

视网膜电图的源起及离子机制

杨振玉 杨雄里

(上海生理研究所)

视网膜电图 (Electroretinogram, ERG) 是网膜对光的综合电反应, 在通常情况下, 包含 a, b, c, d 等几个波(图1)^[1]。ERG 各成分的细胞源起的研究在理论和实践上都有着重要的意义, 长期以来, 一直吸引人们的注意。近十余年来, 由于微电极技术以及有关技术的发展, 这方面的

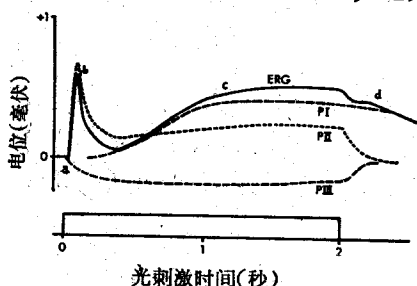


图1 ERG(猫)和 Granit 的分析

示 a, b, c, d 波和 PI, PII, PIII 过程。下线示光刺激讯号

工作进展得十分迅速。与此同时, 对各成分产生的离子机制的研究也日益广泛地开展起来。本文将综合报道这些方面的重要研究成果。讨论将限于脊椎动物, 关于无脊椎动物参见资料[1]。

一、ERG 主要成分的细胞源起

1. 弥散 ERG 和局部 ERG

30 年代, Granit 首先对 ERG 成分进行系统的分析^[2]。依据在乙醚麻醉下猫 ERG 成分消失的先后顺序, 他把 ERG 分成三个过程, 即 PI, PII, PIII, 分别决定 c, b, a 波; 撤光时 PII 与 PIII 在消失时程上的差别构成 d 波(图1)。几十年来, ERG 的研究虽已大大向前推进, 在每一过程中又鉴别出几种不同成分(见后), 但 Granit

这些经典的分析至今仍是研究 ERG 成分及源起的基础^[2]。

为以后叙述清晰起见, 先简略介绍脊椎动物视网膜的结构。图2是脊椎动物视网膜主要细胞类型的模式图。1. 感受细胞层, 又分外段(图中未给出), 内段及细胞体(外核层), 外界膜介于内段和细胞体之间。2. 外网状丛层, 是感受细胞与第二级神经元发生突触联系的部分。3. 内核层, 包括双极细胞、水平细胞和无足细胞。4. 内网状丛层, 为第二级神经元与神经节细胞发生突触联系的部分。5. 神经节细胞层。网膜的神经胶质细胞——Müller 细胞从外界膜沿网膜径向伸到内界膜。网膜的感受细胞端通常又称为远端, 神经节细胞端又称为近端。

依据 PII、PIII 对逆行刺激视神经的不同反应, 以及对缺氧和 KCl 的不同敏感性, Granit 推论: PIII(a 波)起源于感受细胞, PII(b 波)起源于内核层。至于 PI(c 波)的起源, Noell 的工作表明可能起源于色素上皮层。但是直至 50 年代初, 绝大部分工作主要是应用粗电极作跨网膜的记录(即将记录电极置于角膜上或玻璃

- 1) 在合适的条件下还可以记录到 x 波、c 波和振荡电位(o, p)。x 波是在 b 波上升相对红光敏感的正相波, 最初在人的 ERG 观察到, 反映锥细胞的活动; o, p 是叠加于 b 波之上的周期性电位变化, 可能由内核层细胞提供; c 波是在撤光反应(d 波)之后潜伏期很长的正相波, 特点是潜伏期随光强增加而延长。最近, 有工作报道, 在人的 ERG d 波之后还有几个相位不同的慢电位变化: f, g, h 波。对这些波本文不作讨论。
- 2) 近年来, K. T. Brown, R. W. Rodieck 都曾对 ERG 的基本成分作过分析, 但与 Granit 的分析没有根本的差别。

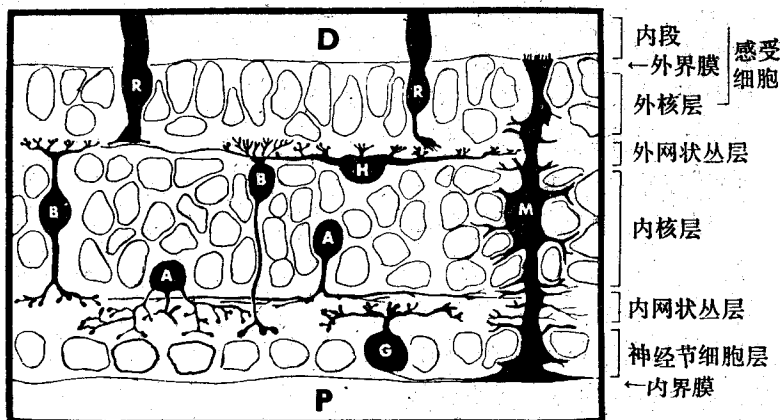


图 2 脊椎动物网膜主要细胞类型的模式图

基于 Golgi 染色法。R——感受细胞或感受细胞层；B——双极细胞；A——无足细胞；H——水平细胞；G——神经节细胞；M——Müller 细胞；D——远端；P——近端

体内,参考电极置于眼球后或更远的位置),这样记录到的电位变化,通称弥散 ERG (Diffuse ERG),它通常反映整个网膜(而不是局部区域)细胞的活动,因此对于 ERG 各成分的源起,这种方法一般不能提供直接的证据。网膜内微电极技术的发展为这一问题的研究开拓了一条新路,由于微电极所记录的通常都是其尖端下相当局部的网膜区域的电位变化,即局部 ERG (Local ERG, LERG),这就使直接鉴别 ERG 的细胞源起成为可能。

LERG 和弥散 ERG 之间的关系可由图 3 的模式图来阐明。网膜受光照后,某一细胞局

部区域膜电位发生变化(去极化或超极化),使该区域与细胞其它部位膜电位不等,因此即有电流自源(Source)流至汇(Sink)。源和汇构成了细胞上的一对偶极子。偶极子有两条回路:1. 大部分电流经局部网膜的细胞外间隙完成回路(I_a),微电极在这一区域记录到 I_a 产生的电位,即 LERG。电极愈近源或汇处,电流密度愈大,LERG 振幅也愈大。2. 一部分电流经网膜及眼介质完成回路(I_b),当记录电极处于此回路中,即能记录到 I_b 在回路电阻上产生的电位,即弥散 ERG。弥散 ERG 的大小由记录电极和参考电极间的回路电阻值,主要是 R 膜的阻值

