

# 研究工作

## 河豚毒素和 $Cd^{2+}$ 对 $Zn^{2+}$ 诱发爆发波放电的影响

吴本玠 张川里

(北京医科大学生物物理教研室)

### 提 要

本文用微电极细胞内电位记录、通道阻断剂和放射性同位素等技术发现, 锌离子可诱发爆发波放电 (BD), 钠通道阻断剂——河豚毒素对 BD 无效应, 而钙通道阻断剂—— $Ca^{2+}$  则可使 BD 消失,  $Cd^{2+}$  可使  $[^{65}Zn^{2+}]_i$  量减少。以上结果说明,  $Zn^{2+}$  诱发 BD 的产生机理很可能是  $Zn^{2+}$  代替  $Ca^{2+}$  通过钙通道进入胞内引起的。

**关键词**  $Zn^{2+}$ , 爆发波放电, 河豚毒素,  $Cd^{2+}$

癫痫是神经系统的一种常见病、多发病。癫痫的发病机理尚未完全阐明, 目前的主要看法是: (1) 一些因素共同作用, 使神经细胞过度兴奋, 产生 BD; (2) 在此基础上, 许多神经细胞发生同步化放电, 从而引起癫痫的发作<sup>[1,2]</sup>。锌等多种二价阳离子可使实验动物诱发癫痫<sup>[3]</sup>, 这是研究癫痫发病机理的良好动物模型。本文研究钠通道阻断剂河豚毒素 (Tetrodotoxin, TTX) 和钙通道阻断剂  $Cd^{2+}$  对锌离子诱发 BD 的效应, 并对  $Zn^{2+}$  诱发 BD 的机理进行初步分析。

### 材 料 和 方 法

实验动物为非洲蜗牛 (*African Snail*), 学名为褐云玛瑙螺 (*Achatina Fulica Ferussac*), 体重为 25—35g。关于蜗牛离体神经节标本的制备方法, 用玻璃微电极细胞内记录神经节细胞电位的方法以及用  $^{45}Ca$  放射性同位素和 Beckman 液体闪烁仪测定胞内钙离子浓度的

方法请见参考文献 4。 $^{65}Zn$  放射性同位素示踪方法基本上与  $^{45}Ca$  的方法相同, 最后是用 FT-1901 型医用  $\gamma$  谱仪测量。

### 结 果 和 讨 论

#### (一) 锌离子对神经细胞放电的效应

在 10 个有自发放电 (spontaneous discharge, SD) 的细胞上观察了加 17mmol/L  $ZnSO_4$  溶液后的变化。加  $Zn^{2+}$  后 10 个细胞均出现 BD, 平均出现时间为  $2.2 \pm 0.9min$ 。这种 BD 的形状与正常动作电位 (AP) 完全不同, BD 都有一个慢的去极化电位, BD 的振幅比正常 AP 为小; 持续时间比 AP 长很多 (表 1)。BD 间的时间间隔 (一般为 10s 左右) 较正常 AP 间的时间间隔 (一般为 1s 左右, 最长不超过 3s) 为长。每个 BD 的峰电位数相差较大, 在 3—22 个之间, 平均为  $12.6 \pm 0.9$  个。BD 的复极化过程较慢, 并有一个 5mV 左右的超极化电位。BD 由上部的峰电位和下部的去极化电位两部分组成。去

11 Owerbach D *et al.* *Lancet*, 1982; 1: 880  
 12 Jowett N I *et al.* *Diabetologia*, 1983; 25: 168  
 13 Jowett N I *et al.* *Br Med J*, 1984; 288: 96  
 14 Mandrup-Poulsen T *et al.* *J Inher Metab Dis*, 1986; 9(Suppl 1): 98

15 Awata T *et al.* *Diabetologia*, 1985; 28: 911  
 16 Aalto-Setälä K *et al.* *Atherosclerosis*, 1987; 66: 145

[本文于1989年1月17日收到]

表1 加  $Zn^{2+}$  前后细胞放电几个参数的比较

Table 1 The comparison of some parameters of cell discharge before and after adding  $Zn^{2+}$

Groups	Resting potential, mV	Amplitude of spike or burst, mV	Duration of spike or burst, ms
Control (n = 10)	$-57.0 \pm 2.0$	$85.2 \pm 2.1$	$25.0 \pm 0.9$
Adding $Zn^{2+}$ (n = 10)	$-57.8 \pm 2.1$	$70.8 \pm 1.5$	$2529.6 \pm 165.4$
P Value	$>0.05$	$<0.001$	$<0.001$

极化电位的幅值相差不很大, 平均为  $26.7 \pm 1.2$  mV。随着  $Zn^{2+}$  作用时间的加长, 每个BD的持续时间和波间的时间间隔也加长。图1表示同一细胞加  $Zn^{2+}$  前的放电, 加  $Zn^{2+}$  后产生的BD和用生理液冲洗后放电的恢复。

