

ИММУНОРЕАКТИВНОСТЬ СИНАПСОВ НА ПЕРВИЧНЫХ АФФЕРЕНТНЫХ АКСОНАХ И СЕНСОРНЫХ НЕЙРОНАХ СПИННОГО МОЗГА РЕЧНОЙ МИНОГИ *LAMPETRA FLUVIATILIS*

© В. О. Аданина,¹ Ж.-П. Рио,² А. С. Аданина,¹ Ж. Реперан,² Н. П. Веселкин¹

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург,
и ² Национальный музей естественной истории, Париж, Франция;
электронный адрес: Adanina@rambler.ru

Изучали ультраструктуру и иммуноспецифичность синапсов на первичных афферентах и дорсальных чувствительных клетках (ДЧК) спинного мозга речной миноги. Методом мечения частицами коллоидного золота путем комбинации антител — поликлональных к глутамату и моноклональных к гамма-аминомасляной кислоте (ГАМК) — показано наличие на первичных афферентных аксонах ГАМК-иммунопозитивных, а на соматической мембране ДЧК ГАМК- и глутаматиммунопозитивных синапсов. Таким образом, очевидно, что у миноги сенсорная информация контролируется как путем пресинаптического торможения через синапсы на первичных афферентных аксонах, так и путем синаптических влияний непосредственно на тело сенсорного нейрона.

Ключевые слова: первичные афференты, сенсорные нейроны, ГАМК- и глутаматиммунореактивные синапсы, спинной мозг, минога.

Принятые сокращения: ГАМК — гамма-аминомасляная кислота, ДЧК — дорсальная чувствительная клетка (сенсорный нейрон первого порядка).

К настоящему времени накопилось достаточно сведений, дающих основание для пересмотра существующей парадигмы, согласно которой принято считать, что регуляция афферентного входа осуществляется путем пресинаптического торможения через аксо-аксональные синапсы на первичных афферентных аксонах. Ряд как морфологических, так и электрофизиологических данных свидетельствует о том, что сенсорная информация может быть модулирована не только через механизм пресинаптического торможения, но и на уровне тела сенсорного нейрона. Синапсы на теле сенсорных нейронов спинного мозга были обнаружены как у высших, так и у низших позвоночных: в дорсальнокорешковых ганглиях кошки, хотя и в небольшом количестве (7 на 400 ультратонких срезах) (Kawahara et al., 1981, 1984), в первичной культуре сенсорных нейронов новорожденных крыс (Zarei et al., 2004), *in vitro* у эмбриона цыпленка (Miller et al., 1970), а также на дорсальных чувствительных клетках у миноги (Christenson et al., 1988b).

У миноги дорсальные чувствительные клетки (ДЧК) — это сенсорные нейроны первого порядка, тела которых локализованы в дорсальной части спинного мозга, в отличие от других афферентных нейронов, расположенных в спинальных ганглиях. Они рассматриваются как аналог Роон-Бердовских клеток в онтогенезе рыб, амфибий и рептилий (Kappers et al., 1960). По характеру ответов на механическую стимуляцию кожи ДЧК подразделяют на три категории: тактильные, давления и болевой чувствительности (Martin, Wickelgren, 1971), хотя существование последних оспаривается (Christenson et al.,

1988a). Считалось, что ДЧК лишены синапсов, что соответствовало их физиологическим характеристикам (Rovainen, 1967; Martin et al., 1970; Homa, Rovainen, 1978; Buchanan, Cohen, 1982). Однако на тактильных ДЧК были обнаружены синаптические бутоны, содержащие сферические синаптические пузырьки (Christenson et al., 1988b), что предполагает возможность модуляции афферентной активности на уровне тела сенсорного нейрона, а не только путем пресинаптического торможения первичных афферентов, которое в его классическом виде у миног не продемонстрировано.

Настоящее исследование предпринято с целью изучения ультраструктуры и природы медиаторов в синапсах на афферентных аксонах и ДЧК спинного мозга миноги.

Материал и методика

Исследование выполнено на 5 особях речной миноги *Lampetra fluviatilis* длиной 30—35 см. У животных, анестезированных в 0.01%-ном растворе трикаина метансульфоната (MS 222), извлекали фрагмент спинного мозга из области, находящейся на 1 см роstralнее дорсального плавника, и помещали в ванночку с проточным физиологическим раствором (при постоянной аэрации карбогеном — смесью 98 % O₂ и 2 % CO₂) следующего состава (в mM): 115 NaCl, 2.0 KCl, 0.2 Na₂HPO₄, 0.8 NaH₂PO₄, 8.0 NaHCO₃, 2.0 CaCl₂, 0.9 MgCl₂ и 5.5 глюкозы, pH 7.3—7.4. Температуру раствора поддерживали на уровне 10—12 °С.

