

研究论文

## L-谷氨酸和卡巴胆碱对中脑腹侧被盖区多巴胺能神经元簇放电的影响

王姗姗, 魏春玲, 刘志强, 任维\*

陕西师范大学生命科学学院, 西安 710062

**摘要:** 中脑腹侧被盖区(ventral tegmental area, VTA)多巴胺能神经元的簇放电会导致其突触末梢多巴胺释放量瞬时大量增加, 已被公认是编码奖赏效应的功能相关信号, 但诱发多巴胺能神经元产生簇放电的神经调节的具体机制尚不完全清楚。为深入理解诱发VTA多巴胺能神经元产生簇放电电导奖赏信号的递质机制和不同脑区间的协同作用, 本实验利用大鼠离体脑片, 研究了胆碱能受体激动剂卡巴胆碱单独灌流, 兴奋性谷氨酸能受体激动剂L-谷氨酸单独脉冲式给药及二者同时作用时VTA多巴胺能神经元簇放电的产生。结果显示, 在离体脑片, 卡巴胆碱(10  $\mu\text{mol/L}$ )持续灌流或L-谷氨酸(3  $\text{mmol/L}$ )脉冲式给药均能够诱发多巴胺能神经元产生簇放电。在二者单独作用不能诱发簇放电的神经元, 卡巴胆碱和谷氨酸联合用药则可以诱发出簇放电。这些结果提示, 卡巴胆碱和L-谷氨酸在诱发多巴胺能神经元簇放电的过程中具有协同作用。

**关键词:** 中脑边缘多巴胺系统; 簇放电; L-谷氨酸; 卡巴胆碱; 协同作用

**中图分类号:** Q424

## The influence of L-glutamate and carbachol on burst firing of dopaminergic neurons in ventral tegmental area

WANG Shan-Shan, WEI Chun-Ling, LIU Zhi-Qiang, REN Wei\*

College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China

**Abstract:** Burst firing of dopaminergic neurons in ventral tegmental area (VTA) induces a large transient increase in synaptic dopamine (DA) release and thus is considered the reward-related signal. But the mechanisms of burst generation of dopaminergic neuron still remain unclear. This experiment investigated the burst firing of VTA dopaminergic neurons in rat midbrain slices perfused with carbachol and L-glutamate individually or simultaneously to understand the neurotransmitter mechanism underlying burst generation. The results showed that bath application of carbachol (10  $\mu\text{mol/L}$ ) and pulse application of L-glutamate (3  $\text{mmol/L}$ ) both induced burst firing in dopaminergic neuron. Co-application of carbachol and L-glutamate induced burst firing in VTA dopaminergic cells which couldn't be induced to burst by the two chemicals separately. The result indicates that carbachol and L-glutamate co-regulate burst firing of dopaminergic neuron.

**Key words:** mesolimbic dopamine system; burst firing; L-glutamate; carbachol; synergistic action

中脑边缘多巴胺系统(mesolimbic dopamine system, MLDS)参与了包括成瘾性药物在内的几乎所有刺激因素形成的奖赏效应。这些刺激因素经过各种途径均激活MLDS, 使中脑腹侧被盖区(ventral teg-

mental area, VTA)多巴胺能神经元的簇放电(burst)增多, 进而使由VTA的多巴胺能神经元投射至伏隔核(nucleus accumbens, NAc)和前额叶皮质(prefrontal cortex, pFC)等区域的多巴胺(dopamine, DA)释放量

Received 2010-11-05 Accepted 2010-12-27

This work was supported by the National High Technology Research and Development Program of China (No. 2007AA02Z310).