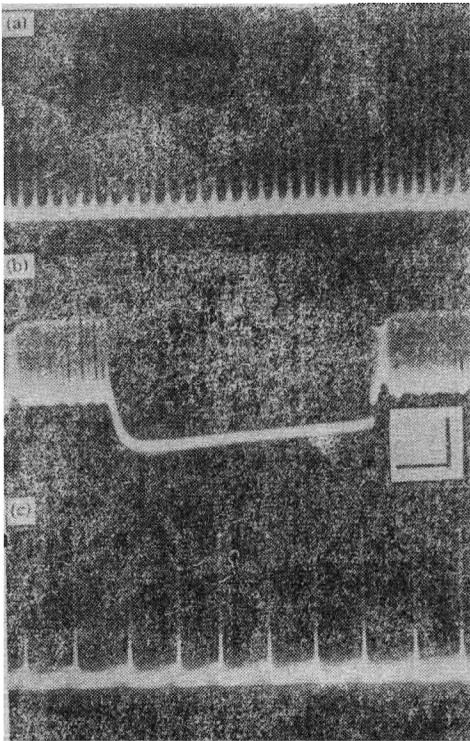


图1  $ZnSO_4$  对神经节细胞放电的效应

Fig. 1 The effect of  $Zn^{2+}$  on discharges in ganglion cells

- (a) Spontaneous discharge, SD
- (b) BD, 3min after adding  $Zn^{2+}$
- (c) SD, 37min after washing out with snail physiological solution

Vertical bar: 20mV Horizontal bar: 1s

用钠通道阻断剂河豚毒素 (TTX) 和钙通道阻断剂  $Cd^{2+}$  作用于  $Zn^{2+}$  诱发的爆发波, 以探讨  $Zn^{2+}$  是通过何种通道起作用的。

加入  $2 \times 10^{-5}$  mol/L TTX 的生理液后, 自发放电细胞的动作电位减小, 1min 左右动作电位就完全消失。

在用  $Zn^{2+}$  引起神经细胞 BD 10min 后, 加入  $2 \times 10^{-5}$  mol/L TTX 的生理液, 观察了 4 个细胞 BD 的变化, 发现 TTX 不能消除  $Zn^{2+}$  引起的 BD。虽然加 TTX 后, 有些 BD 的形状略有改变, 但加 TTX 前后 BD 的振幅和持续时间基本没有改变(图 2), 经统计学处理, 无显著性差别(表 2)。

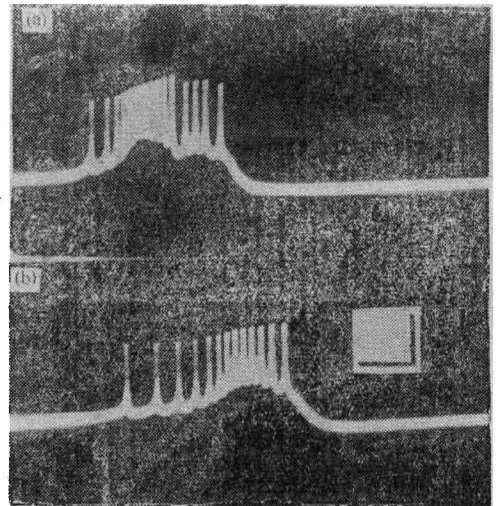


图2 TTX 对  $Zn^{2+}$  引起 BD 的影响

Fig. 2 The effect of TTX on BD evoked by  $Zn^{2+}$

- (a) BD, 6min after adding  $Zn^{2+}$
- (b) BD, 6min after adding TTX (22min after adding  $Zn^{2+}$ )

Vertical bar: 20mV Horizontal bar: 1s

(二) 钠通道阻断剂河豚毒素和钙通道阻断剂  $Cd^{2+}$  对  $Zn^{2+}$  诱发 BD 的效应

$Cd^{2+}$  阻断实验, 是用  $Zn^{2+}$  引起自发放电细胞

表2 加 TTX 前后 BD 的振幅和持续时间的比较  
Table 2 The comparison of BD in amplitude and duration before and after adding TTX

Groups	BD Amplitude, mV	BD Duration, ms
Before adding TTX (n = 4)	66.9 ± 1.8	2485.0 ± 217.4
After adding TTX (n = 4)	66.5 ± 2.0	2550.0 ± 190.8
	>0.05	>0.05

胞出现 BD 10min 后, 加入 10mmol/L CdCl<sub>2</sub> 蜗牛生理液, 观察了两个细胞 BD 的变化情况。加 Cd<sup>2+</sup> 后, 均在 1min 左右就开始出现对 BD 的抑制作用, BD 很快消失, 仅有单个 AP 存在, 这种 AP 振幅较正常电位为小, 频率变慢。加 Cd<sup>2+</sup> 6min 后, 这种单个放电也基本消失(图 3)。用蜗牛生理液冲洗数小时后, 放电可逐渐恢复。

