

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЭФФЕКТОВ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ ГЛИЦИНА И ГАМК В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

© Д. В. Амахин,¹ Н. П. Веселкин^{1, 2}

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, и ² С.-Петербургский государственный университет, медицинский факультет; электронный адрес: Dmitry.Amakhin@gmail.com

В обзоре обобщены данные о совместной локализации двух тормозных нейромедиаторов глицина и гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК). Приведены сведения о строении, функции и возможности совместной локализации глициновых рецепторов и ГАМК_A-рецепторов. Рассматриваются различные механизмы взаимодействия эффектов, вызываемых действием глицина и ГАМК на нейроны или клетки, экспрессирующие глициновые и ГАМК_A-рецепторы. Рассматриваются механизмы прямого и косвенного межрецепторного взаимодействия, а также эффекты неселективной активации рецепторов.

Ключевые слова: ГАМК, глицин, ГАМК_A-рецепторы, глициновые рецепторы.

Долгое время считалось, что каждый отдельный нейрон центральной нервной системы (ЦНС) высвобождает только один тип нейромедиатора из всех своих синаптических окончаний. Данная идея носила название «принцип Дейла». С конца 80-х годов XX в. стали появляться работы, опровергающие этот принцип и показывающие возможность совместной локализации нескольких классических нейромедиаторов в одном синапсе. Например, была продемонстрирована совместная локализация ацетилхолина и гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) (Jia et al., 2003), ГАМК и серотонина (Barreiro-Iglesias et al., 2009a), ГАМК и АТФ (Jo, Schlichter, 1999), глутамата и ацетилхолина (Nishimaru et al., 2005), дофамина и ГАМК (Barreiro-Iglesias et al., 2009b), дофамина и серотонина (Zhou et al., 2005), глутамата и дофамина (Hnasko et al., 2010), глутамата и ГАМК (Seal, Edwards, 2006; Somogyi, 2006), а также ГАМК и глицина (Todd et al., 1996). Дальнейшие исследования этой особенности нервных клеток показали, что при совместном высвобождении нескольких сигнальных веществ процессы, запускаемые ими, могут влиять друг на друга. Это создает дополнительный механизм тонкой регуляции возбудимости нейрона, требующий детального изучения.

Цель данного обзора — систематизировать существующие данные о совместной локализации нейромедиаторов глицина и ГАМК и взаимовлиянии процессов, запускаемых при одновременной активации глициновых и ГАМК_A-рецепторов на мембране нейрона.

Нейромедиаторы глицин и ГАМК

Физиологическая функция и локализация глицина и ГАМК. ГАМК — основной тормозной нейромедиатор ЦНС. У млекопитающих этот нейромедиатор встречается практически во всех отделах ЦНС, но в наибольшем количестве в синапсах головного мозга

(Jentsch et al., 2002). Помимо выполнения медиаторных функций ГАМК принимает участие в ряде процессов развития нервной системы: регулируются миграция клеток, их рост и формирование синапсов (Ben-Ari et al., 2007).

Вторым важнейшим нейромедиатором, осуществляющим торможение в ЦНС, является глицин. В качестве нейромедиатора он наиболее распространен в филогенетически древних областях: синапсах ствола головного мозга, продолговатого и спинного мозга, хотя присутствие глицина показано и в высших отделах, таких как таламус, кора мозжечка, гипоталамус, стриатум, кора головного мозга (Otersen et al., 1988; Van den Pol, Gorcs, 1988; Pourcho et al., 1992). Существование тормозных рецепторов глицина продемонстрировано в нейронах гипоталамуса, гиппокампа, обонятельной луковицы, коры головного мозга, мозжечка, базальных ганглиев, черной субстанции, варолиева моста, гиппокампа, стриатума, бледного шара, мозжечка (Johnson, Ascher, 1987; Krishtal et al., 1988; Akaike, Kaneda, 1989; Ito, Cherubini, 1991; Trombley, Shepherd, 1994; Dieudonne, 1995; Danglot et al., 2004; Waldvogel et al., 2007; Baer et al., 2009; Uusisaari, Knopfel, 2010). В спинном мозге всех позвоночных — от млекопитающих до речной миноги — глицин играет роль основного тормозного медиатора (Veselkin et al., 2000; Jentsch et al., 2002).

Совместная локализация и высвобождение глицина и ГАМК. Глицин и ГАМК имеют общий транспортер VIAAT (vesicular inhibitory amino acid transporter), запасающий эти вещества в везикулы в синаптической терминали, что делает возможным создание везикулы, содержащей оба нейромедиатора (Dumoulin et al., 1999; Rousseau et al., 2008).

Иммуноцитохимические исследования, выполненные на млекопитающих, показали, что в значительной части тормозных синапсов на мотонейронах и первичных афферентах спинного мозга (Ornung et al., 1994; Taal, Holstege, 1994; Watson, Bazzaz, 2001; Somogyi, 2002; Suther-

land et al., 2002), а также нейронах ствола мозга (Wentzel et al., 1993; Lahjouji et al., 1996; Yang et al., 1997; Bae et al., 1999, 2002) ГАМК и глицин локализованы в одной синаптической терминали. Продемонстрировано, что ГАМК и глицин совместно локализованы во многих синапсах головного мозга (Lahjouji et al., 1996; Dumba et al., 1998; Crook et al., 2006). В большинстве (70 %) тормозных синапсов на мотонейронах и на первичных афферентных аксонах спинного мозга лягушки ГАМК и глицин локализованы совместно (Аданина и др., 2010).

Возможность совместного высвобождения ГАМК и глицина в одном синапсе была впервые продемонстрирована электрофизиологическими методами на нейронах вентрального рога спинного мозга (Jonas et al., 1998). В дальнейшем данная возможность была продемонстрирована в других отделах ЦНС млекопитающих (мотонейроны ядра подъязычного нерва (O'Brien, Berger, 1999; Donato, Nistri, 2000), клетки Гольджи мозжечка (Dumoulin et al., 2001), глазодвигательные мотонейроны ствола мозга (Russier et al., 2002), нейроны трапециевидного тела ствола мозга (Awatramani et al., 2005), клетки Реншоу и интернейроны спинного мозга (Gonzalez-Forero, Alvarez, 2005)). Также это явление обнаружено в синапсах на мотонейронах спинного мозга лягушки (Полина и др., 2006).

Примечательно, что совместное высвобождение глицина и ГАМК не всегда приводит к одновременной активации глициновых и ГАМК_A-рецепторов. Так, например, одна и та же клетка Гольджи мозжечка, высвобождающая в синапсах глицин и ГАМК одновременно, может осуществлять как опосредованное только глицином торможение униполярных кисточковых клеток мозжечка, так и опосредованное только ГАМК торможение зернистых клеток, поскольку на этих нейронах присутствуют рецепторы только одного типа (Dugue et al., 2005).

Глициновые и ГАМК_A-рецепторы

Функции и свойства глициновых и ГАМК_A-рецепторов. Ионотропный глициновый рецептор является первым рецептором нейромедиаторов, который был выделен из нервных клеток млекопитающих (Pfeiffer et al., 1982). Мутации генов субъединиц глицинового рецептора у мышей и человека приводят к возникновению нарушения поведения и двигательной функции (к гиперексплексии, например), что подчеркивает большое значение глицинергической синаптической сигнализации (Li, Lester, 2001; Jentsch et al., 2002; Planells-Cases, Jentsch, 2009).

