

Fare Colliculus Inferiore Sinir Hücreleri Üzerine Asetilkolinin Etkileri

Ramazan BAL* Hayrullah KÖSE**

Geliş Tarihi: 16.09.2001

Özet: Bu çalışmada nörotransmitterlerden asetilkolinin colliculus inferiore sinir hücrelerini ne şekilde etkilediğinin belirlenmesi amaçlandı. Fare colliculus inferiore’unda yer alan sinir hücrelerinden tüm hücre patch clamp tekniğini kullanılarak hücre içi kayıtlar alındı. Düzenli ateşleme modeli oluşturan sinir hücrelerinin kendiliğinden oluşan aktiviteleri ve katot ile anot akımları uygulanarak uyarılan aktiviteleri kaydedildi. Küçük miktardaki katot akım uygulamaları (0.05-0.15 nA) ile çok sayıda aksiyon potansiyeli oluşturuldu. Dinlenme zar potansiyelinin anot akımlarla hiperpolarize edildikten sonra aynı miktarlarda katot akım uygulamalarına yanıt olarak, aynı hücrelerde uyarılan aksiyon potansiyel sayısının belirgin olarak azaldığı gözlemlendi. Perfüzyon solusyonu içerisinde uygulanan asetilkolinin (0.05 mM), dinlenme zar potansiyelini 17 mV değerinde depolarize ettiği, kendiliğinden oluşan aksiyon potansiyel sayısını belirgin olarak artırdığı, ve membran potansiyelinde dalgalanmalar meydana getirdiği gözlemlendi. Sonuç olarak, asetilkolinin colliculus inferiore’un sinir aktivitesini artırdığı belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Asetilkolin, colliculus inferiore, hücre içi kayıt

Effects of Acetylcholine on Mice Inferior Colliculus Neurons

Summary: In this study, it was aimed to study the effects of acetylcholine, a neurotransmitter, on neurons in the inferior colliculus. Intracellular recordings using the whole cell patch clamp technique were made from neurons of mice inferior colliculus. Spontaneous activity and the evoked responses elicited with depolarizing and hyperpolarizing current pulses were recorded from neurons with regular firing pattern. Small amounts of current injections (0.05-0.15 nA) caused the cells to fire many action potentials. The same amount of currents following the preconditioning hyperpolarizing pulses ended up with less action potentials. The application of acetylcholine added in the perfusing solution (0.05 mM) depolarized the resting potential by 17 mV, increased the number of action potential occurred spontaneously and caused the membrane potential record to be uneven. In conclusion, acetylcholine increased the activity of inferior colliculus.

Key Words: Acetylcholine, inferior colliculus, intracellular recording.

Giriş

Colliculus inferiore, memelilerin işitme sistemi ile ilgili beyin korteksine giden ve beyin korteksinden alt çekirdeklere giden iletim sistemlerinin zorunlu geçiş yaptığı veya sinaps yaptığı bir çekirdektir^{7,9,10,25,27,28}. Colliculus inferiore’nin merkez çekirdeği, buradaki disk şekilli sinir hücrelerinin akson ve dendritlerinden ve lateral

lemniscus’ta yer alan sinir hücrelerinin aksonal uzantıları tarafından meydana getirilen fibrodendritik laminalardan oluşmuştur^{10,22,28}.

Asetilkolinin muskarinik reseptörler aracılığı ile oluşturduğu uyarım beyin fonksiyonunda önemli bir hücresel olaydır. Asetilkolinin normal colliculus inferiore’un fonksiyonunda da önemli bir görevi olduğu düşünülmektedir²². Çünkü collicular inferiore’un tüm bölgelerinde muskarin

* Yrd. Doç. Dr.; Fizyoloji AD, Veteriner Fakültesi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Antakya/Hatay.

