科 学 通 报
第 39 卷 第 19 期 CHINESE SCIENCE BULLETIN 1994 年 10 月

电刺激视神经对鲫鱼视杆双极细胞反应的影响*

王海龙 魏继业 杨雄里
(中国科学院上海生理研究所，上海 200031)

关键词 离中纤维、双极细胞、电刺激视神经

进入视网膜的离中纤维首先是在鸟类得到证实[1]. 起源于视峡核(ION)并进入视网膜的离中纤维直接与无长突细胞(AC)形成突触联系. 电生理学研究显示，这些纤维的活动能引起大多数神经节细胞(GC)反应性的增强. 这可能是因为对 GC 提供抑制性输入的 AC 受到离中纤维抑制所致. 近年来，许多工作表明，离中纤维存在于大多数动物(包括硬骨鱼类[2])的视网膜中. 电刺激视神经能使 AC 产生兴奋性突触后电位(EPSP). 在硬骨鱼类，离中纤维含有促生长素释放激素(GnRH)和软体动物心脏兴奋肽(FMRM-amide)样多肽[3]. 晚近，有报道指出，这些纤维在多巴胺能的网间细胞(DA-IPC)上形成常型突触[4]，而后者又与视锥水平细胞(Cone-HC)及双极细胞(BC)形成联系. 这些纤维也可能水平地行走于外网状层(OPL)。在那里直接作用于 BC 的突起以及胞体上[5]. 这些形态学上的证据提示离中纤维可能调制 BC 的活动. 本工作应用在位鲫鱼眼杯标本证明电刺激视神经能压抑视杆双极细胞(Rod-BC)对光反应的去极化成分，清楚地显示了离中纤维对 BC 的影响.

1 材料和方法

1.1 标本

实验标本的详细描述参见文献[6]. 简言之，鲫鱼(*Carassius auratus*)用三碘季胺酚麻痹，以通氧循环水维持人工呼吸，并用环形托架保持左眼位置的稳定. 在通常的室内照明下(150 lx)，用手术摘除左眼角膜和晶状体后. 将微电极由液压微操纵器推进，从玻璃体一侧插入视网膜，胞内记录限于视盘周围的中央视网膜区. 标本通常保持良好状态达 12 h 以上.

1.2 光刺激器

光刺激器产生 2 条几乎相同的光束投射至视网膜，每束光的强度和颜色均能按需要用中性滤光片和干涉滤色片而独立改变，两束光产生互相重合的光点，直径为 2.5 mm，对准电极尖端. 在视网膜表面，颜色光(700 nm)未衰减的光强($\log I=0$)为 2.4×10^{17} 光子 · cm^{-2} · s^{-1}. 文中光强均以相对于该强度的对数单位表示.

1.3 记录系统

用作胞内记录的玻璃微电极充灌 2 mol/L 醋酸钾，在玻璃体内测定阻抗为 50— 150 MΩ，

1993-12-24 收稿，1994-05-26 收修改稿.
* 国家"攀登计划"、美国国立健康研究院及国际人类前沿科学规划基金资助项目.

微电极经由直流放大器(Nikon Koden MEZ-8201)与记忆示波器相联. 数据存储在磁带数据记录仪(MR-10C, TEAC)中,以后经笔线记录仪描绘,或经计算机系统处理.

1.4 电刺激装置

手术分离鱼的左眼视神经,2 根相距 0.5 mm 的钨丝电极被放于视神经上. 在胞内记录的同时,对视神经施加电刺激. 曾采用各种不同参数的电刺激,以 100 Hz, 1 mA 的连续方波刺激最有效.