ГАМК_A-рецептор, так же как и глициновый, является ионотропным. Мутации в генах, кодирующих субъединицы ГАМК_A-рецепторов, приводят к возникновению различных типов эпилепсии (Li, Lester, 2001; Jentsch et al., 2002; Planells-Cases, Jentsch, 2009), а также к развитию неврологических и психических нарушений, таких как депрессии и аффективные расстройства (Cascio, 2006). Помимо ГАМК_A рецепторов в ЦНС существуют два других типа рецепторов ГАМК — метаботропные ГАМК_B и ионотропные ГАМК_C.

Активация глициновых и ГАМК_A-рецепторов приводит к открытию каналов, проницаемых для ионов хлора, что у взрослых особей приводит к вхождению этих ионов внутрь клетки и гиперполяризации мембраны (Vormann et al., 1987).

Глициновые и ГАМК_A-рецепторы могут быть локализованы как постсинаптически, так и пресинаптически. В случае пресинаптической локализации они участвуют в регуляции высвобождения нейромедиатора. Так, например, продемонстрировано, что в гиппокампе крысы активация пресинаптических глициновых рецепторов способствует выбросу глутамата (Lee et al., 2009). ГАМК_A-рецепторы, локализованные на пресинаптических терминалях в спинном мозге крысы, могут регулировать высвобождение глицина (Jang et al., 2002).

Субъединичный состав глициновых и ГАМК_A-рецепторов. Глициновые и ГАМК_A-рецепторы принадлежат к суперсемейству лигандуправляемых ионных каналов. Они имеют сходную структуру: канал формируется пятью субъединицами, которые имеют гомологию исходных аминокислотных последовательностей и структурную гомологию. Предполагается, что все субъединицы произошли от некоторого общего белка-предшественника (Jentsch et al., 2002; Darlison et al., 2005). Каждая субъединица содержит большой (более 200 аминокислотных остатков) глобулярный N-концевой внеклеточный домен, четыре гидрофобных трансмембранных домена M1—M4 и короткий внеклеточный C-концевой домен. N-конец содержит консервативный мотив — цистеиновую петлю. Сайт связывания лигандов образуется на стыке двух N-концевых внеклеточных доменов соседних субъединиц (Brejc et al., 2001; Cascio, 2004). Пять α -спиральных трансмембранных доменов M2 (по одному от каждой субъединицы) образуют ион-селективную пору (Jentsch et al., 2002; Cascio, 2004). Третий и четвертый трансмембранные домены соединены петлей, находящейся на цитоплазматической стороне. Длина петли может составлять от 80 до 265 аминокислотных остатков в зависимости от типа рецептора (Cascio, 2004). На этой петле находятся структурные элементы, осуществляющие взаимодействие с различными цитоплазматическими белками, элементами цитоскелета или другими рецепторами. Предполагается, что взаимодействия, осуществляемые с данной петлей, влияют на сборку, доставку, кластеризацию, а также обеспечивают модуляцию активности рецептора. Среди аминокислот, входящих в состав цитоплазматической петли, в большом количестве присутствуют серин, треонин и тирозин — основные объекты действия различных киназ и фосфатаз (Cascio, 2004).

Существует множество подтипов субъединиц, образующих глициновые и ГАМК_A-рецепторы. Рецепторы, образованные различными сочетаниями субъединиц, могут существенно различаться по своим свойствам, таким как кинетика активации и десенситизации, уровень проводимости, локализация на плазматической мембране, чувствительность к агонистам и модуляторам, взаимодействие с различными внутриклеточными посредниками (Jentsch et al., 2002; Cascio, 2004). Субъединичный состав рецепторов существенно различается в разных отделах нервной системы (Jentsch et al., 2002; Anderson et al., 2009).

На данный момент у млекопитающих известно 19 субъединиц, комбинации которых образуют ГАМК_A-рецептор. Все они сгруппированы в несколько классов: α_1 — α_6 , β_1 — β_3 , γ_1 — γ_3 , δ , ϵ , π , θ (Jentsch et al., 2002). Для ряда субъединиц при экспрессии возможен альтернативный сплайсинг. Одним из наиболее изученных примеров реализации альтернативного сплайсинга является вырезание экзона гена γ_2 -субъединицы, имеющего длину 24 па-

ры оснований. Этот экзон кодирует дополнительный участок внутриклеточной петли между доменами М3 и М4 длиной 8 аминокислотных остатков, содержащий последовательность для фосфорилирования протеинкиназой С (Whiting et al., 1990).

Большинство ГАМК_A-рецепторов имеет следующую стехиометрию: $2\alpha + \beta + 2\gamma$ или $2\alpha + 2\beta + \gamma$ (Jentsch et al., 2002; Müller et al., 2008). Существующее разнообразие субъединиц является достаточным, чтобы образовать сотни различных рецепторов.

У рецептора глицина нет столь обширного разнообразия изоформ, как у ГАМК_A-рецептора. Идентифицированы четыре типа α -субъединицы и одна β -субъединица (Jentsch et al., 2002). Экспрессируемая в ооцитах шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* α_1 -субъединица может формировать полноценный гомомерный рецептор, сходный по своим свойствам с природным рецептором глицина, образованным субъединицами разного типа (Schmieden et al., 1989).

Разнообразие субъединиц глицинового рецептора усиливается еще больше в результате альтернативного сплайсинга $\alpha 1$, $\alpha 2$ и $\alpha 3$ -субъединиц. Например, субъединица $\alpha 3K$ короче субъединицы $\alpha 3L$ на 15 аминокислот. Отбрасываемый участок приходится на петлю между ТМ3 и ТМ4 и содержит сайт для фосфорилирования киназами (серин 370). В результате рецепторы, содержащие $\alpha 3L$ -субъединицу, десенситизируются медленнее, чем содержащие $\alpha 3K$ -субъединицу (Müller et al., 2008).

Образование химерных рецепторов. Недавно была показана возможность образования рецептора, представляющего собой комбинацию субъединиц рецепторов глицина и ГАМК_A (Li, Slaughter, 2007). Если $\gamma 2s$ -субъединицы ГАМК_A-рецептора экспрессируются совместно с α -субъединицами рецептора глицина, то получающийся химерный рецептор чувствителен к глицину и нечувствителен к ГАМК. При этом пикротоксинин является неконкурентным антагонистом данного химерного рецептора. Таким образом, можно предположить, что субъединицы рецепторов ГАМК и глицина могут комбинироваться с образованием функционального рецептора. Предположительно гибридный рецептор экспрессируется в нейронах сетчатки глаза (Li, Slaughter, 2007).

Исследования, проведенные на рецепторах, экспрессированных в ооцитах шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*, показали, что субъединицы $\rho 1$ ГАМК_C-рецептора могут объединяться с субъединицами рецептора глицина, что приводит к образованию гибридного рецептора, чувствительного как к глицину, так и к ГАМК (Pan et al., 2000). А сочетание $\gamma 2$ -субъединиц ГАМК_A-рецептора и ρ -субъединиц ГАМК_C-рецептора приводит к образованию рецептора, сходного по своим биофизическим и фармакологическим свойствам с ГАМК_C-рецептором (Qian, Ripps, 1999).

Также была продемонстрирована возможность объединения субъединиц ГАМК_A- и ГАМК_B-рецепторов (Balasubramanian et al., 2004). Субъединица $\gamma 2S$ ГАМК_A-рецептора может вступать во взаимодействие как с GABA_BR1-субъединицей ГАМК_B-рецептора, так и с гетеродимером GABA_BR1/GABA_BR2. В последнем случае происходит существенное усиление интернализации ГАМК_B-рецептора в ответ на действие агонистов.