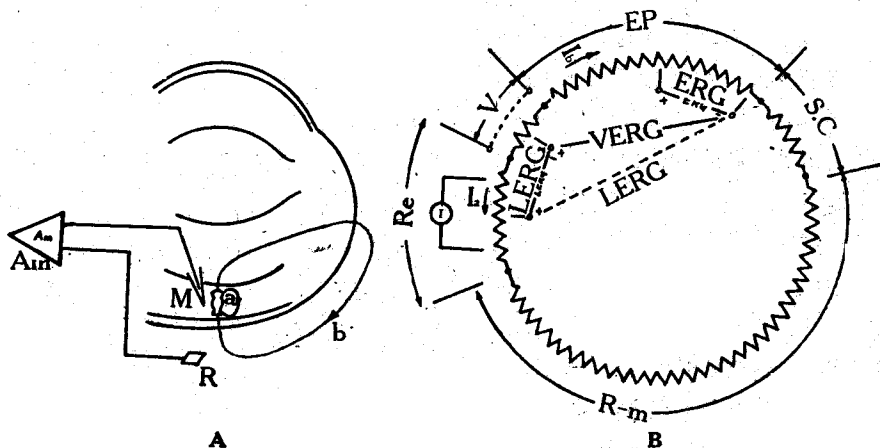


图 3 弥散 ERG 和 LERG 的记录

A. 微电极网膜内记录 ERG 的模式图。M——微电极；R——参考电极； A_m ——放大器。a 即 I_a , 经过局部网膜细胞外间隙回路的电流；b 即 I_b , 经网膜及眼介质回路的电流。B. A 的等效电路。 R_e ——网膜；V——玻璃体；EP——眶外通路；S.C——巩膜、脉络膜； R_m ——R 膜。弧长与电阻值近似成比例。VERG——玻璃体内记得的 ERG。V 下虚线示玻璃体为重油替换时的情况,这时的 LERG 如图中虚线所示

决定³⁾。由图可见,若微电极和参考电极处于R膜两侧,则记录到的电位是 LERG 和弥散 ERG 的总和;若参考电极置于玻璃体,与微电极均在 R 膜同侧,弥散 ERG 大大减小,从而可记录到较单纯的 LERG。用不导电的重油置换玻璃体——阻断 I_b 回路可以完全消除弥散 ERG, LERG 振幅也有所增加。

Brown 的工作清晰地说明弥散 ERG 和 LERG 的不同特点^[3]。当微电极在玻璃体内时,参考电极在头背部,这样记录到的即图 3 中 I_b 经过 R 膜产生的电位——弥散 ERG (图 4A)。无论是光点正落在电极尖端,还是远离电极,反应几乎完全相同。图 4B 为微电极在网膜近 Bruch 膜处,参考电极在玻璃体记录到的 LERG (由 I_a 产生),它的振幅随刺激光点远离电极而迅速降低,具有明显的局部性质。

微电极网膜内记录的这一特点有利于直接寻找 ERG 成分的源起。当微电极插过某一成分的源起处时有两个显著的电学指标: 1. 这一成分的振幅变得最大; 2. 因为 ERG 主要成分应由经向偶极子产生(横向偶极子没有或仅有很少贡献),因此电极插过产生某一成分的偶极子便会出现电位的倒置。显然,在这些实验中微电极尖端定位是很重要的。最常用的方法是依据微电极推进器的读数,但因同种动物不同个体,网膜不同部位各层细胞厚度均有差别,因此需要有更直接的方法: 染色定位,即在微电极内注入带电荷的染料,用电泳法使电极尖端部位着色,再经组织学定位。此外,对定位的动物还可以寻找生理指标,例如利用微电极作为一个灵敏的机械换能器,当它在网膜内下插过程中遇到有血管分布的结构,就能记录出搏动波,这样,依据网膜内血管分布的特点,便可鉴别电极尖端的深度。

2. ERG 网膜内微电极的记录

Brown 等对温血动物(猫、猴)完整眼 LERG 进行了一系列较严格的分析。他们将参考电极放在玻璃体,因此就没有弥散 ERG 的干扰。图 5 示 a、b、c 波振幅随微电极深度的变化。依据“极大振幅”这一电学指标,结合电极尖端普鲁