2 结果和讨论

作者集中于一种以视杆输入为主、给光中心的 BC[7]. 由于实验中采用的弥散的大光斑同时激活细胞感受野的中央和周围区域,因此胞内记录 BC 的对光反应表现为在弱光刺激时主要呈去极化,而对强光的刺激表现为快速的去极化以及略为延迟的超极化成分. 这种以视杆输入为主、给光中心的 BC 按以下标准鉴定. 首先,去极化成分的光谱敏感峰在 520 nm(鲤科鱼视网膜视杆色素的光谱敏感峰 $\lambda_{max}\approx 520$ nm). 其次,去极化反应易被强刺激光所压抑. 图 1(a) 显示等量子光强($\log I=-3.9$)单色闪光(时程 500 ms)引起的该细胞的对光反应,敏感峰值在 520 nm 附近. 图 1(b) 显示同一细胞分别对间隔 10 s 的 680 nm($\log I=-0.19$)和 500 nm($\log I=-0.88$)闪光刺激的反应. 对以此间隔重复施加的 680 nm 光刺激反应波形保持不变;而相对较弱的 500 nm 闪光,第二次闪光即不再能诱发去极化成分,这是由于前 1 次闪光引起的对该成分的压抑所致. 这些结果表明该细胞确实主要是接受视杆的输入. 在其它 5 个细胞上观察到同样的结果.

图 2 显示了在暗视条件下,电刺激视神经对这种 BC 对光反应的影响. 测试光为间隔 10 s 的 680 nm 的闪光,所引起的对光反应中的去极化成分为 4 mV(图 2-1), 当电刺激开始后该成分即逐渐减小(图 2-2—4), 60 s 之后减至 1 mV. 电刺激持续 60 s. 去极化成分在停止电刺激后恢复

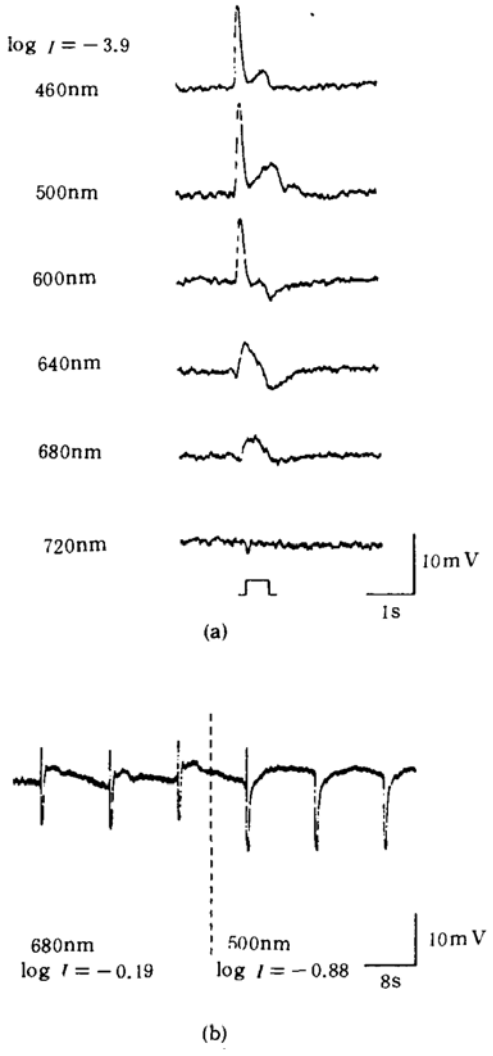


图 1

(a) 显示视杆双极细胞对等量子光强($\log I=-3.9$)的单色光点(直径为 2.5 mm)刺激所产生的对光反应,敏感峰值在 520 nm 附近. 波形下方波表示光刺激信号. (b)显示同一细胞对间隔 10 s 的 680 nm($\log I=-0.19$) 和 500 nm($\log I=-0.88$) 闪光刺激的反应,注意去极化波形在第二次 500 nm 的刺激光照射时因前一次光照的压抑不再出现