Для маркирования дорсальных клеток и афферентных аксонов в дорсальный корешок спинного мозга с помощью специальной канюли ионофоретически вводили 5—10%-ный раствор пероксидазы хрена (Boehringer, Германия). Инъекцию осуществляли с помощью постоянного тока силой 3—5 нА с интервалами 5—10 мин. Суммарное время введения составляло 30—40 мин. Затем мозг оставляли в течение 10—24 ч в физиологическом растворе, после чего фиксировали раствором 1%-ного параформальдегида и 2.5%-ного глутарового альдегида на 0.1 М фосфатном буфере, рН 7.4. Процедуру выявления пероксидазы хрена производили по методу Адамса (Adams, 1981) на целом фрагменте мозга. Часть материала использовали для светооптических наблюдений, другую — для электронной микроскопии. Фрагмент мозга, предназначенный для световой микроскопии, обезжизивали в спиртах возрастающей концентрации, просветляли в ксилоле, помещали между предметным и покровным стеклами и заливали канадским бальзамом. Для электронной микроскопии фрагменты мозга толщиной 1.0—1.5 мм, содержащие маркированные элементы, подвергали стандартной обработке и заливали в Аралдит. Ультратонкие горизонтальные срезы спинного мозга монтировали на никелевые сетки. Иммуноцитохимическое исследование проводили с помощью меченых частицами коллоидного золота (метод immunogold postembedding) с использованием смеси двух антисывороток: поликлональной против глутамата и моноклональной против ГАМК в разведениях 1 : 10 000 и 1 : 2500 соответственно. Для визуализации ГАМК- и глутаматиммунореактивности использовали смесь иммуноглобулинов: против мыши с золотыми частицами диаметром 20 нм и антикроличьих с частицами диаметром 10 нм. Обе сыворотки использовали в разведении 1 : 10. Таким образом, золотые частицы диаметром 20 нм отражали ГАМК-иммунореактивность, а диаметром 10 нм — глутаматиммунореактивность. Иммунопозитивными считали структуры, в которых плотность иммунной метки превышала фон в 5 раз и более. Для контроля все иммуноцитохимические процедуры выполняли без первичных антител, в результате чего иммунная метка полностью отсутствовала.

Результаты

На тотальном препарате спинного мозга миноги меченные пероксидазой хрена афферентные аксоны и тела ДЧК располагались параллельными рядами по обе стороны от средней линии на расстоянии 100—150 мкм от нее на глубине около 100 мкм от дорсальной поверхности мозга. В основном это клетки шарообразной формы диаметром 30—40 мкм (рис. 1). Среди них встречаются нейроны вытянутой вдоль rostro-каудальной оси формы, размер которых достигает $20 \times (80—100)$ мкм. Диаметр афферентных аксонов достигал 2—5 мкм и несколько больше на уровне входа корешка в спинной мозг. На электронно-микроскопическом уровне в перикарионе ДЧК обнаруживается весь набор клеточных органелл, свойственных нейронам. Однако цистерны эргастоплазматического ретикула не образуют характерных для крупных нейронов скоплений, известных как субстанция Ниссля; кроме того, в цитоплазме отмечается большое количество продольно ориентированных микротрубочек, которые наиболее многочисленны на периферии перикариона. Наружная поверхность плазматической мембраны ДЧК

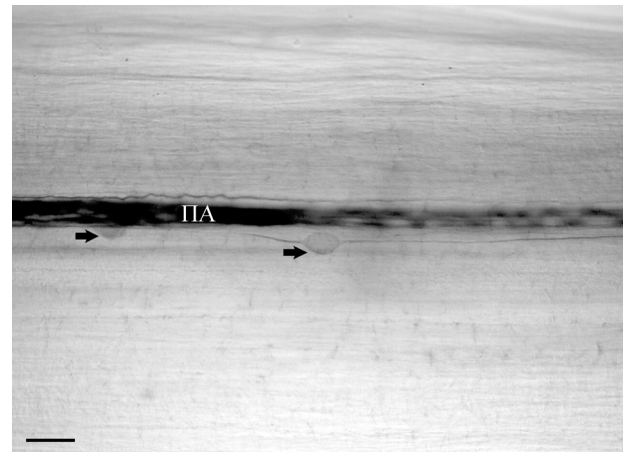


Рис. 1. Микрофотография фрагмента спинного мозга миноги *Lampetra fluviatilis*.

Дорсальные клетки, меченные пероксидазой хрена, указаны стрелкой. ПА — аксоны первичных сенсорных нейронов. Масштабный отрезок — 100 мкм.