\*Corresponding author. Tel: +86-29-85310288; Fax: +86-29-85310269; E-mail: renwei1964@vip.sina.com

瞬时大量增加, 进一步激活相关的众多脑区, 引发动物趋向、寻求奖赏刺激的行为。奖赏刺激引发VTA的多巴胺能神经元产生簇放电, 是这一过程中的一个共同的重要现象<sup>[1,2]</sup>。

VTA主要由多巴胺能和GABA能神经元组成, 多巴胺能神经元占VTA细胞总数的大约77%, 其轴突终末释放DA至NAc、pFC等区域; GABA能神经元占VTA细胞总数的大约16%, 它们作为中间神经元控制多巴胺能神经元的放电活动。二者在动作电位时程、超极化激活的阳离子流( $I_h$ )大小、放电模式、对DA或阿片类药物的反应等方面都大不相同。实验中主要以 $I_h$ 大小来判定细胞类型,  $I_h$ 较大的细胞是多巴胺能细胞<sup>[1-3]</sup>。

在体情况下, 记录到VTA多巴胺能神经元放电模式主要有两种, 即2~4 Hz的持续不规则放电和簇放电<sup>[3]</sup>。相应地, 中脑DA的释放是由两种机制介导的, 紧张性(tonic)的DA释放是由多巴胺能神经元的基础活动介导的; 位相性(phasic)的DA释放是由多巴胺能神经元簇放电介导的。簇放电会导致突触DA释放量瞬时大量增加, 这被公认为是传至突触后位点的功能相关信号, 编码奖赏效应<sup>[4]</sup>, 在奖赏系统中起着核心作用。行为学的证据表明, 用高频(phasic模式, 产生簇放电)刺激VTA多巴胺能神经元, 足以使大鼠产生条件性位置偏爱, 同时在NAc可检测到DA递质的瞬时增加, 而长时程低频率的持续(tonic)刺激不能引起大鼠在行为和递质释放量方面类似的变化<sup>[5]</sup>。多巴胺能神经元在低频持续放电和簇放电之间的转换能够编码预期回报偏离值和诱因显著性(incentive salience)<sup>[6]</sup>。可通过两种方式使VTA多巴胺能神经元DA的释放量增加, 即阻碍轴突对DA的重吸收和增加胞体的簇放电, 因为簇放电会导致重吸收机制的饱和以及减少自身受体的抑制作用<sup>[3]</sup>。

VTA的主要传入纤维有来自pFC、杏仁核和海马等部位的谷氨酸能神经元投射, 同时还接受来自中脑被盖背外侧核的胆碱能投射<sup>[7]</sup>。VTA区域多巴胺能神经元上表达有代谢型和离子型谷氨酸受体(其中包括NMDA、AMPA受体)和胆碱能受体, 激活谷氨酸受体或胆碱能受体均可引起VTA多巴胺能神经元释放DA增加。除了接受谷氨酸的兴奋性输入之外, 多巴胺能神经元还受到抑制性控制, 主要是通过VTA的GABA中间神经元以及包括NAc和苍白球在内的其他脑区投射来的GABA纤维<sup>[8]</sup>。在体

实验情况下, VTA多巴胺能神经元从紧张性放电到簇放电的转迁需要兴奋性氨基酸激活谷氨酸传入通路, 或用微离子电泳方法将谷氨酸直接施用到VTA区<sup>[9]</sup>。在中脑被盖背外侧核兴奋活动完整时前额叶的兴奋才能引发VTA的多巴胺能神经元产生簇放电, 损毁中脑被盖背外侧核, 刺激前额叶不再能够引发VTA的多巴胺能神经元产生在体的簇放电<sup>[9]</sup>。这些研究结果提示, VTA的多巴胺能神经元产生簇放电, 可能需要来自中脑被盖背外侧核和前额叶的协同、甚至同时性的支配, 但是这种协同支配的神经递质机制尚不清楚。

本实验使用大鼠离体脑片, 观察胆碱能受体激动剂卡巴胆碱(carbachol)和兴奋性谷氨酸能受体激动剂L-谷氨酸二者分别单独作用或同时作用时, VTA多巴胺能神经元簇放电的产生, 研究卡巴胆碱和L-谷氨酸是否具有协同作用, 以期深入理解诱发VTA的多巴胺能神经元产生簇放电电导奖赏信号的递质机制和不同脑区间的协同功能。