Таким образом, можно предположить, что объединение субъединиц различных рецепторов может происходить в естественных условиях и оказывать существенное влияние на особенности синаптической передачи.

Взаимодействие глициновых и ГАМК_A-рецепторов с внутриклеточными структурными, регуляторными и сигнальными молекулами. На сегодняшний день совершенно очевидно, что лигандуправляемые ионные каналы взаимодействуют с самыми разнообразными внутриклеточными структурными, регуляторными и сигнальными молекулами. Эти молекулы связывают рецепторы с различными путями передачи химического сигнала внутри клетки, обеспечивают регуляцию активности рецепторов, способствуют их правильной локализации и кластеризации в мембране (Alvarez et al., 1997; Essrich et al., 1998; Feng et al., 1998; Wang et al., 1999; Sheng, Pak, 2000; Jentsch et al., 2002; Kneussel, 2002; Legendre et al., 2002).

Общие сведения о межрецепторном взаимодействии

На сегодняшний день во многих исследованиях продемонстрировано, что одновременная активация различных совместно локализованных рецепторов может приводить к перекрестной модуляции их активности. Данная перекрестная модуляция представляет собой быстрый адаптивный процесс, участвующий в регуляции эффективности синаптической передачи. Факт взаимовлияния ответов нейронов установлен для большого числа сочетаний рецепторов. Перекрестное взаимовлияние было продемонстрировано для D1-допаминовых и A1-аденозиновых рецепторов (Gines et al., 2000), D2-допаминовых и НМДА-рецепторов (Lee et al., 2002), D2-допаминовых и АМПА-рецепторов (Zou et al., 2005), D5-допаминовых и ГАМК_A-рецепторов (Liu et al., 2000), P2X₂-рецепторов АТФ и 5HT₃-рецепторов серотонина (Boue-Grabot et al., 2003), P2X- и никотиновых ацетилхолиновых рецепторов (Barajas-Lopez et al., 1998; Searl, Silinsky, 1998; Khakh et al., 2000), P2X₂- и ГАМК_A-рецепторов (Sokolova et al., 2001), капсаициновых и P2X-рецепторов (Piper, Docherty, 2000), P2X₃- и ГАМК_A-рецепторов (Toulme et al., 2007), также для ГАМК_A- и глициновых рецепторов (Li, Xu, 2002; Russier et al., 2002; Li et al., 2003).

Взаимовлияние ответов нейрона может осуществляться путем прямого межрецепторного взаимодействия, как в случае взаимодействия ГАМК_A- и допаминовых D5-рецепторов (Liu et al., 2000) или пуринорецепторов и ГАМК_A-рецепторов (Boue-Grabot et al., 2003). Продемонстрировано, что в основе взаимодействия P2X₂-рецептора АТФ и ГАМК_A-рецептора лежит прямое взаимодействие С-концевого домена субъединицы пуринорецептора и внутриклеточной петли $\beta 3$ -субъединицы ГАМК_A-рецептора (Boue-Grabot et al., 2003). В то же время взаимная модуляция рецепторов различных типов может осуществляться с участием различных цитоплазматических или мембранных посредников. Так, например, во взаимодействии P2X₂-рецепторов и никотиновых рецепторов принимает участие кальций-кальмодулинзависимая протеинкиназа 2 (CaMKII) (Diaz-Hernandez et al., 2006).

Уже упоминавшаяся возможность совместной локализации рецепторов ГАМК и глицина в синапсах и совместного высвобождения ГАМК и глицина в одном синапсе (Todd et al., 1996; Jonas et al., 1998; O'Brien, Berger, 1999; Russier et al., 2002; Полина и др., 2006) указывает на наличие физиологических условий для осуществления взаимовлияний ответов нейрона на глицин и ГАМК.

Особенности взаимовлияния ГАМК- и глицинопосредованных ответов в различных отделах ЦНС

Взаимовлияние ответов на аппликацию нейромедиаторов. В нейронах поля СА1 гиппокампа крысы взаимовлияние ответов на аппликацию глицина и ГАМК происходит наиболее типично. Совместная аппликация больших концентраций нейромедиаторов приводит к возникновению тока гораздо меньшего по амплитуде (около 50 %), чем полученного в результате арифметической суммации ответов на аппликацию данных нейромедиаторов по отдельности (Li, Xu, 2002), т. е. наблюдалась окклюзия. Нейроны гиппокампа, у которых отсутствовал ответ на аппликацию одного из нейромедиаторов, при совместной аппликации ГАМК и глицина дают ответ, соответствующий ответу на аппликацию другого нейромедиатора. При совместной аппликации нейромедиаторов в присутствии одного из селективных антагонистов глициновых или ГАМК_A-рецепторов ответ нейрона соответствовал ответу, вызванному активацией незаблокированных рецепторов (Li, Xu, 2002).

Взаимовлияние глициновых и ГАМК_A-рецепторов было детально исследовано на нейронах дорсального рога (Li et al., 2003). Во-первых, амплитуда ответа нейронов на совместную аппликацию глицина и ГАМК была всегда меньше арифметической суммы индивидуальных ответов. Эффект окклюзии ГАМК- и глицинопосредованных токов максимален при использовании насыщающих концентраций нейромедиаторов. При низких (1 мкМ) концентрациях окклюзия отсутствует. При этом продемонстрировано, что эффект окклюзии не опосредован неселективной активацией рецепторов. Во-вторых, последовательная аппликация данных нейромедиаторов показала, что предварительная аппликация глицина в большей степени снижает последующий ГАМК-опосредованный ответ, чем предварительная аппликация ГАМК снижает глицинопосредованный. Также предварительная аппликация увеличивает скорость десенситизации ГАМК-опосредованного ответа, но не изменяет кинетику спада глицинопосредованного. Восстановление после перекрестного ингибирования ГАМК-ответов посредством глицина происходит в 2 раза медленнее, чем восстановление глицинопосредованных ответов после ингибирования посредством ГАМК. В присутствии селективного антагониста (стрихнина или бикикуллина), блокирующего ответ на первую аппликацию, ответ на последующую аппликацию соответствует ответу на аппликацию в обычных условиях.

Результаты экспериментов, проведенных на культивированных нейронах обонятельной луковицы крысы с последовательной аппликацией нескольких нейромедиаторов, отличаются от описанных выше результатов, полученных на нейронах спинного мозга. В нейронах обонятельной луковицы также наблюдались окклюзия ответов при совместной аппликации глицина и ГАМК и их перекрестное ингибирование. Но снижение амплитуды второго ответа после предаппликации примерно одинаково для обоих нейромедиаторов (Trombley et al., 1999). Также исследования показали, что в обонятельной луковице существует небольшая доля нервных клеток, в которых описанные эффекты отсутствуют, и сумма токов, вызванных аппликацией глицина и ГАМК по отдельности, приблизительно равна току, вызванному совместной аппликацией этих нейромедиаторов (Trombley et al., 1999).

В нейронах сетчатки рыб взаимовлияние ГАМК- и глицинопосредованных ответов может происходить совершенно иначе, чем в описанных выше примерах. Совместная аппликация глицина и ГАМК (10 мкМ) приводит к возникновению ответа, превосходящего арифметическую сумму индивидуальных ответов в несколько раз (Li, Yang, 1998).