** Dr.; Biyofizik AD, Tıp Fakültesi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın.

reseptörlerini boyayan quinuclidinyle benzilate'a (QNB) karşı yüksek seviyede bir immuno-reaksiyon belirtilmiştir¹². IC'ya, cerebral korteks'ten kaynaklanan descending bağlantılarının olduğu bildirilmiştir¹². Bu şekildeki işitme sisteminin her seviyesinde, sinirsel geribildirim devrelerinin önemli olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte kolinerjik eferent uyarılarının IC'daki fonksiyonu tam olarak anlaşılamamıştır. Medial olivokohlear sinir liflerinin (MOC), cochleanın mekanizmasını değiştirerek 8. sinir liflerinde aksiyon potansiyeli oluşumunu baskıladığı ve ayrıca direk ve indirek olarak cochlear çekirdeklerdeki sinir hücrelerinde de aksiyon potansiyeli oluşumunu baskıladığı bildirilmiştir¹³. Medial olivokohlea aracılığı ile oluşan baskılamamanın, cochlea'yı gürültünün tahrip edici etkisinden korumaya yönelik olduğu^{23,30} ve gürültüde sinyallerin algılanabilmesine yardımcı olduğu¹⁹ bildirilmiştir. Asetilkolinin IC'da uyarım meydana getirmesi, alt işitme yolu üzerinde bulunan çekirdeklerinde baskılanan uyarımın tekrar normal seviyeye çıkartılması ile ilgili olduğu düşünülebilir¹¹.

Omurgalı hayvanların sinir hücrelerinin asetilkolin ile uyarılması çoğunlukla atropine duyarlı muskarinik reseptörler aracılığı ile meydana gelir. Muskarinik reseptörlerin aracılığıyla uyarılabilirliğin değişmesi G-protein ile bağlantılı olarak gerçekleşir. Bu tür uyarım temelde nikotinik reseptörlerin neden olduğu uyarımdan farklıdır. Muskarinik reseptörlerin G-protein ile bağlantılı olarak uyarılabilirliği değiştirmesi dolaylı olarak iyon kanallarını etkilemesiyle meydana gelir. Muskarinik reseptörler tarafından değiştirilen iyon akımları arasında, hippokampal ve neostriyal sinir hücrelerinde A-akımı²⁶, strial spinny sinir hücrelerinde sürekli potasyum akımı, dorsolateral septal çekirdeği ve asosiyasyon korteksin sinir hücrelerinde seçici olmayan katyon akımı yer almaktadır^{14,15}. Nikotinik reseptörler, voltaj kapılı iyon kanalları ile etkileşime girerek uyarılabilirlikte değişikliğe neden olurlar¹⁶. Collicular inferiore sinir hücre membranlarının özelliklerinden dolayı, iyon akımlarındaki küçük değişiklikler hücrenin aksiyon potansiyeli uyarılma frekansında büyük değişikliklere neden olmaktadır⁴. Colliculus inferiore, işitme ile ilgili duyu sisteminin ilk işleme istasyonu olduğundan sinir hücrelerinin uyarılabilirliğindeki değişimler duyu bilgilerinin işlenmesinde de etkili olacaktır.

Bu çalışmada colliculus inferiore'deki kolinerjik uyarımların colliculus inferiore'un merkez çekirdeğindeki sinir hücreleri üzerinde

meydana getirdiği etkilerini araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Tüm deneyler, Wisconsin-Madison Üniversitesi'nin 'Hayvan kullanım komitesinin kural-larına uygun şekilde yapılmıştır.

Kesitlerin hazırlanması:

Bu çalışmada 18-21 günlük beş adet ICR cinsi fare kullanıldı. Hayvanlar dekapite edildikten sonra başları, 130 mM NaCl, 3 mM KCl, 1.2 mM KH₂PO₄, 2.4 mM CaCl₂, 1.3 mM MgSO₄, 3 mM HEPES ve 10 mM glukoz (%95 O₂ ve %5 CO₂ ile doyurulan) içeren yapay beyin omurilik sıvısı (aCSF) içerisine kondu (31°C). Colliculus inferiore'nin colliculus superiore ile birlikte diseksiyonu yapıldı ve vibrotom ile 175 µm kalınlıkta kesitler alındı. Kesitler bir saklama kabına konarak 95% O₂ ve 5% CO₂ içeren gazla sürekli olarak oksijenlendi. Kesitler kayıt odasına alındıktan sonra inverted mikroskop (Zeiss, X63 suya girebilen lens kullanarak) ile incelendi. Kesitler kayıt odasında da sürekli olarak aynı içerikli gaz ile oksijenlenmiş aCSF ile beslendi. Yapay beyin omurilik sıvısının dakika akış hızı 7 ml ve sıcaklığı ise 33°C olarak ayarlandı. Oksijenlemenin iki temel nedeni; sinir hücrelerinin sürekli ihtiyacı olan oksijen sağlanması ve aCSF solusyonunun pH'sını 7.3 değerinde dengede tutmak için bikarbonat tampon sisteminin kullanılmasıdır. Asetilkolinin sinir hücrelerine uygulanması perfüzyon solusyonun içine katılarak yapıldı.