## 1 材料与方法

**1.1 实验材料** 12~20日龄Sprague-Dawley (SD)大鼠28只, 雌雄不限, 由西安交通大学医学院动物中心提供, 实验中使用脑片数量为69片。

两性霉素B (amphotericin B)、印防己毒素(picrotoxin)和卡巴胆碱为Sigma产品, L-谷氨酸购于北京索莱宝公司, 其他试剂均为国产分析纯。人工脑脊液(ACSF)成分(mmol/L): NaCl 125、KCl 3、NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.25、Glucose 10、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 26、MgCl<sub>2</sub> 1.2、CaCl<sub>2</sub> 2.4, 通混合气(体积分数95% O<sub>2</sub>+体积分数5% CO<sub>2</sub>)饱和1 h后用NaOH调pH值至7.2~7.4, 用于VTA脑片制备和孵育; 电极内液组成(mmol/L): Potassium gluconate 120、HEPES 40、MgCl<sub>2</sub> 5、EGTA 10, -20°C保存。充灌电极前加入两性霉素B (1×10<sup>-4</sup> g/mL)。随后用0.2 μm孔径的滤膜过滤。

**1.2 VTA脑片的准备** 依文献所述<sup>[10-12]</sup>, 取12~20日龄的SD大鼠, 单面刀片断头, 用刀片小心划开颅骨和脑膜(反复快速划过, 直到到达颅内), 用镊子夹开颅骨, 剥开脑膜, 小心取出脑, 移入冰水混合的ACSF中, 放置30~60 s。待脑组织变硬后取出, 置于冷ACSF浸湿的滤纸上, 修出含VTA的脑块。将脑块粘到切片机的标本台上, 切片时脑块的腹面向上, 头端对着刀口方向, 切片厚度为300 μm。

先快速切去脑块的表皮部分, 到达VTA区域后, 用高的振动频率和慢的前进速度切出2~3张脑片, 移入氧饱和的32°C ACSF中孵育1 h以上备用。

**1.3 电生理记录** 在正置的红外显微镜(Olympus BX51WI, 日本)下, 进行多巴胺能神经元的穿孔膜片钳记录。在显微镜下观察, VTA区为脑中线和黑质之间的一块较暗色区域, 呈半透明状的卵圆形。室温下观察记录。电极尖端充灌电极内液后阻抗为3~6 M $\Omega$ 。使用 Multiclamp 700B膜片钳放大器、Digidata 1440A处理器、Clampex 10.0采样软件及Clampfit 10.0软件(Axon Instruments, 美国)进行数据采集和分析。实验在室温(25~30°C)下进行。

通常两性霉素B穿透细胞膜要10 min左右。在I=0模式下, 记录细胞静息膜电位和自发活动状态, 少部分的细胞处于自发放电活动状态, 动作电位超射幅值至少50 mV。多巴胺能神经元的判定以存在一个较大的 $I_h$ 为主要判断标准<sup>[1-3]</sup>。将细胞膜电位钳制在-70 mV, 给予细胞一系列超极化电压刺激(从-70至-130 mV, 阶跃为20 mV), 时程1 000 ms, 以记录 $I_h$ 。 $I_h$ 大于100 pA的细胞认为是多巴胺能细胞。

GABA能受体阻断剂印防己毒素终浓度为50  $\mu$ mol/L, 胆碱能受体激动剂卡巴胆碱终浓度为10  $\mu$ mol/L, 印防己毒素和卡巴胆碱为灌流式给药。以往研究利用含谷氨酸的灌流液作用于VTA脑片, 没有观察到诱发多巴胺能神经元产生簇放电的现象<sup>[1]</sup>。本实验采用脉冲式给药模式, 利用细长软管和毛细玻璃弯管将3 mmol/L的L-谷氨酸溶液在靠近记录细胞端直接注入灌流槽中, 依靠L-谷氨酸分子的自由扩散起作用, 在部分多巴胺能神经元诱发出簇放电。

