

电 生 理 讲 义

下 册

苏 州 医 学 院

一 九 八 五 年 二 月

目 录

下 册

视网膜电活动.....	166
耳蜗电图.....	180
心机械图测定的生理基础.....	207
神经心理学的几个问题.....	227
脊髓功能.....	287

视网膜电活动

视网膜在光照射下发生电位变化，这种现象早已被人们所认识，随着方法学的进步，视网膜电生理的研究也日益深入。早在1865年，Holmgren 就发现，当把两个电极分别放在眼球前部（如把引导电极放在角膜表面，把无关电极放在眼后组织上）或视网膜的前后面时，用光照射视网膜，就会记录到视网膜的电位变化，即为视网膜电图（electroretinogram^{ERG}），但直至50年代初，绝大部分工作都是采用粗大电极作跨网膜记录，这样记录到的电位变化，通称为弥散视网膜电图（diffuse ERG, DERG），这是反映整个视网膜细胞的活动。

微电极技术的发展，推进了视网膜电活动的深入研究。视网膜内的微电极记录，通常是记录其尖端下相当局部视网膜区域的电位变化，这种电位变化也称为局部视网膜电图（local ERG, LERG）。当微电极插入网膜内某一成分的起源处时，有两个显著的电学指标：① 这个成分的振幅变得最大；② 电极插过产生某一成分的偶极子时，便会出现电压倒置。微电极网膜内记录的这一特点，有助于直接寻找出 ERG 成分的起源。

从60年代起，细胞内微电极记录和相应的染色定位技术的应用，把生理工作和形态学鉴定结合起来，使视网膜电生理研究得到迅速发展。现今人们已经利用这个新的技术对视网膜内各种细胞进行了广泛的观察，进而促进了视网膜的结构和功能的深入探讨以及视觉信息在视网膜各层细胞间传递和相互作用的机理的研究等。

现就近年来所研究的有关视网膜细胞电活动的一些基础知识作简单介绍。

一、视网膜电图

视网膜电图 (ERG) 是由 Holmgren (1865) 首先发现, 它是视网膜对光的综合电反应。ERG 的波形随着视网膜适应情况、光照特性、光照时间以及不同种属动物而有显著差异。通常在暗适应状态下, 在混合视网膜的脊椎动物的眼上可记录到 a、b、c、d 四个波, 就以猫眼 ERG 图形而言, 首先出现一个小的负 a 波, 随后出现一个快速上升和下降的 b 波, 再后是一个慢的正 c 波和停止光刺激时又出现一个正 d 波。ERG 各波起源的研究早在三十年代就开始了, 但取得较快进展的还仅是六十年代以来的工作。

1. a 波

1933 年, Granit 首先对 ERG 成分进行了系统分析, 依据在乙醚麻醉下, 猫 ERG 成分消失的先后顺序, 把 ERG 分成 P_I、P_{II} 和 P_{III} (P 为 Process 的字头) 三个过程 (图 1), 分别构成 a、b、c 波, 而 d 波只在撤光时 P_I 和 P_{III} 在消失时程上的差别所构成。

Brown 等 (1961) 对猫、猴等完态眼 LERG 进行了一系列较严格的分析, 根据微电极网膜内记录的电学指标, 结合电极尖端染色定位, 判断 b 波起源于内核层, 而 a、c 波起源于网膜的远端。为进一步分离出 a 波来分析其起源, 阻断了网膜中央动脉血流, 消除内核层细胞的活动, 而光感受细胞因脉络膜供血, 其活动不受影响。结果在网膜周边和中央凹部分都分离出一个感受器电位 (RP), 尤以中央凹更为明显, 其前缘与正常 LERG 的 a 波一样, 表明 a 波即 RP 的前缘。这结果支持了 Granit 早期的推论, 认为 P_{III} 起源于光感受细胞。可是, 后来有不少实验表明 P_{III} 并非只是一个成分。