Нелинейные взаимодействия постсинаптических токов. В мотонейронах ствола мозга наблюдаются три типа спонтанных тормозных постсинаптических токов (ТПСТ): глицинопосредованные, ГАМК-опосредованные и опосредованные совместным высвобождением глицина и ГАМК (Russier et al., 2002). Кинетика ТПСТ последнего типа меняется в зависимости соотношения ГАМК- и глицинопосредованных компонентов. Также в мотонейронах ствола головного мозга крысы имеет место окклюзия ТПСТ: сумма ТПСТ, вызванных активацией рецепторов ГАМК и глицина по отдельности, превосходит по амплитуде и отличается по форме от ответов, получаемых при совместном открытии каналов обоих типов. Это отличие становится более значительным с увеличением доли глициновой проводимости от суммарной максимальной проводимости мембраны мотонейрона (Russier et al., 2002).

В нейронах II пластинки спинного мозга средняя амплитуда миниатюрных ТПСТ, опосредованных совместным высвобождением глицина и ГАМК, лишь незначительно выше амплитуды глицинопосредованных миниатюрных ТПСТ (Mitchell et al., 2007), то есть наблюдается практически полная окклюзия ответов.

Механизмы взаимовлияния ГАМК- и глицинопосредованных ответов

Гоморецепторная и гетерорецепторная гипотезы. Идея функциональных взаимодействий между рецепторами глицина и ГАМК была предложена более 30 лет назад (Barker, McBurney, 1979). В культивируемых нейронах спинного мозга последовательная аппликация глицина и ГАМК приводит к снижению ответа, следующего вторым, что давало возможность исследователям предположить, что рецепторы глицина и ГАМК могут иметь общий проводящий канал. Впоследствии данная гипотеза была отброшена, поскольку субъединицы глицинового и ГАМК_A-рецепторов были клонированы, и тем самым было показано, что рецепторы глицина и ГАМК являются отдельными образованиями. Результаты ранних исследований проницаемости рецепторов глицина и ГАМК для различных ионов позволили авторам предположить, что эти ионные каналы образованы общими субъединицами, а отличными являются только субъединицы, несущие сайт связывания нейромедиатора (Wogmann et al., 1987). В начале 1990-х годов было продемонстрировано, что перекрестное влияние рецепторов глицина и ГАМК может быть обусловлено изменениями в движущей силе для ионов хлора (Grassi, 1992).

В 1999 г. были опубликованы исследования, показывающие, что перекрестные эффекты активации рецепторов глицина и ГАМК не могут быть объяснены только лишь возмущениями градиента ионов хлора: снижение ГАМК-опосредованного ответа в результате предварительной аппликации глицина в нейронах обонятельной луковицы не зависит от мембранного потенциала и не связано с изменением потенциала реверсии для ионов

хлора (Trombley et al., 1999). Поскольку в этом исследовании использовались относительно высокие концентрации глицина и ГАМК (около 1 мМ), авторы работы предположили, что в основе нелинейного взаимодействия ответов лежит активация рецепторов, способных связывать как глицин, так и ГАМК. К аналогичным выводам привели исследования, выполненные на изолированных нейронах спинного мозга миноги (Baev et al., 1992). Авторы продемонстрировали, что разница между чувствительностью к глицину и чувствительностью к ГАМК в нейронах миноги незначительна и что токи, вызванные действием этих нейромедиаторов, блокируются антагонистами как ГАМК_A-, так и глициновых рецепторов. Тем не менее существование рецепторов, активируемых обоими нейромедиаторами, считается недоказанным.

Возможность неселективной активации глициновых рецепторов посредством ГАМК. Логично предположить, что наблюдаемые феномены окклюзии или перекрестного ингибирования в какой-то мере объясняются неселективной активацией глициновых или ГАМК_A-рецепторов не своим нейромедиатором. В ряде работ анализировалась эта возможность. Экспрессированные в клеточных культурах глициновые и ГАМК_A-рецепторы демонстрируют высокую аффинность и специфичность по отношению к своим агонистам — глицину и ГАМК соответственно. Гомомерные рецепторы $\alpha 1$ или $\alpha 2$ глицина нейронов человека, экспрессированные в ооцитах лягушки и клетках линии НЕК-293, могут быть активированы посредством ГАМК, но для этого необходимы значительные концентрации нейромедиатора. Чувствительность рецепторов глицина к ГАМК ниже, чем к глицину, в 500—800 раз (De Saint Jan et al., 2001). Аналогичные результаты были получены на клонированных глициновых рецепторах рыбы. Продемонстрировано, что гомомерный $\alpha 1$ -рецептор глицина *Danio rerio* (zebra fish), экспрессированный в ооцитах шпорцевой лягушки или линии клеток BOSC 23, чувствителен к обоим нейромедиаторам, но при этом концентрация половинного эффекта ГАМК на рецепторы глицина выше на 2—3 порядка, чем концентрация половинного эффекта глицина (Fucile et al., 1999). Чувствительность клонированных глициновых рецепторов человека и рыбы к ГАМК варьировала в очень широких пределах (EC₅₀ принимало значения 8—120 мМ для рыбы и примерно 25—541 мМ для человека в зависимости от типа субъединиц, вида экспрессирующих эти рецепторы клеток и их чувствительности к глицину) (Fucile et al., 1999; De Saint Jan et al., 2001). Таким образом, можно предположить, что в отдельных случаях у низших позвоночных ГАМК может активировать рецепторы глицина *in vivo* и тем самым в некоторой мере обуславливать наблюдаемые эффекты окклюзии и перекрестного ингибирования.

Доказательство подобной возможности было получено на нейронах ствола мозга (Lu et al., 2008). Миниатюрные токи симулировались с помощью аппликаций больших концентраций глицина и ГАМК в течение 1 мс при блокированных ГАМК_A-рецепторах (20 мкМ SR-95531). Совместная аппликация глицина и ГАМК в отличие от аппликации одного только глицина приводила к возникновению токов, точно соответствующих реально наблюдаемым миниатюрным токам в нейронах слуховых ядер ствола мозга в условиях блокады ГАМК_A-рецепторов (Lu et al., 2008). Это свидетельствует о том, что в слуховых ядрах ствола мозга при совместном высвобождении глицина и ГАМК происходит активация рецепторов глицина

обоими веществами, приводящая к ускорению кинетики ответа. Это изменение кинетики существенно влияет на возбудимость мотонейрона, уменьшая временной промежуток, в котором осуществляется эффективное торможение. По мере увеличения отношения ГАМК/глицин в апплицируемой смеси скорость спада ответа увеличивается, что указывает на возможность сверхточной регуляции возбудимости нейрона за счет подбора нужного сочетания нейромедиатора в везикуле. (Lu et al., 2008)

В нейронах спинного мозга лягушки также была продемонстрирована возможность неселективной активации глициновых рецепторов посредством ГАМК (Амахин, Веселкин, 2009, 2011). Концентрация половинного эффекта ГАМК при его действии на рецепторы глицина составляет около 1.2 мМ, что в 40—150 раз больше концентрации половинного эффекта глицина. Это дает возможность предположить, что неселективная активация глициновых рецепторов посредством ГАМК может проявляться в физиологических условиях в процессе тормозной передачи в спинном мозге лягушки. Описанные результаты схожи с результатами, полученными на рецепторах нейронов спинного мозга миноги (Baev et al., 1992), но существенно отличаются от результатов, полученных на рецепторах млекопитающих (O'Brien, Berger, 1999; De Saint Jan et al., 2001; Lu et al., 2008), согласно которым концентрация половинного эффекта ГАМК при его действии на рецепторы глицина значительно (на 1—2 порядка) выше. Это может свидетельствовать о существовании эволюционной тенденции, согласно которой развитие тормозной рецепции позвоночных проходило в направлении увеличения селективности действия тормозных нейромедиаторов на свои рецепторы.