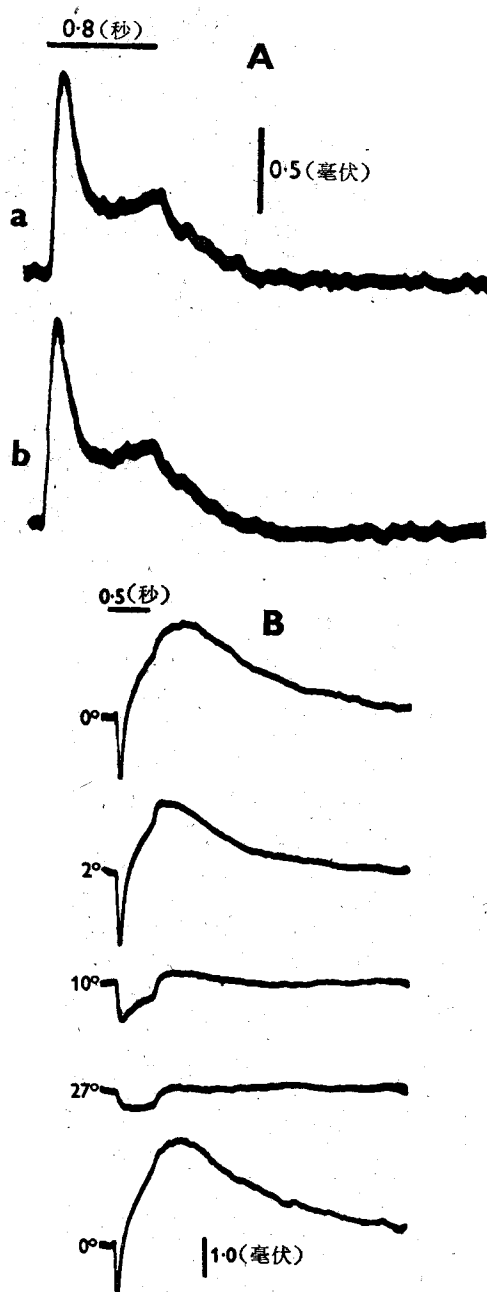


图 4 弥散 ERG 和 LERG 的不同特点

A. 弥散 ERG。a——光点正落在微电极尖端; b——光点落在网膜鼻侧尖端。光点直径 1 毫米。B. LERG。左侧数字示光点离开微电极的视角(4° 约 1 毫米)。光点直径 0.25 毫米

士蓝染色定位,他们判断 b 波源起于内核层,而 a、c 波的源起则在网膜的远端。为了避免几个

3) R 膜系指 Bruch 膜和色素上皮的复合,它的阻值较高(200 欧姆/厘米²),约为玻璃体、脉络膜、巩膜和网膜的 4—10 倍。

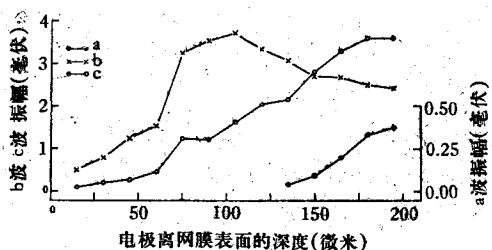


图5 猫周边网膜 LERG a、b、c 波振幅和电极深度的关系

光点直径 3 毫米, 照射在电极尖端, 195 微米处相当于色素上皮的网膜端

成分在时间上的重叠, 又进一步分离出 a 波来分析其源起, 为此采用了两种方法。一是在猴中央凹记录 LERG, 这一部位多为感受细胞, 内核层几乎不存在, 因此可以记录到比较单纯的感受器电位 (Receptor Potential, RP), 而较少受内核层细胞活动的影响。另一方法是阻断网膜中央动脉血流, 消除由它供应的内核层细胞的活动, 而感受细胞因由脉络膜供血, 其活动不受影响, 从而把 RP 分离出来。

图 6 显示猴网膜中央凹和周边 LERG。周边 LERG 有 a、b、d 三个波 (猴的 c 波很小, 在重复刺激造成明适应后消失), 中央凹 LERG 是一个明显的 a 波, b 波很小, 阻断中央动脉血流后, 在周边和中央凹都分离出一个正向电位 (RP), 尤以中央凹更明显, 其前缘与正常 LERG a 波一致, 表明 a 波即 RP 的前沿。这些结果支持了 Granit 关于 PIII 源于感受细胞的早期推论。

Brown 等进一步观察了在周边网膜分离的 RP 的振幅、极性与电极深度的关系。当电极沿感受细胞长轴方向推进时, RP 由负相逐渐转变为正相 (图 7)。正负电位潜伏期、波形相同,

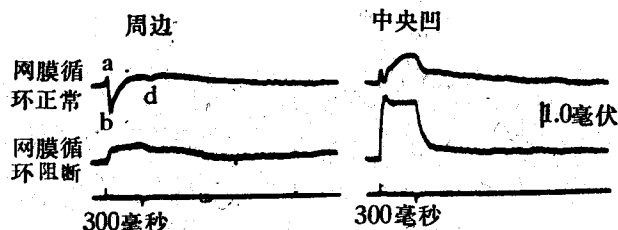


图6 猴网膜中央凹和周边 LERG 的比较
微电极在色素上皮的网膜端; 参考电极在玻璃体。
下线示光刺激讯号

表明这一电位系细胞外电流沿感受细胞长轴方向由源向汇的流动所产生。正相最大值在 92% 网膜深度, 负相最大值在 62%, 分别相当于感受细胞外段及其轴突终末, 即感受细胞近端相对于远端为负。这一事实提示感受细胞对光反应可能是细胞膜的超极化, 以后细胞内记录证明了这一点。

但 PIII 是否是单一成分? 感受细胞是否为其唯一源起? Tomita 在蛙视杯上观察到用叠氮钠消除了 PII 和大部分 PIII 后, 仍能在比双极细胞层更向近端的结构记录到小部分 PIII, 提示 PIII 可能不止一个成分, 而且可能起源于视网膜的不同层次。Murakami 等在蛙、鲤鱼、鳖离体网膜用分层记录法证实了 Tomita 的推测^[4,5]。他们的实验装置示于图 8A, 同心电极外管置于

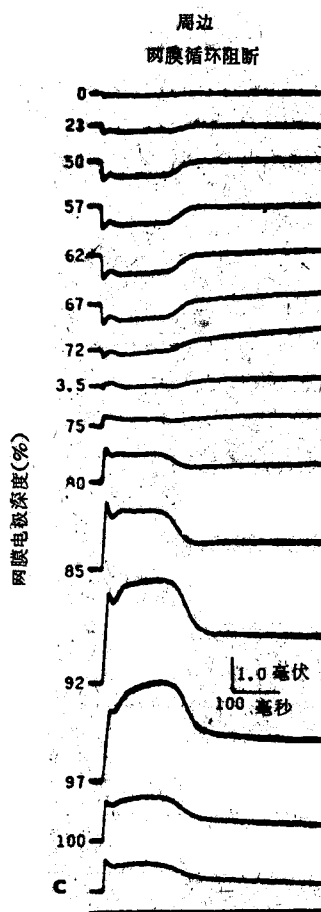


图7 阻断中央动脉血流分离的 RP 与微电极深度的关系
100 表示色素上皮的网膜端; c 表示脉络膜

网膜远端,内管插入网膜,通道 1 记录两电极间的电位(图 8B 每一记录的上一扫描),通道 2 记录内管和参考电极间的电位(下一扫描)。在离感受细胞表面约 80 微米处,由通道 1 可以记录到一个很小的正波,其振幅随内管的推进而增大,至 120 微米处达极大值,因蛙网膜自感受细胞外缘至外网状丛层厚度约 105 微米,有理由假设这一电位是 PIII 的一部分,源于感受细胞,但在这一深度通道 2 又仍可记录到一个较大的正波,这必须是来自更近端的网膜层次。他们把这两个成分定名为远端 PIII (Distal PIII) 和近端 PIII (Proximal PIII)。

远端 PIII 和近端 PIII 还有一些不同的特性: 1. 远端 PIII 能为门冬氨酸钠所分离,在分离过程中,PII 先消失,近端 PIII 然后消失,留下远端 PIII。这表明远端 PIII 不象是突触后结构的活动,因为突触传递往往对化学物质是很敏感的。2. 潜伏期不同: 用数字计算机把远端 PIII 和近端 PIII 各 30—70 个加以平均,前者潜伏期在蛙为 15 毫秒,比后者短 7 毫秒;在鲤鱼

和鳖两者相差 3—5 毫秒。这些事实都表明远端 PIII 源自感受细胞,近端 PIII 源自内核层细胞,可能是双极细胞。之后,在温血动物(猫、鼠、兔)都观察到了相似的结果。但在猴,除 RP 外,尚未记录到近端 PIII,这可能是用阻断中央动脉分离 RP 的方法使内核层细胞的活动受到影响的缘故。