Murakami (1966) 用同心电极对蛙、鲤鱼、蟹离体网膜进

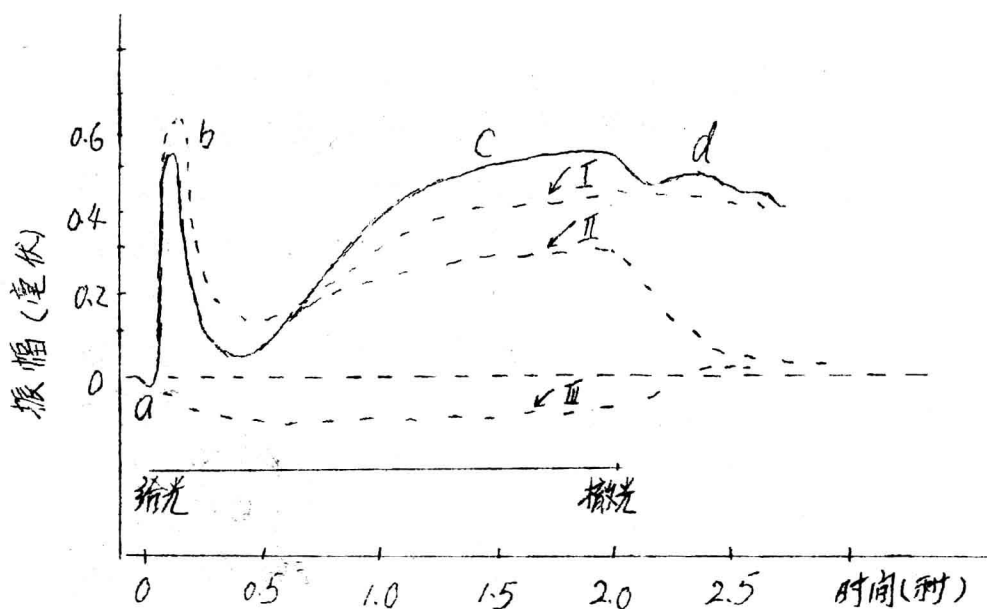


图1. 暗适应状态下猫的ERG及其三个基本过程

行分层记录, 表明P_{II}含有两个成分, 分别称为远端P_{II} (distal P_{II}) 和近端P_{II} (proximal P_{II}), (网膜的光感受细胞端通常称为远端, 神经节细胞端则称为近端)。远端P_{II}源自光感受细胞, 近端P_{II}源于内核层细胞, 可能为双极细胞。随后, 在猫、鼠、兔等温血动物都观察到了类似的结果。Witkovsky等(1973)用门冬氨酸钠(抑制视网膜内除光感受细胞以外的全部细胞的电活动, 而不影响光感受细胞电活动)分离兔、白鼠和鲤鱼的远端P_{II}, 又发现远端P_{II}还含有快、慢两个成分, 分别称为快P_{II}和慢P_{II}。快P_{II}从光感受细胞层记录到, 即RP, 而慢P_{II}从网膜更近端记录到, 推测可能起源于Müller细胞。这些资料表明P_{II}仅一部分起源于光感受细胞, 目前一般认为a波主要来源于光感受细胞的感受器电位。关于RP的离子机制见后述。

2. b波

Granit 早期推论, b波起源于内核层, 而 Brown 根据实验观察结合组织学分析, 认为 b波起源于双极细胞。

Ebbeljob 等 (1966) 用超微电极作细胞内记录, 发现蛙和蝾螈双极细胞反应与 b波很相似, 认为双极细胞参与 b波的形成。然而, Miller 和 Dowling 于 1970 年提出了完全不同的见解, 认为 b波主要起源于 Müller 细胞。他们对大鲈鱼各种细胞进行了细胞内记录并作了细胞内定位, 发现 Müller 细胞反应的特异与 b波最相吻合。他们认为 Müller 细胞是 b波的主要起源。后来, 有人 (Mori 等, 1976) 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适应。Müller 细胞内 K^+ 浓度测定表明, 细胞外 K^+ 浓度增加并非来自 Müller 细胞, 而是内核层细胞 (可能是双极细胞) 活动所产生的。这证明了 Müller 等的推论, 认为光照引起内核层神经元活动, 致使局部细胞外 K^+ 浓度增加, Müller 细胞吸收了这些增加的 K^+ 而去极化, 产生了经何电流流过视网膜, 因而记录到 b波。但这种观点的实验依据还有待于在其它动物上加以证实。

