

GABA能抑制调制大棕蝠下丘听神经元时间编码模式

栾瑞红, P.H.S. JEN, 孙心德

(华东师范大学生命科学学院脑科学研究中心, 上海 200062)

摘要: 大棕蝠(*Eptesicus fuscus*)下丘神经元对重复率为 10 pps(pulse per second)、30 pps 的串声刺激均产生跟随反应, 但对 90 pps 串声刺激的跟随反应则不尽相同。微电泳 bicuculline 阻断 GABA 能抑制作用后, 所记录的 58 个神经元中, 有 13 个(22%)放电率及串声刺激反应模式无变化; 45 个(78%)神经元放电率有不同程度的增加, 对 10 pps、30 pps 串声刺激仍能产生跟随反应, 但对 90 pps 串声刺激的跟随反应模式有多种变化。其中: 17 个(29%)神经元为放电率增加的跟随反应; 9 个(15%)神经元放电率增加, 对前 100 ms 的串刺激产生反应且放电密集, 而对随后 200 ms 的串刺激只产生少量的放电; 15 个(26%)神经元放电率增加, 在前几十毫秒范围内有较多的放电反应, 后续的反应很弱; 4 个(7%)神经元只对第一个声刺激产生反应, 且放电率增加, 随后放电急剧减少。结果提示中脑下丘神经元对听觉信息的时间编码可能具有更复杂的机理。

关键词: GABA; GABA_A受体; 串刺激重复率; 回声定位

中图分类号: Q424 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6737(2002)04-0399-05

下丘是中枢听觉系统声信号处理的重要中继站, 它不仅接收上行的兴奋性投射, 还接收来自上行、下行、平行及核团内部的抑制性投射^[1,2]。下丘神经元的反应特性是这些兴奋性和抑制性输入整合的结果^[3]。已有研究表明, 大棕蝠下丘神经元对高重复率串声刺激产生跟随反应, 不同神经元对串刺激产生最大反应的最佳重复率不同^[4]。比较上橄榄核、外侧丘系等^[5,6]较低级听觉中枢与中脑神经元对串刺激的反应特性, 发现从低级到高级中枢神经元, 对高重复率串刺激反应的跟随能力逐渐降低^[7]。在下丘中央核, 药物阻断抑制作用不能改变神经元对高重复率串刺激反应的跟随能力, 推测中脑下丘对时间信息加工整合的神经机制与低级中枢有所不同^[8]。因此, 研究 GABA 对大棕蝠下丘神经元不同重复率串声刺激听反应模式的影响, 对阐明下丘神经元对时间信息加工整合的神经机制, 具有重要意义。

1 材料和方法

实验用 15 只成年雄性大棕蝠(*Eptesicus fuscus*), 体重 12–28 g。按体重腹腔注射 Nembutal (45–50 mg/kg)麻醉动物, 剃去头部毛发, 剪开头皮, 剥离颅顶肌肉, 暴露颅骨, 用强力胶水和牙科水泥将 2–3 cm 长的铁钉固定于颅骨。记录前,

按体重腹腔注射镇静剂 Innovar-vet (fentanyl, 10.08 mg/kg; droperidol, 4 mg/kg), 待动物镇静后, 置于隔音屏蔽室, 室内表面衬 7 cm 厚的海绵泡沫, 防止声音反射, 屏蔽室内保持 28–30°C。将动物头部用铁钉固定, 暴露下丘颅骨, 打开 1 mm² 的小孔, 挑开硬脑膜, 玻璃微电极垂直插入下丘, 胞外记录单个神经元电活动。

直径为 1.5 cm 的高频喇叭(AKG model CK 50)置于蝙蝠被记录下丘对侧 30° 听空间位置, 距离 29 cm, 用置于耳部的 Bruel & Kjaer 1/4 英寸麦克风(B & K-4135)校准, 输出声音强度用 dB SPL(参比声压 20 μPa)表示。声刺激信号为神经元的最佳频率(best frequency, BF)、阈上 20 dB 的短声脉冲(pulsatile amplitude-modulated, PAM), 时程 4 ms, 升降时间分别为 0.5 ms, 串刺激重复率采用 10 pps、30 pps 和 90 pps(pulse per second)三种参数。串刺激时程为 300 ms、2 pps。

采用组合式多管微电极^[9], 其中一管灌注

收稿日期: 2002-04-15

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30170313), 博士点基金项目 (2000026905), 上海市重点学科项目, 美国国家自然科学基金项目 (NSF IBN 9907610)