**1.4 数据分析** 用pClampfit 10.0软件分析数据。基础放电频率是记录至少3 min的放电频率的平均值,  $I_h$ 的大小是钳制电压为-130 mV时内向电流的瞬时最大值和稳态值的差。一个簇放电是指有大的去极化平台期, 在平台期内的放电频率远远大于基础放电频率, 且随后有一超极化的放电模式。数据以mean $\pm$ SD的形式表示, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

对VTA多巴胺能神经元进行穿孔膜片钳记录, 在印防己毒素(50  $\mu$ mol/L)灌流的情况下, 记录69例细胞的活动状态, 多数细胞(63.8%,  $n=44$ )处于静息状态, 静息膜电位为(-54.65 $\pm$ 0.47) mV, 其余36.2%

( $n=25$ )有自发放电活动, 其中17例为规则或不规则持续单峰放电, 平均放电频率(0.42 $\pm$ 0.09) Hz, 其余8例自发簇放电, 簇放电平台期内的平均放电频率为(7.29 $\pm$ 1.82) Hz。

### 2.1 卡巴胆碱诱发多巴胺能神经元簇放电

在53例细胞中, 换用含10  $\mu$ mol/L卡巴胆碱的灌流液使其中23例细胞膜电位产生了去极化以及簇放电, 簇放电诱导率为43.4%, 这一结果与以往文献报道基本一致<sup>[13]</sup>。卡巴胆碱诱发的簇放电平台期膜电位幅值与静息膜电位值之差的平均值为(26.67 $\pm$ 1.39) mV ( $n=23$ )。簇放电通常出现在卡巴胆碱诱导的膜电位去极化平台的上升期, 在膜电位抬升的平台上产生动作电位, 随后簇放电终止, 细胞膜电位轻微超极化。一些细胞会在膜电位超极化后又出现簇放电, 持续几个周期, 而有些细胞在一次簇放电后就仍保持起初的自发放电状态或静息状态(图1A)。在一次簇放电周期内, 在膜电位的去极化平台上产生动作电位, 随着平台电位的持续, 动作电位幅值大小和放电频率呈反比, 平台后期动作电位幅值很小甚至不放电(图1B)。换用含卡巴胆碱的灌流液后, 簇放电平台期内的平均放电频率[(5.11 $\pm$ 0.54) Hz]约为对照时[(0.42 $\pm$ 0.09) Hz]的10倍。

### 2.2 L-谷氨酸诱导多巴胺能神经元簇放电

在59例细胞中, 脉冲式给予L-谷氨酸后, 有20例细胞膜电位抬升, 膜电位抬升平均值为(4.86 $\pm$ 0.72) mV [加药后膜电位平均值为(-51.31 $\pm$ 0.96) mV, 加药前膜电位平均值为(-56.17 $\pm$ 0.51) mV,  $P<0.05$ , 配对 $t$ 检验]。同时, 加入L-谷氨酸后在12例细胞上诱导出了簇放电, 簇放电诱导率为20.34%。在能诱导出簇放电的细胞中, 簇放电的出现与谷氨酸脉冲式给药呈一一对应关系。与卡巴胆碱诱导的膜电位去极化和簇放电类似, 谷氨酸诱导的簇放电平台期膜电位幅值与静息膜电位幅值之差的平均值为(19.16 $\pm$ 1.58) mV, 脉冲式注入谷氨酸后, 簇放电平台内的平均放电频率为(4.77 $\pm$ 0.65) Hz ( $n=12$ )。但不同的是一次给药对应一个簇放电, 随后细胞膜回到对照状态(图2A)。在不同的时间点上, L-谷氨酸脉冲式给药并不是都能产生簇放电, 有些细胞在起初给药会产生簇放电, 随后几次可能只是膜电位的抬升或诱发少量放电。L-谷氨酸诱导的簇放电的特征(周期内动作电位频率、平台持续时间等)与卡巴胆碱诱导的簇放电的特征有些不同, 前者诱导的簇放电周期内动作电位频率略低于后者, 在簇放电平台期持续时