3. c波

Steinberg 等 (1970) 在猫眼色素上皮细胞内记录了对光反应, 染色定位证明记录电极是在色素上皮细胞内。实验表明, 色素上皮细胞在光照时呈负向电位变化 (超极化), 其反应的上升相、下降相及峰值均与 c波相同, 唯有极性相反, 因此认为 c波起源于色素上皮细胞。色素上皮细胞超极化反应, 可能是由于其顶端膜与光感受细胞外段之间细胞间隙钾离子浓度下降所致。

二. 视网膜内各类细胞由视神经感光色素发生光化学反应, 当光照射视网膜时, 光感受细胞外段的感光色素发生光

化学反应的同时也发生电位变化，这个电位变化通常称为感受器电位。继光感受细胞兴奋之后，水平细胞、双极细胞、无足细胞以及神经节细胞都相继兴奋，并伴有电位变化。光作用于视网膜最初所引起的电反应，并不是“全或无”的动作电位，而是持续性电位或称梯级电反应 (graded responses)。只有到神经节细胞才完全是动作电位。

1. 光感受细胞

光感受细胞接受光照时，可产生两种感受器电位，即早期感受器电位和晚期感受器电位 (图 2)。

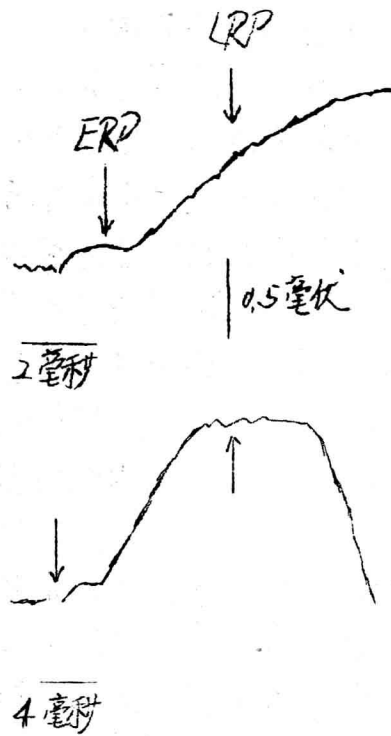


图 2. ERP、LRP 与 ERG 中 a 波的性质和它们的时间关系。这是在猴视网膜上记录到的电位。在 ERP 结束之前就出现了 LRP，而 LRP 实际

上就是 ERG 中 A 波的前缘。

两条曲线表示：用不同的扫描速度记录到的同一反应。

(1) 早期感受器电位 (early receptor potential, ERP)

ERP 是于 1964 年由 Brown 和 Murakami 首先用微电极从猴视网膜上发现的，后来许多学者在各种动物（包括人）的视网膜上都观察到了这种电位。

ERP 是用强闪光刺激引出的一个几乎没有潜伏期或潜伏期极短（0.5 微秒以下）的双相电位，由极性彼此相反的 R_1 和 R_2 两个成分所组成。如果把引导电极放在视网膜的视网膜体或前膜表面，而把参考电极放在视网膜脉络膜侧或眼球的后部，则引导出来的 ERP 由初期的 R_1 正相和随后的慢性的 R_2 负相组成。如若参考电极的位置不变，而把引导电极插入光感受细胞内，此时记录到的 ERP 的极性与上述完全相反，即 R_1 为负相， R_2 为正相。一般 ERP 的持续时间约为几毫秒。ERP 的振幅在细胞外引导时，一般约为一百至数百微伏，最大可达毫伏数量级，在细胞内记录一般要比细胞外引导的振幅大 10 ~ 20 倍。ERP 的振幅在一定闪光刺激强度的范围内与闪光强度呈线性关系。

