

快速低温对癫痫患者致痫灶锥体神经元和中间神经元的差异性影响

任国平 遇涛 邢悦 程莉鹏 王娇阳 闫晓明 王群 张国君 杨小枫

【摘要】 目的 探讨快速低温对癫痫患者锥体神经元和中间神经元电生理学特性的影响。方法 选择 2016 年 6–12 月在首都医科大学宣武医院功能神经外科行手术切除的局灶性耐药性癫痫患者皮质致痫灶组织标本共 13 份(13 例),经人工脑脊液灌注使其温度呈阶梯式快速降至 20 °C,随后阶梯式复温至 30 °C 并维持 10 min(每 10 min 目标温度改变 5 °C);应用膜片钳技术记录温度变化过程中锥体神经元(18 个)和中间神经元(6 个)静息膜电位、突触活动和动作电位变化。结果 (1)静息膜电位:当温度降至 20 °C 时,两种神经元静息膜电位呈轻微去极化,但不同温度以及同一温度下二者变化差异未达到统计学意义(均 $P > 0.05$)。(2)突触活动:随着温度降低,中间神经元兴奋性突触后电流(EPSC)波幅更小($F = 5.332, P = 0.034$);且两种神经元 EPSC($F = 8.811, P = 0.000$)和抑制性突触后电流(IPSC; $F = 9.843, P = 0.000$)波幅、EPSC 事件间隔时间($F = 7.065, P = 0.001$)、EPSC($F = 6.281, P = 0.002$)和 IPSC($F = 8.266, P = 0.000$)峰面积标准化百分比差异均有统计学意义。(3)动作电位:温度变化对两种神经元动作电位阈值、频率、波幅、半宽时间标准化百分比的影响差异无统计学意义(均 $P > 0.05$);但不同温度下神经元动作电位频率($F = 4.801, P = 0.008$)、波幅($F = 3.680, P = 0.015$)、半宽时间($F = 28.951, P = 0.000$)标准化百分比差异具有统计学意义。结论 当温度降至 20 °C 时,锥体神经元和中间神经元电生理活动被明显抑制,且对中间神经元突触活动 EPSC 波幅的抑制作用更强,提示快速低温对中间神经元电活动的强抑制作用可能是其预防癫痫发生、终止癫痫发作的机制之一。

【关键词】 癫痫; 低温,人工; 锥体细胞; 中间神经元; 电生理学现象

Differential effects of rapid hypothermia on pyramidal neurons and interneurons in epileptogenic tissue of epileptic patients

REN Guo-ping¹, YU Tao², XING Yue³, CHENG Li-peng⁴, WANG Jiao-yang³, YAN Xiao-ming², WANG Qun^{1,5}, ZHANG Guo-jun⁶, YANG Xiao-feng³

¹Department of Epilepsy, Center of Neurology, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University; China National Clinical Research Center for Neurological Diseases, Beijing 100070, China

²Department of Functional Neurosurgery, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China

³Guangzhou Laboratory, Guangzhou 510006, Guangdong, China

⁴Department of Intensive Care Unit, Beijing Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Beijing 100038, China

⁵Beijing Institute for Brain Disorders, Beijing 100069, China

⁶Department of Functional Neurosurgery, National Center for Children's Health, Beijing Children's Hospital, Capital Medical University, Beijing 100045, China

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2023.03.006

基金项目:国家重点研发计划“常见多发病防治研究”重点专项(项目编号:2022YFC2503800);国家自然科学基金资助项目(项目编号:81801280);首都卫生发展科研专项(项目编号:2016-1-2011)

作者单位:100070 首都医科大学附属北京天坛医院神经病学中心癫痫科 国家神经系统疾病临床医学研究中心(任国平,王群);100069 北京脑重大疾病研究院(王群);100053 北京,首都医科大学宣武医院功能神经外科(遇涛,闫晓明);510006 广州实验室(邢悦,王娇阳,杨小枫);100038 北京中西医结合医院重症医学科(程莉鹏);100045 首都医科大学附属北京儿童医院儿童功能神经外科(张国君)

任国平与遇涛对本文有同等贡献

通讯作者:杨小枫,Email:xiaofengyang@yahoo.com

REN Guo-ping and YU Tao contributed equally to the article

Corresponding author: YANG Xiao-feng (Email: xiaofengyang@yahoo.com)

【Abstract】 Objective To explore the different effects of rapid hypothermia on the electrophysiological characteristics of pyramidal neurons and interneurons in epileptic patients. **Methods** A total of 13 brain tissue samples were selected from patients with focal drug-resistant epilepsy who underwent epileptogenic lesion resection in Department of Functional Neurosurgery, Xuanwu Hospital, Capital Medical University from June to December 2016. Using perfusion method, the brain tissue slice temperature was quickly reduced to 20 °C in a step manner, then rewarmed to 30 °C, and maintained at 30 °C for 10 min (the target temperature was changed by 5 °C every 10 min). Patch clamping technique was used to record the resting membrane potential, synaptic activity and action potential of pyramidal neurons (n = 18) and interneurons (n = 6) in epileptic cerebral cortex. **Results** 1) Resting membrane potential: when the temperature dropped to 20 °C, the resting membrane potential of the two kinds of neurons showed slight depolarization, but there was no statistical significance in the changes of resting membrane potential at different temperatures and the changes of resting membrane potential of the two kinds of neurons at the same temperature ($P > 0.05$, for all). 2) Synaptic activity: after cooling, the amplitude of excitatory postsynaptic current (EPSC) of interneuron was smaller ($F = 5.332, P = 0.034$). The normalized percentages of EPSC ($F = 8.811, P = 0.000$) and inhibitory postsynaptic current (IPSC; $F = 9.843, P = 0.000$) amplitude, EPSC event interval ($F = 7.065, P = 0.001$), EPSC ($F = 6.281, P = 0.002$) and IPSC ($F = 8.266, P = 0.000$) peak area were statistically significant. 3) Action potential: there were no significant differences in the effects of temperature change on the normalized percentages of the threshold, frequency, amplitude and half-width time of the action potential of the two kinds of neurons ($P > 0.05$, for all). However, the differences of normalized percentages of action potential frequency ($F = 4.801, P = 0.008$), amplitude ($F = 3.680, P = 0.015$) and half-width time ($F = 28.951, P = 0.000$) of neuronal action potentials at different temperatures were statistically significant. **Conclusions** When the temperature was reduced to 20 °C, the electrophysiological activities of the two kinds of neurons were significantly inhibited. The inhibition of EPSC amplitude of synaptic activity in interneurons was stronger than that in pyramidal neurons. Inhibition of interneuron activity may be one of the reasons for hypothermia prevention and termination of epilepsy.

【Key words】 Epilepsy; Hypothermia, induced; Pyramidal cells; Interneurons; Electrophysiological phenomena

This study was supported by National Key Research and Development Program of China "Common Disease Prevention and Control Research" Key Project (No. 2022YFC2503800), the National Natural Science Foundation of China (No. 81801280), and Capital Health Research and Development of Special Project (No. 2016-1-2011).