Elektrofizyoloji:

Tüm hücre patch clamp kayıtları, 200A amplifier (Axon instruments) hızlı akım clamp'ına ayarlanarak yapıldı. Patch mikroelektrotları, dış çapları 1 mm ve iç çapları 0.58 mm olan ve iç yüzeyinde bir flaman bulunan borosilikat kapıllardan (World Precision Instruments, Sarasota, FL., USA) yapıldı. Mikroelektrot, içeriği 108 mM K-gluconate, 4.5 mM MgCl₂, 14 tris2-fosfokreatinin, 9 mM HEPES, 9 mM EGTA, 4 mM Na₂-ATP ve 0.3 mM tris-GTP (pH'ı 7.4) olan pipet solusyonu ile doldurulduğunda mikroelektrodun uç direnci, 5-8 MΩ olarak ölçüldü. Oluşan kapasitansı azaltmak için elektrotlar uçlarına kadar Sylgard ile kaplandı. Tüm kimyasal maddeler Sigma'dan temin edildi.

Verilerin kaydedilmesi:

Hedef hücre seçildikten sonra hücre içi kayıtlar almak için, mikroelektrota negatif emme basıncı uygulayarak tüm hücre patch clamp konfigürasyonu elde edildi. Analog veriler, 5-10 KHz'de filtre edildikten sonra veriler pClamp (versiyon 8, Axon instruments) ile idare edilen Digidata 1320 dönüştürücü ile 10-40 KHz frekanslarda dijital sisteme dönüştürülerek bilgisayarda kaydedildi. Üretilen veriler aynı zamanda kayıt kağıtlarına yazdırıldı. Pipet solusyonu ile aCSF arasında meydana gelen 12 mV değerindeki kavşak(junction) potansiyelinden dolayı, voltaj kayıtlarında aynı miktarda bir düzeltme yapıldı. Sonuçlar, ortalama $\pm$ standard hata (N) ($\bar{x} \pm S_x$, (N)) olarak verildi. N, analiz için hesaba alınan sinir hücresi sayısını temsil etmektedir

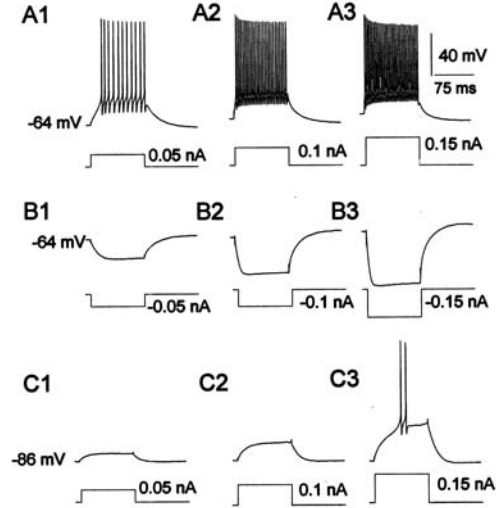
Bulgular

Patch clamp tekniğinde colliculus inferiore sinir hücrelerinin normal membran özellikleri:

Colliculus inferiore'nin merkez çekirdeğinde yer alan sinir hücrelerinin hücre içi kayıtları tüm hücre patch clamp tekniği kullanılarak alındı. Sadece sağlıklı hücrelerden kayıt alındı. Bu nedenle yalnızca yirmi dakika veya daha uzun süreli kayıtlar elde edilebilen ve dinlenme potansiyeli -50 mV ve daha negatif değerli olan sinir hücreleri değerlendirmeye alındı. Ortalama dinlenme zar potansiyeli -56 ± 5 mV (n=5), membran zaman sabitesi, 7 ± 2 ms (n=5) ve membran direnci ise 150 ± 40 M Ω (n=5) olarak hesaplandı. Bu değerler, dinlenme zar potansiyeline çok yakın negatif potansiyellerde en az seviyede iyon kanalları aktif olduğu için küçük değerlikli anot akımlarına yanıt olarak oluşan voltaj kayıtlarından elde edilmiştir.

Bu kayıtlarda sadece tek bir IC sinir hücresinde kendiliğinden oluşan aksiyon potansiyeli meydana geldiği, diğerlerinde ise engelleyici ve uyarıcı sinaptik potansiyellerin olduğu, fakat kendiliğinden aksiyon potansiyeli oluşmadığı gözlemlendi. Şekil 1'de görüleceği gibi, IC sinir hücreleri, çok küçük miktarlardaki katot akım uygulamalarına çok sayıda aksiyon potansiyeli oluşturarak cevap vermiştir. Uygulanan akım miktarı artırıldıkça doğru orantılı olarak aksiyon potansiyeli sayısının da arttığı gözlemlendi. Anot akım uygulandığında ise, membran potansiyeli negatif değerler kazandı ve negatifliğin derecesi ise anot akımının miktarı ile orantılı olarak bulundu (Şekil 1 B). Membran katot akımları öncesinde anot a-

kımlarla hiperpolarize edildiğinde yani negatifleştirildiğinde aynı miktarlardaki katot akımlara yanıt olarak meydana getirdiği aksiyon potansiyeli sayısının belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi (Şekil 1 C).

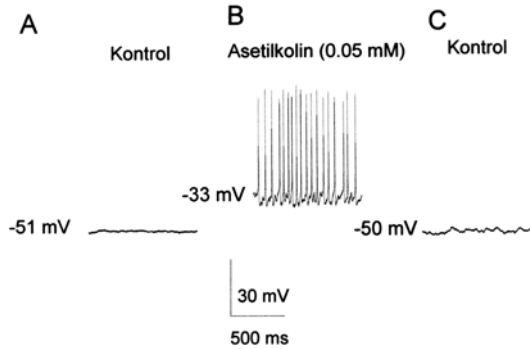


Şekil 1:

Colliculus inferiore sinir hücrelerinin normal membran özellikleri. A: Sinir hücresinde +0.05 (A1), +0.1 (A2) ve +0.15 nA (A3) miktarlarda doğru akım enjeksiyonlarına yanıt olarak oluşan voltaj cevapları görülmektedir. B: Aynı sinir hücresine aynı miktarlarda fakat anot yapıda akımlar verildi. C: Aynı sinir hücresi anot akımlarla, normal dinlenme zar potansiyeli daha negatif değerlere kaydırıldıktan sonra aynı miktarlarda (+0.05 (C1), +0.1 (C2) ve +0.15 nA (C3)) katot akımları uygulandığında aksiyon potansiyel sayısının azaldığı gözlemlendi.