很多实验都已证明 ERP 的产生是与感光色素密切相关的。Cone (1967) 用大白鼠作 ERP 的光再生实验，所得结果如图 3 所示。首先用 560 毫微米波长的内光照射暗适应大白鼠的眼，得到了一个典型的 ERP（图 3 中第一条曲线），然后用钨灯照射眼球一分钟，使视紫红质全部漂白。第二次用 560 毫微米的内光照射大白鼠眼球时，没有记录到 ERP（图 3 中第二条曲线）。15 秒钟以后，用强蓝光照射（蓝光可使被漂白

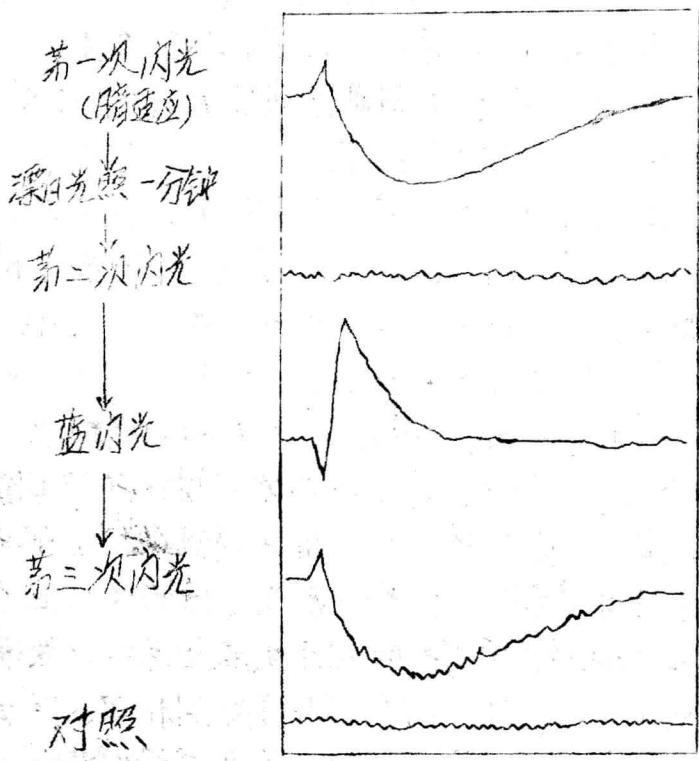


图3. 大白鼠离体眼球 ERP 的光再生

掉的视紫红质再生)时,可以得到一个极性相反的ERP(图3中第三条曲线)。于几秒钟后给第三次560毫微米的内光照射,又得到一个典型的ERP(图3中第四条曲线)。用大白鼠另一侧眼球作了对照实验,由于省略了蓝光照射这一步,故第三次用560毫微米的内光照射时,没有记录到任何电位(图3中第五条曲线)。这实验结果表明了ERP与感光色素的密切关系。

现在一般认为在具有纯视杆细胞的网膜上,ERP是由视杆细胞产生的,在具有纯视锥细胞的网膜上,ERP是由视锥细胞产生的,而在混合的视网膜上,ERP则主要是由视锥细胞

胞产生的。Brown 等 (1964) 用猴视网膜进行实验, 发现 ERP 的振幅从网膜中央凹处引导比从周边处引导要大。

Goldstein (1967, 1968) 用蛙进行实验也提出, ERP 主要是由视锥细胞产生的, 视杆细胞对 ERP 产生的作用小于 20%。

Carr (1970) 证明人眼 ERP 的光谱敏感性与视锥色素的光谱敏感度是一致的。Goldstein 等 (1970) 报道, 视锥细胞功能不足的病人, R_1 比正常人稍大或相等, 而视杆细胞功能不足的病人, R_1 与正常人相差无几, 因此认为 R_1 是由视锥细胞产生的。后来 Zanen (1975) 也证明人眼的 R_1 完全是由视锥细胞产生的, 而 R_2 是视锥细胞和视杆细胞的混合反应。在混合视网膜上 ERP 的产生之所以视锥细胞的作用比视杆细胞大, 这可能与 ERP 产生部位有关。因为一般认为 ERP 只产生在光感受细胞外段的核膜和与核膜相连的片层膜结构上, 因此视锥细胞能够产生 ERP 的部位和面积要大于或多于视杆细胞。还有实验表明 ERP 的产生还与核膜和盘膜上感光色素分子的规则排列有关。

