DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.01.008
第22卷第1期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 1
2000年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2000

文章编号:1000-5404(2000)01-0015-03

论著

阿托品、荷包牡丹碱对家鸽(*Columba livia*)顶盖 II_{a-f} 亚层与III层神经元间突触传递的影响

余小平[1],王 彬[2] ([1]第三军医大学预防医学系营养卫生学教研室,重庆 400038;[2]西南师范大学生理学教研室,重庆 400715)

提 要 目的:探讨阿托品(Atropine, ATR)、荷包牡丹碱(Bicuculline, BIC)对家鸽顶盖 II_{a-f} 亚层与III层神经元间突触传递的影响。方法:在孵育离体顶盖脑片标本上,采用脉冲方波电刺激 II_{a-f} 亚层,利用玻璃微电极胞外记录技术记录III层神经元放电频率。结果:III层神经元对电刺激 II_{a-f} 亚层有反应的28个单位中,13个单位(占46.4%)表现为增频,15个单位(占53.6%)表现为减频。表现为增频的13个III层神经元中10个单位(占76.9%)的增频效应可被ATR部分或完全逆转,另3个单位的阻断效果不明显;15个被 II_{a-f} 亚层刺激传入减频的III层神经元,其中11个单位(占73.3%)的减频作用可被BIC阻断,另4个单位则不产生阻遏作用。上述药物的作用具有可逆性和重复性。结论:乙酰胆碱(Acetylcholine, ACh)可能参与了家鸽顶盖 II_{a-f} 亚层与III层神经元间兴奋性突触传递,而γ-氨基丁酸(Gamma-aminobutyric, GABA)则参与其抑制性突触传递。

关键词 顶盖;脑片;阿托品;荷包牡丹碱
中图法分类号 Q955 文献标识码 A

Effects of atropine and bicuculline on synapse transmission between sublayer II_{a-f} and layer III in optic tectum in pigeons

YU Xiao-ping, WANG Bin (Department of Nutrition and Food Hygiene, Third Military Medical University, Chongqing 400038)

Abstract Objective: To investigate the effects of atropine and bicuculline on synapse transmission between sublayer II_{a-f} and layer III in optic tectum in pigeons. Methods: The spontaneous discharge units were recorded extracellularly in layer III in the optic tectum slices from 25 pigeons by glass micropitettes. Results: Among the 28 units, 13 were excitatory and 15 inhibitory. They changed when the sublayer II_{a-f} was stimulated. Of the 13 excitatory units, 10 could be blocked partly or completely by atropine. As for the 15 inhibitory units, 11 could be reversed by bicuculline. Conclusion: Acetylcholine might be involved in excitatory synapse transmission while gamma-aminobutyric acid in inhibitory one between the sublayer II_{a-f} and layer III in the optic tectum.

Key words optic tectum; brain slice; atropine; bicuculline

具有高度层状结构的顶盖可分为6层,以Ⅰ~Ⅵ表示,其Ⅱ层又可分为10个亚层,以a~f表示,II_{a-f} 亚层为视网膜主要投射区[1]。资料表明,ACh、GABA在鸽顶盖内含量较高且具高亲摄取特性[2]。家鸽顶盖神经元接收和加工处理视觉信息过程中,ACh主要是与毒蕈碱(Muscarine, M)型受体结合而进行兴奋传递的[3],GABA是与 $GABA_A$ 型受体结合进行抑制性传递[1]。目前有关家鸽顶盖 II_{a-f} 亚层与III层神经元间的突触传递尚未见报道。本工作利用脑片标本的优点,探讨了ACh的M型3种受体亚型无选择性的经典拮抗剂ATR、以及GABA的 $GABA_A$ 型受体竞争性拮抗剂BIC对顶盖 II_{a-f} 亚层与III层神经元间突触传递的影响。

1 材料与方法

1.1 顶盖脑片的制备

本实验选用280~450 g体重的家鸽,雌雄不拘。腹腔注射10%氨基甲酸乙酯(1.2 ml/100 g体重)后,断头,迅速剪除头部

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39170108)
作者简介:余小平(1970-10),男,重庆市开县人,硕士,助教,主要从事鸟类生理学方面的研究,发表论文5篇。电话:(023)68752291
收稿日期:1999-03-17;修回日期:1999-10-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