Conflicts of interest: none declared

大量实验研究业已证实,快速低温可以抑制癫痫发作^[1-6],随着低温技术的迅速发展^[7-11],用于治疗耐药性癫痫指日可待。虽然快速低温技术可通过调控与癫痫发生发展密切相关的锥体神经元和中间神经元电生理学特性进而控制癫痫发作,但具体机制尚未阐明^[4,12-13],且低温对两种神经元的影响是否一致亦未取得明确结论。低温可破坏锥体神经元间的同步活动、减少动作电位的产生,但仅减弱中间神经元的节律性放电活动,难以对动作电位产生影响^[1];低温还具有导致神经元去极化的作用,使细胞静息膜电位更接近动作电位阈值,增加动作电位宽度和总面积,诱导大脑兴奋性增加^[1]。但目前大部分研究结果均源于对啮齿类动物脑组织切片的研究,所选择的神经元均处于正常生理状态而非致痫状态。基于此,本研究拟借助膜片钳技术,采

用癫痫患者手术切除标本制备离体脑组织切片,探索快速低温对锥体神经元和中间神经元电生理学特性的影响,明确两种神经元在快速低温预防和终止癫痫发作过程中所起的作用及其相关机制,为快速低温技术的临床应用提供实验依据和理论基础。

材料与方法

一、实验材料

1. 人脑组织来源 选择2016年6-12月在首都医科大学宣武医院功能神经外科行致痫灶切除的13例局灶性耐药性癫痫患者的脑组织样本共13份,所有患者术前均经合理用药且能够耐受两种抗癫痫发作药物(ASM)单药或多药联合治疗后仍未能达到持续无发作,并经术中经颅内皮层电极检测到和术后经组织病理证实为皮质致痫灶组织;排除因严

重纤维化或神经胶质增生所致可用性较低的脑组织。本研究实验方案和人脑组织样本操作流程遵照首都医科大学宣武医院道德伦理委员会审核批准(审批号:临研审[2018]067),患者对实验内容知情并签署知情同意书。

2. 主要试剂与仪器 (1)主要试剂(每升去离子水中的摩尔浓度):蔗糖切片溶液[包含碳酸氢钠(26 mmol)、磷酸二氢钠单水合物(1.25 mmol)、氯化钾(3 mmol)、硫酸镁(2 mmol)、葡萄糖(10 mmol)、氯化钙(2 mmol)和蔗糖(220 mmol)]以 95% 氧气(O₂)和 5% 二氧化碳(CO₂)混合气体进行充分氧和;人工脑脊液[含氯化钠(124 mmol)、碳酸氢钠(22 mmol)、氯化钾(5 mmol)、硫酸镁(2 mmol)、磷酸二氢钠单水合物(1.25 mmol)、葡萄糖(10 mmol),以及氯化钙(2 mmol)]用 95%O₂和 5%CO₂混合气体充分氧和,pH 值 7.2、渗透压 300~310 mOsm;电极内液[成分为氯化钾(3 mmol)、葡萄糖酸钾(130 mmol),氯化钠(1.50 mmol)、Mg-ATP(4 mmol)、羟乙基哌嗪乙磺酸(10 mmol)、磷酸肌酸酐二钠盐(4 mmol)、乙二醇二乙醚二胺四乙酸(0.20 mmol)和 5'-三磷酸鸟苷三钠盐(0.30 mmol)],pH 值 7.3、渗透压 296 mOsm。上述所有试剂均购于美国 Sigma 公司。(2)主要仪器:VT-1000S 振动切片机购自德国 Leica 公司;P-1000 微电极拉制仪购自美国 Sutter 公司;FN-S2N 红外微分干涉相衬显微镜购自日本 Nikon 公司;IR-1000E 红外电荷耦合器件摄像机为美国 DAGE-MTI 公司产品;Multiclamp 700B 膜片钳放大器(采样率 20 kHz)和 Digidata 1550 数模转换器为美国 Axon 公司产品;TC-344C 温度控制器购于美国 Warner 公司;VAPRO 5600 渗透压仪购于美国 Wescor 公司;B15014F 玻璃管电极由武汉微探科学仪器有限公司提供。

3. 一般资料 13 例患者中男性 6 例,女性 7 例;年龄 19~44 岁,平均(26.54±9.73)岁;首次癫痫发作年龄 3~34 岁,中位值 11.00(8.00, 15.50)岁。手术切除部位包括中前颞叶+海马(3 例)、颞顶枕叶(2 例)、额叶(1 例)、顶叶(1 例)、颞叶+海马+额叶(2 例)、颞叶内侧+海马+岛叶(1 例)或颞叶内侧+海马(3 例),术后病理诊断分别为局灶性皮质发育不良(包括 FCD I 型 3 例、FCD III_a 型 4 例、FCD III_b 型 2 例)、节细胞胶质瘤(2 例)、多小脑回畸形(1 例)和少量胶质瘢痕形成(1 例)。

二、实验方法

1. 脑组织切片制备 将手术切除的皮质致痫灶

即刻切成 0.50~1.00 mm³大小的组织块,低温(4℃)保存于氧饱和蔗糖切片溶液,5 min 内取回实验室,于低温氧饱和蔗糖切片溶液中通过振动切片机制备 400 μm 冠状切片;然后移至含氧饱和人工脑脊液孵育槽,室温孵育至少 1 h 后进行电生理实验。

2. 电生理实验 (1)实验准备:应用微电极拉制仪将玻璃管电极拉制成用于封接细胞膜的微电极,电阻为 3~6 MΩ;实验前于微电极内灌注细胞内液 5 μl。孵育后的皮质组织切片移至浸没式灌流槽中,人工脑脊液通过加热棒进入灌流槽并持续灌流(2 ml/min),通过热电偶(距记录部位 2~3 mm)监测组织切片温度并反馈至中心温控系统使槽内温度维持在 30℃。利用红外微分干涉相衬显微镜 40 倍水浸物镜放大、红外电荷耦合器件摄像机采集组织切片中单个神经元影像,于显示屏上初步判断神经元形态,确认记录电极和神经元的相对位置和距离。(2)选择神经元:选择致痫灶中间位置,分别记录锥体神经元和中间神经元实验过程中的电生理变化。根据神经元形态特点选择锥体神经元(兴奋性神经元)或中间神经元(抑制性神经元),经动作电位发放频率进一步确认神经元类型。锥体神经元胞体呈三角形、轴突相对简单,电生理记录显示较长的动作电位半宽时间和较低的动作电位峰值频率;中间神经元胞体体积较小、呈圆形或椭圆形,高倍镜下无明显轴突和树突,呈较短的动作电位半宽时间和较高的动作电位峰值频率^[14-15]。(3)电生理实验:微电极尖端与神经元接触,先行细胞膜高阻封接,破膜后即形成全细胞膜片钳记录模式,参照文献[2]标准逐一记录两种神经元 30℃、25℃、20℃、复温 25℃、复温 30℃和复温 30℃ 10 min 时各项电生理学指标,每一温度点记录时长为 10 min,通过调节灌流人工脑脊液温度控制组织切片温度。