关于 ERP 的产生机制, 有人认为感光色素在漂白过程中发生构型变化, 进而引起电荷重新分配或产生偶极子, 由于电荷的移动而出现电位变化。后来还有人认为 R_1 可能发生在前视紫红质至间视紫红质 I 之间, R_2 可能是在从间视紫红质 I 转变为间视紫红质 II 的过程中产生的。

(2) 晚期感受器电位 (late receptor potential, LRP)

LRP 是继 ERP 产生之后, 在 ERP 还没有完全消失时出现的一个慢电位 (图 2)。在脊椎动物视网膜的玻体侧或角膜表面引导时, 呈现单相的负波, 主要是由 PII 过程组成, 是一种超极化反应, LRP 的潜伏期与 ERG 中 a 波的潜伏期是一样的, 最短潜伏期都是 1.7 毫秒。LRP 的振幅是毫

伏数量级时，在一定范围内，它与刺激光强度的对数成正比例，光强度达到一定水平后，LRP 趋于饱和。

脊椎动物的视杆细胞和视锥细胞所产生的 LRP 全是超极化反应。日本学者堀功(1971)用蛙进行实验发现，若用较强的刺激光照射视网膜时，引导出来的 LRP 是由快和慢两种成分组成的(图4中的1所示)。他用光多次照射视网膜，使视杆细胞内视紫红质逐渐漂白，发现随着视紫红质含量减少，LRP 的振幅逐渐减小，持续时间也随着缩短(见图4中的2-5)，当视紫红质完全漂白时，LRP 的慢成分消失了，只保留快成分(见图4中的7)。因此认为 LRP 的慢成分是由视杆细胞产生的，而快成分是由视锥细胞产生的。

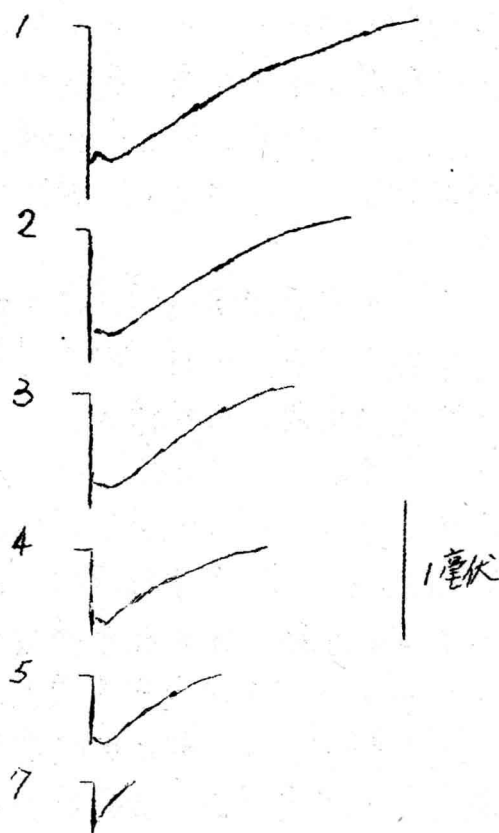


图4. 用150瓦的钨灯照射蛙视网膜引导出来的LRP

1. 在暗适应状态下, 用较弱的刺激光照射蛙视网膜时引导出来的LRP;
2. 表示随着视紫红质含量的减少, LRP振幅逐渐变小, 潜伏时间逐渐缩短;
3. 当视紫红质完全漂白以后, 从蛙视网膜上引导出来的LRP。

脊椎动物光感受细胞对光呈超极化反应, 这与无脊椎动物的光感受器和脊椎动物的其他一切感受器的电反应都不同。按神经生理学的概念, 细胞在活动时, 细胞膜处于去极化状态; 而当细胞受抑制时, 细胞膜处于超极化状态。因此可以认为脊椎动物光感受细胞在暗处时是对于活动状态, 而受到光刺激时却变成抑制状态。Toyoda 等(1969)的工作证明在光感受细胞膜超极化的同时, 膜电阻增加, 认为LRP的超极化反应与光感受细胞膜阻抗变化有关。