皮肤和颅骨，移去硬脑膜，取出全脑，置于 4℃预先充混合气（95%O_2，5%CO_2）饱和的人工脑脊液（ACSF）中降温片刻，然后分离出一侧顶盖，按冠状面切成 500 μm 厚的脑片。用广口吸管吸取 1～3 片完整脑片移入人工浴槽中孵育。

1.2 脑片孵育方法

人工浴槽分外室和内室。外室盛有循环流动的蒸馏水，由 WC/09 型超级恒温仪控制其温度在（37±1）℃，同时通入 300～500 ml/min 流量的混合气体（95%O_2，5%CO_2）。混合气体经外室加温湿润后扩散入内室，作用于脑片表面。内室容积较小，上面紧贴一层尼龙网，脑片置于尼龙网上，半浸没式孵育。ACSF 通过乳胶管流经外室恒温加热后抵达内室，滴速为 15～30 滴/ min，其成分（mmol/L）：NaCl 124，KCl 5，$MgSO_4$ 1.3，KH_2PO_4 1.25，$NaHCO_3$ 26，$CaCl_2$ 2.5，葡萄糖 10，pH 值用磷酸缓冲液（pH 5.8）调至 7.40±0.05。脑片孵育 60～90 min 后开始记录。

1.3 刺激

选用国泰 JJC-4 型刺激器。刺激频率为 100 Hz、波宽 0.1 ms、空载电压 5～15 V 组成的 3 个方波串刺激。刺激电极为直径 0.1 mm 绝缘不锈钢丝制成的双极电极，两极间距小于 0.1 mm。

1.4 记录

采用充满 2%滂胺天蓝（pH 7.4）的醋酸钠导电溶液的玻璃电极作记录电极，尖端直径 0.1 μm，直流阻抗 5～15 MΩ。经 PF-5 型微电极操纵器推送记录电极至 III层内，记录 III层神经元的自发放电。实验完毕后，部分脑片用滂胺天蓝标记，然后参考 Karten 和 Hodes 的鸽脑图谱[4] 作组织学鉴定。检测到的电信号经 JZ-802 型微电极阻抗变换器和 MEZ-8201 型微电极放大器放大后显示在 SR-76 型双线示波器上，并用 SZF-10 生物电放大器监听放电情况。放大信号同时输入 Doctor-852 电生理实验智能仪作序列密度直方图并存盘。

实验数据经统计学处理后用 $\bar{x}\pm s$ 表示。灌流给药前后放电频率用配对 t 检验。

2 结果

2.1 电刺激 $II_{a\sim f}$ 亚层对顶盖 III层神经元自发放电活动的影响，见表 1

在记录到 36 个 III层神经元自发放电基础上，用方波串脉冲电刺激（频率 100 Hz、波宽 0.1 ms、空载电压 5～15 V）顶盖 $II_{a\sim f}$ 亚层，观察对 III层神经元自发放电的影响。结果显示，28 个神经元（28/36，77.8%）在刺激后 1～3 s 内有反应，表现为刺激后放电频率出现短暂的变化。其中，13 个单位（13/28，占46.4%）产生兴奋效应，放电频率由刺激前（3.61±2.45）个/ s 增至（25.65±16.65）个/s，持续时程（2.32±0.93）s，$P<0.001$，见参考文献[5]；15 个单位（15/ 28，占 53.6%）则由刺激前（4.12±1.87）个/ s 减至（0.69±0.53）个/s，持续时程（2.86±1.17）s，$P<0.05$，见参考文献[6]。差异均具有显著性。