3. 观察指标 (1)静息膜电位:为未施加刺激时细胞膜外正-内负的电位差,反映神经元静息状态的电生理学特征。(2)突触活动:主要观察不同温度条件下锥体神经元和中间神经元自发性兴奋性突触后电流(EPSC)和自发性抑制性突触后电流(IPSC)的波幅、事件间隔时间、峰面积,其中波幅反映电流强度、峰面积综合反映电流强度和事件间隔时间则代表电流频率。(3)动作电位:通过输入电流的方式(current step)观察神经元在电刺激时于静息电位基础上产生的可扩布的电位变化过程;电流阶(强度)设置-300~1100 pA,每个电流阶相差 100 pA

并持续 600 ms。观察指标包括,不同温度条件下锥体神经元和中间神经元动作电位阈值、产生频率、波幅和半宽时间,其中阈值反映动作电位产生的难易度、频率反映动作电位单位时间内出现频次、波幅反映动作电位强度、半宽时间反映动作电位持续时间。

4. 数据处理 电生理实验记录到的数据采用 Clampfit 10.4 软件(美国 Axon 公司)进行 2 kHz 低通滤波和 50 Hz 去工频滤波,再行标准化和统计分析。(1)标准化:鉴于不同病灶组织和不同类型神经元电生理学特征之间的差异,统计分析前需对所得数据进行标准化,均以低温前(30 ℃)为标准进行百分比计算[观察指标值/低温前(30 ℃)观察指标值 × 100%]。(2)统计学分析:采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据处理与分析,正态性检验采用 Shapiro-Wilke 检验,不符合正态分布的数据均以近似正态分布数据进行分析,以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,重复测量设计的方差分析比较温度变化对两种神经元电生理学特性影响的差异和不同温度下电生理活动的改变。如果不同温度下两种神经元电生理活动差异具有统计学意义,则进一步行 Bonferroni 法组内两两比较。以 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

本研究共记录到 18 个锥体神经元、6 个中间神经元。经低温灌注系统降温处理,实验中所有皮质组织切片温度均成功降至 20 ℃,降温速度为 1.25 ℃/min、复温速度 1 ℃/min。当温度降至 20 ℃时,两种神经元静息膜电位增高,提示出现轻微去极化,但不同温度下静息膜电位变化以及同一温度下两种神经元静息膜电位变化的差异无统计学意义(均 $P > 0.05$;表 1,2)。

对锥体神经元和中间神经元不同温度下 EPSC 和 IPSC 波幅、事件间隔时间、峰面积标准化百分比的比较发现,快速低温后中间神经元 EPSC 波幅更小($F = 5.332, P = 0.034$),提示温度变化对中间神经元 EPSC 波幅的影响大于锥体神经元,两种神经元 EPSC ($F = 8.811, P = 0.000$) 和 IPSC ($F = 9.843, P = 0.000$) 波幅、EPSC 事件间隔时间 ($F = 7.065, P = 0.001$)、EPSC ($F = 6.281, P = 0.002$) 和 IPSC ($F = 8.266, P = 0.000$) 峰面积标准化百分比差异均具有统计学意义(表 3,4)。当温度从 30 ℃ 降至 20 ℃ 时,

表 1 不同温度下锥体神经元和中间神经元静息膜电位的比较($\bar{x} \pm s, mV$)

Table 1. Comparison of resting membrane potential of pyramidal neurons and interneurons at different temperatures ($\bar{x} \pm s, mV$)

组别	数目(个)	30 ℃	25 ℃	20 ℃
锥体神经元	18	-73.29 ± 10.59	-71.48 ± 9.02	-68.71 ± 5.85
中间神经元	6	-72.41 ± 5.00	-73.52 ± 3.67	-69.74 ± 5.96

组别	数目(个)	复温 25 ℃	复温 30 ℃	30 ℃ 10 min
锥体神经元	18	-68.48 ± 10.21	-69.79 ± 10.64	-67.28 ± 12.02
中间神经元	6	-70.23 ± 7.36	-71.46 ± 7.64	-72.25 ± 5.92

表 2 不同温度下锥体神经元和中间神经元静息膜电位的重复测量设计的方差分析

Table 2. ANOVA of repeated measurement design of resting membrane potential of pyramidal neurons and interneurons at different temperatures

变异来源	SS	df	MS	F 值	P 值
处理因素	61.482	1.000	61.482	0.142	0.711
测量时间	194.570	3.222	60.395	1.632	0.189
处理 × 测量时间	72.026	3.222	22.357	0.604	0.626
组间误差	7383.239	17.000	434.308		
组内误差	2026.291	54.768	36.998		
总变异	9737.608	79.212	615.540		

锥体神经元 EPSC ($t = 28.561, P = 0.000$) 和 IPSC ($t = 45.907, P = 0.000$) 波幅、EPSC ($t = 39.236, P = 0.000$) 和 IPSC ($t = 62.820, P = 0.000$) 峰面积标准化百分比降低,而 EPSC 事件间隔时间标准化百分比延长 ($t = -246.174, P = 0.014$);复温至 25 ℃ 时,IPSC 峰面积标准化百分比仍呈下降趋势 ($t = 29.156, P = 0.011$),至 30 ℃ 时,上述各项指标逐一恢复至低温前水平(均 $P > 0.05$,表 5~7),并维持至复温 30 ℃ 后 10 min。当温度从 30 ℃ 降至 20 ℃ 时,中间神经元 EPSC 波幅标准化百分比降低 ($t = 20.475, P = 0.002$),复温至 30 ℃ 时恢复至低温前水平 ($P > 0.05$,表 5~7),并维持至复温 30 ℃ 后 10 min。提示温度变化对两种神经元突触活动均具有显著影响,从 30 ℃ 降至 20 ℃ 时神经元突触活动被抑制,并一直持续至复温至 25 ℃,快速低温对中间神经元 EPSC 的抑制作用强于锥体神经元。

对锥体神经元和中间神经元不同温度下动作电位阈值、频率、波幅、半宽时间标准化百分比的比较显示,温度变化对两种神经元各项动作电位指标的影响差异无统计学意义(均 $P > 0.05$);但不同温度

表 3 不同温度下锥体神经元和中间神经元突触活动的比较($\bar{x} \pm s, \%$)