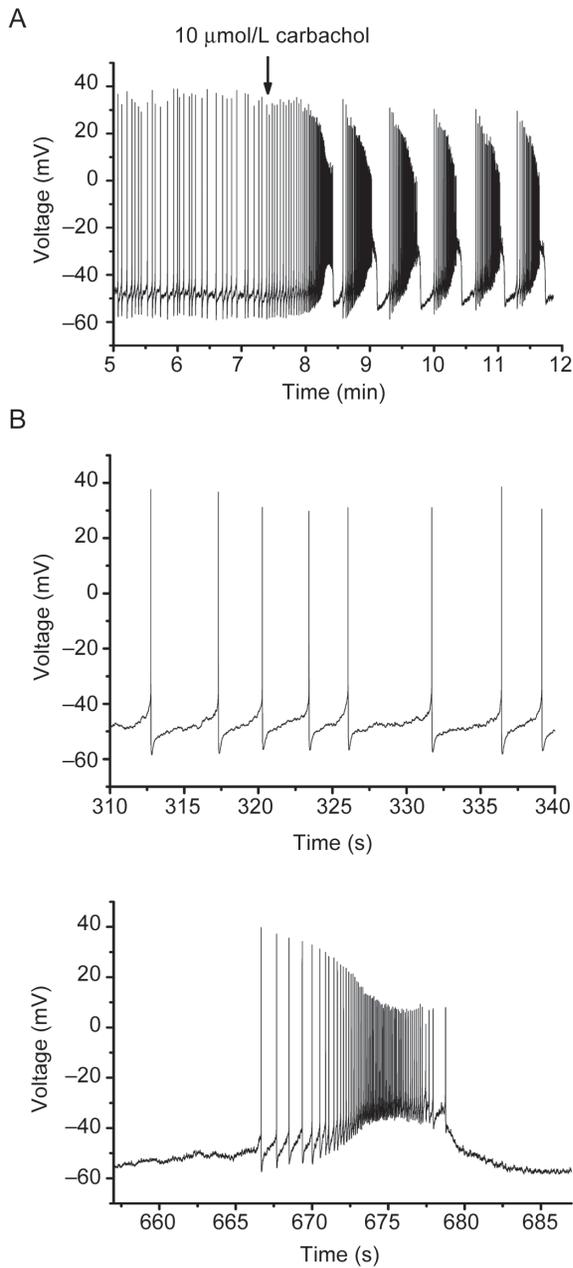


图 1. 卡巴胆碱诱导多巴胺能神经元产生簇放电

Fig. 1. Carbachol induces burst firing in a VTA dopaminergic cell. *A*: Continuous current clamp recording from a representative cell showing that carbachol converted regular firing to bursting, followed by a period of depolarization block and intense bursting before complete recovery. *B*: Traces on expanded time scales showing a regular (upper panel) and a burst (lower panel) firing pattern. Note that regular firing typically has a low frequency and each action potential is followed by a pronounced afterhyperpolarization, whereas burst firing has a cluster of action potentials fired at increasing frequencies followed by a steep post-burst hyperpolarization.

