

生长抑素与 GABA 对大鼠海马 CA1 区长时程增强的影响¹

吉卫清, 张长城, 张光辉 (第三军医大学生理教研室, 重庆 630038, 中国)

Effect of somatostatin and GABA on long-term potentiation in hippocampal CA1 area in rats¹

Ji Wei-Qing, ZHANG Chang-Cheng, ZHANG Guang-Hui (Department of Physiology, The Third Military Medical University, Chongqing 630038, China)

AIM: To study the effect of somatostatin (SS) and GABA on the long-term potentiation (LTP) of hippocampal CA1 area in rats.

METHODS: Active avoidance response (AAR) of shuttle-box was recorded and population spikes (PS) were taken as indices of LTP. **RESULTS:** Increased percentages of PSA (PS amplitude, in AAR-acquired rats are more than 100 %; After intrahippocampal injection (ih) of SS (1 g L⁻¹), increased percentages of PSA exhibited above 120 %.

Increased percentages of PSA were significantly decreased (<10 %, n=3) and even caused no PS (n=8) by ih cysteamine (Cys, 20 g L⁻¹, the depletor of SS); ih GABA (200 g L⁻¹) indicated that the increased percentages of PSA are less than 30 %, GABA weakened the effect of SS on LTP. **CONCLUSION:** SS enhance hippocampal LTP but GABA decrease it; they may influence each other to regulate the hippocampal synaptic transmission in the process of learning and memory.

KEY WORDS hippocampus; microinjections; somatostatin; cysteamine; GABA; avoidance learning; memory

¹ Project supported by the National Natural Science Foundation of China, No 39170295.

Received 1994-07-08

Accepted 1995-02-24

目的: 研究生长抑素(SS)和 GABA 对大鼠海马长时程增强(LTP)的影响. **方法:** 采用穿梭箱主动回避反应(AAR)法和以海马 CA1 区群体峰电位(PS)为 LTP 的指标.

结果: AAR 习得达标鼠, PS 增幅达 100 % 以上; 海马内注射(ih) SS (1 g L⁻¹)后, PS 增幅大于 120 %; ih SS 耗竭剂半胱胺(Cys, 20 g L⁻¹)后, PS 不出现(n=8)或 PS 增幅不及 10 % (n=3); ih GABA (200 g L⁻¹)后, PS 增幅小于 30 %, 且有拮抗 SS 增强 LTP 的效应.

结论: SS 有易化 LTP 的作用, 而 GABA 则有相反的效应, 二者共同参与调控海马突触传递的信息, 从而影响学习和记忆.

关键词 海马; 微量注射; 生长抑素; 半胱胺; GABA; 回避性学习; 记忆

早老性痴呆症的记忆障碍程度与前脑范围内 SS 减少呈正相关性^[1], GABA 对学习记忆有重要影响^[2], 且与 SS 共存于海马同一神经元内^[3]. 本实验结合大鼠主动回避反应(active avoidance response, AAR)习得训练, 观察了海马内注射(ih) SS, SS 耗竭剂半胱胺(cysteamine, Cys)和 GABA 对海马 Schaffer 侧支至 CA1 区的突触传递效应长时程增强(long-term potentiation, LTP)现象的影响, 试图阐明海马内 SS 和 GABA 在调控学习记忆过程中所起的作用.

MATERIALS AND METHODS

实验分组 Wistar 大鼠 ♀ 62 只, 体重 320 ± 25 g. 分不给药和 ih 给药两大组. 不给药组下设正常对照组和 AAR 习得组; ih 组下设生理盐水(NS)组、SS 组、Cys 组、GABA 组和 SS+GABA 组. ih 组下

进行 AAR 习得训练。ih 时将微量注射器的针尖推至海马(P 3.0, LR 2.0, H 2.5), 1-2 min 内匀速注入药品, 30 min 后开始记录。

AAR 习得训练 用微机控制的穿梭箱训练大鼠 AAR 习得。穿梭箱两室底的铜栅分别通以 0.3 mA, 50 Hz 的交流电作为非条件刺激; 两室壁的灯光(6.3 V, 0.1 A)为条件刺激。先置大鼠于箱内适应 2 min 后按设定程序开始训练, 每天 20 次。大鼠在仅有灯光而无电击的时间内逃避到另一室, 便计入主动回避反应率(AAR-rate, AARR), AARR 连续 3 d 达 80 % 以上为习得达标。