Примечательно, что в изолированных нейронах спинного мозга лягушки и миноги установившаяся концентрация половинного эффекта ГАМК при его действии на рецепторы глицина существенно ниже, чем концентрация половинного эффекта ГАМК при его действии на глициновые рецепторы рыбы, экспрессированные в культивируемых клетках (Baev et al., 1992; Fucile et al., 1999; Амахин, Веселкин, 2009, 2011). Причины столь значительного расхождения результатов, полученных на изолированных нейронах, и результатов, полученных на культивируемых клетках, неясны и требуют дальнейшего исследования. Возможно, чувствительность глициновых рецепторов к ГАМК может регулироваться внутри клеток путями, различающимися у клеток разных типов. Другим возможным объяснением может быть образование в нейронах низших позвоночных химерных рецепторов, состоящих из субъединиц глициновых и ГАМК_A-рецепторов и имеющих сайты связывания для обоих нейромедиаторов. Потенциальная возможность образования функциональных рецепторов с гибридными свойствами в результате смешения субъединиц глициновых и ГАМК_A-рецепторов была продемонстрирована в сетчатке глаза амфибий (саламандр) (Li, Slaughter, 2007).

Таким образом, можно предполагать, что неселективная активация глициновых рецепторов посредством ГАМК влияет на тормозную синаптическую передачу посредством этих веществ. Что касается неселективной активации ГАМК_A-рецепторов посредством глицина, то свидетельств в пользу данной возможности на сегодняшний день не обнаружено.

Участие различных внутриклеточных посредников в ГАМК-глициновом взаимодействии. Предполагается, что в основе нелинейного взаи-

модействия ответов лежат какие-либо внутриклеточные сигнальные пути и (или) прямое межрецепторное взаимодействие.

Аденозин-5'-О-3-тиотрифосфат (АТР γ S) является аналогом АТФ, который в реакции фосфорилирования отдает тиофосфатную группу, что приводит к образованию продукта реакции, более устойчивого к гидролизу. В нейронах дорсального рога крысы добавление в пэтч-пипетку АТР γ S приводит к снижению уровня ингибирования ответа на ГАМК предварительной аппликацией глицина. Со временем эффект усиливается, и спустя 15 мин после образования плотного контакта происходит полное снятие ингибирования (Li et al., 2003).

В этой же работе (Li et al., 2003) продемонстрировано, что в основе опосредованного глицином торможения ответа нейронов дорсального рога спинного мозга на ГАМК, описанного выше, лежит дефосфорилирование ГАМК $_A$ -рецепторов посредством фосфатазы 2В (кальцинейрина), поскольку ингибитор данного фермента циклоспорин А полностью блокировал взаимовлияние ответов. Таким образом, можно заключить, что предварительная аппликация глицина приводит к активации фосфатазы 2В, дефосфорилированию ГАМК $_A$ -рецепторов и ингибированию ГАМК-опосредованного ответа (Li et al., 2003). Остается неясным, каким образом активация глицинового рецептора приводит к увеличению активности фосфатазы. Авторами данной работы выдвигается ряд предположений о том, как это может происходить. Во-первых, может осуществляться непосредственное взаимодействие рецептора глицина и фосфатазы 2В. В настоящее время нет свидетельств, подтверждающих это предположение. Во-вторых, может иметь место какой-либо кальцийзависимый механизм, поскольку продемонстрировано, что активация рецепторов глицина приводит к увеличению внутриклеточной концентрации кальция (Kulik et al., 2000). В-третьих, возможно, рецептор глицина напрямую взаимодействует с ГАМК $_A$ -рецептором и изменяет его конформацию, что приводит к экспонированию сайтов фосфорилирования для действия кальцинейрина (или других фосфатаз) и (или) затрудняет доступ к сайтам фосфорилирования для протеинкиназ. Кальцинейрин, как правило, ассоциирован с плазматической мембраной (Yakel, 1997) и может регулировать активность ГАМК $_A$ -рецепторов (Jones, Westbrook, 1997), что свидетельствует в пользу последнего предположения.

Что касается обратной ситуации — ингибирования нейронального ответа на глицин посредством преаппликации ГАМК, то этот эффект не регулируется фосфорилированием. Предположительно имеет место межрецепторное взаимодействие, осуществляемое напрямую или с помощью какого-либо белка-посредника (Li et al., 2003).

Заключение

Суммируя все вышесказанное, можно заключить, что совместное высвобождение глицина и ГАМК в одном синапсе и совместная активация глициновых и ГАМК $_A$ -рецепторов — довольно распространенные механизмы торможения активности нейронов в самых различных отделах нервной системы. Эффекты одновременной активации рецепторов двух тормозных нейромедиаторов оказывают влияние друг на друга. Это влияние может проявляться в виде взаимного ингибирования или усиления ответов, изменения их временного течения.

Помимо взаимодействия рецепторов другим возможным механизмом, обуславливающим эффекты взаимодействия ГАМК- и глициноопосредованных ответов, является возможность неселективной активации глициновых рецепторов посредством ГАМК. На данный момент распространенность и мера эффективности этого механизма неясны.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 11-04-00868) и программы фундаментальных исследований ОБН РАН «Механизмы физиологических функций: от молекулы до поведения».

Список литературы

- Аданина В. О., Рио Ж. -П., Аданина А. С., Ренеран Ж., Веселкин Н. П. 2010. ГАМК- и глициниммунореактивные синапсы в спинном мозге лягушки *Rana temporaria*. Цитология. 52(7) : 537—548.
- Амахин Д. В., Веселкин Н. П. 2009. Характеристики и взаимодействия ГАМК- и глицинэргических процессов в нейронах спинного мозга лягушки. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 95(4) : 313—323.
- Амахин Д. В., Веселкин Н. П. 2011. Механизмы взаимодействия ГАМК- и глицин-опосредованных ответов нейронов спинного мозга лягушки. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 97(10) : 1025—1034.
- Полина Ю. А., Амахин Д. В., Кожанов В. М., Курчавый Г. Г., Веселкин Н. П. 2006. Три типа тормозных миниатюрных потенциалов в мотонейронах спинного мозга лягушки: возможность ко-медиации ГАМК и глицина. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 92(1) : 18—26.
- Akaike N., Kaneda M. 1989. Glycine-gated chloride current in acutely isolated rat hypothalamic neurons. J. Neurophysiol. 62 : 1400—1409.
- Alvarez F. J., Dewey D. E., Harrington D. A., Fyffe R. E. 1997. Cell-type specific organization of glycine receptor clusters in the mammalian spinal cord. J. Comp. Neurol. 379 : 150—170.
- Anderson W. B., Graham B. A., Beveridge N. J., Tooney P. A., Brichta A. M., Callister R. J. 2009. Different forms of glycine- and GABA(A)-receptor mediated inhibitory synaptic transmission in mouse superficial and deep dorsal horn neurons. Mol. Pain. 5 : 65.
- Awatramani G. B., Turecek R., Trussell L. O. 2005. Staggered development of GABAergic and glycinergic transmission in the MNTB. J. Neurophysiol. 93 : 819—828.
- Bae Y. C., Choi B. J., Lee M. G., Lee H. J., Park K. P., Zhang L. F., Honma S., Fukami H., Yoshida A., Ottersen O. P., Shigenaga Y. 2002. Quantitative ultrastructural analysis of glycine- and gamma-aminobutyric acid-immunoreactive terminals on trigeminal alpha- and gamma-motoneuron somata in the rat. J. Comp. Neurol. 442 : 308—319.
- Bae Y. C., Nakamura T., Ihn H. J., Choi M. H., Yoshida A., Moritani M., Honma S., Shigenaga Y. 1999. Distribution pattern of inhibitory and excitatory synapses in the dendritic tree of single masseter alpha-motoneurons in the cat. J. Comp. Neurol. 414 : 454—468.
- Baer K., Waldvogel H. J., Faull R. L., Rees M. I. 2009. Localization of glycine receptors in the human forebrain, brainstem, and cervical spinal cord: an immunohistochemical review. Front. Mol. Neurosci. 2 : 25.
- Baev K. V., Rusin K. I., Safronov B. V. 1992. Primary receptor for inhibitory transmitters in lamprey spinal cord neurons. Neuroscience. 46 : 931—941.
- Balasubramanian S., Teissere J. A., Raju D. V., Hall R. A. 2004. Hetero-oligomerization between GABAA and GABAB receptors regulates GABAB receptor trafficking. J. Biol. Chem. 279 : 18 840—18 850.