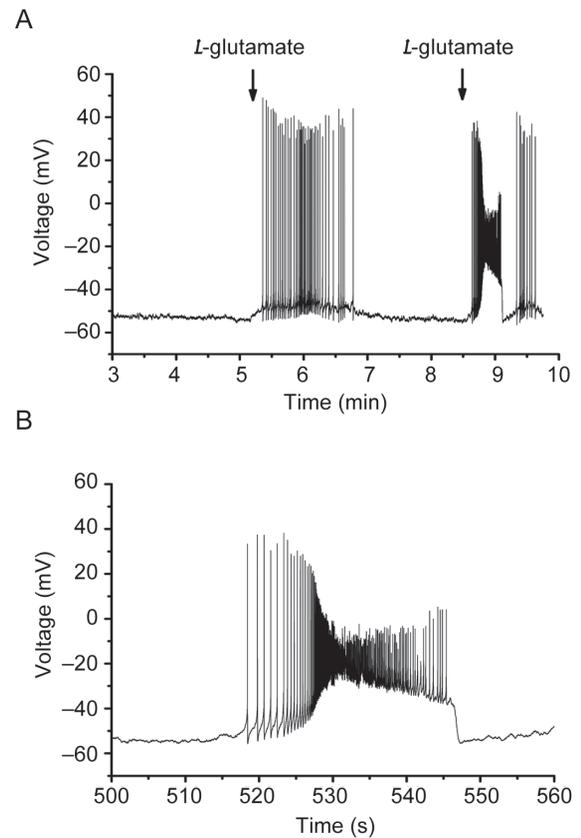


图 2. *L*-谷氨酸诱导多巴胺能神经元产生簇放电

Fig. 2. *L*-glutamate induces burst firing in a VTA dopaminergic cell. *A*: Continuous current clamp recording from a representative cell showing that *L*-glutamate converted pre-condition to bursting. One pulse of *L*-glutamate application induced a single cycle of burst firing. *B*: Firing traces on expanded time scales showing the burst firing pattern. The properties of bursting are similar to that induced by carbachol.

间上前者短于后者，簇放电平台期膜电位净增加幅值上前者小于后者。

### 2.3 卡巴胆碱和*L*-谷氨酸联合给药诱导多巴胺能神经元簇放电

在*L*-谷氨酸或卡巴胆碱单独作用无法诱导出簇放电的细胞上，进行了联合给药。在持续灌流10 μmol/L卡巴胆碱灌流的同时(此时细胞没有产生放电)，脉冲式注入*L*-谷氨酸(3 mmol/L)。在5例多巴胺能神经元上诱导出了簇放电。单独脉冲式注入*L*-谷氨酸时，多巴胺能神经元只有膜电位的抬升或少数放电；洗脱后，灌流卡巴胆碱也只抬升膜电位或产生少数放电；而在卡巴胆碱灌流的同时，脉冲式注入*L*-谷氨酸，可诱导出簇放电，放电的出现与*L*-

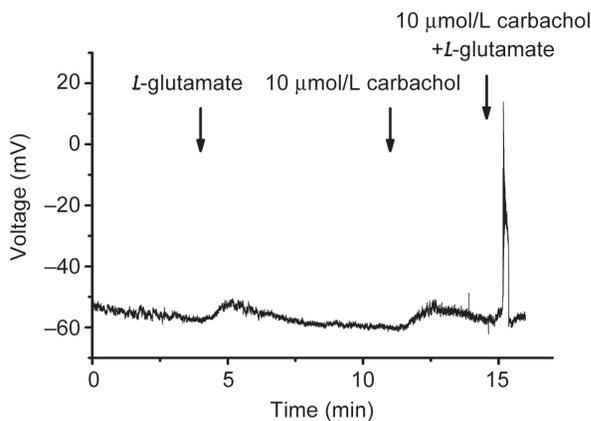


图 3 卡巴胆碱与*L*-谷氨酸联合用药使二者单独作用时未诱发簇放电的多巴胺能神经元产生簇放电

Fig. 3. Co-application of carbachol and *L*-glutamate induced burst firing in a VTA dopaminergic cell which couldn't be induced to burst by the two chemicals separately.

谷氨酸脉冲式给药呈一一对应关系(图3)。簇放电的特征与*L*-谷氨酸或卡巴胆碱单独诱导的簇放电特征类似。这些细胞中, 单独*L*-谷氨酸脉冲给药不能诱导细胞的簇放电, 单独卡巴胆碱给药也无法使细胞进入簇放电状态, 只有当卡巴胆碱作为背景条件, 注入*L*-谷氨酸时, 才能使多巴胺能神经元产生簇放电, 且放电的产生与给药一一对应。在另一些细胞中, *L*-谷氨酸单独给药只能引起细胞膜电位去极化或是放电频率增加, 而卡巴胆碱单独给药能产生簇放电。在卡巴胆碱作为背景条件, 注入*L*-谷氨酸也可以使多巴胺能神经元产生簇放电。可见, 在这两类细胞中, 需要在卡巴胆碱灌流的前提下, 脉冲注入*L*-谷氨酸才能调节神经元的簇放电。同时, 一些细胞不论是在*L*-谷氨酸和卡巴胆碱分别或共同作用都只是使神经元膜电位去极化或产生少量放电, 无法诱导出簇放电。