近年来的工作表明,远端 PIII 也不是单一的成分,在用门冬氨酸钠分离的远端 PIII (哺乳动物——兔、白鼠;冷血动物——鲤鱼),还有快慢两个成分,分别称为快 PIII 和慢 PIII^[6]。快 PIII 从感受细胞层记录到,即 RP;慢 PIII 自网膜更近端记录到,仅反应杆细胞的活动。慢 PIII 不为门冬氨酸钠所影响,综合时间 (Summation time) 长达数秒,这些特性提示它不是由突触后的神经结构所产生,Müller 细胞是唯一的非神经结构,因此很可能是慢 PIII 的源起。Faber 分析慢 PIII 的源在外网状丛层,汇在其它的网膜结构,也唯有 Müller 细胞的空间分布是与之相符的。

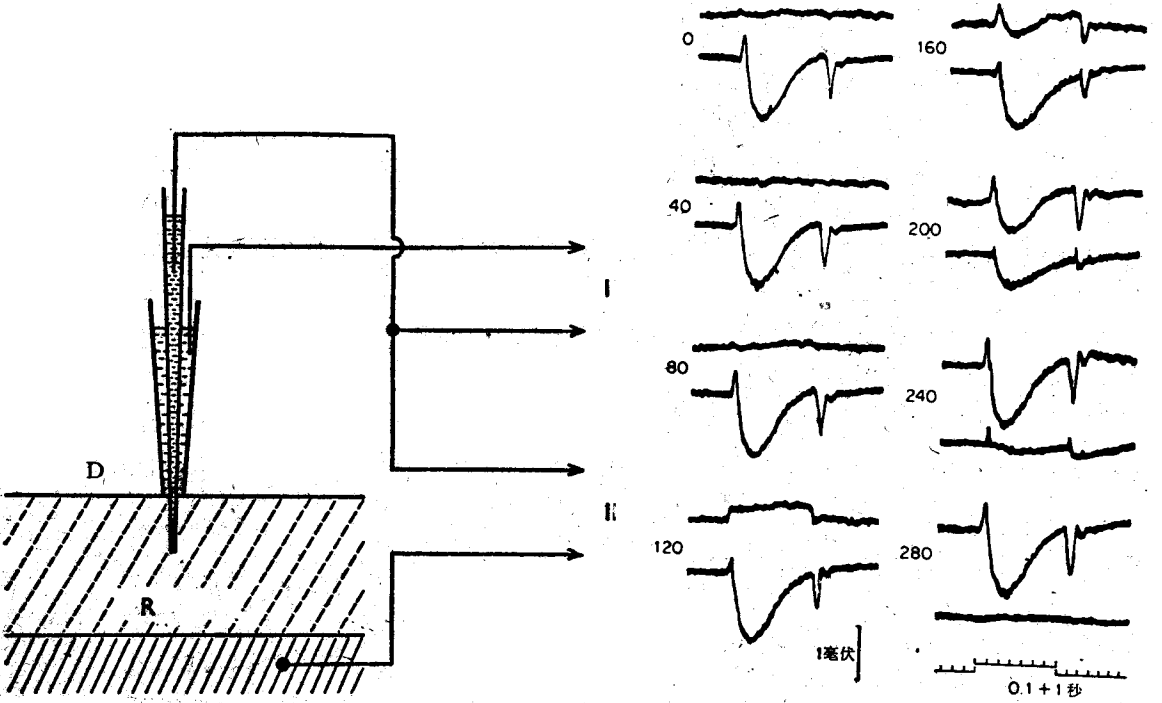


图 8 同心微电极在离体网膜内作 ERG 分层记录

A. 实验装置模式图, R——视网膜; D——远端。B. ERG 和内管微电极深度的关系。上一扫描由通道 1 记录到,下一扫描由通道 2 记录到。反应左侧数字示电极距感受细胞层远缘的深度(微米)

对于b波的源起, Arden 和 Brown 用重油置换玻璃体以消除弥散 ERG 对 LERG 的干扰, 观察到 b 波极性的倒置。最大负波在内核层外缘, 最大正波在内网状丛内缘, 极性倒置处在内核层(图9)。这表明产生 b 波的径向偶极子从内网状丛层内缘伸向内核层, 从组织学来看双极细胞的形态分布与之最相符合, Brown 因此认为 b 波源于双极细胞, 但他们没有直接的证据。

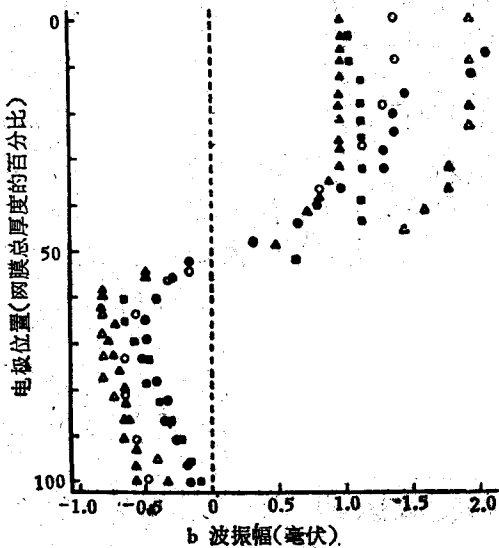


图9 猫 LERG b 波与微电极深度的关系
玻璃体为重油置换, 参考电极在口腔里。横坐标为 b 波振幅, 纵坐标为微电极位置(以网膜总厚度的百分数表示, 100——色素上皮网膜端, 50——内核层)。不同符号表示不同个体的结果

3. 细胞内微电极的工作

从 60 年代起细胞内微电极以及相应的定位术的发展使 ERG 源起的研究有了直接的手段。

(1) 感受器电位 RP 细胞内记录在大鲵鱼首先获得成功。感受细胞的对光反应是细胞膜的超极化(无脊椎动物是去极化), 证实了 Brown 的分析。用藤氏蓝细胞内定位表明电极确在感受细胞内。这一超极化反应的潜伏期与同时记录到的 a 波相同, 从而直接证明 PHI 的一部分起源于感受细胞。以后在其它许多脊椎动物都证明了光刺激引起感受细胞膜的超极化反应。

(2) b 波 一般认为 b 波起源于内核层,

但起源于哪种细胞则有分歧。有相当多的意见认为是双极细胞, 除前述 Brown 的工作外, Бизов 等用超微电极 (0.1 微米) 细胞内记录发现蛙和蟾蜍双极细胞反应与 b 波很相似, 因此认为双极细胞至少在一定程度上参与 b 波的形成, 但可惜未作细胞内定位^[7]。依据用平均仪对山羊在很低强度光刺激时 ERG 的分析, Knave 推测 b 波是双极细胞的去极化^[8]。