Hagins 等(1969)用大鼠的视网膜进行实验, 他们在光感受细胞附近放两个电极, 当在暗处时, 观察到光感受细胞附近的细胞外空间有一恒定的电流, 称为暗电流, 这电流从光感受细胞内段向着外段方向流动, 通过外段细胞膜流入细胞内, 而在内段(接近外段部位)又从细胞内流到细胞外。当用主动转运抑制剂乌苯昔(Ouabain)作用于标本时, 这个暗电流就消失了。因而设想暗电流的原动力是存在于光感受细胞内段上的“钠泵”。他们还发现这个恒定电流在光照时减少。后来, Hagins 等(1972)对光刺激引起超极化的感受器反应的离子机理提出了如下的解释: 认为在暗处, 光感受细胞外段质膜上的钠离子通道是开放的, 因而有许多钠离子不断地从细胞外

流入光感受细胞的外段，形成所谓暗电流。当光子作用在片层结构或小圆盘的感光色素分子上使感光色素分子发生漂白时，释放出一种递质（可能是钙离子），这种递质扩散到光感受细胞外段的原生质膜上，使其的离子通道关闭，因而出现了超极化的电反应。Korenbrot (1973) 对游离视杆细胞外段渗透性研究表明，在暗处，钠离子能很快进入外段膜内，钾离子很难进入外段，钠的内流比外流速率快100倍。光照时，使外段膜对钠离子电流产生特异性阻抗，因而钠流减小。这实验结果也支持了Hagins等的见解。

近年来又有人报道，光照光感受细胞后，发现在光感受细胞外段胞浆中环化GMP的浓度很快下降（Stone等，1977）。因此，认为环化GMP有可能对光感受细胞外段原生质膜上的钠离子通道起控制作用。

2. 水平细胞

水平细胞对光刺激也是产生梯级电反应。水平细胞电反应首先由Svaetichin (1953) 用微电极在鱼视网膜的内核层导出的一种新电位，所以被称为S-电位（图5）。水平细胞对光刺激产生持续性超极化电位，其振幅随光刺激强度的增加而增大，在光刺激停止时，这个超极化电位迅速恢复到原来水平。这与视锥细胞电位相似。

S-电位具有广泛空间叠加效应。当刺激光的强度一定时，水平细胞电反应的振幅随光照的面积增大而增大（图6A和B）。但视锥细胞反应反而减小，认为是由于水平细胞对视锥细胞的反馈作用所致。

水平细胞的感受野是很大的，它的直径一般都超过一毫米以上，甚至有的可复盖整个视网膜。鱼类具有较大的水平细胞，可是它的树突最大扩展程度只能达到50微米。因此，只从光

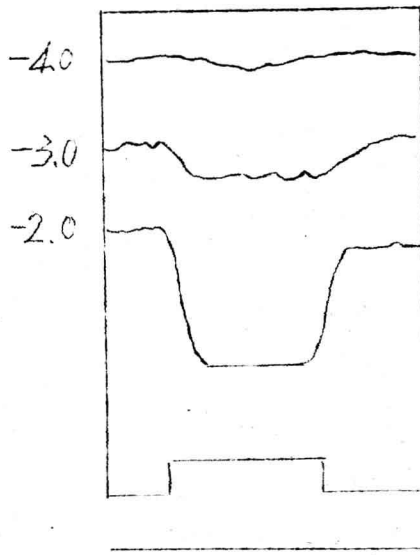
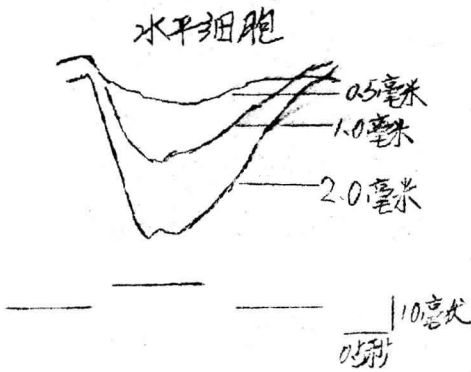
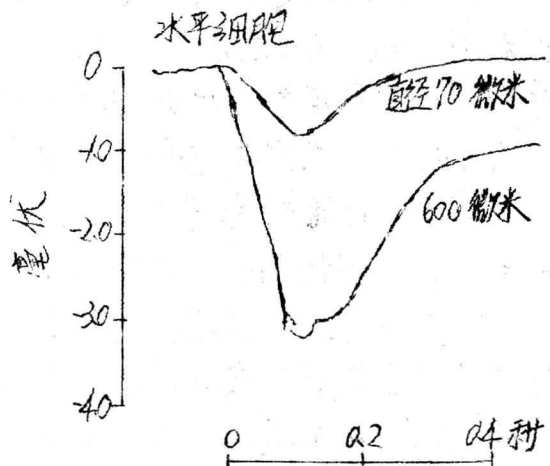