Table 3. Comparison of synaptic activity indexes of pyramidal neurons and interneurons at different temperatures ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	数目(个)	30 ℃	25 ℃	20 ℃	复温 25 ℃	复温 30 ℃	30 ℃ 10 min
EPSC 波幅							
锥体神经元	18	100.00 ± 0.00	93.26 ± 19.37	64.70 ± 18.29	85.99 ± 24.97	104.48 ± 34.42	92.82 ± 29.60
中间神经元	6	100.00 ± 0.00	69.11 ± 13.12	48.63 ± 12.73	63.12 ± 20.66	67.79 ± 10.53	68.98 ± 8.76
IPSC 波幅							
锥体神经元	18	100.00 ± 0.00	83.11 ± 24.41	37.21 ± 13.44	67.88 ± 23.58	82.75 ± 33.87	76.42 ± 30.16
中间神经元	6	100.00 ± 0.00	79.83 ± 22.67	45.16 ± 9.25	72.01 ± 21.91	77.28 ± 26.78	73.39 ± 33.30
EPSC 事件间隔时间							
锥体神经元	18	100.00 ± 0.00	108.41 ± 77.73	346.17 ± 227.64	132.81 ± 128.09	97.02 ± 83.53	110.98 ± 104.12
中间神经元	6	100.00 ± 0.00	368.48 ± 523.79	353.86 ± 188.09	178.61 ± 77.56	142.38 ± 83.72	107.48 ± 60.14
IPSC 事件间隔时间							
锥体神经元	18	100.00 ± 0.00	172.23 ± 123.75	451.15 ± 415.35	122.79 ± 46.18	103.13 ± 70.03	126.73 ± 74.70
中间神经元	6	100.00 ± 0.00	216.11 ± 45.35	208.82 ± 28.85	132.95 ± 12.88	95.10 ± 9.33	114.07 ± 42.07
EPSC 峰面积							
锥体神经元	18	100.00 ± 0.00	94.42 ± 28.30	60.76 ± 21.00	85.39 ± 32.67	105.53 ± 41.60	92.56 ± 35.72
中间神经元	6	100.00 ± 0.00	78.40 ± 10.47	56.85 ± 12.34	74.01 ± 18.93	73.66 ± 9.18	76.61 ± 10.21
IPSC 峰面积							
锥体神经元	18	100.00 ± 0.00	83.91 ± 30.10	37.18 ± 13.32	70.84 ± 24.92	80.60 ± 36.48	77.24 ± 30.83
中间神经元	6	100.00 ± 0.00	86.43 ± 30.26	48.57 ± 9.12	79.33 ± 29.67	82.11 ± 29.54	80.82 ± 34.50

EPSC, excitatory postsynaptic current, 兴奋性突触后电流; IPSC, inhibitory postsynaptic current, 抑制性突触后电流。The same for Table 4, 5

表 4 不同温度下锥体神经元和中间神经元突触活动的重复测量设计的方差分析

Table 4. ANOVA of repeated measurement design of synaptic activity indexes of pyramidal neurons and interneurons at different temperatures

变异来源	SS	df	MS	F 值	P 值	变异来源	SS	df	MS	F 值	P 值
EPSC 波幅						IPSC 事件间隔时间					
处理因素	8 044.638	1.000	8 044.638	5.332	0.034	处理因素	17 980.694	1.000	17 980.694	0.360	0.557
测量时间	12 808.506	2.581	4 962.094	8.811	0.000	测量时间	394 773.047	1.219	323 884.026	3.171	0.085
处理 × 测量时间	2 312.136	2.581	895.736	1.590	0.210	处理 × 测量时间	132 667.343	1.219	108 844.394	1.066	0.331
组间误差	25 647.160	17.000	1 508.656			组间误差	748 216.665	15.000	49 881.111		
组内误差	24 714.200	43.882	563.202			组内误差	1 867 339.768	18.283	102 134.890		
IPSC 波幅						EPSC 峰面积					
处理因素	0.034	1.000	0.034	0.000	0.996	处理因素	3 297.401	1.000	3 297.401	1.256	0.278
测量时间	18 382.055	5.000	3 676.411	9.843	0.000	测量时间	11 907.051	2.683	4 438.118	6.281	0.002
处理 × 测量时间	321.942	5.000	64.388	0.172	0.972	处理 × 测量时间	1 982.853	2.683	739.069	1.046	0.385
组间误差	21 855.107	15.000	1 457.007			组间误差	44 624.086	17.000	2 624.946		
组内误差	28 012.230	75.000	373.496			组内误差	32 228.462	45.609	706.619		
EPSC 事件间隔时间						IPSC 峰面积					
处理因素	66 483.577	1.000	66 483.577	1.394	0.254	处理因素	308.748	1.000	308.748	0.206	0.656
测量时间	605 665.838	2.672	226 675.973	7.065	0.001	测量时间	17 648.761	5.000	3 529.752	8.266	0.000
处理 × 测量时间	160 449.992	2.672	60 049.875	1.872	0.154	处理 × 测量时间	241.470	5.000	48.294	0.113	0.989
组间误差	811 034.832	17.000	47 707.931			组间误差	22 446.588	15.000	1 496.439		
组内误差	1 457 309.508	45.423	32 083.023			组内误差	32 024.965	75.000	427.000		

表 5 不同温度下锥体神经元和中间神经元 EPSC 和 IPSC 波幅标准化百分比的两两比较

Table 5. Pairwise comparison of normalized percentages of EPSC and IPSC amplitude of pyramidal neurons and interneurons at different temperatures

组内两两比	锥体神经元		中间神经元	
	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
EPSC				
30 ℃ : 25 ℃	-6.740	1.000	-30.894	0.272
30 ℃ : 20 ℃	28.561	0.000	20.475	0.002
30 ℃ : 复温 25 ℃	7.273	1.000	5.990	1.000
30 ℃ : 复温 30 ℃	-11.222	1.000	1.317	1.000
30 ℃ : 30 ℃ 10 min	0.437	1.000	0.130	1.000
IPSC				
30 ℃ : 25 ℃	-16.886	0.337	-20.174	1.000
30 ℃ : 20 ℃	45.907	0.000	34.664	1.000
30 ℃ : 复温 25 ℃	15.237	0.987	7.819	0.067
30 ℃ : 复温 30 ℃	0.360	1.000	2.545	1.000
30 ℃ : 30 ℃ 10 min	6.690	1.000	6.439	1.000

表 6 不同温度下锥体神经元和中间神经元 EPSC 事件间隔时间标准化百分比的两两比较

Table 6. Pairwise comparison of normalized percentages of EPSC event interval time of pyramidal neurons and interneurons at different temperatures

组内两两比	锥体神经元	
	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
30 ℃ : 25 ℃	-8.414	1.000
30 ℃ : 20 ℃	-246.174	0.014
30 ℃ : 复温 25 ℃	-32.807	1.000
30 ℃ : 复温 30 ℃	2.976	1.000
30 ℃ : 30 ℃ 10 min	-10.980	1.000
组内两两比	中间神经元	
	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
30 ℃ : 25 ℃	-268.483	1.000
30 ℃ : 20 ℃	-253.860	1.000
30 ℃ : 复温 25 ℃	-78.610	1.000
30 ℃ : 复温 30 ℃	-42.379	1.000
30 ℃ : 30 ℃ 10 min	-7.480	1.000