Miller 和 Dowling 在 70 年提出一个完全不同的观点: b 波起源于 Müller 细胞^[9]。他们对大鲵鱼各种细胞进行了细胞内记录, 并作细胞内定位, 他们认为 Müller 细胞反应特点与 b 波最相吻合, 1. 波形相似, 极性相符——Müller 细胞反应为膜的去极化, 即相应于 b 波为正。2. 电位振幅与刺激光强的关系在 5 个对数单位内与 b 波相符合。3. 潜伏期、峰潜伏期一致, 而同时记录到的神经节细胞、双极细胞和无足细胞反应上升相都更快, 峰潜伏期更短, 因此这些神经元不会直接提供 b 波(图 10)。不同细胞反应的峰潜伏期比较见表 1。

表 1 大鲵鱼不同细胞反应的潜伏期和峰潜伏期

细胞种类	潜伏期(毫秒)	峰潜伏期(毫秒)
水平细胞	30—40	
双极细胞	30—40	135—150
无足细胞	100—110	110—115
Müller 细胞	90—100	280—300
b 波	90—100	280—300

根据这些结果, 他们推论 Müller 细胞是 b 波的主要源起, 而引起它去极化的细胞位于内核层的远端。他们还认为 Бизов 所作的细胞内记录并不是在双极细胞内, 而是在 Müller 细胞。

长期以来, b 波一直被认为是反映视网膜乃至整个视系统敏感度的很好的指标, 但产生 b 波的细胞却并不处于视觉信息传递的神经通道中, 这在一定意义上是出乎意料的, 但是这并不影响 b 波作为网膜兴奋性的一个有用的指标。b 波阈值对数与漂白的视色素的百分比线

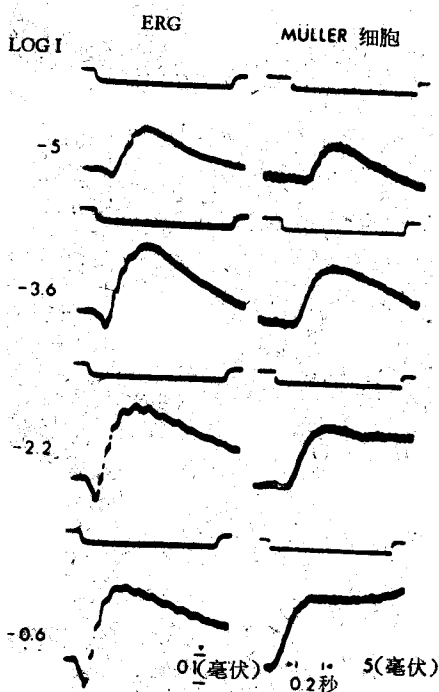


图 10 Müller 细胞对光反应(细胞内记录)和 ERG 的比较

左侧数字示相对刺激光强(对数单位)

性相关,和神经节细胞活动在许多方面也都是平行的^[10]。

关于 b 波起源于 Müller 细胞的证明是有力的,但还不能认为这个问题已得到解决。目前的工作仅限于大鲵鱼,还要在其它动物上加以确定;双极细胞是否对 b 波有贡献也需要进一步确定。此外也还有一些矛盾的结果,例如: Müller 细胞的反应不能跟随较高的闪光频率,频率为 3 周/秒时反应已呈平台,而 ERG 则可能对 18 周/秒的闪光给以相应的反应⁹⁾。

(3) c 波 Steinberg 等在完整猫眼细胞内记录了色素上皮细胞的对光反应。色素上皮细胞膜电位为 60 毫伏,光照时引起 20 毫伏的负向变化(超极化)。这一反应从以下几点性质来看即是 c 波的细胞内记录: 1. 当 LERG 的 c 波振幅达最大值时微电极继续下插即遇到障碍,一旦穿过障碍便记录到 50—60 毫伏的负电位,表示电极已进入细胞内,染色定位是在色素上皮细胞内。2. 其上升相、下降相和峰值均与 c 波同,唯极性相反。3. 与 LERG 的 c 波一样,当光

刺激的时程延长,峰值在撤光后出现,若再延长,峰成平台。这些结果与 Noell 以前的分析是完全一致的。

小结:

a 波——分远端 PIII 和近端 PIII。

远端 PIII $\begin{cases} \text{快 PIII} \text{——源起为感受细胞} \\ \text{慢 PIII} \text{——Müller 细胞(?) } \end{cases}$

近端 PIII——内核层细胞(双极细胞?)

b 波——Müller 细胞(双极细胞?)

c 波——色素上皮细胞

二、ERG 主要成分产生的离子机制

自 60 年代起,ERG 各成分的离子机制的研究成为一个十分活跃的领域,特别是对 RP 已取得很大进展,对 b、c 波正在开始。在本节中将集中讨论 RP 的离子机制, b、c 波仅略提及。

1. RP

脊椎动物光感受细胞的对光反应是膜的超极化,这不但和无脊椎动物光感受细胞不同,也有异于其它感受细胞。Toyoda 等和 Baylor 等分别在守宫网膜(纯杆细胞)和蟹网膜(纯锥细胞)细胞内记录 RP,进一步证明在膜超极化的同时膜电阻增加^[11,12]。图 11 为蟹的结果。通过微电极施加去极化脉动电流,按该电流引起膜的电压降可计算膜电阻。结果表明,当光照引起 RP 时,压降增加,表示膜电阻增加(图 11A)。这显然并不是由超极化所引起,因为若在暗中施加超极化电流,使膜超极化,膜电阻并不改变。如果施加恒定的超极化电流,则 RP 增大;施加去极化电流,RP 变小或消失,甚至极性倒置(视去极化电流大小)(图 11B)。极性倒置的膜电位水平相当于钠离子的平衡电位,这提示膜电阻的变化很可能由膜对铯的通透率所决定;光照时膜电阻增加是因为对钠离子通透性下降所致。Tomita 等首先提出感受细胞膜在暗是“活动性”的——对某种离子通透性较高,而在光照时为“非活动性”的——通透性降低。