Schaffer 侧支的刺激 大鼠 ip 25 % urethane 和 1 % chloralose 混合液 3 mL kg⁻¹ 麻醉。将同心圆刺激电极推置于 P 3.2, LR 2.3, H 3.0 以刺激 Schaffer 侧支。测试刺激用恒压方波, 频率 0.3 Hz, 波宽 0.1 ms, 刺激强度为引起峰电位最大振幅的 50 % 时的强度。强直刺激(tetanic stimuli, TS)为频率 100 Hz, 串长 1 s, 波宽和刺激强度与测试刺激相同。

LTP 的记录和数据处理 将金属微电极置于 CA1 区(P 4.1-4.3, LR 2.2-2.4, H 1.9-2.1)以记录由 Schaffer 侧支诱发的群体兴奋性突触后电位(pEPSP)和群体峰电位(population spikes, PS)。先施加测试刺激记录 3 次, 以 3 次的 PS 振幅平均值为产生 LTP 前的基础值, 然后施以 TS, 再继续以测试刺激记录 6 次。每次记录间隔 10 min。电生理仪为日本光电公司的 VC-10 型系列。每次的记录数据输入 Doctor-852 软件中的平均叠加程序作 4 次叠加处理。以 PS 增幅的相对百分率为指标。TS 后 PS 振幅较基础值增大 30 % 以上, 并持续 30 min 则认为该突触部位产生了 LTP。各个时相点的 PS 增幅相对百分率进行组间对照显著性 *t* 检验。

实验完毕, 用普鲁士蓝法进行电极尖端定位。

药品 SS、Cys、GABA 均为 Sigma 产品, 用 NS 分别配成 20 和 200 g L⁻¹, 并用 NaOH 1 mol L⁻¹ 调至 pH 7.0。每侧海马内给药 1 μL。

RESULTS

AAR 习得达标鼠 LTP 的变化 对照组 15 只鼠经 TS 后, 峰潜期明显缩短(TS 前为 3.18 ± 0.28 ms, TS 后为 2.67 ± 0.37 ms, *P* < 0.01), 6 个时相点所记录的 PS 振幅较 TS

前增加均达 30 % 以上, 符合 LTP 产生标准。LTP 习得达标的 9 只鼠经 TS 后的 PS 增幅达 100 % 以上, 与对照组比较差异非常显著 (*P* < 0.01, Fig 1)。可见 AAR 习得达标鼠的 LTP 显著增强。

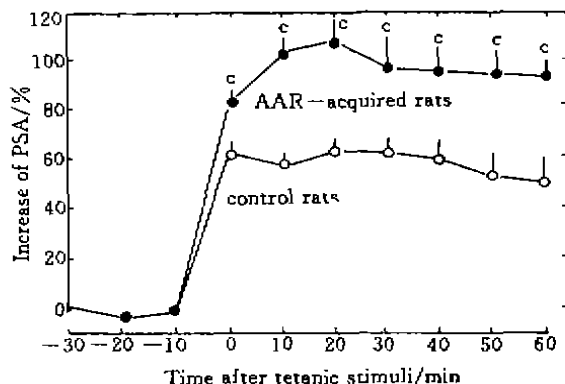


Fig 1. Increase rate (%) of PS amplitude (PSA) in hippocampal CA1 area. **P* < 0.01 vs control.

SS 对 LTP 的作用 大鼠 ih SS 后 30 min 开始实验。TS 后 6 次所记录的 PS 增幅均超过 120 %, 而 NS 组为 50 % 左右 (*P* < 0.01, Fig 2)。

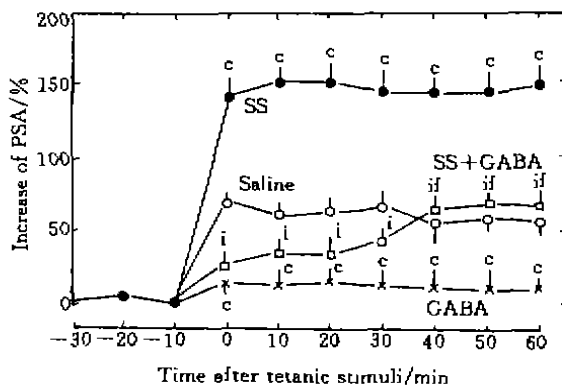


Fig 2. Increase rate (%) of PSA in hippocampal CA1 area. **P* < 0.01 vs saline, **P* < 0.01 vs GABA, **P* < 0.01 vs SS.