окружена многочисленными глиальными отростками, которые по наличию в них пучков нейрофиламентов, очевидно, принадлежат фиброзным астроцитам. Собственно астроциты как клетки-сателлиты наблюдались в тесном контакте с плазматической мембраной ДЧК, повторяя контуры ее поверхности (рис. 2). В результате глиальные элементы образуют своего рода оболочку на перикарионе

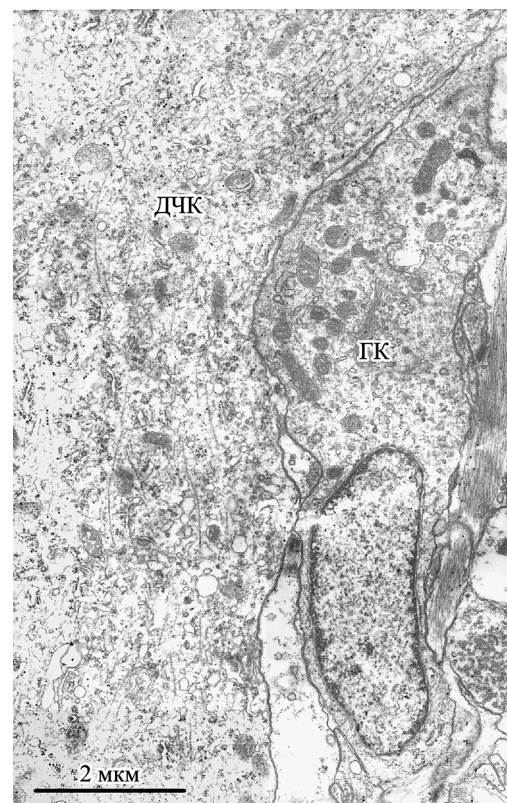


Рис. 2. Электронограмма фрагмента тела внутриспинальной дорсальной чувствительной клетки (ДЧК) в контакте с глиальной клеткой-сателлитом (ГК).

Масштабный отрезок — 2 мкм.

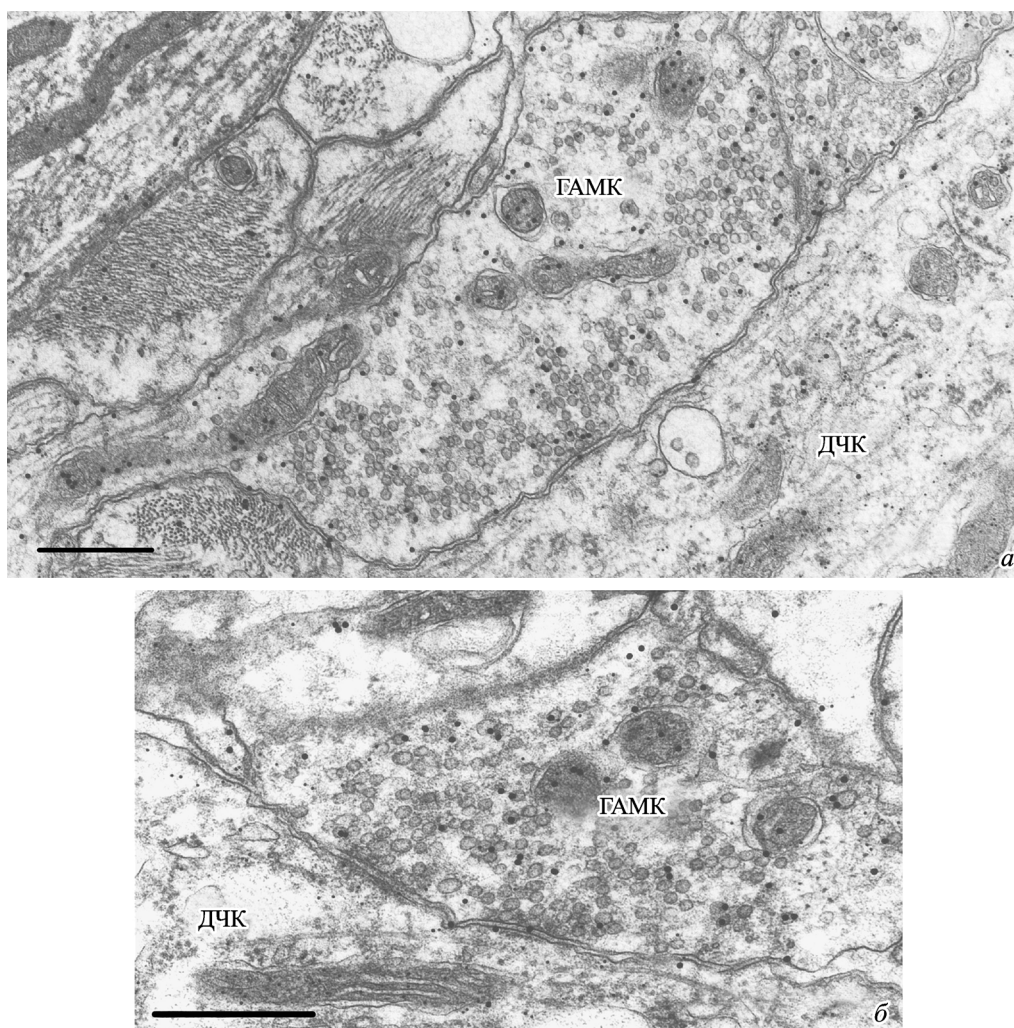


Рис. 3. Примеры электронограмм (а, б) ГАМК-иммунореактивных синапсов (ГАМК) на соматической мембране дорсальной чувствительной клетки (ДЧК).