4) 有一种解释是,ERG 各成分中能跟随 18 周/秒闪光的只是 a 波而非 b 波。

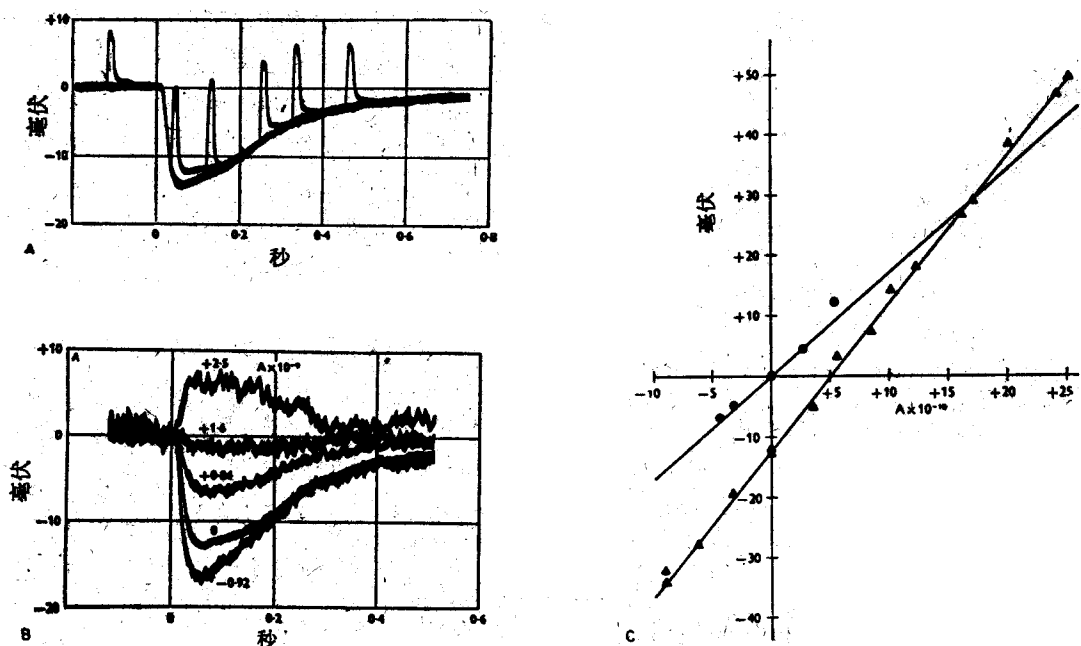


图 11 视网膜的 RP

A. 细胞内记录。叠加于 RP 之上的是去极化脉动电流引起的膜电压降, 压降愈大, 表示膜电阻愈高。B. 恒定电流经微电极改变膜电位时 RP 的变化。纵坐标“O”是任意选定的。RP 上标数字为电流值, “+”表示去极化, “-”表示超极化。C. 膜电阻和膜电位的关系(依 A、B 而作)。▲——光照时; ●——黑暗时。直线斜率表示膜电阻, 暗时为 17 兆姆, 光照时为 25 兆姆, 两线交叉点示平衡电位

Penn 等作了很精细的实验表明, 在感受细胞外暗中沿其长轴有电流流动, 光照时这一电

流确有变化。他们在离体的小白鼠网膜小条(宽 300 微米, 长 5 毫米, 用灌流方法使之存活)

上, 将微电极由网膜远端插入, 然后沿感受细胞长轴方向推进, 参考电极置于感受细胞外段顶端, 这样就可以得到在暗中感受细胞间隙沿长轴方向的“暗”电位梯度(图 12)。由图可见, 在暗中记录电极相对参考电极总是正的, 说明在暗中有电流自感受细胞内段流进细胞间隙进入外段, 这一电流即谓之“暗电流”(Dark current), 它由代谢作用维持, 当用 10mM 代谢抑制剂 KCN 处理标本, 电位梯度消失。

图 13 为光照时细胞外电流的分析。三根微电极以 10 微米间隔同步地沿感受细胞长轴移动, 当通以径向脉动电流时, 可依各对电极间的电位差来计算其间的组织间隙的电阻 (R_{ab}, R_{bc})。光照时各对电极间出现光致电位梯度 (V_{ab}, V_{bc}), 因电极间电阻值已知, 所以即可知光电流沿感受细胞长轴

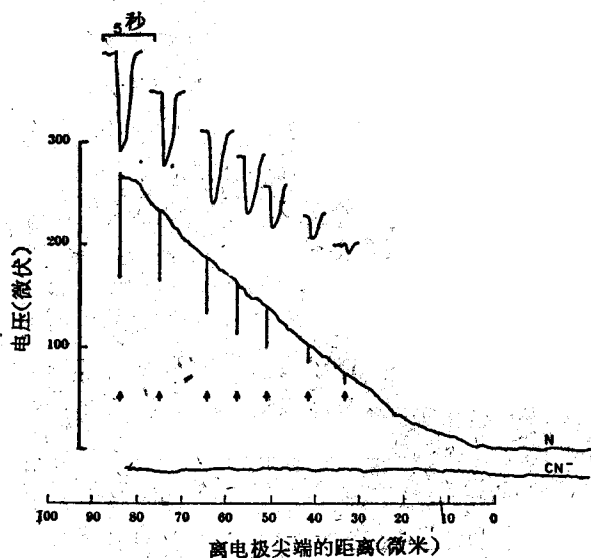


图 12 白鼠网膜小条杆细胞层的“暗”电位梯度

横坐标: 置于杆细胞远端的参考电极离微电极尖端的距离(微米); 纵坐标: 两电极间的电压梯度。图上方的波形表示光刺激(箭头 0.1 微米)引起的反应大小。N 表示正常反应; CN⁻ 表示经过 KCN (10 mM) 处理后的记录

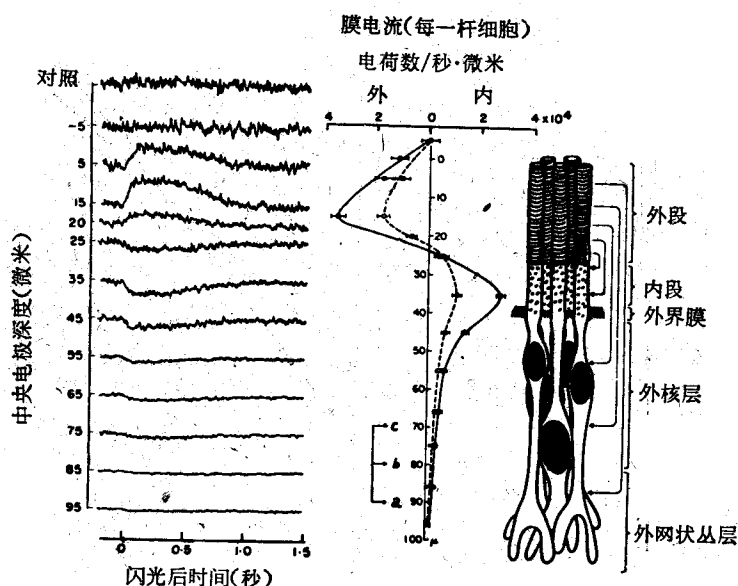


图 13 白鼠杆细胞细胞外光电流分析

左: 闪光引起的 a. b. c 三微电极之间的电位差 (V_{ab}, V_{bc}), 其间的径向电流差即 $(\frac{V_{ab}}{R_{ab}} - \frac{V_{bc}}{R_{bc}})$, 系 16 个记录的平均。

