2+</sup>-induced signals after 30 min low-Mg<sup>2+</sup> ACSF perfusion, number of each electrode is labeled at its top right corner. Approximate position of stratum pyramidale in CA region and granule cell layer in DG region is indicated by dotted lines. (c) Field potentials of stratum oriens, pyramidale, radiatum and lacunosum-moleculare. Numbers in parentheses are electrode Nos. corresponding to (b).

低镁 ACSF 灌流之后海马切片出现自发性的癫痫样放电, 表现为整个电极阵列上同步周期性簇发放电(burst). 癫痫样放电 FP 和 MUA 在海马切片不同区域间存在差异(图 2b), 在纵向上, 不同片层的癫痫样放电波形也存在差别, 在始层和锥体细胞层簇发放电 FP 表现为先负向后正向的波形, 而在放射层和腔隙分子层则为先正向后负向的波形(图 2c). 如图 3 所示, 簇发放电出现在低镁 ACSF 灌流 10 min 左右. 随着灌流时间的增加, 每次簇发放电持续时间逐渐增长, 两次簇发放电间的间隔逐渐减少. 灌流 30 min 左右以后, 这种变化趋势减弱. CA1 区簇发放电的持续时间明显低于 CA3c 和 CA3b 区(图 3a), 表明 CA1 区兴奋性低于 CA3

区. 簇发放电的时间间隔在低镁 ACSF 灌流后 30~60 min 内仍呈现出一定的下降趋势(图 3b), 表明在低镁 ACSF 灌流的 60 min 内诱导的低镁癫痫模型尚未完全达到稳定状态. 在低镁 ACSF 灌流 30~60 min 这段时间内, 簇发放电的频率为  $(0.061 \pm 0.019)$  Hz ( $n = 6$ ), CA3 区锥体细胞层癫痫样放电的 FP 峰峰值为  $(234 \pm 50)$   $\mu$ V ( $n = 6$ ), 持续时间为  $(105 \pm 13)$  ms ( $n = 6$ ), MUA 中包含  $(28 \pm 9)$  个动作电位( $n = 6$ ). 同时 CA1 区锥体细胞层癫痫样放电 FP 峰峰值为  $(160 \pm 26)$   $\mu$ V ( $n = 6$ ), 持续时间为  $(68 \pm 11)$  ms ( $n = 6$ ), MUA 中包含  $(23 \pm 8)$  个动作电位( $n = 6$ ). 这一现象表明 CA3 区有更高的兴奋性, 与之前文献报道的结果一致<sup>[3,11]</sup>.

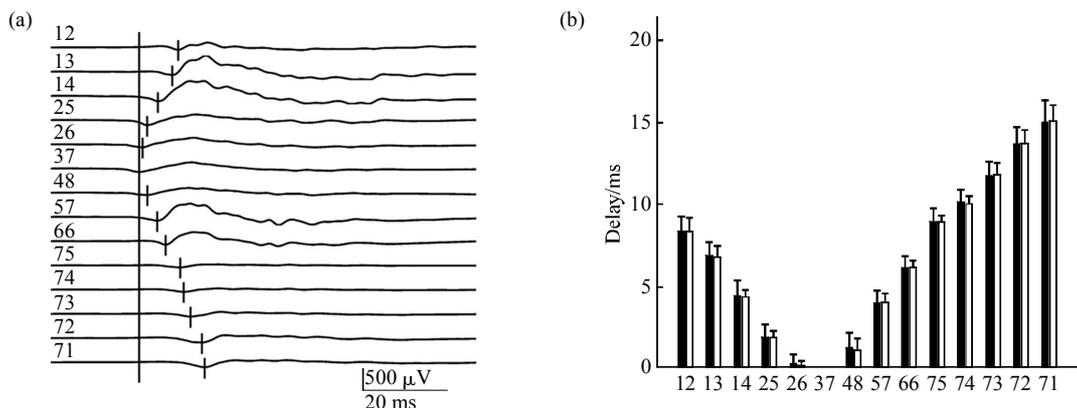


**Fig. 3 Evolution of burst duration and inter-burst interval during low-Mg<sup>2+</sup> ACSF perfusion**

Burst activity recorded by electrode No. 14, 37 and 71 (referred to CA3c, CA3b and distal CA1 region) appeared at about 10 min after low-Mg<sup>2+</sup> ACSF perfusion and varied gradually in a small range after 30 min low-Mg<sup>2+</sup> ACSF perfusion. Time 0 denoted onset of low-Mg<sup>2+</sup> ACSF perfusion. ×: CA3c(14); o: CA3b(37); Δ: CA1d. (71).