Масштабный отрезок — 0,5 мкм.

ДЧК. Вместе с тем значительная доля поверхности перикариона занята синаптическими бутонами и контактами по ходу волокна (*en passant*) неидентифицированных аксонов. Следует заметить что на перикарионе ДЧК синапсы располагаются кластерами, причем эти кластеры, как и плазматическая мембрана перикариона, свободная от них, плотно покрыты глиальными отростками, которые отделяют их от окружающего нейропиля. Ультраструктурные характеристики наблюдаемых синапсов соответствовали контактам симметричного и асимметричного типов. В пресинаптическом компоненте и тех и других отмечались сферические синаптические пузырьки и одиночные везикулы с электронно-плотной сердцевиной (*dense core*).

Иммуноцитохимическое исследование с использованием двух антисывороток одновременно — поликлональной против глутамата и моноклональной против ГАМК — показало, что наблюдаемые синапсы были ГАМК- или глутаматиммунопозитивны (рис. 3, 4). Ультраструктура ГАМК-иммунопозитивных синапсов соответствовала критериям контактов симметричного типа, в то время как глутаматиммунопозитивные обладали характеристиками асимметричных синапсов. В некоторых случаях глутаматиммунопозитивные синапсы не имели четко выраженного уплотнения постсинаптической мембра-

ны, что, очевидно, связано с тем, что срез ткани прошел на удалении от активной зоны синапса.

Первичные афферентные аксоны у миноги, как известно, лишены миелиновой оболочки, но на всем своем протяжении они покрыты отростками астроцитарной глии, за исключением мест синаптических контактов. В основном это контакты по ходу волокна, так называемые контакты *en passant*, с подходящими к аксонам дендритами. Они располагаются нерегулярно на расстоянии от 5 до 20 мкм друг от друга, при этом они наиболее часты вблизи точки входа корешка. Почти во всех случаях в непосредственной близости от области контакта афферентного волокна с дендритом располагается синаптическая терминаль, которая образует синаптический контакт с афферентным аксоном. Наблюдаются также триады, в которых ГАМК-иммунореактивная терминаль контактирует одновременно и с афферентным аксоном, и с дендритом, который находится в синаптическом контакте с этим аксоном (рис. 5). По ультраструктуре это контакты симметричного типа. Однако часто уплотнение пресинаптической мембраны в активной зоне этих синапсов неотчетливо выражено, что дает основание рассматривать эти контакты как тесные прилегания (*close appositions*). Таким образом, согласно результатам проведенного нами

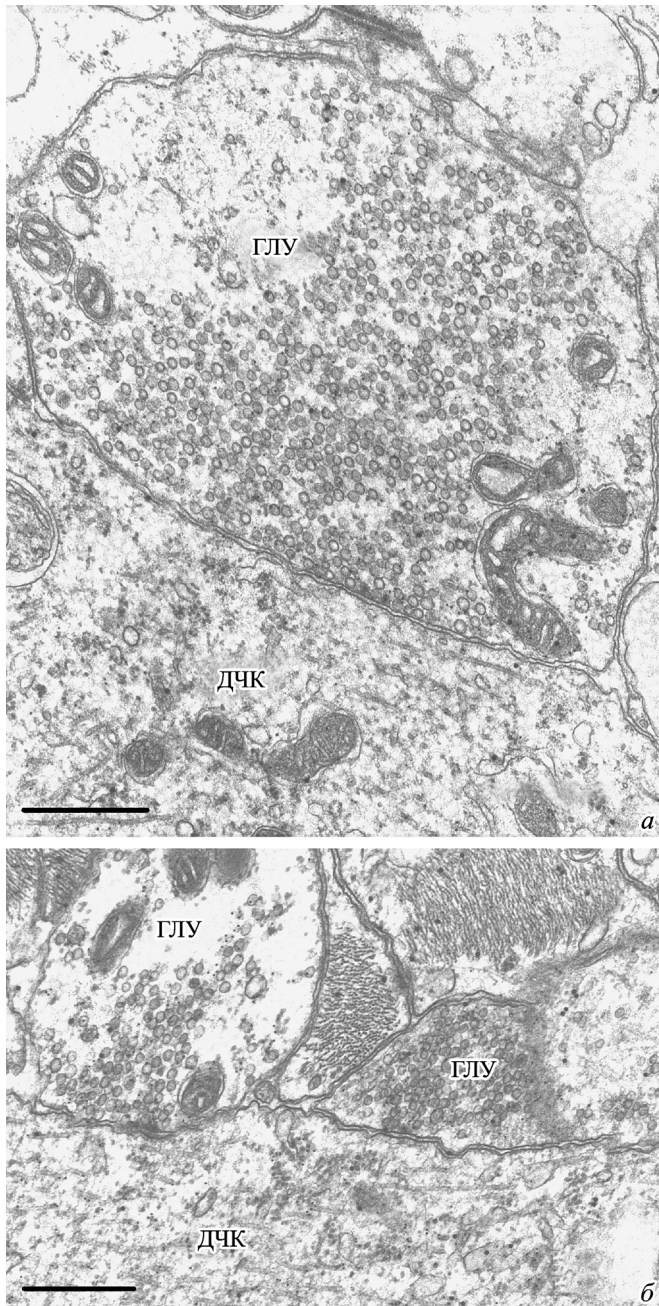


Рис. 4. Примеры электронограмм (а, б) глутамат-иммунореактивных синапсов (ГЛУ) на теле дорсальной клетки.