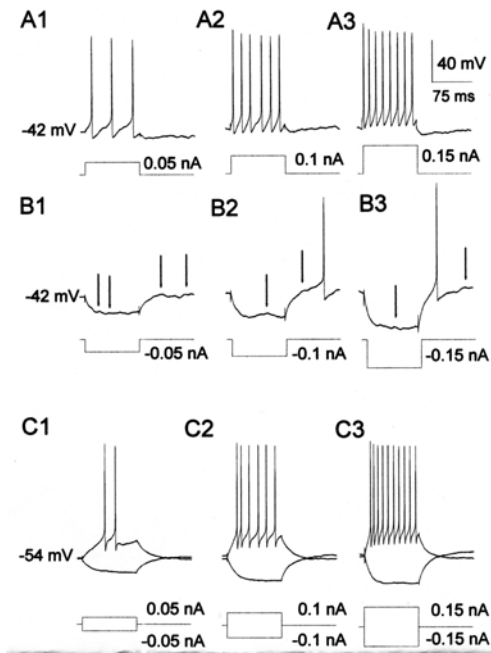
Asetilkolinin sinir hücresinin kendiliğinden oluşan aktivitesi üzerine etkisi Asetilkolin, perfüzyon çözeltisi içerisine katılarak sinir hücrelerine uygulandı. Uygulanmasından yaklaşık iki dakika sonra kademeli olarak dinlenme zar potansiyelinin daha pozitif değerlere kaydığı gözlemlendi. Asetilkolinin (0.05 mM) varlığında dinlenme zar potansiyeli -39 ± 3 ms (n=5) olarak hesaplandı. Dinlenme zar potansiyelindeki artışın miktarının, hücreden hücreye değiştiği gibi aynı hücrede de zamana bağlı olarak değiştiği gözlemlendi. Dinlenme zar potansiyelindeki depolarizasyonun miktarı istatistiki olarak önemli ($P < 0.001$, n=5) olarak bulundu. Kontrol şartlarında sadece tek bir sinir hücresinde kendiliğinden aksiyon potansiyeli oluştuğu gözlemlendi. Bu sinir hücresinde asetilkolinin uygulanmasıyla, kendiliğinden oluşan aksiyon potansiyeli sayısında bir artış görüldü

Asetilkolin, diğer colliculus inferiore hücrelerinde çok sayıda kendiliğinden oluşan aksiyon potansiyellerinin görülmesine neden oldu. (Şekil 2).



Şekil 2:

Asetilkolin, perfüzyon solusyonu ile hücreye uygulandığında kendiliğinden aksiyon potansiyeli oluşturmeyen colliculus inferiore sinir hücresi (A) çok sayıda aksiyon potansiyeli oluşturdu (B). Asetilkolin hücre ortamından uzaklaştırıldığında sinir hücresi tekrar normale döndü.



Şekil 3:

Asetilkolinin katot (A) ve anot (B) akımları ile oluşan voltaj cevaplarında meydana getirdiği etki. Akım büyüklükleri akım protokolünün yanında gösterilmiştir. C: Asetilkolinin perfüzyon ile hücre ortamından uzaklaştırılmasından sonra elde edilen hücre içi kayıtları. Asetilkolin varlığında (A ve B) membran voltajının zaman zaman dalgalandığı ve asetilkolinin ortamdan uzaklaştırılması ile bu dalgalanmaların kaybolduğu görülmektedir.

Asetilkolinin akımlara yanıt olarak oluşan aktivite üzerine etkisi:

Asetilkolinin, katot akımlarına yanıt olarak meydana gelen aksiyon potansiyeli sayısı üzerine etkisinin değişken olduğu gözlemlendi. Bazı hücrelerde, asetilkolinin aksiyon potansiyeli sayısını belirgin olarak artırdığı, bazı hücrelerde ise değiş-tirmede olduğu gözlemlendi. Buna bağlı olarak da membran voltajının dalgalandığı tespit edildi. Bu dalgalanmalar Şekil 3 B'de belirgin olarak görülmektedir (oklarla gösterilmiştir). Aynı hücre daha sonra perfüzyon sıvısıyla yıkanarak asetilkolinden arındırıldığında membran voltaj kayıtlarının normalleştiği, dalgalanmaların kaybolduğu, membran potansiyelinin negatifleştiği belirlendi (Şekil 3 C).