首先用 FP 对癫痫样放电起始位置进行分析. 选取从海马切片锥体细胞层上记录到的癫痫样放电的 FP 成分, 获取其在每次同步癫痫样放电时的起始时间, 通过对 FP 起始时间的比较判断出癫痫样放电的起始位置. 图 4a 为低镁 ACSF 灌流 50 min 时获得的一次癫痫样放电中的 FP, 从图 4a 中可以看到, 在锥体细胞层上癫痫样放电起始于 CA3b 区并沿 CA3b→CA3c 和 CA3b→CA3a→CA1 向两个方向传播. 进一步分析 30~60 min 内各次癫痫样放电 FP 的起始时间, 对于每次癫痫样放电, 以电极 37 记录的 FP 起始时间为参考时刻, 可以获得锥体细胞层其余电极记录的 FP 起始时间的相对值, 即为癫痫样放电传播至某区域相对于电极 37

位置的延时(图 4b). 同时对 FP 起始时间以 1 ms 时间窗进行 0-1 化, 将各个电极记录的 FP 起始时间序列依次取 2 min 长度的序列与电极 37 记录的相应 FP 起始时间序列做互相关分析, 得到癫痫样放电相对于电极 37 的传播延时(图 4b). 对应用两种方法计算得到的延时进行统计并进行 *t* 检验, 结果表明在  $\alpha = 0.05$  的显著性水平下, 两种方法得到的结果没有显著性差异. FP 起始时间的延时在不同区域的差异进一步验证了癫痫样放电的起始位置和传播方向, 即锥体细胞层上癫痫样放电起始于 CA3b 区, 进而传播至 CA3c 和 CA1 区, 而且起始位置和其随后位置之间的传播延时与二者之间的距离成正相关.



**Fig. 4 Initiation and propagation of field potentials in stratum pyramidale of one hippocampal slice**

(a) The initiation of synchronous field potentials at recording sites along stratum pyramidale from CA3c to CA1 distal region at the time of being 50 min low-Mg<sup>2+</sup> ACSF perfusion. Each vertical bar depicts the onset time of the synchronous field potentials. The numbers in each top left corner of field potentials are electrode Nos. as shown in Figure 2b. (b) Time delays of field potentials relative to signals of electrode No. 37 during the procedure of 30~60 min low-Mg<sup>2+</sup> ACSF perfusion. Delays were derived from comparing the FP onset time and cross-correlation analysis result of FP onset time series respectively. ■: Comparing FP onset time; □: Cross-correlation of FP onset time series.

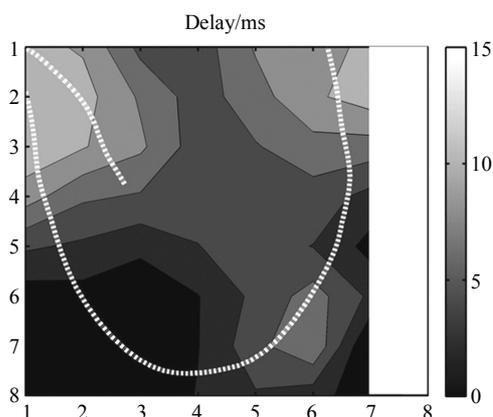
对海马切片内癫痫样放电的 MUA 信号进行互相关分析. 在低镁 ACSF 灌流 30~60 min 内, 将电极 37 位置作为参考位置, 用其他各电极上取得的 MUA 动作电位序列与电极 37 上的信号取 2 min 宽度时间窗做互相关分析, 获得各个电极上癫痫样放电相对于参考位置的延时. 对获得的 15 次延时求取均值, 将不同的延时用等高线表示, 得到癫痫样放电在整个切片内的传播方向. 由图 5 可以看

到, 癫痫样放电起始于 CA3b 区并分别向 CA3c 和 CA1 区传播.

### 3 讨 论

在当前工作中我们用多电极记录技术研究低镁癫痫模型下 SD 大鼠海马切片的癫痫样放电特征, 主要探讨了癫痫样放电活动的起始位置和传播方向. 通过多电极记录技术可以实现对海马切片较大范围内癫痫样放电活动的长时间同步记录, 从而避免了由于电极数目的限制所带来的研究范围和精度的不足.