下神经元动作电位频率 ($F = 4.801, P = 0.008$)、波幅 ($F = 3.680, P = 0.015$)、半宽时间 ($F = 28.951, P = 0.000$) 标准化百分比差异具有统计学意义 (表 8, 9)。当温度从 30 ℃ 降至 25 ℃ 时, 锥体神经元动作电位半宽时间标准化百分比延长 ($t = -94.510, P = 0.010$); 降至 20 ℃ 时, 频率标准化百分比降低 ($t = 83.299, P = 0.000$), 半宽时间标准化百分比继续延长 ($t = -231.738, P = 0.000$); 复温至 25 ℃ 时, 动作电

表 7 不同温度下锥体神经元和中间神经元 EPSC 和 IPSC 峰面积标准化百分比的两两比较

Table 7. Pairwise comparison of normalized percentages of EPSC and IPSC peak area of pyramidal neurons and interneurons at different temperatures

组内两两比	锥体神经元		中间神经元	
	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
EPSC				
30 ℃ : 25 ℃	5.578	1.000	21.604	0.387
30 ℃ : 20 ℃	39.236	0.000	43.153	0.090
30 ℃ : 复温 25 ℃	14.605	1.000	25.991	1.000
30 ℃ : 复温 30 ℃	-5.529	1.000	26.343	0.158
30 ℃ : 30 ℃ 10 min	7.442	1.000	23.394	0.293
IPSC				
30 ℃ : 25 ℃	16.087	1.000	13.664	1.000
30 ℃ : 20 ℃	62.820	0.000	51.429	0.155
30 ℃ : 复温 25 ℃	29.156	0.011	20.672	1.000
30 ℃ : 复温 30 ℃	19.397	0.498	17.893	1.000
30 ℃ : 30 ℃ 10 min	22.758	0.242	19.179	1.000

EPSC, excitatory postsynaptic current, 兴奋性突触后电流; IPSC, inhibitory postsynaptic current, 抑制性突触后电流

位频率标准化百分比仍持续降低 ($t = 53.564, P = 0.017$); 复温至 30 ℃ 时, 上述各项指标恢复至低温前水平 (均 $P > 0.05$), 并维持至复温 30 ℃ 后 10 min (表 10)。当温度从 30 ℃ 降至 20 ℃ 时, 中间神经元动作电位频率标准化百分比降低 ($t = 89.178, P = 0.011$); 复温至 25 ℃ 时, 动作电位半宽时间标准化百分比延长 ($t = -131.180, P = 0.002$); 至 30 ℃ 时, 上述各项指标均恢复至低温前水平 (均 $P > 0.05$), 并维持至复温 30 ℃ 后 10 min (表 10)。表明温度变化对两种神经元动作电位均可产生显著影响, 从 30 ℃ 降至 25 ℃ 时神经元动作电位开始被抑制, 并一直持续到 30 ℃, 但快速低温对两种神经元动作电位的影响无差异。

讨 论

本研究通过记录快速低温过程中锥体神经元和中间神经元静息膜电位、突触活动和动作电位的变化, 探索快速低温对两种神经元电生理学特性的影响, 结果显示, 当皮质组织切片温度快速降至 20 ℃ 时, 两种神经元 EPSC 波幅降低, 锥体神经元 EPSC 事件间隔时间延长、EPSC 峰面积、IPSC 波幅和峰面积减少, 以及两种神经元动作电位频率降低, 锥体神经元半宽时间延长, 提示快速低温对两种神

表 8 不同温度下锥体神经元和中间神经元动作电位的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 8. Comparison of action potential indexes of pyramidal neurons and interneurons at different temperatures ($\bar{x} \pm s$)

组别	数目(个)	30 ℃	25 ℃	20 ℃	复温 25 ℃	复温 30 ℃	30 ℃ 10 min
阈值(mV)							
锥体神经元	18	-42.81 ± 4.15	-44.06 ± 5.26	-44.48 ± 6.73	-41.14 ± 16.20	-43.74 ± 19.33	-40.71 ± 16.67
中间神经元	6	-43.42 ± 5.36	-35.52 ± 14.01	-26.44 ± 13.34	-30.10 ± 18.89	-31.77 ± 20.72	-33.87 ± 20.55
频率(%)							
锥体神经元	18	100.00 ± 0.00	67.23 ± 47.57	16.70 ± 10.10	46.44 ± 53.26	44.53 ± 73.20	60.57 ± 92.47
中间神经元	6	100.00 ± 0.00	44.52 ± 34.56	10.82 ± 12.51	41.85 ± 31.08	81.98 ± 41.37	85.97 ± 49.01
波幅(%)							
锥体神经元	18	100.00 ± 0.00	108.37 ± 27.42	127.81 ± 65.33	92.02 ± 63.48	69.48 ± 65.37	53.57 ± 55.89
中间神经元	6	100.00 ± 0.00	75.49 ± 19.10	71.37 ± 20.37	50.65 ± 19.14	53.30 ± 17.37	56.84 ± 24.16
半宽时间(%)							
锥体神经元	18	100.00 ± 0.00	194.51 ± 88.38	331.74 ± 108.84	176.69 ± 100.95	101.47 ± 97.66	92.61 ± 74.46
中间神经元	6	100.00 ± 0.00	217.83 ± 28.91	418.31 ± 91.53	231.18 ± 9.61	125.59 ± 20.08	114.78 ± 19.85

表 9 不同温度下锥体神经元和中间神经元动作电位的重复测量设计的方差分析

Table 9. ANOVA of repeated measurement design of action potential indexes of pyramidal neurons and interneurons at different temperatures

变异来源	SS	df	MS	F 值	P 值	变异来源	SS	df	MS	F 值	P 值
阈值						波幅					
处理因素	1662.396	1.000	1662.396	3.629	0.073	处理因素	10998.489	1.000	10998.489	1.523	0.233
测量时间	536.447	2.066	259.660	0.829	0.448	测量时间	25118.340	3.254	7718.035	3.680	0.015
处理 × 测量时间	612.575	2.066	296.509	0.946	0.400	处理 × 测量时间	9003.911	3.254	2766.604	1.319	0.276
组间误差	8246.225	18.000	458.124			组间误差	129949.512	18.000	7219.417		
组内误差	11651.622	37.187	313.323			组内误差	122857.045	58.581	2097.217		
频率						半宽时间					
处理因素	469.458	1.000	469.458	0.081	0.779	处理因素	23671.208	1.000	23671.208	1.640	0.217
测量时间	53470.499	2.503	21362.470	4.801	0.008	测量时间	714901.446	3.276	218225.523	28.951	0.000
处理 × 测量时间	7910.895	2.503	3160.551	0.710	0.527	处理 × 测量时间	14990.450	3.276	4575.874	0.607	0.627
组间误差	103698.966	18.000	5761.054			组间误差	259741.237	18.000	14430.069		
组内误差	200474.493	45.054	4449.629			组内误差	444477.488	58.968	7537.662		

表 10 不同温度下锥体神经元和中间神经元动作电位的两两比较

Table 10. Pairwise comparison of action potential indexes of pyramidal neurons and interneurons at different temperatures