作者简介: 栾瑞红, 1966 年生, 博士生

通讯作者: 孙心德, E-mail: sunxinde@hotmail.com

3 mol/L KCl 溶液, 尖端直径小于 1 μm, 阻抗 5–10 MΩ。

另一管灌注 Bicuculline 溶液(10 mmol/L 溶于 0.16 mol/L NaCl, pH 3.0, Sigma), 其余两管灌注 1 mol/L NaCl (pH 7.4), 为平衡管和接地管, 通过银丝与微电泳仪连接, 电泳电流 10–80 nA, 脉冲频率 0.5 pps, 电泳时间 1 s, 滞流电流 -8--10 nA。

声反应信号经过 A/D 转换后进入计算机采样, bin 宽为 500 ms, 采样时间 300 ms, 叠加 32 次, 作直方图(post-stimulus time histogram, PSTH)。记录时间一般持续 4–6 h。

2 结 果

所记录的 58 个下丘神经元最佳频率在 15.43–64.08 kHz 之间、最低阈值在 14–57 dB SPL 之间、潜伏期平均为 (10.97±1.96) ms、记录深度在 280–1560 μm 之间。

2.1 电泳 bicuculline 前后, 神经元对短声刺激的反应

微电泳 bicuculline 解除 GABA 抑制作用后, 除 13 个(22%)神经元放电率及反应模式没有变化外, 其余 45 个(78%)神经元放电率不同程度的增加。图 1 为微电泳 bicuculline 前后, 三个下丘神经元对短声刺激反应的直方图(PSTH)。A 神经元表现为放电率增加, 但反应模式没有变化, 仍为 phasic-on 反应; B 神经元表现为放电率增加, 反

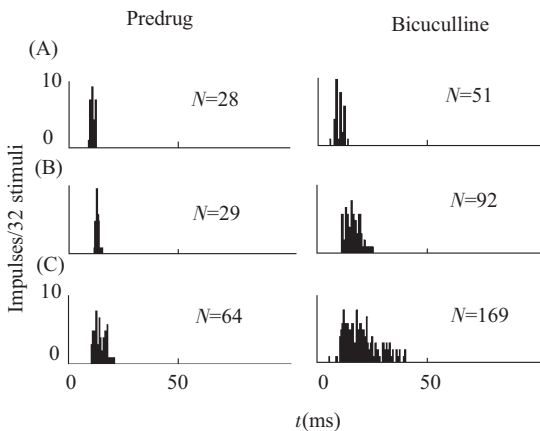


Fig.1 Post-stimulus time histogram (PSTH) of three IC (inferior colliculus) neurons responding to tone burst of BF (best frequency) before and during bicuculline application. The BF(kHz), MT(dB SPL), latency(ms) and recording depth(μm) were (A) 22.96, 35, 10, 790; (B) 28.34, 52, 8, 806; (C) 48.33, 30, 11, 1030

应时程延长, phasic 转变为 phasic-burst 反应; C 神经元表现为放电率增加, 反应时程延长, phasic-burst 转变为 tonic 反应模式。

2.2 神经元对不同重复率串声刺激的反应

所记录神经元对 10 pps、30 pps 串声刺激均能产生跟随反应, 即神经元对串刺激的每一个声音均能产生听反应(图 2, 3), 但对 90 pps 串刺激听反应的跟随能力不同。在对 90 pps 的串刺激产生跟随反应的神经元中, 有的神经元对 90 pps 串刺激的跟随反应较强(图 2C); 有的神经元对 90 pps 串刺激产生较弱跟随反应, 即对第一个声刺激反应放电率最大, 后续反应明显减少 (图 4A)。在对 90 pps 串刺激不能产生跟随反应的神经元中, 有的神经元对前几个刺激有反应, 且对第一个声刺激反应放电率最大, 后续反应减小 (图 3C); 有的神经元只对第一个刺激有反应 (图 5A)。

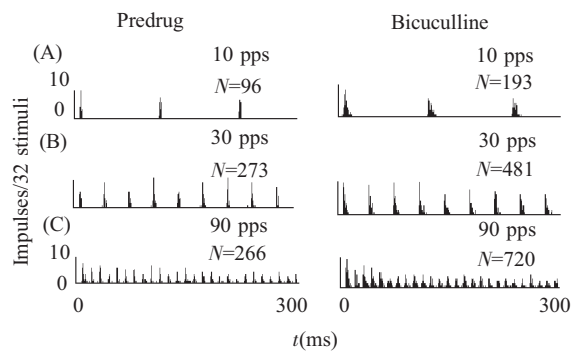


Fig.2 Post-stimulus time histogram (PSTH) of IC unit responding to every pulse of pulses trains of 10, 30 and 90 pps before and during bicuculline application. The BF(kHz), MT(dB SPL), latency(ms) and recording depth(μm) were 25.76, 30, 13, 640 respectively