本研究按癫痫样放电不同的频率成分分为 FP 和 MUA, 分别用这两种信号对癫痫样放电的起始位置和传播方向进行了研究, 两种情况下得到一致的结果, 即低镁模型下海马切片中癫痫样放电起始于 CA3b 区并向 CA3c 和 CA1 两个方向进行传播. 癫痫样放电起始于 CA3b 区可能与该区域较高的兴奋性有关. Wittner 和 Miles 对豚鼠海马切片 CA3a 和 CA3b 区的生理学和解剖学分析表明, 荷包牡丹碱(bicuculline)致痫模型下豚鼠海马切片的同步放电活动起始于 CA3a 区并传播至 CA3b 区, 起搏区 CA3a 与跟随区 CA3b 在细胞兴奋性、突触连接强度等方面存在差异<sup>[9]</sup>. 癫痫样放电起始位置的差别可能与所采用的癫痫模型、实验动物等的不同以及癫痫样放电所处的不同阶段有关. 如 Colom 和 Saggau<sup>[4]</sup>分别对高钾、4-AP 和 BIC-PTX



**Fig. 5 Contour plot of averaged time delays of MUA relative to signals of electrode No. 37**

Epileptiform discharges originated from CA3b region and propagated to CA3c and CA1 respectively. The X, Y-coordinates denote the positions of electrodes. The rightmost column of electrodes was covered with white patch because few epileptiform discharges were recorded. Approximate position of stratum pyramidale in CA region and granule cell layer in DG region is indicated by dotted lines.

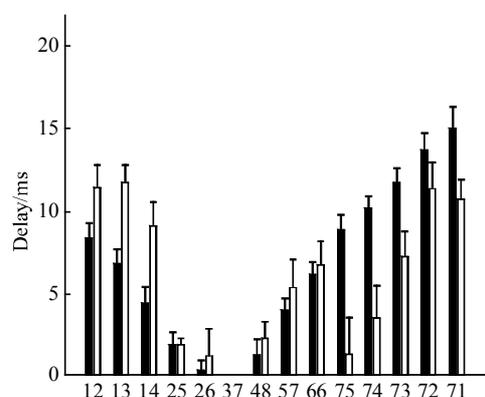
模型下豚鼠、小鼠和大鼠海马切片神经元癫痫样放电的起始位置进行了研究, 结果表明豚鼠在高钾和 BIC-PTX 模型下起始位置主要位于 CA2-CA3a 区, 在 4-AP 模型下总是起始于 CA2-CA3a 区, 而小鼠和大鼠在三种癫痫模型下癫痫样放电均起始于 CA3b-CA3c 区. Dzhala 和 Staley<sup>[1]</sup>对高钾模型下 Wistar 大鼠发作间期癫痫样放电(interictal epileptiform discharges)和发作期癫痫样放电(ictal-like activity)的研究表明, 发作间期癫痫样放电起始于 CA3a-b 区并双向传播至 CA1 和 CA3c 区, 而发作期癫痫样放电起始于 CA3c 区并传播至 CA1 区. 根据信号特征判断, 我们在整个低镁人工脑脊液灌流的 60 min 内记录到的是一种发作间期癫痫样放电信号, 没有观察到发作期癫痫样活动出现, 这可能与实验动物、癫痫模型和记录时间等有关.

癫痫样放电中的 MUA 信号是由多个神经元发放的动作电位组成的, 其中不可避免地会出现部分动作电位叠加在一起的情况, 这也是在对癫痫样放电进行胞外记录时普遍遇到的问题. 对这一问题, 目前还没有有效的方法可以从叠加的动作电位中准确分离得到单个动作电位的波形和准确的发放时间. Dzhala 和 Staley 对高钾模型下 Wistar 大鼠癫痫样放电原始信号经过一种动作电位检测方法 (Mini Analysis Program) 得到 MUA 后, 直接用 3 倍噪声均方差水平的阈值检测方法得到动作电位<sup>[2]</sup>; Cohen 和 Miles 对胞外记录信号通过 up-only 算法后, 对变换后的波形用阈值检测的方法得到动作电位<sup>[2]</sup>. 而他们在实验中采用的直径为 50  $\mu\text{m}$  的钨丝电极可能记录到数十至数百个神经元的信号<sup>[3]</sup>, 这样的动作电位检测方法很难完全分离来自多个神经元重叠的动作电位. 同样, 在我们的实验中采用平面微电极记录的信号, 也存在类似的问题. 鉴于平面微电极与钨电极的大小和记录方法差异, 以及模型处于癫痫发作间期等原因, 我们实验中记录的 MUA 信号中动作电位叠加的情况可能没有上述文献报道的数据严重. 因此, 我们仍然采用了阈值检测的方法对 MUA 信号进行动作电位检测, 并利用动作电位序列信号进行后续分析, 忽略了叠加信号的分离问题. 但是, 叠加信号的分离问题是影响数据分析精度的关键因素之一, 因而也是亟待研究解决的问题.