- Barajas-Lopez C., Espinosa-Luna R., Zhu Y. 1998. Functional interactions between nicotinic and P2X channels in short-term cultures of guinea-pig submucosal neurons. *J. Physiol.* 513 (Pt 3): 671—683.
- Barker J. L., McBurney R. N. 1979. GABA and glycine may share the same conductance channel on cultured mammalian neuro-nes. *Nature.* 277: 234—236.
- Barreiro-Iglesias A., Cornide-Petronio M. E., Anadon R., Rodicio M. C. 2009a. Serotonin and GABA are colocalized in restricted groups of neurons in the larval sea lamprey brain: insights into the early evolution of neurotransmitter colocalization in vertebrates. *J. Anat.* 215: 435—443.
- Barreiro-Iglesias A., Villar-Cervino V., Anadon R., Rodicio M. C. 2009b. Dopamine and gamma-aminobutyric acid are colocalized in restricted groups of neurons in the sea lamprey brain: insights into the early evolution of neurotransmitter colocalization in vertebrates. *J. Anat.* 215: 601—610.
- Ben-Ari Y., Gaiarsa J. L., Tyzio R., Khazipov R. 2007. GABA: a pioneer transmitter that excites immature neurons and generates primitive oscillations. *Physiol. Rev.* 87: 1215—1284.
- Bormann J., Hamill O. P., Sakmann B. 1987. Mechanism of anion permeation through channels gated by glycine and gamma-aminobutyric acid in mouse cultured spinal neurones. *J. Physiol.* 385: 243—286.
- Boue-Grabot E., Barajas-Lopez C., Chakfe Y., Blais D., Belanger D., Emerit M. B., Seguela P. 2003. Intracellular cross talk and physical interaction between two classes of neurotransmitter-gated channels. *J. Neurosci.* 23: 1246—1253.
- Brejck K., van Dijk W. J., Klaassen R. V., Schuurmans M., van Der Oost J., Smit A. B., Sixma T. K. 2001. Crystal structure of an ACh-binding protein reveals the ligand-binding domain of nicotinic receptors. *Nature.* 411: 269—276.
- Cascio M. 2004. Structure and function of the glycine receptor and related nicotinic receptors. *J. Biol. Chem.* 279: 19 383—19 386.
- Cascio M. 2006. Modulating inhibitory ligand-gated ion channels. *AAPS J.* 8(2): E353—361.
- Crook J., Hendrickson A., Robinson F. R. 2006. Co-localization of glycine and gaba immunoreactivity in interneurons in Macaca monkey cerebellar cortex. *Neuroscience.* 141: 1951—1959.
- Danglot L., Rostaing P., Triller A., Bessis A. 2004. Morphologically identified glycinergic synapses in the hippocampus. *Mol. Cell. Neurosci.* 27: 394—403.
- Darlison M. G., Pahal I., Thode C. 2005. Consequences of the evolution of the GABA(A) receptor gene family. *Cell. Mol. Neurobiol.* 25: 607—624.
- De Saint Jan D., David-Watine B., Korn H., Bregestovski P. 2001. Activation of human alpha1 and alpha2 homomeric glycine receptors by taurine and GABA. *J. Physiol.* 535 (Pt 3): 741—755.
- Diaz-Hernandez M., Sanchez-Nogueiro J., Miras-Portugal M. T. 2006. Role of CaMKII in the cross talk between ionotropic nucleotide and nicotinic receptors in individual cholinergic terminals. *J. Mol. Neurosci.* 30: 177—180.
- Dieudonne S. 1995. Glycinergic synaptic currents in Golgi cells of the rat cerebellum. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 92: 1441—1445.
- Donato R., Nistri A. 2000. Relative contribution by GABA or glycine to Cl(-)-mediated synaptic transmission on rat hypoglossal motoneurons *in vitro*. *J. Neurophysiol.* 84: 2715—2724.
- Dugue G. P., Dumoulin A., Triller A., Dieudonne S. 2005. Target-dependent use of co-released inhibitory transmitters at central synapses. *J. Neurosci.* 25: 6490—6498.
- Dumba J. S., Irish P. S., Anderson N. L., Westrum L. E. 1998. Electron microscopic analysis of gamma-aminobutyric acid and glycine colocalization in rat trigeminal subnucleus caudalis. *Brain Res.* 806: 16—25.
- Dumoulin A., Rostaing P., Bedet C., Levi S., Isambert M. F., Henry J. P., Triller A., Gasnier B. 1999. Presence of the vesicular inhibitory amino acid transporter in GABAergic and glycinergic synaptic terminal boutons. *J. Cell Sci.* 112 (Pt 6): 811—823.
- Dumoulin A., Triller A., Dieudonne S. 2001. IPSC kinetics at identified GABAergic and mixed GABAergic and glycinergic synapses onto cerebellar Golgi cells. *J. Neurosci.* 21: 6045—6057.
- Essrich C., Lorez M., Benson J. A., Fritschy J. M., Luscher B. 1998. Postsynaptic clustering of major GABA(A) receptor subtypes requires the gamma 2 subunit and gephyrin. *Nat. Neurosci.* 1: 563—571.
- Feng G., Tintrup H., Kirsch J., Nichol M. C., Kuhse J., Betz H., Sanes J. R. 1998. Dual requirement for gephyrin in glycine receptor clustering and molybdoenzyme activity. *Science.* 282: 1321—1324.
- Fucile S., de Saint Jan D., David-Watine B., Korn H., Bregestovski P. 1999. Comparison of glycine and GABA actions on the zebrafish homomeric glycine receptor. *J. Physiol.* 517 (Pt 2): 369—383.
- Gines S., Hillion J., Torvinen M., Le Crom S., Casado V., Canela E. I., Rondin S., Lew J. Y., Watson S., Zoli M., Agnati L. F., Verniera P., Lluis C., Ferre S., Fuxe K., Franco R. 2000. Dopamine D1 and adenosine A1 receptors form functionally interacting heteromeric complexes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 97: 8606—8611.
- Gonzalez-Forero D., Alvarez F. J. 2005. Differential postnatal maturation of GABA(A), glycine receptor, and mixed synaptic currents in Renshaw cells and ventral spinal interneurons. *J. Neurosci.* 25: 2010—2023.
- Grassi F. 1992. Cl(-)-mediated interaction between GABA and glycine currents in cultured rat hippocampal neurons. *Brain Res.* 594: 115—123.
- Hnasko T. S., Chuhma N., Zhang H., Goh G. Y., Sulzer D., Palmiter R. D., Rayport S., Edwards R. H. 2010. Vesicular glutamate transport promotes dopamine storage and glutamate corelease *in vivo*. *Neuron.* 65: 643—656.
- Ito S., Cherubini E. 1991. Strychnine-sensitive glycine responses of neonatal rat hippocampal neurones. *J. Physiol.* 440: 67—83.
- Jang I. S., Jeong H. J., Katsurabayashi S., Akaike N. 2002. Functional roles of presynaptic GABA(A) receptors on glycinergic nerve terminals in the rat spinal cord. *J. Physiol.* 541(Pt 2): 423—434.
- Jentsch T. J., Stein V., Weinreich F., Zdebek A. A. 2002. Molecular structure and physiological function of chloride channels. *Physiol. Rev.* 82: 503—568.
- Jia H. G., Yamuy J., Sampogna S., Morales F. R., Chase M. H. 2003. Colocalization of gamma-aminobutyric acid and acetylcholine in neurons in the laterodorsal and pedunculopontine tegmental nuclei in the cat: a light and electron microscopic study. *Brain Res.* 992: 205—219.
- Jo Y. H., Schlichter R. 1999. Synaptic corelease of ATP and GABA in cultured spinal neurons. *Nat. Neurosci.* 2: 241—245.
- Johnson J. W., Ascher P. 1987. Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons. *Nature.* 325: 529—531.
- Jonas P., Bischofberger J., Sandkuhler J. 1998. Corelease of two fast neurotransmitters at a central synapse. *Science.* 281: 419—424.
- Jones M. V., Westbrook G. L. 1997. Shaping of IPSCs by endogenous calcineurin activity. *J. Neurosci.* 17: 7626—7633.
- Khakh B. S., Zhou X., Sydes J., Galligan J. J., Lester H. A. 2000. State-dependent cross-inhibition between transmitter-gated cation channels. *Nature.* 406: 405—410.
- Kneussel M. 2002. Dynamic regulation of GABA(A) receptors at synaptic sites. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 39: 74—83.
- Krishtal O. A., Osipchuk Yu V., Vrublevsky S. V. 1988. Properties of glycine-activated conductances in rat brain neurones. *Neurosci. Lett.* 84: 271—276.
- Kulik A., Nishimaru H., Ballanyi K. 2000. Role of bicarbonate and chloride in GABA- and glycine-induced depolarization and [Ca²⁺]_i rise in fetal rat motoneurons *in situ*. *J. Neurosci.* 20: 7905—7913.
- Lahjoufi F., Barbe A., Chazal G., Bras H. 1996. Evidence for colocalization of GABA and glycine in afferents to retrogradely labelled rat abducens motoneurons. *Neurosci. Lett.* 206: 161—164.
- Lee E. A., Cho J. H., Choi I. S., Nakamura M., Park H. M., Lee J. J., Lee M. G., Choi B. J., Jang I. S. 2009. Presynaptic glyci-