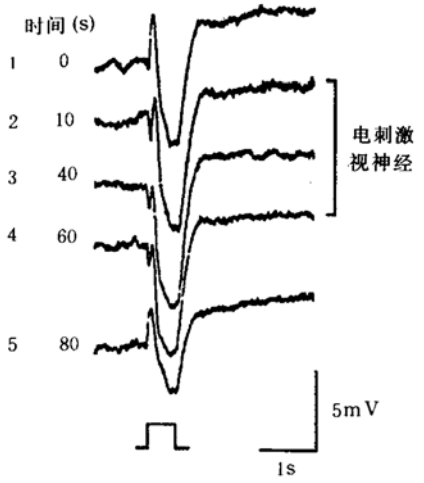


图 2 显示在暗视条件下电刺激视神经对视杆输入的给光中心双极细胞的影响

测试光为间隔 10s 的 680nm 的闪光，所引起的对光反应中的去极化成分为 4mV(1)，在电刺激(100Hz，1mA)后逐渐减小(2，3，4)，60s 之后降至 1mV．电刺激持续 60s．去极化成分在停止电刺激后恢复(5)．去极化成分在幅度减小的同时出现延迟．超极化成分在电刺激过程中没有明显变化．左侧显示电刺激的时间(s)．波形下方波表示光刺激信号

(图 2-5)．值得注意的是去极化成分在幅度减小的同时出现延迟，而超极化成分在电刺激过程中并无明显变化．虽然离中纤维对 AC 和 GC 的影响已有许多报道，但就作者所知，本工作的结果是在生理学上表明远端视网膜神经元 —— BC 的活动受到离中纤维的影响．

基于形态学观察的结果，离中纤维对 BC 的作用可经由两条途径实现．一条途径是通过离中纤维与 BC 的突起或胞体的直接接触．另一条可能的途径是经由 DA-IPC 实现．据报道，硬骨鱼离中纤维在 DA-IPC 上形成突触，后者发出的突起在 OPL 与 HC 和 BC 形成突触联系．关于 DA 对这些细胞的影响已经有详细的研究[8]．如果离中纤维调制 IPC 释放 DA，可以预期电刺激离中纤维将影响 BC．最近有工作报道 GnRH 可以模拟 DA 使 HC 感受野减小作用．DA 对 BC 作用的了解甚少，Hedden 等 (1978) 曾报道，DA 使 BC 的感受野中心的给光去极化反应增加，恰与本文的结果相反．关于视网膜释放 DA 的机制，存在着不同的观点，有工作提示 DA-IPC 在长时间暗适应或重复的连续闪光条件下释放 DA．但也有工作强调 DA 主要在持续光照时释放．本实验室最近的结果提示长时间的暗适应引起 DA 的持续性释放[9]．纵观上述，Rod-BC 被压抑的结果表明电刺激视神经可能减少了离中纤维释放 GnRH．值得一提的是，我们的实验结果表明，电刺激对视杆水平细胞 (Rod-HC) 和 Cone-HC 的膜电位或对光反应的幅度均无影响，这可以解释为什么 Rod-BC 反应的超极化成分在电刺激视神经时并无明显变化．

参 考 文 献

[1] Cowan, M. W., *Br. Med. Bull.*, 1970, **26**: 112—118.
[2] Uchiyama, H., *Visual Neurosci.*, 1989, **3**: 183—206.
[3] Stell, W. K. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984, **81**: 940—944.
[4] Zucker, C. L. *et al.*, *Nature*, 1987, **330**: 166—168.
[5] Ball, A. K. *et al.*, *Neurobiology of the Inner Retina* (eds. Weilar, R., Osborne, N. N.), Springer-Verlag, Berlin, 1989, 103—116.
[6] 王海龙等，科学通报，1993, **38**(22): 2082—2084.
[7] Buzuki, S. *et al.*, *Neurosci. Lett.* (suppl.), 1991, **15**: 107—115.
[8] Dowling, J. E., *Neurosci.*, 1989, **1**: 35—43.
[9] Yang, X. L. *et al.*, *J. Neurasci.*, 1994, **14**: 326—334.