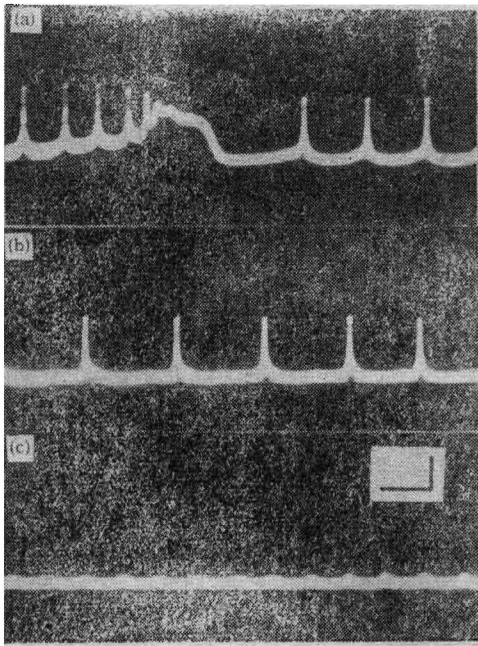


图3 CdCl<sub>2</sub> 对 Zn<sup>2+</sup> 引起 BD 的抑制作用  
Fig. 3 The inhibitory action of Cd<sup>2+</sup> on BD evoked by Zn<sup>2+</sup>

- (a) BD, 5min after adding Zn<sup>2+</sup>  
(b) BD disappearing 3min after adding Cd<sup>2+</sup> (15 min after adding Zn<sup>2+</sup>)  
(c) The SD disappearing 6min after adding Cd<sup>2+</sup>  
Vertical bar: 20mV Horizontal bar: 1s

### (三) <sup>65</sup>Zn 胞内量的同位素示踪研究

正常生理盐水组 <sup>65</sup>Zn 的 cpm/10mg 神经

节为 1456.9 ± 84.8 (n = 7), 如果以此为 100%, 则加入 10mmol/L Cd<sup>2+</sup> 后, cpm 减至 61.9% (899.4 ± 25.4, n = 8); 两者间的差别在统计学上有高度显著性 (P < 0.01)。

当前对 BD 发生机理的主要看法是在一些因素的共同作用下, 神经细胞膜发生慢去极化变化, 导致 Ca<sup>2+</sup> 的内流增加, 触发 BD, 胞内 Ca<sup>2+</sup> 的增加又激活了钙依赖性钾通道, 促使 K<sup>+</sup> 快速外流, 终止 BD, 这就是 Ca-K 系统学说。在这个学说中, 超过正常的、大量的 Ca<sup>2+</sup> 内流起着重要作用。许多实验都证实了这种学说<sup>[5,6]</sup>, 最有力的证据是 1986 年 Krnjevic 等用 Ca<sup>2+</sup> 敏感微电极证实出现 BD 后, 胞内 Ca<sup>2+</sup> 浓度有明显增加<sup>[7]</sup>。本实验结果表明, Zn<sup>2+</sup> 可引起蜗牛神经细胞产生 BD, 放射性同位素 <sup>65</sup>Zn 示踪实验进一步证实 Zn<sup>2+</sup> 可进入胞内, 钙通道阻断剂 Cd<sup>2+</sup> 可使 [<sup>65</sup>Zn] 减少。钙通道阻断剂 Cd<sup>2+</sup> 可使 BD 消失, 而钠通道阻断剂 TTX 则不能。根据上述的一系列实验结果, 我们初步认为 Zn<sup>2+</sup> 引起 BD 的机理很可能是 Zn<sup>2+</sup> 代替 Ca<sup>2+</sup> 通过钙通道进入胞内, 以类似于 Ca<sup>2+</sup> 的机制触发 BD; 或者主要是 Zn<sup>2+</sup>, 再加上一部分 Ca<sup>2+</sup> 的共同作用。Oyama 等使用单离子通道技术在无钙含锌溶液中的蜗牛神经细胞上记录到类似钙电流的锌电流, 证实 Zn<sup>2+</sup> 可通过钙通道<sup>[8]</sup>, 这一实验支持了我们的论点。

### 参 考 文 献

- Schwartzkroin P A. *TINS*, 1983; 6: 157
- Pedley T A, Meldrum B S. *Recent advances in epilepsy*, 2, London: Churchill Livingstone, 1985: 1—17
- Pei Yinquan *et al.* *Epilepsia*, 1983; 24: 169
- 吴本玠等. *生物物理学报*, 1987; 3: 415
- Schwartzkroin P A, Wheal H. *Electrophysiology of epilepsy*. London: Academic Press Inc, 1984: 343—352
- Chalazonitis N, Boisson M. *Abnormal neuronal discharges*. New York: Raven Press, 1978: 151—163
- Krnjevic K *et al.* *Brain Res*, 1986; 374: 1
- Oyama Y *et al.* *Comp Biochem Physiol*, 1982; 72c: 403