运用互相关分析可以揭示两组神经元活动之间的时相关系, 其中常用的互相关分析方法有互相关函数 (cross-correlation function) 和互相关图 (cross-

correlogram) 两种. 对于两个动作电位序列, 互相关函数得到的是在不同延时(移位)下两个序列同时有动作电位发放的统计, 而互相关图是考察在参考序列有动作电位发放时目标序列动作电位发放相对参考序列动作电位时间的统计, 两者具有相似的效果. 用两种互相关方法进行计算, 结果表明, 在我们之前所用的参数, 即在动作电位 0-1 化的过程中取 1 ms 的时间窗以保证在一个时间窗内最多只有一个动作电位发放的情况下, 如果互相关图分析方法中将 bin 取值也设为 1 ms, 那么互相关图和互相关函数两种方法得到的结果是完全相同的.

在获得相邻电极之间的直线距离和 FP 在锥体细胞层上的平均传播延时后, 可以得到发作间期癫痫样放电 FP 在锥体细胞层上的传播速度为  $(121 \pm 28)$  mm/s. 我们对低镁 ACSF 灌流 30 ~ 60 min 内, 通过直接比较 FP 起始时间和用互相关函数分析 MUA 两种方法得到的锥体细胞层癫痫样放电的起始和传播情况进行了比较(图 6). 从图 6 中可以看出, 与 FP 在海马切片锥体细胞层的传播延时不同, MUA 的传播表现出区域特异性. 在 CA3 区(电极 12、13、14、25、26、37、48、57 和 66), MUA 传播延时大于 FP 的传播延时, 而在 CA1 区(电极 75、74、73、72 和 71), MUA 传播延时又小于 FP 的传播延时. 而且 MUA 信号在由 CA3b 区向 CA1 区传播的过程中并不严格顺着锥体细胞层的方向传播, 这一现象在图 5 中也能观察到. 癫痫样放电的传播涉及到很多因素, 如化学突触的传递、神经元间接触的电场效应、神经元间的缝隙连接和癫痫样放电过程中胞外离子浓度的变化等<sup>[13]</sup>.



**Fig. 6 Comparison of delays derived from comparing FP onset time and cross-correlation of MUA spike train during 30 ~ 60 min low-Mg<sup>2+</sup> ACSF perfusion**

■ : Comparing FP onset time; □ : Cross-correlation of MUA spike train.

MUA 传播延时有海马切片不同区域间的差别及 MUA 和 FP 两种信号在传播延时的差异的原因还不是很清楚,这也是我们下一步要研究的问题之一。

海马切片内癫痫样放电活动起始位置和传播方向的研究可以促进对海马内癫痫产生机制的了解,同时对临床上癫痫的治疗也具有重要意义。本文应用各种分析方法初步获得了低镁模型下癫痫样放电的起始位置和传播方向。由于癫痫样放电产生和传播的复杂性,海马切片内确切的传播路径仍有待进一步的研究。