表 1 刺激 $II_{a\text{-}f}$ 亚层对 III层神经元电活动的影响

Tab 1 The effects of stimulating sublayer $II_{a\sim f}$ upon layer III neurons

	Excitatory	Inhibitory	Total
Number	13	15	28
Centugrade(%)	46.4	53.6	100.0

2.2 ATR 对 $II_{a\sim f}$ 亚层与 III层神经元间兴奋性突触传递的影响

电刺激（频率 100 Hz、波宽 0.1 ms、空载电压 5～15 V）顶盖 $II_{a\sim f}$ 亚层对 III层神经元自发放电产生兴奋效应的 13 例中，观察灌流 ATR（10^{-6} mol/L）对刺激效应的影响。结果显示，ATR 能阻断电刺激 $II_{a\sim f}$ 亚层对 III层神经元的增频效应，用方波串刺激 $II_{a\sim f}$ 亚层时，其中 10 例（占 76.9%）对电刺激 $II_{a\sim f}$ 亚层不再产生放电增频现象，平均放电频率仍保持在（3.61±2.45）个/ s（$P<0.05$），去除 ATR 后，这些神经元能再次被 $II_{a\sim f}$ 亚层刺激传入引起放电增频，见参考文献[5]。另 3 例（占 23.1%）对刺激 $II_{a\sim f}$ 亚层的放电增频反应不受 ATR 影响。

2.3 BIC 对顶盖 $II_{a\sim f}$ 亚层与 III层神经元间抑制性突触传递的影响

电刺激（频率 100 Hz、波宽 0.1 ms、空载电压 5～15 V）$II_{a\sim f}$ 亚层对 III层神经元自发放电活动产生抑制性反应的 15 个单位，灌流 10^{-6} mol/ L BIC，观察对刺激效应的影响。结果表明，11 个单位（占 73.3%）对电刺激 $II_{a\sim f}$ 亚层产生的抑制效应能被 BIC 阻断，表现为刺激时其放电频率不变。经正常 ACSF 冲洗后，这些单位能再次被电刺激 $II_{a\sim f}$ 亚层所抑制，见参考文献[6]。另 4 个单位（占 26.7%）的刺激抑制效应不受 BIC 影响，其放电频率仍保持在（4.12±1.87）（$P>0.05$）。

3 讨论

3.1 顶盖 $II_{a\sim f}$ 亚层与 III层神经元间的兴奋性突触传递

有关家鸽视网膜、同侧 Wulst 视区、对侧顶盖及峡核（NI）到顶盖的传入研究较多[7]，这些研究提示 ACh 在其中可能参与了其间的兴奋性传递。但是，顶盖内 $II_{a\sim f}$ 亚层与 III层神经元间的突触传递，尚未见报道。本实验电刺激 $II_{a\sim f}$ 亚层时，观察到部分 III层神经元的放电频率增加，且 ATR 能阻遏这种增频效应，提示 $II_{a\sim f}$ 亚层有兴奋性纤维到达 III层。刺激 Wulst 视区和对侧顶盖能使顶盖神经元产生 2～17 ms 潜伏期的兴奋性突触后电位（EPSP），暗示有单或多突触参与了这种 EPSP[7]。电刺激视神经可使 81%顶盖细胞产生兴奋性突触后电位，经荧光黄（LY）标记显示部分细胞为位于 III层内的节细胞，从 EPSP 的潜伏期和频率跟随能力推测视神经末梢与顶盖 III层神经元间形成多突触兴奋

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

性传递[8]。最近，利用免疫学方法证实峡核－顶盖通路中的兴奋性突触传递是以 ACh 为递质，作用受体为 M 型受体[9]。鉴于 Wulst 视区、对侧顶盖、视网膜及峡核到顶盖的投射区域一致，即 II_{a-f} 亚层[9,10]，结合本实验的结果，可以推测，这些视结构可能通过 ACh 纤维传至 II_{a-f} 亚层，与 II_{a-f} 亚层神经元形成兴奋性突触，II_{a-f} 亚层神经元再通过 ACh 能纤维传至顶盖 III层。

本实验结果表明顶盖 II_{a-f} 亚层与 III层神经元间的兴奋性突触传递的递质可能是 ACh，并通过 M 型受体起作用，从而进一步证实了 ACh 在顶盖内起着兴奋性递质的作用以及 M 型受体在顶盖内广泛分布这一理论。

3.2　顶盖 II_{a-f} 亚层与 III层神经元之间的抑制性突触传递

实验中观察到电刺激 II_{a-f} 亚层时，放电频率发生显著变化的 28 个 III层神经元中，有 15 个单位（占 53.6%）的放电频率减少，应用 BIC 后能阻断这种刺激效应，表明 GABA 可能参与了 II_{a-f} 亚层与 III层神经元间的抑制性突触传递。