[本文于 1989 年 1 月 3 日收到]

# THE INFLUENCE OF TETRODOTOXIN AND $Cd^{2+}$ ON BURST DISCHARGES EVOKED BY $Zn^{2+}$

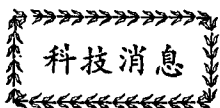
Wu Benjie      Zhang Chuanli

(Department of Biophysics, Beijing Medical University)

## ABSTRACT

The intracellular microelectrode recording technique, channel blocker and radioisotope tracer method were used. The burst discharges were evoked by  $Zn^{2+}$ , no change by sodium channel blocker—Tetrodotoxin, but abolished by calcium channel blocker— $Cd^{2+}$ . [ $^{65}Zn^{2+}$ ]<sub>i</sub> was decreased by  $Cd^{2+}$ . It is possible, that  $Zn^{2+}$ , instead of  $Ca^{2+}$ , goes into cells through calcium channels in the mechanism of BD evoked by  $Zn^{2+}$ .

**Key words**  $Zn^{2+}$ , burst discharge, tetrodotoxin,  $Cd^{2+}$



## 参加“全苏微量元素与人类健康讨论会”归来

近年来,我国微量元素的研究引起各方面的关注,尤其是结合克山病、大骨节病和肝癌的发病机理与防治,对微量元素硒作了比较深入、系统的研究,有些成果具有国际领先或先进水平。苏联在微量元素方面的研究情况,相对讲,我们了解不多。笔者通过最近应邀去苏联参加“全苏微量元素与人类健康讨论会”获得一点信息,现扼要介绍如下:

1989年11月15—17日在莫斯科举行的“全苏微量元素与人类健康讨论会”系由苏联卫生部、苏联医学科学院、苏联科学院微量元素与生物委员会以及苏联医学科学院人类形态研究所等单位联合赞助下召开的。苏联在过去曾举行几次有关微量元素与生物、医学的学术讨论会,但“微量元素与人类健康讨论会”在苏联还是第一次召开。会议共有200名代表参加。他们来自各加盟共和国的25个城市。笔者应会议主要主持人苏联医学科学院院士 Avtsyn 的邀请参加了会议并在大会上作题为“克山病是一种心肌线粒体病”和“硒对稳定人红细胞膜骨架的作用”两个报告,受到与会者热烈的欢迎。会议宣读与展出论文共100篇,其中除基础研究(如,微量元素跨膜运送及其在细胞内定位的细胞学研究,铅对脑组织形态和功能的影响等)外,还包括诸如微量元素与肝癌,微量元素与畜牧业,微量元素与工业污染,微量元素与地方病(如发生在 Lvov 的脱发病),微量元素的地理分布,微量元素的分析技术(如中子活化等)。苏联也有低硒地区,据告也有大骨节病、克山病的发生,但在这次会议上未见有这

方面的研究报告。从这次“全苏微量元素与人类健康讨论会”来看,苏联在微量元素研究方面有几点是值得注意的:

**1. 研究范围较广** 根据苏联医学科学院院士人类形态研究所 Avtsyn 教授的观点,微量元素与人类健康问题的研究大致可分为:(1)先天的遗传的原因导致微量元素的不足或过量,从而影响人体的健康,(2)外界因素引起人体微量元素含量的异常和微量元素之间平衡失常,后者又可分为:(a)工矿业职工长期接触某种或几种微量元素所产生的后果,(b)因工业污染使邻近地区(或扩散至较远地区)的人群受影响,(c)某一地区的微量元素分布过低或过高,(d)药物或其它因素引起。

**2. 研究比较全面** 对微量元素影响人类健康既考虑到含量不足引起的后果,也研究过量产生的有害效应。此外,还对微量元素之间的平衡问题也给予足够的重视。

就研究的微量元素种类来说,计有铜、锌、硒、锰、镉、铁、碘、镍、氟、钨、硼、铝、铈、钴、铬等。

**3. 微量元素结合工业污染问题开展较多的研究** 各加盟共和国都结合本地区微量元素影响职工或居民的健康开展应用和应用基础研究,这是值得我们借鉴的。例如, Sverdlovsk 研究接触  $F^-$  对工人生化代谢的影响, Alma-Ata 开展 Cd 引起心肌损伤的研究 Sverdlovsk 还进行含 Ni 粉尘诱发肿瘤的研究等等。

**4. 微量元素研究的发展方向** 从这次“全苏微量

(下转第125页)