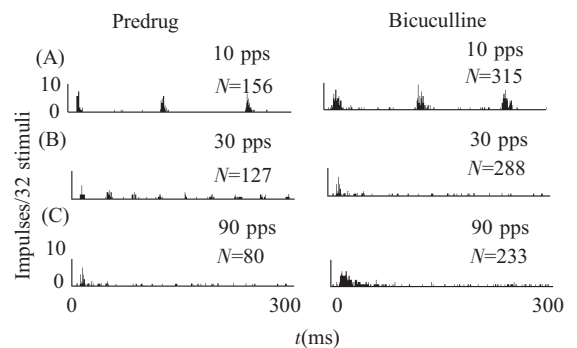


Fig.3 Post-stimulus time histogram (PSTH) of IC unit responding to every pulse of pulses trains of 10, 30 pps and responding to the first several pulses of pulses trains of 90 pps before and during bicuculline application. The BF(kHz), MT(dB SPL), latency(ms) and recording depth (μm) were 50.21, 23, 10, 1230 respectively

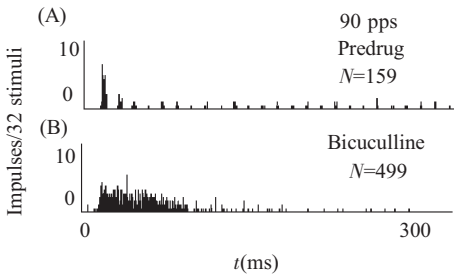


Fig.4 Post-stimulus time histogram (PSTH) of IC unit responding with less impulses to every pulse of pulses trains of 90 pps before and during bicuculline application. The BF(kHz), MT(dB SPL), latency(ms) and recording depth(μ m) were 25.30, 29, 10, 850 respectively

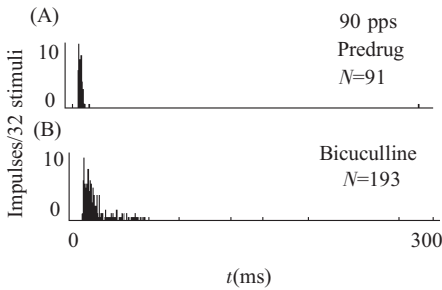


Fig.5 Post-stimulus time histogram (PSTH) of IC unit responding to the first pulse of pulses trains in 90 pps before and during bicuculline application. Their BF (kHz), MT(dB SPL), latency(ms) and recording depth (μ m) were 34.57, 25, 9, 889 respectively

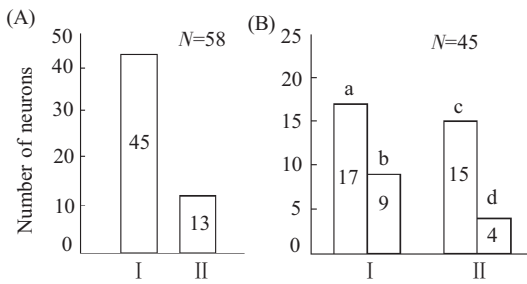


Fig.6 (A) Number of neurons during bicuculline application. I : impulses increasing; II : impulses not increasing. (B) Number of neurons responding to pulses train of 90 pps. I a : units responding to every pulse of 90 pps pulses train; I b: units responding less to every pulse of 90 pps pulses train. II c: units responding to the first several pulses of 90 pps pulses train; II d: units responding to the first pulse of 90 pps pulses train

2.3 电泳 bicuculline 改变神经元对串声刺激的反应模式

微电泳 bicuculline, 使 45 个(78%)下丘神经元

放电率有不同程度的增加 (图 6A), 这些神经元对 10 pps、30 pps 串刺激的反应模式基本不变 (图 2, 3), 而对 90 pps 串刺激的反应模式有不同类型 (图 6B)。在对 90 pps 串刺激产生跟随反应的神经元中, 微电泳 bicuculline 使 17 个放电率增加 (图 2C); 9 个神经元只对前 100 ms 的串刺激产生反应, 且放电密集, 而对后 200 ms 刺激只有少量反应 (图 4B)。对 90 pps 串刺激不能产生跟随反应的神经元, 微电泳 bicuculline, 15 个在前几十毫秒范围内有较多的反应, 后续反应很弱, 没有表现出跟随能力的提高 (图 3C); 4 个神经元对串刺激的第一个声刺激反应的放电率增加, 之后反应急剧减少 (图 5B)。