ДЧК — дорсальная чувствительная клетка. Масштабный отрезок — 0,5 мкм.

иммуноцитохимического анализа, аксонные терминалы, контактирующие с первичными афферентами, ГАМК-иммунореактивны.

Обсуждение

Плазматическая мембрана перикариона ДЧК минорно плотно окружена отростками глиальных клеток, напоподобие того как тела нейронов дорсальнокорешковых ганглиев (сенсорных нейронов I порядка млекопитающих) окружены слоями цитоплазмы сателлитных клеток, что, казалось бы, исключает возможность синаптических кон-

тактов. Однако полученные нами данные говорят о существовании многочисленных синапсов на теле ДЧК, что совпадает с результатами исследований, выполненных как на *Lampetra fluviatilis*, так и на *Ichthyomyzon unicuspis* (Christenson et al., 1988a). Таким образом, это не единичные синапсы, как считали ранее (Rovainen, 1967). Синапсы на теле первичных сенсорных нейронов были также описаны у кошки (Kayahara et al., 1981), однако иммуноспецифичность и их происхождение не были установлены. На основании данных, полученных после перерезки дорсальных и вентральных корешков и инъекции пероксидазы хрена в вентральный рог спинного мозга кошки, по наличию на телах сенсорных нейронов антероградно меченных пероксидазой хрена или дегенерирующих синаптических бутонов предполагают, что эти синапсы принадлежат аксонам спинальных нейронов, проходящих в вентральных и(или) в дорсальных корешках (Kayahara et al., 1984). Кроме того, с использованием регистрации методом пэтч-кламп (patch clamp) и иммуофлуоресценции было показано, что сенсорные нейроны в первичной культуре ткани новорожденных крыс могут образовывать между собой химические синапсы (Zarei et al., 2004).

Имеются также данные, подтвержденные электронно-микроскопическими наблюдениями, что изолированные из эмбрионального сенсорного ганглия цыпленка нейроны в условиях *in vitro* устанавливают между собой

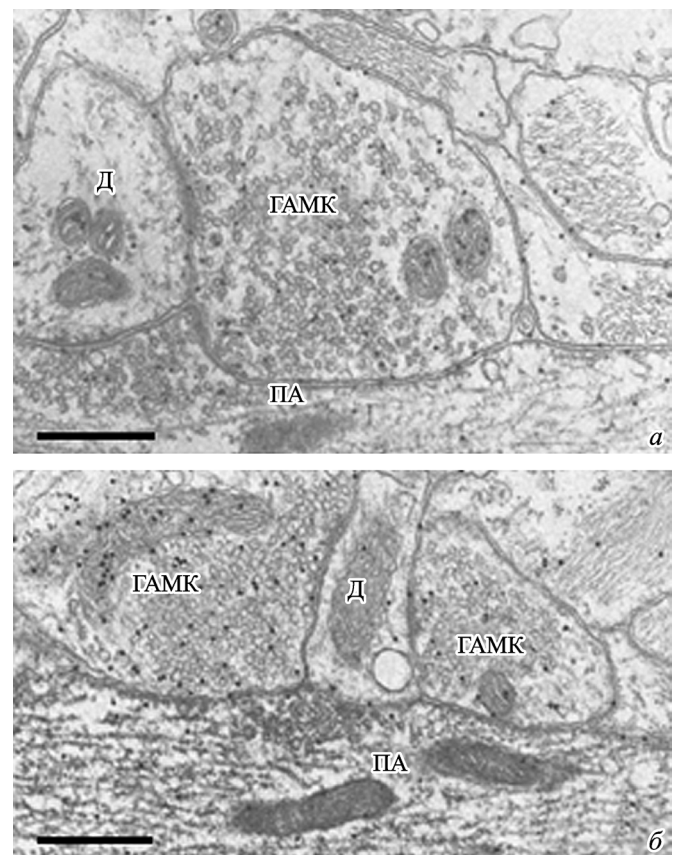


Рис. 5. Примеры электронограмм (а, б) ГАМК-иммунореактивных синапсов на мембране первичных афферентных аксонов.

Трехкомпонентные синаптические комплексы: ГАМК-иммунореактивная терминаль в синаптическом контакте с первичным афферентным аксоном (ПА) и одновременно с дендритом (Д), который является постсинаптическим компонентом по отношению к обоим элементам комплекса. Масштабный отрезок — 0,5 мкм.