组内两两比	频率		波幅		半宽时间		组内两两比	频率		波幅		半宽时间	
	t 值	P 值	t 值	P 值	t 值	P 值		t 值	P 值	t 值	P 值	t 值	P 值
锥体神经元						中间神经元							
30 ℃ : 25 ℃	32.770	0.221	-8.369	1.000	-94.510	0.010	30 ℃ : 25 ℃	55.482	0.304	24.510	1.000	-117.828	0.058
30 ℃ : 20 ℃	83.299	0.000	-27.810	1.000	-231.738	0.000	30 ℃ : 20 ℃	89.178	0.011	28.632	1.000	-318.317	0.091
30 ℃ : 复温 25 ℃	53.564	0.017	7.983	1.000	-76.694	0.124	30 ℃ : 复温 25 ℃	58.149	0.499	49.353	0.212	-131.180	0.002
30 ℃ : 复温 30 ℃	55.473	0.126	30.521	1.000	-1.468	1.000	30 ℃ : 复温 30 ℃	18.024	1.000	46.702	0.189	-25.589	1.000
30 ℃ : 30 ℃ 10 min	39.429	1.000	46.430	0.070	7.393	1.000	30 ℃ : 30 ℃ 10 min	14.032	1.000	43.162	0.562	-14.777	1.000

经元的电生理活动存在明显的抑制作用;经比较发现,低温对于中间神经元 EPSC 波幅的抑制作用强于锥体神经元,提示快速低温对于中间神经元电生理活动的抑制作用更强。本研究为国内首次在癫

痫患者皮质致痫灶组织切片上针对快速低温对神经元活动影响进行的探索性实验,由于致痫灶组织与正常脑组织具有截然不同的电生理学特点,可以更为直接地观察快速低温对致痫性神经元的影响。

本研究结果显示,当温度降至 20 ℃时,锥体神经元和中间神经元的静息膜电位均呈轻微去极化,但与未降温时比较并无明显差异。Nomura 等^[16]也观察到上述现象,当温度从 25 ℃降至 15 ℃时,癫痫患者和正常大鼠脑组织切片痫样放电阈值未发生改变,但由于复极化延迟,静息电位从 -65.5 mV 升至 -54.0 mV、波形从 1.85 ms 扩宽至 6.55 ms,推测可能与低温后钠⁺-钾⁺泵活动减少、双孔钾离子通道(TREK-2 和 TRAAK)温度敏感性有关。

Shen 和 Schwartzkroin^[17]将正常家兔海马组织切片温度从 37 ℃降至 20 ℃,发现在 27 ~ 30 ℃之间可获得最大的突触电位波幅,低于 27 ℃时突触电位波幅降低、潜伏期延长,提示低温对场电位波幅具有双相作用:当温度约为 30 ℃时,场电位波幅轻度升高,随着温度的逐步降低,其波幅亦随之降低。本研究结果显示,当温度降至 20 ℃时,锥体神经元和中间神经元 EPSC 波幅降低,锥体神经元 EPSC 事件间隔时间延长、EPSC 峰面积、IPSC 波幅和峰面积减少,提示低温可以抑制神经元突触活动、降低神经元兴奋性,为快速低温控制癫痫发作的机制提供理论依据;而且温度降至 20 ℃时,两种神经元动作电位频率降低,锥体神经元动作电位半宽时间明显延长,但对阈值无明显影响。这与 Volgushev 等^[18]的研究结果部分一致,该作者发现低温后锥体神经元动作电位宽度和总面积增加,波幅在 12 ~ 20 ℃之间达到最大。此现象可能与以下两项因素有关:第一,低温后电压依赖性钾离子电流延迟、波幅显著降低,此时动作电位波幅和波形主要由电压依赖性钠离子电流决定;第二,低温后电压依赖性钠离子电流变慢、持续时间变长、总放电量增加。这些改变是由于单个钠离子通道激活与失活的动力学变慢^[19],以及在产生动作电位时同步性开放的通道变少所致^[18]。

锥体神经元和中间神经元对癫痫的发生发展具有不同的作用。对 4-氨基吡啶和低镁诱发的癫痫大鼠模型观察表明,中间神经元在发作间期电活动增加,在发作期则转换为长时程去极化阻断,以此来保证锥体神经元的持续放电^[20]。同时,记录海马 CA1 区锥体神经元和腔隙分子层中间神经元活动,观察癫痫发作不同阶段兴奋性突触和抑制性突触的电导比值可以发现,在癫痫起始阶段,锥体神经元活动受抑制,脑组织整体状态更趋向于抑制;在癫痫发作主体阶段,锥体神经元和中间神经元同

时达到兴奋最高点,整体倾向于兴奋;在癫痫发作终止阶段,锥体神经元活动再次被抑制,而中间神经元则出现持续性兴奋性突触活动^[21]。Avoli 等^[22]对内侧颞叶癫痫(mTLE)大鼠模型的研究显示,当中间神经元电活动增强时,可对锥体神经元造成同步性抑制或引起锥体神经元密集产生超极化抑制性突触后电位,并因此而产生低幅快活动(LVF)癫痫发作起始模式;若锥体神经元活动的抑制模式呈渐进性减弱且兴奋性活动增强,则会产生高度同步化(HYP)的癫痫发作起始模式。在 LVF 发作起始模式中,中间神经元活动增强较锥体神经元更早,而且中间神经元活动的时相变化在强直期与场电位一致^[23]。

抑制中间神经元活动是否有利于预防癫痫发作或有助于终止癫痫发作,目前尚无直接证据,但其在癫痫的发生发展和终止过程中起重要作用是毋庸置疑的。在癫痫发作前,小清蛋白或生长抑素阳性的中间神经元被强烈激活,导致中间神经元放电显著增强^[24],但其活动增强的意义尚存争议^[25]。对 4-氨基吡啶诱发的内嗅皮质癫痫小鼠模型观察发现,光刺激小清蛋白或生长抑素呈阳性反应的中间神经元可以诱发与自发性癫痫类似的发作,并且是以涟漪频段(200 ~ 500 Hz)为主的 LVF 发作起始模式^[26]。在 HYP 发作起始模式中,中间神经元和锥体神经元的相互作用是癫痫发作起始的关键因素^[27],尤其是中间神经元在癫痫发作的维持中也起到重要作用。癫痫发作早期出现的 γ -氨基丁酸(GABA)能神经元的同步性兴奋可引起钾离子大量释放^[28],其机制可能是抑制性网络兴奋后释放 GABA,大量激活 GABA 受体,导致细胞内氯离子堆积,从而促进钾-氯离子共转运体 2(KCC2)排出钾离子^[29],而钾离子的增加可使癫痫发作维持在强直状态,可能与钾离子使锥体神经元异常放电^[30],以及钾离子增加使氯离子流动的电化学驱动力降低继而使中间神经元的抑制性作用降低有关。鉴于锥体神经元异常放电增加和中间神经元抑制性减弱,可使锥体神经元之间的兴奋性连接进一步加强,从而募集到更多的神经元,形成强直模式^[31]。在阵挛发作阶段,中间神经元同样起到维持癫痫发作而非终止癫痫发作的作用。Ellender 等^[32]在正常大鼠和小鼠海马组织切片上均发现,阵挛期节律性放电时同步化活动最强,维持这种放电需要完整的 GABA 能突触传递,此时,这种传递由于氯离子反转电位