中: 沿感受细胞长轴细胞外光电流的分布。a. b. c 为三微电极, 彼此间隔 10 微米。○——是左侧结果图示; ●——为更强闪光得到的结果。

右: 杆细胞模式图, 显示光电流的流动

的分布⁵⁾: 源在外段, 汇在内外段联结处。光电流总比暗电流为小, 而且方向相反, 因此可视为光照时暗电流的减少。

细胞外电流这些变化和钠离子有密切关系。在离体蛙网膜, 由门冬氨酸钠分离的 PIII 振幅(粗电极记录)与细胞外钠离子浓度的对数成线性关系, 若用乌本碱 (Ouabain) 抑制钠泵的作用, 只要维持细胞内外的钠离子浓度, 仍可记录到 PIII, 这充分说明钠离子对产生 RP 的重要作用^[13]。在鳖的锥细胞和巨蟾蜍 (*Bufo marinus*) 的杆细胞的细胞内微电极工作也表明, 降低外环境钠离子浓度使膜超极化, RP 变小; 若用胆碱离子完全置换外环境中钠离子, 膜的超极化将为最大, 超过光照引起的超极化, 此时光刺激不能引起 RP, 即使用外加电流使膜电位回到暗中的水平, 仍不能引起 RP^[14]。

对游离的杆细胞外段渗透性的研究进一步表明, 黑暗中, 若用高渗钠溶液处理时, 细胞体积收缩, 随后逐渐恢复, 指示在暗中钠离子能很快进入外段膜内。但高渗钾溶液引起的细胞体

积收缩却不能恢复, 说明钾离子很少进入外段。钠的内流比外流速率快 100 倍, 光照使外段膜对钠离子内流产生特异性阻抗, 钠流因此减小^[15]。

内段对钠离子和钾离子均能通透, Cervetto 在鳖的工作表明, 锥细胞内段对钾离子是经常通透的。

综上所述, 可归纳如下: 外段在暗中对钠离子有较高通透性, 对钾离子通透性很低。暗中有钠离子流沿感受细胞长轴不断自内段流经细胞间隙而进入外段⁶⁾, 即为暗电流。钠泵在内段 (或内外段之间), 它的作用是把流入感受细胞的钠离子泵出去, 维持膜内外的钠离子浓度。光照时外段钠通道相对关闭, 钠离子流减小, 由

此引起膜电位的变化就是 RP。

图 14 是一个感受细胞简单的模型。根据这个模型, 经简单的运算, 在光照或外加电流时, 膜电位变化与钠、钾离子浓度及膜对钠、钾通道的电阻的关系 (不考虑钠泵作用) 可用下式表示:

$$\Delta E_m = \frac{\left(\frac{RT}{F} \ln \frac{[Na^+]_o \cdot [K^+]_i}{[Na^+]_i \cdot [K^+]_o} + iR_K \right) R_K}{(R_{Na} + R_K)^2} \cdot \Delta R_{Na}$$

其中 ΔE_m 为膜电位变化; $[Na^+]_o$ 、 $[Na^+]_i$ 、 $[K^+]_o$ 、 $[K^+]_i$ 分别表示钠、钾离子的膜外和膜内的浓度; R_{Na} 、 R_K 是钠、钾通道的电阻; i 是外加电流; F ——法拉第常数; R ——气体常数; T ——绝对温度。

5) 作者用电学方法校正了两对电极间电阻值的差别, 因此, $\frac{V_{ab}}{R_{ab}} - \frac{V_{bc}}{R_{bc}}$ 直接反映了光电流的分布。

6) 有人认为, 在内段和细胞体部位流动的是钾流而非钠流, 并假设在内外段联接处有钠-钾交换泵, 把钠离子向外泵出, 钾离子向内泵入。

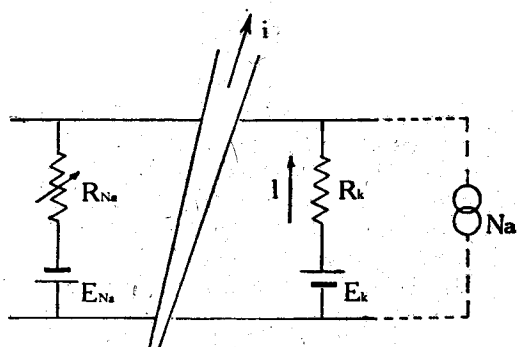


图 14. 感受细胞的模型

实线部分示外段,虚线部分示内段。 R_{Na} 、 R_K 分别表示钠电阻和钾电阻; E_{Na} 、 E_K 分别表示钠电位和钾电位。 i ——外加电流; Na ——钠泵

这个关系式说明: 1. 膜电位变化与钠电阻的变化成线性关系。2. 与外环境钠离子浓度的对数成正比,与外环境钾离子浓度对数成反比。3. 与外加电流强度成比例,若 i 的方向是正的(如图 15 箭头所示),RP 变大,若 i 为负,RP 应下降。很明显,这些都和已知的实验结果是一致的。

新近,对一种蝶螈的研究发现,与锥细胞不同,光照时其杆细胞膜超极化,同时膜电阻下降,反应与膜电阻的关系是非线性的^[16]。这提示,伴随着钠通透性的下降,还有对某些离子(可能是钾离子)通透性的增高。因此,至少在蝶螈的杆细胞,RP 产生的离子机制与锥细胞是不同的。而守宫的杆细胞之所以和蟹的锥细胞结果一致,可能是因为前者具有锥细胞的性质:它的外段有不少小盘如同锥细胞一样,系由表面膜内折而成^[17]。这方面工作目前正在逐渐展开。

2. b 波

Miller 和 Dowling 提出 Müller 细胞与一般神经胶质细胞一样是一个对钾离子敏感的钾电极。他们推测,光照引起的内核层神经元活动,致使局部细胞外间隙钾离子浓度增加,Müller 细胞一部分因此去极化,由此产生的径向电流流过网膜,也即记录到的 b 波。

新近 Mori 等证明 Müller 细胞确实是一个钾电极,当细胞外钾离子浓度增加时,Müller 细胞膜去极化^[18]。他们利用 SDP (Spreading