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışma, colliculus inferiore'nin sinir hücrelerinin kendiliğinden oluşan ve uyarılan aktivitelerinin *in vitro* şartlarda asetilkolin tarafından değiştirildiğini gösteren ilk sistematik çalışmadır. Le Beau ve ark.²⁰ *in vivo* şartlarda hücre dışı kayıt tekniğini kullanarak colliculus inferiore sinir hücrelerinin yanıtlarını iyontoforik olarak uygulanan GABA ve glisin yanıt olarak değiştiğini göstermişlerdir³¹. Bu çalışmada deneylerin düzenli uyarılma modeline sahip hücre tiplerinde yapılması (Şekil 1) Le Beau ve arkadaşlarının²⁰ sonuçları ile karşılaştırma açısından önemlidir. GABA ve glisin, colliculus inferiore hücrelerinde baskılayıcı etki oluşturarak, sinir hücrelerinin uyarılma yeteneğini azaltmışlardır. Bunun temel nedeni, engelleyici sinaps sonrası potansiyellerin (IPSP) artmasıyla zar dinlenme potansiyelinin daha negatif değerler kazanması ve böylece sinir hücrelerinin daha az sayıda aksiyon potansiyeli oluşturmalarıdır. Yapılan çalışmada, anot akımları ile negatifleştirilen zar dinlenme potansiyelinin, oluşan aksiyon potansiyeli miktarını azalttığı anlaşılmıştır (Şekil 1 C). Bu bulgu, Le Beau ve arkadaşlarının²⁰ verilerini destekler niteliktedir. Hücre zarının dinlenme potansiyelinden daha negatif voltajlarda, aksiyon potansiyeli oluşumunun azalmasında, potasyum A-akımının büyük rol oynadığı bilinmektedir^{16-18,32}. Potasyum A-kanalları dinlenme zar potansiyelinden daha negatif değerlerde olduğunda etkin hale geçerler^{1-3,8}. Potasyum akımları, sinir hücrelerinin uyarılabilirliğinde baskılayıcı nitelikte bir etki oluşturduklarından, bu etkinin sinir hücresinin uyarılma yete-

neğini değiştirdiği ve aksiyon potansiyel oluşturma yeteneğini belirgin olarak azalttığı bildirilmiřtir²⁴.

Bu çalışmada, asetilkolinin kendiliğinden aksiyon potansiyeli oluşturmayan sinir hücrelerinde çok sayıda aksiyon potansiyeli oluşturmasına neden olduğu ve normalde kendiliğinden aksiyon potansiyeli oluşturan tek sinir hücresinde ise ortaya çıkan aksiyon potansiyeli sayısında belirgin bir artışa neden olduğu belirlendi. Dinlenme zar potansiyelinin 17 mV depolarize voltajlara kaydığı gözlendi. Bu iki gözlemin birbiri ile ilişkili olduğu bu konuda çalışan diğer araştırıcılar tarafından da¹¹ vurgulanmaktadır. Dinlenme zar potansiyeli 17 mV kadar depolarize olduğunda, sodyum kanalları aktivasyon eşik değerine çok yakınladığından, az miktarda oluşan uyarıcı sinaps sonrası potansiyellerle (EPSP), aksiyon potansiyelleri daha kolay ortaya ıkmaktadır^{4,16,21,23,28}. Bu çalışmada, kendiliğinden oluşan aksiyon potansiyeli miktarının arttığı gözlenmiştir (şekil 2).

Asetilkolinin, zar potansiyelinde dalgalanmalar oluşturduğu belirlendi (şekil 2 B ve şekil 3 A ve B). Voltaj kayıtlarındaki bu tür dalgalanmaların anterioventral kohlear çekirdekte bulunan stellate hücrelerinde de asetilkolin uygulamasına bağlı olarak geliştiği bildirilmiřtir¹¹. Asetilkolinin, muskarinik ve nikotinik reseptörlerin her ikisini de etkilediğini bildirenlerin yanısıra¹⁴⁻¹⁶, Fujino ve Oertel¹¹ böyle bir etkinin nikotinik reseptörlerden ileri geldiğini ne sürmektedir. Diğer taraftan nikotinle ilişkilendirilen böyle bir etkinin yanı sıra muskarinik reseptörlerden kaynaklanan ayrı bir etkinin de gözlendiği bildirilmiřtir¹¹. Bu çalışmada colliculus inferiorem sinir hücrelerinde ortaya çıkan dalgalanmalar, muskarinik ve nikotinik reseptörlerin birlikte çalışmasıyla bu dalgalanmaların oluştuğunu bildiren araştırıcıların verileriyle benzerlik göstermektedir. Asetilkolin, G-proteinle ilişkili olarak muskarinik reseptörler üzerinden etkisini başlatarak, başta potasyum kanalları olmak üzere bir çok iyon kanallarının etkinleşmesine neden olur. Muskarinik reseptörlerin aktivasyonuyla, kalsiyum ile aktifleşen potasyum akımının, M-akımının ve hücre içine doğru akan düzeltici potasyum akımının baskılandığı bildirilmiştir^{5,6,33,34}. Nakajima ve arkadaşları²⁶ colliculus inferiorem sinir hücrelerinde asetilkolinin fizyolojik olarak işlev gördüğünü belirlemişlerdir. Bununla birlikte asetilkolinin nörotransmitter olarak rolünün ne olduğu hakkında kesin bir bilgi elde edilememiş-