синаптические контакты. Синапсы между сенсорными нейронами дорсального ганглия были также описаны у эмбриона цыпленка *in vitro* (Miller et al., 1970). Эти данные наряду с результатами настоящего исследования говорят о том, что афферентная активность может быть модулирована как путем пресинаптического торможения с помощью аксо-аксональных синапсов на первичных афферентах, так и с помощью синапсов, образованных аксонами на теле афферентного нейрона.

Согласно настоящим данным иммуноцитохимического анализа, наблюдаемые на теле ДЧК синапсы являются ГАМК- или глутаматиммунопозитивными, при этом первые количественно преобладают. Ионные механизмы действия ГАМК изучали на нейронах дорсальных чувствительных ганглиев лягушки (Nishi et al., 1974; Behrends et al., 1988), крысы (Deschenes et al., 1976; Si et al., 1997), кошки (Gallagher et al., 1978). На млекопитающих было показано, что на нейроны дорсальных чувствительных ганглиев, как и на афферентные аксоны, ГАМК действует через ионотропные ГАМК_A- (Sivilotti, Nistri, 1991) и метаботропные ГАМК_B-рецепторы, активация которых также вносит вклад в пресинаптическое торможение, хотя и в меньшей мере (Stuart, Redman, 1992). Оба типа рецепторов ГАМК представлены на соматической мембране этих нейронов (Coggeshall, Carlton, 1997; Si et al., 1997; Charles et al., 2001). Таким образом, очевидно, что ГАМК действует равнозначно как на афферентные аксоны, так и на соматическую мембрану нейронов спинальных ганглиев, вызывая их деполяризацию, что ведет к изменению афферентной активности.

Фармакологическое действие ГАМК на ДЧК миноги, как свидетельствуют результаты экспериментов с внутриклеточной регистрацией, имеет свои особенности (Leonard, Wickelgren, 1986). Было показано, что ГАМК вызывает пролонгацию кальциевых потенциалов действия через торможение кальцийзависимой калиевой проводимости, опосредуемой внутриклеточным циклическим АМФ, который, таким образом, является посредником вызванных ГАМК эффектов в ДЧК.

Что касается пресинаптического торможения, то у миног оно в его классическом виде не продемонстрировано. Однако имеются данные о том, что ГАМК может оказывать модулирующее влияние на выброс медиатора из первичных афферентных аксонов и оно опосредуется ГАМК_B-рецепторами (Christensen, Grillner, 1989, 1991; Batueva et al., 1999). Морфологическим основанием этих данных являлись наблюдаемые на первичных афферентных аксонах немногочисленные синаптические терминалы, которые в основном рассматриваются как прилегания (*close appositions*) (Christensen et al., 1993), что предполагает возможность несинаптического выделения медиатора на мембрану афферентного аксона (Batueva et al., 1999). Результаты настоящего исследования, основанные на наблюдениях горизонтальных срезов спинного мозга, показали, что синапсы на первичных афферентных аксонах хотя располагаются нерегулярно, но не единичны и, как правило, имеют характеристики химических контактов. Таким образом, функциональная роль наблюдаемых на первичных афферентных аксонах синапсов остается неясной.

Помимо ГАМК-иммунореактивных синапсов на мембране ДЧК обнаружены глутаматиммунопозитивные синапсы. О возможном участии глутамата в регуляции афферентной активности свидетельствуют полученные нами ранее данные о существовании глутаматиммунореактивных синапсов на первичных афферентных аксонах в спинном мозге лягушки (Vesselkin et al., 2003). Какие-ли-

бо сведения о действии глутамата на ДЧК миноги до настоящего времени отсутствовали. Однако имеются данные, полученные методом пэтч-кламп на нейронах, изолированных из дорсальнокорешкового ганглия крысы, что глутамат оказывает деполяризующее действие на мембрану сенсорных нейронов и что это действие опосредуется рецепторами NMDA (Lovinger, Weight, 1988). Имеются также сведения о том, что глутамат может деполяризовать терминалы первичных афферентов (Barker, Nicoll, 1973; Curtis, Ryall, 1966). Таким образом, на соматической мембране спинальных сенсорных нейронов существуют глутаматные рецепторы и глутаматактивируемые ионные каналы. На крысах было показано, что глутаматопосредованные эффекты обусловлены активацией как метаботропных, так и ионотропных NMDA, AMPA и каинатных рецепторов, которые экспрессируются в телах дорсальнокорешковых нейронов (Huettner, 1990; Sato et al., 1993; Ma, Hargreaves, 2000; Marvizon et al., 2002) и обнаруживаются на мембране афферентных аксонов (Lee et al., 2002; Lu et al., 2002).

Считается, что активация ионотропных рецепторов, сопровождающая деполяризацию афферентных аксонов, происходит на основе ауторецепции (Kerchner et al., 2001). Данные настоящего исследования дают основание предполагать, что модуляция афферентной активности может осуществляться в результате химически опосредованного действия глутамата через глутаматергические синапсы на теле сенсорного нейрона. Локализация как ГАМК-, так и глутаматиммунореактивных синапсов на соматической мембране первичных сенсорных нейронов представляется стратегически выгодной, поскольку позволяет не только модулировать передачу определенной модальности, но и полностью ее блокировать.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 05-04-48296) и Программы фундаментальных исследований ОБН РАН.