对比*L*-谷氨酸单独作用和有卡巴胆碱作为背景时*L*-谷氨酸的作用, 有11例细胞在*L*-谷氨酸单独作用时只有膜电位的抬升或产生动作电位, 但二者共同作用时, 可以产生簇放电。另外还有5例细胞在*L*-谷氨酸单独作用时只有膜电位的抬升, 而二者共同作用时产生了动作电位, 细胞的兴奋程度较*L*-谷氨酸单独作用时有所提高, 可见*L*-谷氨酸单独作用并不足以调节多巴胺能神经元的放电活动。当卡巴胆碱作为背景条件, *L*-谷氨酸脉冲式的释放才能更有效地调节多巴胺能神经元的活动。

### 3 讨论

本实验结果显示, 单独脉冲式给予*L*-谷氨酸可在离体脑片诱发部分多巴胺能神经元产生簇放电, 簇放电的出现与谷氨酸脉冲式给药呈一一对应关系。在谷氨酸单独作用不能诱发簇放电的神经元, 在卡巴胆碱灌流的同时, 谷氨酸脉冲式给药则可以诱发出簇放电, 这一结果可在多个时间点上重复, 同时簇放电的产生与谷氨酸脉冲式给药有很好的——对应关系。这些结果提示, *L*-谷氨酸和卡巴胆碱在诱发多巴胺能神经元簇放电的过程中具有协同作用。因此, 可以设想在体条件下, 前额叶和中脑被盖区背外侧核在引发奖赏效应中具有协同作用, 其中, 来自中脑被盖区背外侧核支配VTA的多巴胺能神经元的胆碱能投射可能具有重要的作用。这一推论还需要在进一步的在体实验中进行证实。

离体脑片实验中观察到的簇放电由膜电位去极化平台和平台上的放电及随后的放电终止和复极化构成, 平台的中后期放电幅值与放电频率呈反比, 到平台后期甚至不放电。这与在体实验观察到的簇放电有很大不同。在体实验中, 簇放电是动作电位的密集、呈簇状出现。离体脑片中, 卡巴胆碱诱导的簇放电依赖于 $Ca^{2+}$ 通过电压依赖性的L-型 $Ca^{2+}$ 通道进入细胞的过程, 钙波的形成诱发了簇放电<sup>[13,14]</sup>。Liu等的研究表明 $Ca^{2+}$ 通过L-型 $Ca^{2+}$ 通道进入细胞后激活了 $Ca^{2+}$ 依赖性的蛋白酶, 随后使细胞激酶C裂解为细胞激酶M, 从而诱发了细胞的簇放电, 胆碱能受体和谷氨酸能受体调节多巴胺系统兴奋都会涉及这一通路<sup>[15,16]</sup>。胆碱能M型受体和N型受体都参与了多巴胺能神经元簇放电的调节, 在卡巴胆碱灌流的同时不论是加入M型受体拮抗剂阿托品还是N型受体拮抗剂梅坎米胺, 都会影响到膜电位的去极化和簇放电<sup>[13,17]</sup>。本研究显示, 在一些多巴胺能神经元, 不论卡巴胆碱灌流与否, 在不同的时间点上脉冲注入*L*-谷氨酸可以在同一细胞诱发不同的放电转变模式, 可以在加药后表现为膜电位抬升, 或由加药前的静息状态转变为放电, 也可以产生簇放电, 表明*L*-谷氨酸的注入时机及与卡巴胆碱动态协同作用也是控制簇放电形成的关键因素。这些离体实验结果进一步提示, 在体条件下多种递质协同调节多巴胺能神经元的过程具有高度复杂性。