3 讨 论

3.1 GABA 在中枢神经系统整合加工信息过程中的作用

GABA 是中枢神经系统经典的抑制性神经递质, 它的受体主要有 GABA_A 和 GABA_B 受体。GABA_A 受体为快离子通道受体, 在感觉信息处理过程中起重要作用, 广泛分布于中枢神经系统有关脑区。GABA_A 受体在大棕蝠下丘中央核大部分区域有密集分布^[10]。bicuculline 为 GABA_A 受体的特异性阻断剂, 可竞争性抑制 GABA 的作用^[8,11]。由图 1 可见, GABA 的作用主要表现为抑制神经元兴奋性反应, 兴奋性放电之后, 继发的兴奋性传入被抑制, 兴奋性反应提前终止。GABA 可能通过对神经元兴奋性传入的抑制作用, 参与下丘神经元听觉信息加工整合过程^[11,12]。

3.2 下丘神经元对不同重复率串声刺激的反应模式

蝙蝠在回声定位搜寻期, 发声时程较长, 重复率较低, 当它接近目标时, 则提高发声重复率, 缩短发声时程, 目标距离进一步缩短, 发声重复率也进一步提高, 发声时程随之缩短, 直至完成捕猎过程^[4]。重复率为 10 pps、30 pps、90 pps 的串声刺激, 刚好对应于回声定位的不同时期。所记录的下丘神经元对 10 pps、30 pps 的串刺激均能产生跟随反应, 但对 90 pps 重复率的串声刺激有不同的跟随反应模式, 这与外侧丘系、上橄榄核等低级中枢结果不同^[5,6]。推测下丘神经元加工整合时间信息的功能进一步分化^[8,13]。对 90 pps 串刺激不产生跟随反应的下丘神经元, 可能是由于恢复周期 (recovery cycles) 较长, 故后继的兴奋性传入不能

引起反应；对 90 pps 串刺激产生跟随反应的神经元，由于兴奋性传入和抑制性传入在时间上与串刺激重复率吻合程度较好，即在下一个兴奋性传入到来之前，神经元的抑制性作用逐渐消失，因而对后继的兴奋性传入仍能产生反应^[7,8]。

3.3 GABA 对下丘神经元串声刺激反应模式的调制

已有研究表明，微电泳 bicuculline，可导致下丘神经元放电率增加，恢复周期缩短^[14]；但在研究下丘神经元对脉冲幅度调制（PAM）信号反应特性时，发现 GABA 能抑制可有效调节神经元放电率，但不能同样有效地调节神经元对时间信息的加工^[15]。另有研究表明，解除 GABA 和甘氨酸 (glycine) 能抑制，均不能有效地改变下丘神经元对正弦幅度调制（SAM）信号的跟随反应，推测下丘在处理听觉时间信息方面，可能存在比上橄榄核、外侧丘系更复杂的细胞及神经机制^[8]。本实验观察到，当微电泳 bicuculline 时，对不同神经元 90 pps 串刺激反应模式的影响存在差异，这很难简单地用恢复周期(recovery cycles)加以解释。因此推测，对高重复率串声刺激，阻断 GABA 抑制作用后，由于下丘神经元接受过多的兴奋性输入，引起继后神经元过度兴奋，从而导致神经环路的反馈性抑制增强，使前级兴奋性神经元受到最大程度的抑制，最终导致下丘神经元继发的兴奋性输入急剧减少。另一种可能是由于神经细胞自身的生理、生化特性，阻断 GABA 抑制作用后，神经元兴奋性反应加剧，导致细胞内 ATP 短时间内大量消耗， $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶因 ATP 浓度降低而活性下降，不足以使神经元维持原来的静息电位，后续的兴奋性传入不能导致兴奋性反应。这些推测有待进一步研究证实。