Список литературы

- Adams J. C., 1981. Heavy metal identification of DAB-based HRP reaction product. *J. Histochem. Cytochem.* 29 : 775.
- Barker J. L., Nicoll R. A. 1973. The pharmacology and ionic dependency of amino acid responses in the frog spinal cord. *J. Physiol. (Lond.)* 228 : 259—277.
- Batueva I. V., Tsvetkov E. A., Sagatelian A. K., Buchanan J. T., Vesselkin N. P., Adanina V. O., Suderevskaya E. I., Rio J.-P., Reperant J. 1999. Physiological and morphological correlates of presynaptic inhibition in primary afferents of the lamprey spinal cord. *J. Neurosci.* 88 : 975—987.
- Behrends J. C., Maruyama T., Tokutomi N., Akaike N. 1988. Ca²⁺-mediated suppression of the GABA-response through modulation of chloride channel gating in frog sensory neurons. *Neurosci. Lett.* 86 : 311—316.
- Buchanan J. T., Cohen A. H. 1982. Activities of identified interneurons, motoneurons, and muscle fibers during fictive swimming in the lamprey and effects of reticulospinal and dorsal cell stimulation. *J. Neurophysiol.* 47 : 948—960.
- Charles R. A., Evans M. L., Robbins M. J., Calver A. R., Leslie R. A., Pangalos M. N. 2001. Comparative immunohistochemical neurons of GABA subunits in the rat brain, spinal cord and dorsal root ganglion. *Neuroscience.* 106 : 447—467.
- Christensen J., Boman A., Lagerbäck Per-Åke, Grillner S. 1988a. The dorsal cell, one class of primary sensory neuron in the lamprey spinal cord. I. Touch, pressure but no nociception — a physiological study. *Brain Res.* 440 : 1—8.