的短暂性崩溃而起到兴奋锥体神经元的作用;应用光遗传技术选择性激活小清蛋白表达阳性的中间神经元可以成功地在锥体神经元记录到兴奋性反应,并引起阵挛期节律性放电,然后再选择性抑制其表达则节律性放电减少。锥体神经元在时间和空间上同步出现高波幅放电,也说明同步性兴奋性活动在癫痫发作终止过程中起到一定作用^[33]。目前已有研究在癫痫患者颅内电极上记录到癫痫发作后期出现多通道电活动再同步现象^[34-35],提示癫痫发作起始阶段癫痫网络呈零散状态,当异常脑电活动呈扩散状态时,癫痫网络则呈整合状态,并在癫痫发作终止前整合形成单一的成分^[36]。也有研究认为,中间神经元主要参与形成阵挛期的放电间期,起到抑制放电作用^[37],防止癫痫网络被再度激活。本研究结果显示,当温度从 30 ℃ 降至 20 ℃ 时对中间神经元的抑制作用明显强于锥体神经元,提示 20 ℃ 低温具有很强地抑制中间神经元电活动的作用,包括抑制其触发癫痫发作、募集锥体神经元、维持锥体神经元同步化活动,以及癫痫强直期和阵挛期的作用,从而实现减少快速低温后癫痫发作的产生。

由于脑组织标本纳入标准较高且标本稀少,加之局灶性皮质发育不良患者致病灶神经元数目较少等原因,导致本研究纳入的神经元数目有限,特别是中间神经元数目较少,使研究结论存在一定局限性。未来我们将进一步扩大标本数目、收集更多的中间神经元相关数据以验证本文结论;同时,制备痫样放电及癫痫动物模型,通过模型更为直观地研究快速低温在不同神经元抑制癫痫作用中的差异;还将进一步改良降温系统,提高降温速度,调控复温速度。

综上所述,本研究首次以癫痫患者手术切除的皮质致痫灶组织切片作为观察标本,进行快速低温(30 ℃ 降至 20 ℃)对不同神经元电生理学特征影响的体外实验,通过膜片钳技术记录锥体神经元和中间神经元静息膜电位、突触活动和动作电位的变化,探索快速低温对两种神经元电生理特性的影响,结果表明,温度降至 20 ℃ 后,两种神经元电生理活动被明显抑制,而且对中间神经元突触活动 EPSC 波幅的抑制明显强于锥体神经元,提示对中间神经元活动的抑制可能是快速低温预防癫痫发生、终止癫痫发作的原因之一。

利益冲突 无

参 考 文 献

- [1] Niesvizky -Kogan I, Bass M, Goldenholz SR, Goldenholz DM. Focal cooling for drug-resistant epilepsy: a review[J]. JAMA Neurol, 2022, 79:937-944.
- [2] Ren G, Yan J, Tao G, Gan Y, Li D, Yan X, Fu Y, Wang L, Wang W, Zhang Z, Yue F, Yang X. Rapid focal cooling attenuates cortical seizures in a primate epilepsy model[J]. Exp Neurol, 2017, 295:202-210.
- [3] Csernyus B, Szabó Á, Fiáth R, Záttonyi A, Lázár C, Pongrácz A, Fekete Z. A multimodal, implantable sensor array and measurement system to investigate the suppression of focal epileptic seizure using hypothermia[J]. J Neural Eng, 2021, 18: 0460c3.
- [4] Csernyus B, Szabó Á, Záttonyi A, Hodován R, Lázár C, Fekete Z, Erőss L, Pongrácz A. Recent antiepileptic and neuroprotective applications of brain cooling[J]. Seizure, 2020, 82:80-90.
- [5] Hsu MH, Kuo HC, Lin JJ, Chou MY, Lin YJ, Hung PL. Therapeutic hypothermia for pediatric refractory status epilepticus may ameliorate post-status epilepticus epilepsy[J]. Biomed J, 2020, 43:277-284.
- [6] He Y, Inoue T, Nomura S, Maruta Y, Kida H, Yamakawa T, Hirayama Y, Imoto H, Suzuki M. Limitations of local brain cooling on generalized motor seizures from unknown foci in awake rats[J]. Neurol Med Chir (Tokyo), 2019, 59:147-153.
- [7] Assis FR, Narasimhan B, Ziai W, Tandri H. From systemic to selective brain cooling: methods in review[J]. Brain Circ, 2019, 5:179-186.
- [8] Fernandes J, Vendramini E, Miranda AM, Silva C, Dinis H, Coizet V, David O, Mendes PM. Design and performance assessment of a solid-state microcooler for thermal neuromodulation[J]. Micromachines (Basel), 2018, 9:47.
- [9] Abe T, Fujiwara K, Inoue T, Kubo T, Yamakawa T, Nomura S, Suzuki M, Kano M. Optimal design of neuroprotective focal brain cooling device using surrogate model approach[J]. IEEE Trans Med Robot Bionics, 2020.
- [10] Hata K, Fujiwara K, Inoue T, Abe T, Kubo T, Yamakawa T, Nomura S, Imoto H, Suzuki M, Kano M. Epileptic seizure suppression by focal brain cooling with recirculating coolant cooling system: modeling and simulation[J]. IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng, 2019, 27:162-171.
- [11] Tokiwa T, Zimin L, Ishiguro H, Inoue T, Kajigaya H, Nomura S, Suzuki M, Yamakawa T. A palm-sized cryoprobe system with a built-in thermocouple and its application in an animal model of epilepsy[J]. IEEE Trans Biomed Eng, 2019, 66:3168-3175.
- [12] Davis JA, Grau JW. Protecting the injured central nervous system: do anesthesia or hypothermia ameliorate secondary injury[J]? Exp Neurol, 2023, 363:114349.
- [13] Yang GS, Zhou XY, An XF, Liu XJ, Zhang YJ, Yu D. Mild hypothermia inhibits the Notch 3 and Notch 4 activation and seizure after stroke in the rat model[J]. Pathol Res Pract, 2018, 214:1008-1016.
- [14] Liu R, Xing Y, Zhang H, Wang J, Lai H, Cheng L, Li D, Yu T, Yan X, Xu C, Piao Y, Zeng L, Loh HH, Zhang G, Yang X. Imbalance between the function of Na⁺-K⁺-2Cl and K⁺-Cl impairs Cl⁻ homeostasis in human focal cortical dysplasia[J]. Front Mol Neurosci, 2022, 15:954167.
- [15] Cheng L, Xing Y, Zhang H, Liu R, Lai H, Piao Y, Wang W, Yan X, Li X, Wang J, Li D, Loh HH, Yu T, Zhang G, Yang X. Mechanistic analysis of micro-neurocircuits underlying the