ne receptors facilitate spontaneous glutamate release onto hilar neurons in the rat hippocampus. *J. Neurochem.* 109 : 275—286.

Lee F. J., Xue S., Pei L., Vukusic B., Chery N., Wang Y., Wang Y. T., Niznik H. B., Yu X. M., Liu F. 2002. Dual regulation of NMDA receptor functions by direct protein-protein interactions with the dopamine D1 receptor. *Cell.* 111 : 219—230.

Legendre P., Muller E., Badiu C. I., Meier J., Vannier C., Triller A. 2002. Desensitization of homomeric alpha1 glycine receptor increases with receptor density. *Mol. Pharmacol.* 62 : 817—827.

Li M., Lester H. A. 2001. Ion channel diseases of the central nervous system. *CNS Drug Rev.* 7 : 214—240.

Li P., Slaughter M. 2007. Glycine receptor subunit composition alters the action of GABA antagonists. *Vis. Neurosci.* 24 : 513—521.

Li P., Yang X. L. 1998. Strong synergism between GABA(A) and glycine receptors on isolated carp third-order neurons. *Neuroreport.* 9 : 2875—2879.

Li Y., Wu L. J., Legendre P., Xu T. L. 2003. Asymmetric cross-inhibition between GABAA and glycine receptors in rat spinal dorsal horn neurons. *J. Biol. Chem.* 278 : 38 637—38 645.

Li Y., Xu T. L. 2002. State-dependent cross-inhibition between anionic GABA(A) and glycine ionotropic receptors in rat hippocampal CA1 neurons. *Neuroreport.* 13 : 223—226.

Liu F., Wan Q., Pristupa Z. B., Yu X. M., Wang Y. T., Niznik H. B. 2000. Direct protein-protein coupling enables cross-talk between dopamine D5 and gamma-aminobutyric acid A receptors. *Nature.* 403 : 274—280.

Lu T., Rubio M. E., Trussell L. O. 2008. Glycinergic transmission shaped by the corelease of GABA in a mammalian auditory synapse. *Neuron.* 57 : 524—535.

Mitchell E. A., Gentet L. J., Dempster J., Belelli D. 2007. GABA and glycine receptor-mediated transmission in rat lamina II neurones: relevance to the analgesic actions of neuroactive steroids. *J. Physiol.* 583 (Pt 3) : 1021—1040.

Müller E., Le-Corronc H., Legendre P. 2008. Extrasynaptic and postsynaptic receptors in glycinergic and GABAergic neurotransmission: a division of labor? *Front. Mol. Neurosci.* 1 : 3.

Nishimaru H., Restrepo C. E., Ryge J., Yanagawa Y., Kiehn O. 2005. Mammalian motor neurons corelease glutamate and acetylcholine at central synapses. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 102 : 5245—5249.

O'Brien J. A., Berger A. J. 1999. Cotransmission of GABA and glycine to brain stem motoneurons. *J. Neurophysiol.* 82 : 1638—1641.

Ornung G., Shupliakov O., Ottersen O. P., Storm-Mathisen J., Cullheim S. 1994. Immunohistochemical evidence for coexistence of glycine and GABA in nerve terminals on cat spinal motoneurons: an ultrastructural study. *Neuroreport.* 5 : 889—892.

Ottersen O. P., Storm-Mathisen J., Somogyi P. 1988. Colocalization of glycine-like and GABA-like immunoreactivities in Golgi cell terminals in the rat cerebellum: a postembedding light and electron microscopic study. *Brain Res.* 450 : 342—353.

Pan Z. H., Zhang D., Zhang X., Lipton S. A. 2000. Evidence for coassembly of mutant GABAC rho1 with GABAA gamma2S, glycine alpha1 and glycine alpha2 receptor subunits *in vitro*. *Eur. J. Neurosci.* 12 : 3137—3145.

Pfeiffer F., Graham D., Betz H. 1982. Purification by affinity chromatography of the glycine receptor of rat spinal cord. *J. Biol. Chem.* 257 : 9389—9393.

Piper A. S., Docherty R. J. 2000. One-way cross-desensitization between P2X purinoreceptors and vanilloid receptors in adult rat dorsal root ganglion neurones. *J. Physiol.* 523 (Pt 3) : 685—696.