### 参 考 文 献

- [1] McCormick D A, Contreras D. On the cellular and network bases of epileptic seizures. *Annu Rev Physiol*, 2001, **63**: 815-846
- [2] Andersen P, Bliss T, Skrede K. Lamellar organization of hippocampal excitatory pathways. *Exp Brain Res*, 1971, **13**(2): 222-238
- [3] Dzhala V I, Staley K J. Transition from interictal to ictal activity in limbic networks *in vitro*. *J Neurosci*, 2003, **23**(21): 7873-7880
- [4] Colom L V, Saggau P. Spontaneous interictal-like activity originates in multiple areas of the CA2-CA3 region of hippocampal slices. *J Neurophysiol*, 1994, **71**(4): 1574-1585
- [5] Hill A J, Jones N A, Williams C M, *et al*. Development of multi-electrode array screening for anticonvulsants in acute rat brain slices. *J Neurosci Methods*, 2010, **185**(2): 246-256
- [6] Moser J, Kilb W, Werhahn K, *et al*. Early developmental alterations of low-Mg<sup>2+</sup>-induced epileptiform activity in the intact corticohippocampal formation of the newborn mouse *in vitro*. *Brain Res*, 2006, **1077**(1): 170-177
- [7] Gloveli T, Albrecht D, Heinemann U. Properties of low Mg<sup>2+</sup> induced epileptiform activity in rat hippocampal and entorhinal cortex slices during adolescence. *Dev Brain Res*, 1995, **87**(2): 145-152
- [8] Kass R, Ventura V, Cai C. Statistical smoothing of neuronal data. *Network: Comput Neural Syst*, 2003, **14**(1): 5-16
- [9] Wittner L, Miles R. Factors defining a pacemaker region for synchrony in the hippocampus. *J Physiol (Lond)*, 2007, **584** (3): 867-883
- [10] Andersen P, Morris R, Amaral D, *et al*. *The Hippocampus Book*. New York: Oxford University Press, 2007: 9-36
- [11] Derchansky M, Rokni D, Rick J T, *et al*. Bidirectional multisite seizure propagation in the intact isolated hippocampus: The multifocality of the seizure "focus". *Neurobiol Dis*, 2006, **23** (2): 312-328
- [12] Cohen I, Miles R. Contributions of intrinsic and synaptic activities to the generation of neuronal discharges in *in vitro* hippocampus. *The Journal of Physiology*, 2000, **524**(2): 485-502
- [13] Holsheimer J, Lopes S. Propagation velocity of epileptiform activity in the hippocampus. *Experimental Brain Research*, 1989, **77** (1): 69-78

## Investigation of The Initiation Site and Propagation of Epileptiform Discharges in Hippocampal Slices Using Microelectrode Array\*

GONG Xin-Wei<sup>1)</sup>, YANG Fan<sup>2)</sup>, LIU Jian-Sheng<sup>2)</sup>, LU Qin-Chi<sup>2)</sup>,

GONG Hai-Qing<sup>1)</sup>, LIANG Pei-Ji<sup>1)</sup>, ZHANG Pu-Ming<sup>1)\*\*</sup>

<sup>1)</sup> School of Life Sciences and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China;

<sup>2)</sup> School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200127, China)

**Abstract** Understanding the initiation site and propagation of epileptiform discharges are of important significance for investigating the mechanisms of epilepsy and thereby for the clinically remedy. In order to solve the above problems, epileptiform discharges induced by low-Mg<sup>2+</sup> artificial cerebrospinal fluid (ACSF) in Sprague-Dawley (SD) rat hippocampal slices were recorded by microelectrode array. Two components of epileptiform discharges: field potentials and multiple unit activity (MUA) were analyzed. Firstly, the onset time of field potentials in stratum pyramidale was calculated and compared to locate the initiation site and propagation of epileptiform discharges. Then cross-correlation analysis was applied to spike trains of MUA. Time delays obtained from cross-correlation function further confirmed the initiation site and propagation of epileptiform discharges in the whole hippocampal slice. The results revealed that epileptiform discharges in CA3 had larger amplitudes and longer duration than that in CA1, which indicated more excitability in CA3. Field potentials as well as MUA in CA3b occurred earlier compared with the synchronous signals in CA3c and CA1. The time delays between the onset and its following areas were positive relative to the distances between them. The result demonstrated that in low-Mg<sup>2+</sup> ACSF-perfused SD rat hippocampal slice, epileptiform discharges originated from CA3b and propagated to CA3c and CA1 region respectively.

**Key words** microelectrode array, hippocampal slice, low-Mg<sup>2+</sup> epileptic model, epileptiform discharges

**DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2010.00065

---

\*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China(60775034) and Shanghai Jiao Tong University Fund for Interdisciplinary Research for Medical Applications(YG08PETZD05).

\*\*Corresponding author.

Tel: 86-21-34204015, E-mail: pmzhang@sjtu.edu.cn

Received: July 26, 2010 Accepted: August 30, 2010