tir. Sonuç olarak, bu çalışma asetilkolinin, membran kanalları üzerine etkiyerek IC sinir hücrelerinin elektriksel davranışlarının etkinleşmesine neden olduğunu göstermiştir. Bunun fizyolojik olarak işitme sistemi ile ilgili bilgilerin kodlanmasında ne şekilde etkili olacağı hakkında var olan bilgiler ışığında kesin bir şey söylemek mümkün değildir. Medial olivokohlear sinir hücrelerinin, aşırı gürültülü bir ortamda kulakları korumak için kohlea'da baskılayıcı bir etki oluşturduğu buna karşın, işitme sistemiyle ilgili beyin korteksinden gelen, beyinden çıkan yollarla kohlear çekirdekte ve colliculus inferiorem'de muskarinik ve nikotinik reseptörler aracılığıyla söz konusu baskılamayı telafi etmek için tersi bir etki oluşturduğu kanısına varılmıřtır¹¹.

Kaynaklar

1. Bal R, Janahmadi M, Green GG, Sanders DJ: Effect of calcium and calcium channel blockers on transient outward current of F76 and D1 neuronal soma membranes in the subesophageal ganglia of *Helix aspersa*. J Membr Biol 2000; 173:179-85
2. Bal R, Janahmadi M, Green GG, Sanders DJ: Two kinds of transient outward currents, I(A) and I(Adepol), in F76 and D1 soma membranes of the subesophageal ganglia of *Helix aspersa*. J Membr Biol 2001; 179: 71-8.
3. Bal R, Oertel D: Hyperpolarization-activated, mixed-cation current (I(h)) in octopus cells of the mammalian cochlear nucleus. J Neurophysiol 2000; 84: 806-17.
4. Bal R: Potassium currents in identified *Helix aspersa* neurones and in rat inferior colliculus neurones. PhD Thesis, University of Newcastle, 1998.
5. Brown DA, Adams PR: Muscarinic suppression of a novel voltage-sensitive K⁺ current in a vertebrate neurone. Nature 1980; 283: 673-6.
6. Coggan JS, Purnyn SL, Knoper SR, Kreulen DL: Muscarinic inhibition of two potassium currents in guinea-pig prevertebral neurons: differentiation by extracellular cesium. Neuroscience 1994; 59: 349-61.
7. Coleman JR, Clerici WJ: Sources of projections to subdivisions of the inferior colliculus in the rat. J Comp Neurol 1987; 262: 215-226.
8. Connor JA, Stevens CF: Prediction of repetitive firing behavior from voltage clamp data on an isolated neuron soma. J Physiol 1971; 213: 31-53.
9. Faye-Lund H, Osen KK: Anatomy of the inferior colliculus in rat. Anat Embryol 1985; 171: 1-20.