Depression Potential) 作为钾离子浓度的电学指标⁷⁾,观察到光照时细胞外钾离子浓度增加,Müller 细胞膜去极化幅度与之相应,表示 Müller 细胞就是一个钾电极,细胞内钾离子浓度的测定进一步说明,细胞外增加的钾离子浓度不是由 Müller 细胞提供的,而是由内核层神经元(很可能是双极细胞)的活动所产生,Müller 细胞只是立即吸收这些增加的钾离子,使细胞外钾离子浓度恢复正常。

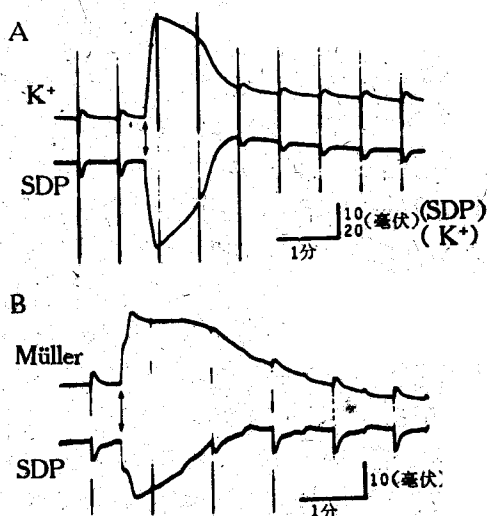


图 15 钾电位 SDP 和 Müller 细胞膜电位

A. 钾电位和 SDP 的同时记录。离感受细胞表面深度 175 微米处,SDP 叠加于对谷氨酸钠周期注射(间隔 40 秒)的反应上。垂直线系注射所用的电流脉冲的伪迹。箭头示闪光刺激。B. Müller 细胞膜电位与 SDP 光反应的同时记录。离感受细胞表面深度 125 微米,余同 A

3. c 波

色素上皮细胞的超极化可能是由于其顶端膜与感受细胞外段之间的细胞外间隙钾离子浓度下降所致。已有工作表明,感受细胞的对光超极化反应伴随有感受细胞层钾离子浓度的下降,这是由于感受细胞内钾离子外漏减少所引起。

7) SDP 即扩布性抑制电位。是伴随着扩布性抑制的场电位变化,首先在蛙网膜观察到。这是一种沿网膜表面前进的功能性波动,持续数分钟,所到之处细胞膜电位发生迁移,3—6 分内方恢复到原水平。神经节细胞发放频率在波动到达时显著增加,随后又显著降低。已经证明 SDP 的变化与钾电位变化几成镜像,即钾电位愈高,SDP 愈大,因此可作为钾浓度的指标(图 15A),

ERG 已得到了广泛的应用,一方面它作为反映网膜功能一个重要指标,用来研究网膜的适应、颜色分辨、时间分辨等特性。另一方面在临床上也普遍地应用于网膜疾病的诊断及疗效和愈后的分析。ERG 源起的研究无疑对它的应用产生深刻的影响:ERG 源起愈清楚,它的应用的基础便愈坚实,分析便愈可靠。

ERG 主要成分的源起和性质由于微电极网膜内、细胞内记录技术的发展,已经向前跨了一大步,当然还有许多工作要做,但问题逐渐明朗,总的轮廓已经清楚了。今后研究的重点将不单是着眼于这一方面,而是结合它的离子机制试图阐明某些更基本的问题:视觉系统兴奋的产生,信息的传递。以感受器电位为例,目前的研究推向视色素吸收光子量子后怎样引起 RP, RP 怎样在感受细胞中传播,超极化的 RP 又如何引起突触后膜的兴奋等方面。具体的说,钙离子和环化 AMP 是否是感受细胞膜功能变化的中间媒介?一个视色素分子的激活可以导致多少钠通道的关闭?这种钠流的改变是否足以影响突触后膜?b 波的研究则和神经胶质细胞的性质结合在一起,以说明它们在维持感受细胞的正常功能及维持和调节网膜的离子环境中的作用。这些工作将进一步加深人们对 ERG 性质的认识,也将增加 ERG 作为反映网膜功能的指标的价值。

主要参考文献

- [1] Rodieck, R. W.: *The Vertebrate Retina*, 1973.
- [2] Granit, R.: *Sensory Mechanism of the Retina*, Oxford University Press, 1947.
- [3] Brown, K. T. & Wiesel, T. N.: *J. Physiol. (Lond.)*, 153, 229, 1961.
- [4] Murakami, M. & Kaneko, A.: *Nature (Lond.)*, 210, 103, 1966.
- [5] Tomita, T.: *Quart. Rev. Biophys.*, 3, 179, 1970.
- [6] Witkovsky, P. et al.: *J. Gen. Physiol.*, 61, 401, 1973.
- [7] Бызов, А. Л. и Ханг, Р.: *Физиол. Журн. СССР*, 52, 250, 1966.
- [8] Knave, B. et al.: *Vision Res.*, 12, 1669, 1972.
- [9] Miller, R. F. & Dowling, J. E.: *J. Neurophysiol.*, 33, 323, 1970.
- [10] Armington, J. C.: *The Electroretinogram*, Academic Press, 1974.
- [11] Toyoda, J. et al.: *Vision Res.*, 9, 453, 1969.
- [12] Baylor, D. A. & Fuortes, M. G. F.: *J. Physiol. (Lond.)*, 207, 77.
- [13] Sillman, A. J. et al.: *Vision Res.*, 9, 1443, 1969.
- [14] Brown, J. E. & Pinto, L. H.: *J. Physiol. (Lond.)*, 236, 575, 1974.
- [15] Korenbrot, J. I.: *Expt. Eye Res.*, 16, 343, 1973.
- [16] Lasansky, A. & Marchiafava, P. L.: *J. Physiol. (Lond.)*, 236, 171, 1974.
- [17] Arden, G. B.: *The Eye*, 2A, 2nd ed., 1976. Academic Press.
- [18] Mori, S. et al.: *Jap. J. Physiol.*, 26, 219, 1976.

[本文于 1977 年 10 月 18 日收到]

在我国发现的异常血红蛋白

秦文斌

(包头医学院)

一、前言

自从 Pauling 等人发现 Hb S 以来,异常血红蛋白的研究工作有了飞速发展。发展迅速的主要原因,是这些研究具有多种的科学意义。因为,它涉及到生物化学、医学、遗传学和人类学

等许多学科的进展。为了寻找这种血红蛋白,世界上许多国家都组织过人力进行居民普查,在此基础上对所发现的异常血红蛋白进行深入研究,从而充实和提高上述各学科的现代知识。现在,全世界已经发现异常血红蛋白 250 余种。不仅数量增多,质量也有了进一步提高。过去,我