图5. 蛙视网膜S-电位
刺激光强度用对数单位表示,
用波长560毫微米的光刺激



A



B

图6. 视网膜水平细胞对不同光照面积的反应
A. 蜥蜴 B. 龟

感受细胞向水平细胞会聚的现象是不能解释水平细胞具有如此大的感受野。近年来在鱼的视网膜上已证实相邻水平细胞之间存在着低阻抗的电学联系。

用色光刺激视网膜，可以观察到 S-电位有两种类型：一种称为 L 型电位，对可见光范围内的任何波长的刺激都产生超极化反应；另一种称为 C 型电位，对不同波长的刺激则产生顿式反应。如对短波长刺激产生超极化电位，对长波长刺激产生去极化电位的三相反应。或对长、短波长刺激产生超极化电位，而对中间波长刺激产生去极化电位的三相反应（图 7）。

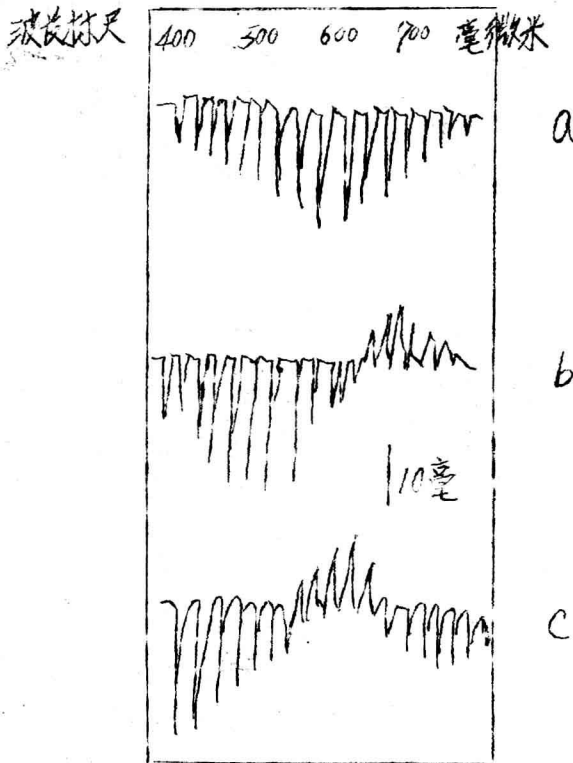


图 7. 鲤鱼视网膜水平细胞的几种不同类型的电位

a. 对任何波长刺激均产生超极化电位；

- b. 对 400—620 毫微米的光刺激产生超极化电位，对 620 毫微米以上的光刺激产生去极化电位；
- c. 对长波段和短波段的光刺激产生超极化电位，对中间波段产生去极化电位。