- Christenson J., Grillner S. 1989. Primary sensory transmission is modulated through activation of presynaptic GABA receptors in the spinal cord. *Eur. J. Neurosci. Suppl.* 2:53.4.
- Christenson J., Grillner S. 1991. Primary afferents evoke excitatory amino acid receptor-mediated EPSPs that are mediated by presynaptic GABA receptors in lamprey. *J. Neurophysiol.* 66 : 2141—2149.
- Christenson J., Lagerbäck P.-A., Grillner S. 1988b. The dorsal cell, one class of primary sensory neuron in the lamprey spinal cord. II. A light- and electron microscopical study. *Brain Res.* 440 : 9—17.
- Christenson J., Shupliakov O., Cullheim S., Grillner S. 1993. Possible morphological substrates for GABA-mediated presynaptic inhibition in the lamprey spinal cord. *J. Comp. Neurol.* 328 : 463—472.
- Coggeshall R. E., Carlton S. M. 1997. Receptor localization in the mammalian dorsal horn and primary afferent neurons. *Brain Res. Rev.* 24 : 28—66.
- Curtis D. R., Ryall R. W. 1966. Pharmacological studies upon spinal presynaptic fibres. *Exp. Brain Res.* 1 : 195—204.
- Deschenes M., Felta P., Lamour Y. 1976. A model for estimate *in vivo* of the ionic basis of presynaptic inhibition: an intracellular analysis of GABA-induced depolarization in rat dorsal root ganglia. *Brain Res.* 118 : 486—493.
- Gallagher J. P., Higashi H., Nishi S. 1978. Characterization and ionic basis of GABA-induced depolarization recorded *in vitro* from cat primary afferent neurons. *J. Physiol.* 275 : 263—282.
- Homa S., Rovainen C. M. 1978. Conductance increases produced by glycine and γ -aminobutyric acid in the lamprey interneurons. *J. Physiol.* 279 : 231—252.
- Huettner J. E. 1990. Glutamate receptor channels in rat DRG neurons: activation by neurons and quisqualate and blockade of desensitization by Con A. *Neuron.* 5 : 255—266.
- Kappers A. C. U., Huber G. C., Crosby E. C. 1960. The comparative anatomy of the central nervous system of vertebrates, including man. New York: Hafner. 695 p.
- Kayahara T., Sakashita S., Takimoto T. 1984. Evidence for spinal origin of neurons synapsing with dorsal root ganglion cells of the cat. *Brain Res.* 293 : 225—230.
- Kayahara T., Takimoto T., Sakashita S. 1981. Synaptic junctions in the spinal ganglion. *Brain Res.* 216 : 277—290.
- Kerchner G. A., Wilding T. J., Li P., Zhuo M., Huettner J. E. 2001. Presynaptic neurons receptors regulate spinal sensory transmission. *J. Neurosci.* 21 : 59—66.
- Lee C. J., Bardoni R., Tong C. K., Engelman H. S., Joseph D. J., Mac Dermott A. B. 2002. Functional expression of AMPA receptors on central terminals of rat dorsal root ganglion neurons and presynaptic inhibition of glutamate release. *Neuron.* 35 : 135—146.
- Leonard J. P., Wickelgren W. O. 1986. Prolongation of calcium action potentials by γ -aminobutyric acid in primary sensory neurons of lamprey. *J. Physiol.* 375 : 481—497.
- Lovinger D. M., Weight F. F. 1988. Glutamate induces a depolarization of adult rat dorsal root ganglion neurons that is mediated predominantly by NMDA receptors. *Neurosci. Lett.* 94 : 314—320.
- Lu Ch.-R., Hwang S. J., Phend K. D., Rustioni A., Valtschanoff A. 2002. Primary afferent terminals in spinal cord express presynaptic AMPA receptors. *J. Neurosci.* 22 : 9522—9529.
- Ma Q.-P., Hargreaves R. J. 2000. Localization of N-methyl-D-aspartate NR2B subunits on primary sensory neurons that give rise to small-caliber sciatic nerve fibres in rats. *Neuroscience.* 101 : 699—707.
- Martin A. R., Wickelgren W. O. 1971. Sensory cells in the spinal cord of the sea lamprey. *J. Physiol.* 212 : 65—83.
- Martin A. R., Wickelgren W. O., Beranek R. 1970. Effects of iontophoretically applied drugs on spinal interneurons of the lamprey. *J. Physiol.* 207 : 653—665.
- Marvizon J. C. G., McRoberts J. A., Ennes H. S., Song B., Wang X., Jinton L., Corneliussen B., Mayer E. A. 2002. Two N-methyl-D-aspartate receptors in adult rat dorsal root ganglia with different subunit composition and localization. *J. Comp. Neur.* 446 : 325—341.
- Miller R., Varon S., Kruger L., Coates P. W., Orkand P. M. 1970. Formation of synaptic contacts on dissociated chick embryo sensory ganglion cells *in vitro*. *Brain Res.* 24 : 356—358.
- Nishi S., Minota S., Karczmar A. G. 1974. Primary afferent neurons: the ionic mechanism of GABA-mediated depolarization. *Neuropharmacology.* 13 : 215—219.
- Rovainen C. M. 1967. Physiological and anatomical studies on large neurons of central nervous system of the sea lamprey (*Petromyzon marinus*). II. Dorsal cells and giant interneurons. *J. Neurophysiol.* 30 : 1024—1042.
- Sato K., Kiyama H., Park H. T., Tohyama M. 1993. AMPA, KA and NMDA receptors are expressed in the rat DRG neurons. *NeuroReport.* 4 : 1263—1265.
- Si J.-Q., Li Z.-W., Hu H.-Z., Zhou X.-P., Guan B.-C. 1997. Inhibitory affect of baclofen on GABA-induced depolarization and GABA-activated current in primary sensory neurons. *Neuroscience.* 81 : 821—827.
- Sivilotti L., Nistri A. 1991. GABA receptor mechanisms in the central nervous system. *Prog. Neurobiol.* 36 : 35—92.
- Stuart G. J., Redman S. J. 1992. The role of GABA_A and GABA_B receptors in presynaptic inhibition of 1a EPSPs in cat spinal motoneurons. *J. Physiol.* 447 : 675—692.
- Vesselkin N. P., Adanina V. O., Rio J. P., Reperant J. 2003. Ultrastructural study of glutamate- and GABA-immunoreactive terminals contacting the primary afferent fibers in frog spinal cord A double postembedding immunocytochemical study. *Brain Res.* 960 : 267—272.
- Zarei M. M., Toro B., McCleskey E. W. 2004. Purinergic synapses formed between rat sensory neurons in the primary culture. *Neuroscience.* 126 : 195—201.

Поступила 7 IV 2008

IMMUNOREACTIVITY OF THE SYNAPSES ON THE PRIMARY AFFERENT AXONS AND SENSORY NEURONS OF THE SPINAL CORD *LAMPETRA FLUVIATILIS*

V. O. Adanina,¹ J.-P. Rio,² A. S. Adanina,¹ J. Reperant,² N. P. Vesselkin¹

¹ I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS, St. Petersburg, Russia, and ² Laboratoire d'Anatomie compare, Museum National d'Histoire Naturelle, Paris, France; e-mail: Adanina@rambler.ru

The existence of GABA-like immunoreactivity in the synapses on the primary afferent axons and GABA- and glutamate immunoreactive synapses on the dorsal cell somatic membrane was shown using double postembedding immunogold cytochemistry. These morphological findings suggest that control of the sensory information in the lamprey spinal cord is realized by means of presynaptic inhibition through the synapses on the primary afferent axons as well as directly through the synapses on the somata of the sensory neurons.

Key words: primary afferents, sensory neurons, GABA- and glutamate immunoreactive synapses, spinal cord, *Lampetra fluviatilis*.