参考文献：

- [1] Popper AN, Fay R. Hearing by Bat. (Springer handbook of auditory research) [M]. New York: Springer-Verlag, 1995. 235-367.
- [2] Vater M, Covey E, Casseday JH. The columnar region of the ventral nucleus of the lateral lemniscus in the big brown bat (*Eptesicus fuscus*): synaptic arrangements and structural correlates of feedforward inhibitory function[J]. *Cell Tissue Res*, 1997,289:223-233.
- [3] Covey E, Casseday JH. Timing in the auditory system of the bat[J]. *Annu Rev Physiol*, 1999, 61:457-476.
- [4] Pinheiro AD, Wu M, Jen PHS. Encoding repetition rate and duration in the inferior colliculus of the big brown bat, *Eptesicus fuscus*[J]. *J Comp Physiol*, 1991,169:69-85.
- [5] Yang L, Pollak GD. Differential response properties to amplitude modulated signals in the dorsal nucleus of the lateral lemniscus of the mustache bats and the roles of GABAergic inhibition[J]. *J Neurophysiol*, 1997,77:324-340.
- [6] Grothe B. Interaction of excitation and inhibition in processing of pure tone and amplitude-modulated stimuli in the medial superior olive of the mustached bat [J]. *J Neurophysiol*, 1994,71:706-721.
- [7] Casseday JH, Covey E, Grothe B. Neural selectivity and tuning for sinusoidal frequency modulations in the inferior colliculus of the big brown bat, *Eptesicus fuscus* [J]. *J Neurophysiol*, 1997,77:1595-1605.
- [8] Burger RM, Pollak GD. Analysis of the role of inhibition in shaping responses to sinusoidally amplitude-modulated signals in the inferior colliculus [J]. *J Neurophysiol*, 1998,80:1686-1701.
- [9] Havey DC, Caspary DM. A simple technique for constructing 'piggy-back' multibarrel microelectrodes[J]. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1980,48:249-251.
- [10] Fubara BM, Casseday JH, Covey E, et al. Distribution of GABA_A, GABA_B, and glycine receptors in the central auditory system of the big brown bat, *Eptesicus fuscus*[J]. *J Comp Neurol*, 1996,369:83-92.
- [11] Hall JC. GABAergic inhibition shapes frequency tuning and modifies response properties in the auditory midbrain of the leopard frog[J]. *J Comp Physiol*, 1999,185:479-491.
- [12] Ehrlich D, Casseday JH, Covey E. Neural tuning to sound duration in the inferior colliculus of the big brown bat, *Eptesicus fuscus*[J]. *J Neurophysiol*, 1997,77:2360-2372.
- [13] Galazyuk AV, Llano D, Feng AS. Temporal dynamics of acoustic stimuli enhance amplitude tuning of inferior colliculus neurons[J]. *J Neurophysiol*, 2000,83:128-138.
- [14] Lu Y, Jen PHS, Zheng QY. GABAergic disinhibition changes the recovery cycle of bat inferior colliculus neurons[J]. *J Comp Physiol*, 1997, 181:331-341.
- [15] Lu Y, Jen PHS, Wu M. GABAergic disinhibition affects responses of bat inferior collicular neurons to temporally patterned sound pulses[J]. *J Neurophysiol*, 1998,79:2303-2315.

THE EFFECTS OF GABA ON TEMPORAL DISCHARGE PATTERNS OF IC NEURONS TO ACOUSTIC PULSR TRAIN IN THE BIG BROWN BAT, *Eptesicus fuscus*

LUAN Rui-hong, P.H.S. JEN, SUN Xin-de

(Center for Brain Science Research, College of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract: In the big brown bat, *Eptesicus fuscus*, which can use echolocation for hunting and navigation, the inferior collicular (IC) neurons responded to every pulse of pulsatile amplitude-modulated (PAM) sound signal train in 10 pps (pulse per second) and 30 pps. But the temporal discharge patterns of IC neurons vary in response to the pulses of 90 pps sound train. The responses of 45(78%) IC neurons tested were changed during the application of bicuculline, a competitive antagonist for γ -aminobutyric acid-A ($GABA_A$) receptors. These neurons responded to every pulse of 10 pps and 30 pps sound train before and during bicuculline application. But when the pulse repetition rate of sound train was 90 pps, the responses of the neurons changed a lot. During bicuculline application, the discharges increased and the neurons still responded to every pulse of 90 pps sound train in 17(29%) IC neurons. The responses of 9(15%) neurons increased only at the beginning of 100 ms and decreased greatly in the next 200 ms. In 15(26%) of IC neurons, when the pulses repetition rate was 90 pps, the responses increased only in the first several 10 ms and then reduced. There are 4(7%) neurons responding strongly only to the first pulse of 90 pps sound train. The present study suggests that the mechanism of IC processing temporal information of the sound repetition rate may be more complicated than that of the lower central auditory system.

Key Words: GABA; $GABA_A$ receptor; Pulse repetition rate; Echolocation