Planells-Cases R., Jentsch T. J. 2009. Chloride channelopathies. *Biochim. biophys. acta.* 1792 : 173—189.

Pourcho R. G., Goebel D. J., Jojich L., Hazlett J. C. 1992. Immunocytochemical evidence for the involvement of glycine in sensory centers of the rat brain. *Neuroscience.* 46 : 643—656.

Qian H., Ripps H. 1999. Response kinetics and pharmacological properties of heteromeric receptors formed by coassembly of GABA rho- and gamma 2-subunits. *Proc. Biol. Sci.* 266 : 2419—2425.

Rousseau F., Aubrey K. R., Supplisson S. 2008. The glycine transporter GlyT2 controls the dynamics of synaptic vesicle refilling in inhibitory spinal cord neurons. *J. Neurosci.* 28 : 9755—9768.

Russier M., Kopysova I. L., Ankri N., Ferrand N., Debanne D. 2002. GABA and glycine co-release optimizes functional inhibition in rat brainstem motoneurons *in vitro*. *J. Physiol.* 541 (Pt 1) : 123—137.

Schmieden V., Grenningloh G., Schofield P. R., Betz H. 1989. Functional expression in *Xenopus* oocytes of the strychnine binding 48 kd subunit of the glycine receptor. *EMBO J.* 8 : 695—700.

Seal R. P., Edwards R. H. 2006. Functional implications of neurotransmitter co-release: glutamate and GABA share the load. *Curr. Opin. Pharmacol.* 6 : 114—119.

Searl T. J., Silinsky E. M. 1998. Cross-talk between apparently independent receptors. *J. Physiol.* 513 (Pt 3) : 629—630.

Sheng M., Pak D. T. 2000. Ligand-gated ion channel interactions with cytoskeletal and signaling proteins. *Annu. Rev. Physiol.* 62 : 755—778.

Sokolova E., Nistri A., Giniatullin R. 2001. Negative cross talk between anionic GABAA and cationic P2X ionotropic receptors of rat dorsal root ganglion neurons. *J. Neurosci.* 21 : 4958—4968.

Somogyi J. 2002. Differences in ratios of GABA, glycine and glutamate immunoreactivities in nerve terminals on rat hindlimb motoneurons: a possible source of post-synaptic variability. *Brain Res. Bull.* 59 : 151—161.

Somogyi J. 2006. Functional significance of co-localization of GABA and Glu in nerve terminals: a hypothesis. *Curr. Top. Med. Chem.* 6 : 969—973.

Sutherland F. I., Bannatyne B. A., Kerr R., Riddell J. S., Maxwell D. J. 2002. Inhibitory amino acid transmitters associated with axons in presynaptic apposition to cutaneous primary afferent axons in the cat spinal cord. *J. Comp. Neurol.* 452 : 154—162.

Taal W., Holstege J. C. 1994. GABA and glycine frequently colocalize in terminals on cat spinal motoneurons. *Neuroreport.* 5 : 2225—2228.

Todd A. J., Watt C., Spike R. C., Sieghart W. 1996. Colocalization of GABA, glycine, and their receptors at synapses in the rat spinal cord. *J. Neurosci.* 16 : 974—982.

Toulme E., Blais D., Leger C., Landry M., Garret M., Seguela P., Boue-Grabot E. 2007. An intracellular motif of P2X(3) receptors is required for functional cross-talk with GABA(A) receptors in nociceptive DRG neurons. *J. Neurochem.* 102 : 1357—1368.

Trombley P. Q., Hill B. J., Horning M. S. 1999. Interactions between GABA and glycine at inhibitory amino acid receptors on rat olfactory bulb neurons. *J. Neurophysiol.* 82 : 3417—3422.

Trombley P. Q., Shepherd G. M. 1994. Glycine exerts potent inhibitory actions on mammalian olfactory bulb neurons. *J. Neurophysiol.* 71 : 761—767.

Uusisaari M., Knopfel T. 2010. GlyT2+ neurons in the lateral cerebellar nucleus. *Cerebellum.* 9 : 42—55.

van den Pol A. N., Gorcs T. 1988. Glycine and glycine receptor immunoreactivity in brain and spinal cord. *J. Neurosci.* 8 : 472—492.

Veselkin N. P., Adanina V. O., Rio J. P., Reperant J. 2000. Colocalization of neurotransmitters in presynaptic boutons of inhibitory synapses in the lamprey spinal cord. *Neurosci. Behav. Physiol.* 30 : 547—552.

Waldvogel H. J., Baer K., Allen K. L., Rees M. I., Faull R. L. 2007. Glycine receptors in the striatum, globus pallidus, and substantia nigra of the human brain: an immunohistochemical study. *J. Comp. Neurol.* 502 : 1012—1029.

Wang H., Bedford F. K., Brandon N. J., Moss S. J., Olsen R. W. 1999. GABA(A)-receptor-associated protein links GABA(A) receptors and the cytoskeleton. *Nature.* 397 : 69—72.

Watson A. H., Bazzaz A. A. 2001. GABA and glycine-like immunoreactivity at axoaxonic synapses on Ia muscle afferent terminals in the spinal cord of the rat. *J. Comp. Neurol.* 433 : 335—348.

Wentzel P. R., De Zeeuw C. I., Holstege J. C., Gerrits N. M. 1993. Colocalization of GABA and glycine in the rabbit oculomotor nucleus. *Neurosci. Lett.* 164 : 25—29.

Whiting P., McKernan R. M., Iversen L. L. 1990. Another mechanism for creating diversity in gamma-aminobutyrate type A receptors: RNA splicing directs expression of two forms of gamma 2 phosphorylation site. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 87 : 9966—9970.

Yakel J. L. 1997. Calcineurin regulation of synaptic function: from ion channels to transmitter release and gene transcription. Trends Pharmacol. Sci. 18 : 124—134.

Yang H. W., Min M. Y., Appenteng K., Batten T. F. 1997. Glycine-immunoreactive terminals in the rat trigeminal motor nucleus: light- and electron-microscopic analysis of their relationships with

motoneurons and with GABA-immunoreactive terminals. Brain Res. 749 : 301—319.

Zhou F. M., Liang Y., Salas R., Zhang L., De Biasi M., Dani J. A. 2005. Corelease of dopamine and serotonin from striatal dopamine terminals. Neuron. 46 : 65—74.

Zou S., Li L., Pei L., Vukusic B., Van Tol H. H., Lee F. J., Wan Q., Liu F. 2005. Protein-protein coupling/uncoupling enables dopamine D2 receptor regulation of AMPA receptor-mediated excitotoxicity. J. Neurosci. 25 : 4385—4395.

Поступила 16 II 2012

GABA AND GLYCINE — INTERACTION OF RESPONSES AND RECEPTOR CROSS TALK

D. V. Amakhin,¹ N. P. Veselkin^{1, 2}

¹ I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS, St. Petersburg, and ² St. Petersburg State University, Department of Medicine; e-mail: Dmitry.Amakhin@gmail.com

Today it is well accepted that GABA can be co-localized and co-released with glycine in the same synapse. This article provides an overview of GABA and glycine co-localization and the effects of simultaneous activation of GABA_A and glycine receptors. The review deals with mechanisms of direct and indirect receptor interaction, as well as with the effect of non-selective activation of glycine receptors by GABA.

Key words: GABA, glycine, GABA_A-receptors, glycine receptors.