据在体实验研究的文献报道，去除峡核可引起顶盖脱抑制。刺激峡核小细胞部可使顶盖 III层神经元产生单或多突触 IPSP（Inhibitory postsynapse potential），这种抑制性突触后电位部分是通过 GABA 与 $GABA_A$ 型受体结合起作用的[7,11]。刺激顶盖表面及 Wulst 视区可以通过 GABA 能中间神经元使 III层神经元的电活动受到抑制，这种抑制反应可被 BIC 阻断[7]。这些资料有力地支持了本实验所得结论。

参考文献

[1] Toggenburger G, Felix D, Cuenod M, *et al*. *In vitro* release of endogenous β-alanine, GABA and glutamate and eletrophysiological effect of β-alanine in pigeon optic tectum[J]. J Neurochem, 1982, 39(1): 176－183.

[2] Henke H, Schenker T M, Cuenod M. Effect of retinal ablation on uptake of glutamate, glycine, GABA, proline and choline in pigeon tectum[J]. J Neurochem, 1976, 26(1): 131－134.

[3] Wang S R, Li Z, Xu H Y. Muscarinic action of acetylcholine in the pigeon optic tectum[J]. Exp Neurol, 1986, 94(2): 436－440.

[4] Karten H T, Hodos W A. A stereotaxic atlas of the brain of the pigeon (*Columba livia*)[M]. Baltimore: Johns Hopkins Press, 1976. 174－193.

[5] 余小平，王　彬．乙酰胆碱对家鸽（*Columba Livia*）顶盖脑片中 III层神经元电活动的影响[J]．重庆师范学院学报（自然科学版），1998，15(3)：53－58.

[6] 余小平，王　彬．γ-氨基丁酸对家鸽（*Columba Livia*）顶盖脑片中 III层神经元电活动的影响[J]．四川师范大学学报（自然科学版），1999，22(1)：108－113.

[7] Hardy O, Leresche N, Jassik Gerschen F D. Postsynaptic potentials in neurons of the pigeon optic tectum in response to afferent stimulation from the retina and other visual structure: an intracellular study[J]. Brain Res, 1984, 311(1): 65－74.

[8] 高宏峰，吴冈义，王书荣．家鸽峡核顶盖通路的神经递质[J]．生物物理学报，1995，11(2)：233－237.

[9] 王荫亭，许红艳，王书荣．家鸽圆核和峡核的免疫细胞化学分析[J]．生物物理学报，1995，11(1)：43－48.

[10] 王荫亭，王书荣．用羰花青荧光染料追踪家鸽顶盖与中脑核团的神经连接[J]．生物物理学报，1990，6(1)：112－115.

[11] 吴冈义，王书荣，颜　坤．家鸽顶盖细胞的突触后电位和形态特征[J]．中国科学（B 辑），1992，20(9)：937－943.

（编辑　冷怀明）

（上接 14 页）

2.3　病情监测与护理

在医护患三者间，护士站在观察伤情变化的最前线，是病情变化的最先知情者，因此，护士不但具备敏锐的观察力，更应具有充分的预见性和综合分析能力。对严重胸部外伤病人，仅仅满足于暂时的生命征平稳是不够的，由于这类伤员具有病情变化快的特点，暂时的病情稳定，可能仅是机体的一种代偿机制。在询问与检查受伤经过、受伤部位后，应充分估计病情的发展趋势，除严密观察病人生命体征外，尚应注意胸腔闭式引流及其他部位的伤情变化，尤其对有腹部体征和症状的病人或胸部伤情轻而全身情况进一步恶化者，要考虑到胸腹联合伤或其它合并伤，如肝、脾破裂。因此，应经常注意腹部的变化并向主管医师报告。合并脑部损伤者，注意观察意识、瞳孔、呼吸、血压，以防颅内出血及脑疝发生，加强整体护理，以提高严重胸部创伤的救治效果。

关键词　严重胸外伤；急救；护理配合
中图法分类号　R655　　文献标识码　B

参考文献

[1] 姚梅芳，徐　洁，孟　莉．严重创伤病员急救护理探讨[J]．中华护理杂志，1994，29(9)：527－528.

[2] 罗　宁译．胸部伤外科学[M]．北京：解放军出版社，1986. 46－48.

（编辑　陈聪连）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net