Cys 对 LTP 的作用 ih Cys 后, 对 LTP 的产生有阻抑作用 (*P* < 0.01)。3 鼠在 TS 后,

其 PS 增幅均不到 10%，8 鼠在 TS 后无 PS 出现，1 鼠在 TS 前后 PS 振幅无变化。

GABA 对 LTP 的作用 ih GABA 后 6 鼠的 6 次记录，其 PS 增幅均低于 30%，低于 NS 组 ($P < 0.01$, Fig 2, Fig 3C)。

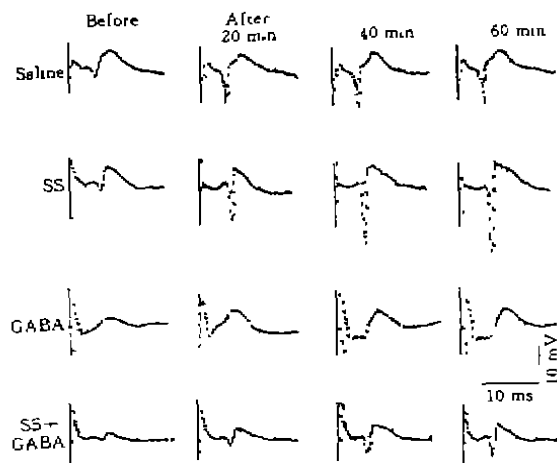


Fig 3. Population response of hippocampal CA1 area before and after tetanic stimuli.

SS 和 GABA 对 LTP 的作用 ih SS 后 5 min 再 ih GABA，30 min 后进行记录。6 鼠的 6 次记录结果表明，其 PS 增幅为 35%—65%，均符合 LTP 产生的标准；较单一 ih GABA 的结果要高，而较单一 ih SS 的结果低 ($P < 0.01$, Fig 2, Fig 3)。

DISCUSSION

本实验在海马 CA1 区记录到的 LTP 符合其产生的标准^[4]，并进而证实了大鼠学习记忆行为的增进与 LTP 效应之间有显著的正相关性；在海马内注入 SS 后，见到 CA1 区 LTP 效应明显增强，而在海马内注入 SS 的特异性耗竭剂 Cys 后，LTP 的诱出便明显受阻，迄今虽未见类似报道^[5]，但却与 Cys 可损害大鼠学习记忆行为的报道甚为相似^[6]。由此表明海马内源性 SS，很可能是突触部位信息贮存和传

递的一种重要的递质或调质。

海马内 90% 的 SS 神经元含有 GABA；脑内 GABA 水平升高对学习记忆有负性影响；SS 通过突触后 GABA 受体而起作用^[3,7,8]。本实验则用电生理学方法证实，SS 有拮抗 GABA 对 LTP 的抑制作用，表明 SS 和 GABA 能共同影响海马 LTP 和突触部位信息的贮存和传递，进而调控学习记忆活动。

本实验未用 AAR 习得达标鼠，观察 SS 和 GABA 对 LTP 的影响，是一不足，有待研究。

REFERENCES

- 1 Roberts GW, Crow TJ, Polak JM. Location of neuronal tangles in somatostatin neurones in Alzheimer's disease. *Nature* 1985; 314:92-4.
- 2 Vecsei L, Bollók I, Penke B, Telegdy G. Somatostatin and (d-Trp⁶, d-Cys¹⁴)-somatostatin delay extinction and reverse electroconvulsive shock induced amnesia in rats. *Psychoneuroendocrinology* 1986; 11: 111-5.
- 3 Lacaille J-C, Mueller AL, Kunkel DD, Schwartzkroin PA. Local circuit interactions between oriens/alveus interneurons and CA1 pyramidal cells in hippocampal slices: electrophysiology and morphology. *J Neurosci* 1987; 7: 1979-93.
- 4 Bliss TVP, Lømo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol (Lond)* 1973; 232: 331-56.
- 5 Matsuoka N, Kaneko S, Satoh M. Somatostatin augments long-term potentiation of the mossy fiber-CA3 system in guinea-pig hippocampal slices. *Brain Res* 1991; 553: 188-94.
- 6 DeNoble VJ, Hepler DJ, Barto RA. Cysteamine-induced depletion of somatostatin produces differential cognitive deficits in rats. *Brain Res* 1989; 482: 42-8.
- 7 Twery MJ, Gallagher JP. Somatostatin depresses GABA receptor-mediated inhibition in the rat dorsolateral septal nucleus. *Brain Res* 1990; 519: 277-86.
- 8 Zhang SS, Zhu TJ, Zhang DS, Chen XY. Effects of cerebral GABA level on learning and memory. *Acta Pharmacol Sin* 1989; 10: 10-2.