10. Faye-Lund H: Projection from the inferior colliculus to the superior olivary complex in the albino rat. *Anat Embryol* 1986; 175: 35-52.
11. Fujino K, Oertel D. Contrasting cholinergic responsiveness of T and D stellate cells in the cochlear nucleus of mice. *Journal of Neuroscience* 2001;(Abstract).
12. Glendenning KK, Baker BN: Neuroanatomical distribution of receptors for three potential inhibitory neurotransmitters in the brainstem auditory nuclei of the cat. *J Comp Neurol* 1988; 275: 288-308.
13. Guinan JJ: Physiology of olivocochlear efferents. In: *The cochlea*. Dallos P, Popper AN, Fay RR, eds. New York: Springer, 1996; 435-502.
14. Haj-Dahmane S, Andrade R: Muscarinic activation of a voltage-dependent cation nonselective current in rat association cortex. *J Neurosci* 1996; 16: 3848-61.
15. Hasuo H, Akasu T, Gallagher JP: Muscarine activates a nonselective cation current through a M3 muscarinic receptor subtype in rat dorsolateral septal nucleus neurons. *J Neurophysiol* 1996; 76: 2221-30.
16. Hille B: *Ionic channels of excitable membranes*. Anonymous Sunderland: Sinauer Associates Inc., 1992.
17. Jan LY, Jan YN: Cloned potassium channels from eukaryotes and prokaryotes. *Annu Rev Neurosci* 1997; 20:91-123.
18. Jan LY, Jan YN: How might the diversity of potassium channels be generated? *Trends Neurosci* 1990; 13: 415-9.
19. Kawase T, Delgutte B, Liberman MC: Antimasking effects of the olivocochlear reflex. II. Enhancement of auditory-nerve response to masked tones. *J Neurophysiol* 1993; 70: 2533-2549.
20. Le Beau FEN, Rees A, Malmierca MS: Contribution of GABA- and glycine-mediated inhibition to the monaural temporal response properties of neurons in the inferior colliculus. *J Neurophysiol* 1996; 75: 902-919.
21. Llinas R, Sugimori M: Electrophysiological properties of in vitro Purkinje cell dendrites in mammalian cerebellar slices. *J Physiol* 1980; 305: 197-213.
22. Malmierca MS, Blackstad TW, Osen KK, Karagulle T, Molowny RL: The central nucleus of the inferior colliculus in rat: a Golgi and computer reconstruction study of neuronal and laminar structure. *J Comp Neurol* 1993; 333: 1-27.
23. Manis PB, Marx SO: Outward currents in isolated ventral cochlear nucleus neurons. *J Neurosci* 1991; 11: 2865-2880.
24. Manis PB: Membrane properties and discharge characteristics of guinea pig dorsal cochlear nucleus neurons studied in vitro. *J Neurosci* 1990; 10: 2338-2351.
25. Morest DK, Oliver DL: The neuronal architecture of the inferior colliculus: defining the functional anatomy of the auditory midbrain. *J Comp Neurol* 1984; 222: 209-236.
26. Nakajima Y, Nakajima S, Leonard RJ, Yamaguchi K: Acetylcholine raises excitability by inhibiting the fast transient potassium current in cultured hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci U.S.A* 1986; 83: 3022-6.
27. Oliver DL, Morest DK: The central nucleus of the inferior colliculus in the cat. *J Comp Neurol* 1984; 222: 237-264.
28. Oliver DL, Shneiderman A: The anatomy of the inferior colliculus: A cellular basis for integration of monaural and binaural information. In: *Neurobiology of Hearing: The central auditory system*. Altschuler R.A. ed. New York: Raven Press, 1991; 195-222.
29. Rajan R: Effect of electrical stimulation of the crossed olivocochlear bundle on temporary threshold shifts in auditory sensitivity. II. Dependence on the level of temporary threshold shifts. *J Neurophysiol* 1988; 60: 569-579.
30. Reiter ER, Liberman MC: Efferent-mediated protection from acoustic overexposure: relation to slow effects of olivocochlear stimulation. *J Neurophysiol* 1995; 73: 506-514.
31. Rose JE, Greenwood DD, Goldberg JM, Hind JE: Some discharge characteristics of single neurones in the inferior colliculus of the cat. I. Tonotopical organisation, relation of spike counts to tone intensity and firing pattern. *J Neurophysiol* 1963; 26: 294-320.
32. Rudy B: Diversity and ubiquity of K channels. *Neuroscience* 1988; 25: 729-49.
33. Wang HS, McKinnon D: Modulation of inwardly rectifying currents in rat sympathetic neurones by muscarinic receptors. *J Physiol* 1996; 492: 467-78.
34. Womble MD, Moises HC: Muscarinic inhibition of M-current and a potassium leak conductance in neurones of the rat basolateral amygdala. *J Physiol* 1992; 457:93-114.