- epileptogenic zone in focal cortical dysplasia patients[J]. *Cereb Cortex*, 2022, 32:2216-2230.
- [16] Nomura S, Kida H, Hirayama Y, Imoto H, Inoue T, Moriyama H, Mitsushima D, Suzuki M. Reduction of spike generation frequency by cooling in brain slices from rats and from patients with epilepsy[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2019, 39:2286-2294.
- [17] Shen KF, Schwartzkroin PA. Effects of temperature alterations on population and cellular activities in hippocampal slices from mature and immature rabbit[J]. *Brain Res*, 1988, 475:305-316.
- [18] Volgushev M, Vidyasagar TR, Chistiakova M, Yousef T, Eysel UT. Membrane properties and spike generation in rat visual cortical cells during reversible cooling[J]. *J Physiol*, 2000, 522 (Pt 1):59-76.
- [19] Milburn T, Saint DA, Chung SH. The temperature dependence of conductance of the sodium channel: implications for mechanisms of ion permeation[J]. *Recept Channels*, 1995, 3: 201-211.
- [20] Ziburkus J, Cressman JR, Barreto E, Schiff SJ. Interneuron and pyramidal cell interplay during in vitro seizure-like events[J]. *J Neurophysiol*, 2006, 95:3948-3954.
- [21] Žiburkus J, Cressman JR, Schiff SJ. Seizures as imbalanced up states: excitatory and inhibitory conductances during seizure-like events[J]. *J Neurophysiol*, 2013, 109:1296-1306.
- [22] Avoli M, de Curtis M, Gnatkovsky V, Gotman J, Köhling R, Lévesque M, Manseau F, Shiri Z, Williams S. Specific imbalance of excitatory/inhibitory signaling establishes seizure onset pattern in temporal lobe epilepsy [J]. *J Neurophysiol*, 2016, 115:3229-3237.
- [23] Lévesque M, Herrington R, Hamidi S, Avoli M. Interneurons spark seizure-like activity in the entorhinal cortex[J]. *Neurobiol Dis*, 2016, 87:91-101.
- [24] Parrish RR, Codadu NK, Mackenzie-Gray Scott C, Trevelyan AJ. Feedforward inhibition ahead of ictal wavefronts is provided by both parvalbumin- and somatostatin-expressing interneurons [J]. *J Physiol*, 2019, 597:2297-2314.
- [25] Gentiletti D, de Curtis M, Gnatkovsky V, Suffczynski P. Focal seizures are organized by feedback between neural activity and ion concentration changes[J]. *Elife*, 2022, 11:e68541.
- [26] Shiri Z, Manseau F, Lévesque M, Williams S, Avoli M. Interneuron activity leads to initiation of low-voltage fast-onset seizures[J]. *Ann Neurol*, 2015, 77:541-546.
- [27] Lévesque M, Chen LY, Hamidi S, Avoli M. Dynamic interneuron-principal cell interplay leads to a specific pattern of in vitro ictogenesis[J]. *Neurobiol Dis*, 2018, 115:92-100.
- [28] Avoli M, de Curtis M. GABAergic synchronization in the limbic system and its role in the generation of epileptiform activity[J]. *Prog Neurobiol*, 2011, 95:104-132.
- [29] Viitanen T, Ruusuvoori E, Kaila K, Voipio J. The K⁺ - Cl cotransporter KCC2 promotes GABAergic excitation in the mature rat hippocampus [J]. *J Physiol*, 2010, 588(Pt 9):1527-1540.
- [30] Avoli M, Methot M, Kawasaki H. GABA-dependent generation of ectopic action potentials in the rat hippocampus [J]. *Eur J Neurosci*, 1998, 10:2714-2722.
- [31] de Curtis M, Avoli M. Initiation, propagation, and termination of partial (focal) seizures [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2015, 5:a022368.
- [32] Ellender TJ, Raimondo JV, Irkle A, Lamsa KP, Akerman CJ. Excitatory effects of parvalbumin - expressing interneurons maintain hippocampal epileptiform activity via synchronous afterdischarges[J]. *J Neurosci*, 2014, 34:15208-15222.
- [33] Jiruska P, de Curtis M, Jefferys JG, Schevon CA, Schiff SJ, Schindler K. Synchronization and desynchronization in epilepsy: controversies and hypotheses[J]. *J Physiol*, 2013, 591:787-797.
- [34] Topolnik L, Steriade M, Timofeev I. Hyperexcitability of intact neurons underlies acute development of trauma - related electrographic seizures in cats in vivo [J]. *Eur J Neurosci*, 2003, 18:486-496.
- [35] Schindler K, Leung H, Elger CE, Lehnertz K. Assessing seizure dynamics by analysing the correlation structure of multichannel intracranial EEG[J]. *Brain*, 2007, 130(Pt 1):65-77.
- [36] Kramer MA, Truccolo W, Eden UT, Lepage KQ, Hochberg LR, Eskandar EN, Madsen JR, Lee JW, Maheshwari A, Halgren E, Chu CJ, Cash SS. Human seizures self-terminate across spatial scales via a critical transition [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109:21116-21121.
- [37] Ledri M, Madsen MG, Nikitidou L, Kirik D, Kokaia M. Global optogenetic activation of inhibitory interneurons during epileptiform activity[J]. *J Neurosci*, 2014, 34:3364-3377.

(收稿日期:2023-02-18)

(本文编辑:袁云)

欢迎订阅 2023 年《中国现代神经疾病杂志》

《中国现代神经疾病杂志》为国家卫生健康委员会主管、中国医师协会主办的神经病学类专业期刊。办刊宗旨为:理论与实践相结合、普及与提高相结合,充分反映我国神经内外科临床科研工作重大进展,促进国内外学术交流。所设栏目包括述评、专论、论著、临床病理报告、应用神经解剖学、神经影像学、循证神经病学、流行病学调查研究、基础研究、临床研究、综述、临床医学图像、病例报告、临床病理(例)讨论、新技术新方法等。

《中国现代神经疾病杂志》为北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》2017年版(即第8版)和2020年版(即第9版)核心期刊以及国家科技部中国科技论文统计源期刊,国内外公开发行。中国标准连续出版物号:ISSN 1672-6731, CN 12-1363/R。国际大16开型,彩色插图,48页,月刊,每月25日出版。每期定价15元,全年12册共计180元。2023年仍由邮政局发行,邮发代号:6-182。请向全国各地邮政局订阅,亦可直接向编辑部订阅(免邮寄费)。

编辑部地址:天津市津南区吉兆路6号天津市环湖医院C座二楼,邮政编码:300350。

联系电话:(022)59065611,59065612;传真:(022)59065631。网址:www.xdjb.org(中文),www.cjenn.org(英文)。