### 参考文献

- 1 Johnson S, North RA. Two types of neurone in the rat ven-

- tral tegmental area and their synaptic inputs. *J Physiol (Lond)* 1992; 450: 455–468.
- 2 Bonci A, Malenka RC. Properties and plasticity of excitatory synapses on dopaminergic and GABAergic cells in the ventral tegmental area. *J Neurosci* 1999; 19(10): 3723–3730.
  - 3 Etievant A, Bétry C, Arnt J, Haddjeri N. Bifeprunox and aripiprazole suppress *in vivo* VTA dopaminergic neuronal activity via D2 and not D3 dopamine autoreceptor activation. *Neurosci Lett* 2009; 460: 82–86.
  - 4 Zweifel LS, Parker JG, Lobb CJ, Rainwater A, Wall VZ, Fadok JP, Darvas M, Kim MJ, Mizumori SJ, Paladini CA, Phillips PE, Palmiter RD. Disruption of NMDAR-dependent burst firing by dopamine neurons provides selective assessment of phasic dopamine-dependent behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106(18): 7281–7288.
  - 5 Tsai HC, Zhang F, Adamantidis A, Stuber GD, Bonci A, de Lecea L, Deisseroth K. Phasic firing in dopaminergic neurons is sufficient for behavioral conditioning. *Science* 2009; 324(5930): 1080–1084.
  - 6 Schultz W. Multiple dopamine functions at different time courses. *Annu Rev Neurosci* 2007; 30: 259–288.
  - 7 Sun W, Xue Y, Huang Z, Stekete JD. Regulation of cocaine-reinstated drug-seeking behavior by kappa-opioid receptors in the ventral tegmental area of rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2010; 210(2): 179–188.
  - 8 Deng LY (邓林园), Fang XY. Neurobiological mechanism of nicotine dependence. *Adv Psychol Sci (心理科学进展)* 2005; 13(4): 534–543 (Chinese, English abstract).
  - 9 Lodge DJ, Grace AA. The laterodorsal tegmentum is essential for burst firing of ventral tegmental area dopamine neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(13): 5167–5172.
  - 10 Koyama S, Appel SB. Characterization of M-current in ventral tegmental area dopamine neurons. *J Neurophysiol* 2006; 96: 535–543.
  - 11 Deng Y, Li KY, Zhou C, Ye JH. Ethanol enhances glutamate transmission by retrograde dopamine signaling in a postsynaptic neuron/synaptic bouton preparation from the ventral tegmental area. *Neuropsychopharmacology* 2009; 34(5): 1233–1244.
  - 12 Margolis EB, Lock H, Hjelmstad GO, Fields HL. The ventral tegmental area revisited: is there an electrophysiological marker for dopaminergic neurons? *J Physiol (Lond)* 2006; 577(3): 907–924.
  - 13 Zhang L, Liu Y, Chen X. Carbachol induces burst firing of dopamine cells in the ventral tegmental area by promoting calcium entry through L-type channels in the rat. *J Physiol (Lond)* 2005; 568(2): 469–481.
  - 14 Durante P, Cardenas CG, Whittaker JA, Kitai ST, Scroggs RS. Low-threshold L-type calcium channels in rat dopamine neurons. *J Neurophysiol* 2004; 91: 1450–1454.
  - 15 Liu Y, Dore J, Chen X. Calcium influx through L-type channels generates protein kinase M to induce burst firing of dopamine cells in the rat ventral tegmental area. *J Biol Chem* 2007; 282(12): 594–560.
  - 16 Liu Y, Chen X. Cholinergic excitation of dopaminergic cells depends on sequential activation of protein kinase C and the L-type calcium channel in ventral tegmental area slices. *Brain Res* 2008; 1245: 41–51.
  - 17 Wang T, French ED. L-glutamate excitation of A10 dopamine neurons is preferentially mediated by activation of NMDA receptors: extra- and intracellular electrophysiological studies in brain slices. *Brain Res* 1993; 627: 299–306.