不同动物视网膜内水平细胞的反应形式是不同的。Stell 和 Lightfoot (1975) 根据组织学观察，把金鱼视网膜内的水平细胞分成四种。一种水平细胞只是从视杆细胞接受输入，在暗适应状态下，可以得到 L 型的反应；另外三种水平细胞都是从视锥细胞接受输入。根据它们的形状和视锥细胞突触联系的方式的不同分成 H_1 、 H_2 和 H_3 三种。在暗适应状态下得到的 L 型反应是 H_1 型水平细胞的反应；双相性 C 型反应是 H_2 型水平细胞反应；而三相性 C 型反应是 H_3 型水平细胞的反应。

3. 双极细胞

双极细胞对光刺激也是产生持续性电位。一个双极细胞能够接受视网膜上一定区域的光刺激，视网膜上这一区域就称为该双极细胞的感受野。双极细胞感受野呈同心圆状的结构，可分成中心部和周边部。有两种双极细胞：一种是用光照射感受野的中心部时，产生超极化电反应（图 8），称为“超极化型”双极细胞（Hyperpolarizing bipolar cell, HPBC），也称“off-中心型”双极细胞。而用光环照射感受野周边部时，产生去极化电位。另一种是当光照射感受野的中心部时，出现去极化电反应，称为“去极化型”双极细胞（Depolarizing bipolar cell, DPBC），亦称“on-中心型”双极细胞。例如 Werblin 和 Dowling (1969) 测定猴视网膜双极细胞

电反应，发现光照感受野中心部时，有的产生超极化电位，有的产生去极化电位（图8）。光照感受野周边部时，能消除由于光照中心部所产生的反应。

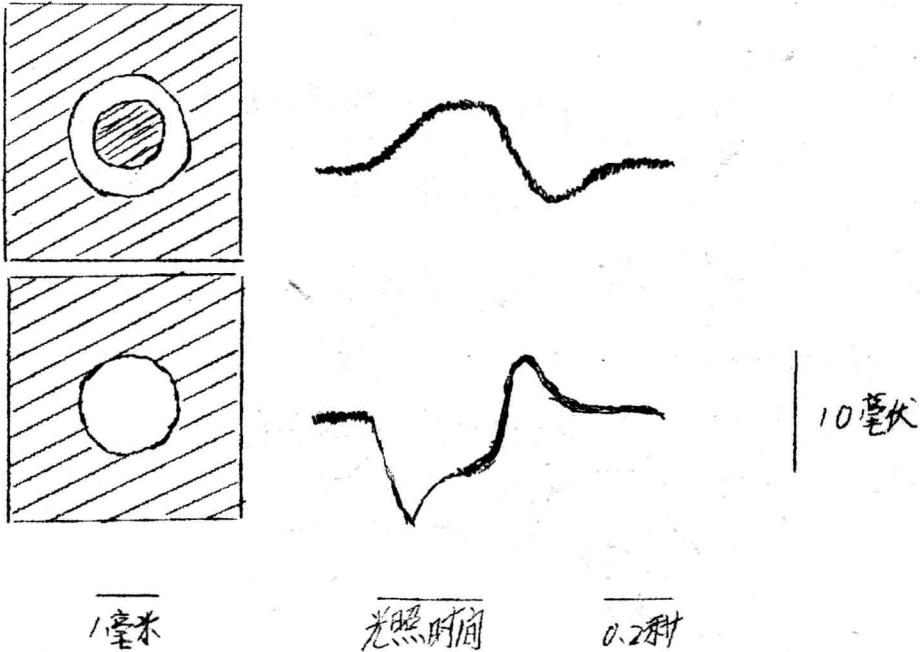


图8 金鱼视网膜双极细胞对光反应
上面示用光环刺激产生去极化反应。
下面示用光点刺激产生超极化反应。

双极细胞感受野中心部的大小，大体与双极细胞树突扩展的范围一致，而双极细胞感受野周边部的大小，则大大超过了该双极细胞树突复盖的范围。因此，当光刺激与双极细胞直接发生突触联系的光感受细胞时，能使该双极细胞产生超极化或去极化的反应。而光刺激双极细胞感受野周边部的光感受细胞时，则要通过另外的中间神经元才能引起双极细胞的电反应。一般认为，这种中间神经元就是水平细胞。