

**Глутамат- и ГАМКергическая системы диффузной
внесинаптической нейротрансмиссии в гиппокампе**

А.В. Семьянов

*Институт Нейрологии, Queen Square, Лондон, WC1N 3BG,
Великобритания*

Аннотация

Глутамат и ГАМК опосредуют в гиппокампе возбуждающую и тормозную синаптические нейротрансмиссии, соответственно. Однако, действие этих нейротрансмиттеров не ограничивается локальным постсинаптическим участком. Данные аминокислоты способны высвобождаются во внесинаптическое пространство за счет обращенной работы транспортеров, глиального экзоцитоза, при осмотическом шоке и спilloвере. Рецепторы глутамата и ГАМК также расположены на различных участках нейронов и глии. В зависимости от субклеточного распределения этих рецепторов, их субъединичной композиции и метаботропной/ионотропной функции эффект внеклеточного глутамата или ГАМК будет различным.

В данном обзоре рассмотрен общий принцип организации диффузных глутамат и ГАМКергической систем внесинаптической нейротрансмиссии, взаимодействие этих систем с синаптической передачей и взаимодействие диффузных сигналов между собой.

Glutamate and GABA mediated extrasynaptic diffuse signaling in the hippocampus

Alexey V. Semyanov

Institute of Neurology, Queen Square, London, WC1N 3BG, UK

Summary

Glutamate and GABA are major excitatory and inhibitory synaptic neurotransmitters in the hippocampus, respectively. However, their action is not confined to restricted postsynaptic area. A number of sources such as reversed uptake, glial exocytosis, osmotically driven release and neurotransmitter spillover can build up the extracellular concentration of these aminoacids. GABA and glutamate receptors can be found at various glial and neuronal compartments. Subcellular distribution, subunit composition and metabotropic/ionotropic nature of these receptors will determine an effect of their activation.

This review surveys general principals for diffuse glutamate and GABA mediated extrasynaptic neurotransmission, interaction between synaptic and extrasynaptic signaling and between diffuse neurotransmitters themselves.

Основным нейротрансмиттером возбуждающей системы в гиппокампе является глутамат, а тормозной – ГАМК (γ -аминомасляная кислота). Модуляторные эффекты, меняющие эффективность возбуждения и/или торможения опосредованы в этой структуре рецепторами целого ряда различных нейромедиаторных систем (глутамат-, ГАМК-, моноамин-, ацетилхолин-, пуринаргической и др.) (Bouron 2001; Cherubini and Conti 2001; Khakh and Henderson 2000; Vizi 2000). Взаимодействие между этими системами обеспечивает основу для передачи, обработки и сохранения информации в гиппокампе, а также генерации его ритмов, которые являются своего рода тактовой частотой, с которой работает данная структура (Boguszewicz et al. 1996; Vinogradova 2001). Нейротрансмиттеры активируют соответствующие им рецепторы двумя способами: узконаправленным синаптическим и внесинаптическим, происходящим за счет диффузии нейротрансмиттера во внесинаптическом пространстве. (Agnati et al. 1995; Jansson et al. 2000; Kullmann 2000; Kullmann and Asztely 1998; Копаница и др., 1999). Если синаптическая передача передает информацию по узкому каналу цепочки синаптических переключений, то внесинаптическая диффузия нейротрансмиттеров изменяет активность сразу целых групп клеток. Традиционно считалось, что только агонисты рецепторов “классических” модуляторных (дофамин-, серотонин-, холинергической и т.п.) систем могут высвободиться и диффундировать во внеклеточном пространстве (Базян, 2001а; Базян, 2001б). Глутамат и ГАМК к ним не относились и рассматривались только как синаптические нейротрансмиттеры.

Современные иммуноцитохимические и электрофизиологические исследования показали, что расположение рецепторов глутамата и ГАМК, и эффект их активации не ограничивается лишь локальным постсинаптическим участком (Isaacson 2000; Soltesz and Nusser 2001; Vizi and Kiss 1998). Внесинаптические рецепторы могут находиться на соме, дендритах и аксоне клетки (например, на пресинаптических участках). Роль этих рецепторов привлекает большое внимание, но остается до конца не изученной. Предполагается, что внесинаптические рецепторы принимают участие в диффузной нейротрансмиссии, являясь своего рода “детекторами” внеклеточной концентрации медиаторов, специфически балансируют возбудимость клеток.

Механизмам модуляции ГАМК- и глутаматергической синаптической передачи посредством внесинаптических рецепторов, активируемых диффузным нейротрансмиттером, посвящен ряд замечательных обзоров (Belan and Kostyuk 2002; Isaacson 2000; Vitten and Isaacson 2001). Целью данной статьи не является повторение этих работ, но обобщение современных знаний о принципе диффузной

внесинаптической нейротрансмиссии (далее диффузной нейротрансмиссии) и ее роли в обработке информации гиппокампом.

Общий принцип организации диффузной нейротрансмиссии

Большинство работ пытается объяснить функционирование гиппокампа, основываясь на том, что ГАМК и глутамат участвуют лишь в синаптической нейротрансмиссии. При этом рассматривается синаптическое возбуждение нейронов пирамидными клетками через α -амино-3-гидрокси-5-метилтилотриазолил-4-пропионатные (AMPA) рецепторы или синаптическое торможение интернейронами через ГАМК_A рецепторы. Как указывалось выше, действие этих двух нейротрансмиссивных агентов не ограничено только синапсами. Следовательно, для получения более точной схемы работы нейрональной сети данной структуры необходимо рассматривать глутамат и ГАМК как нейротрансмиссивные агенты синаптической и диффузной систем.

Чтобы говорить о полноценной передаче сигнала, необходимо определить его источник, приемник и механизм их взаимодействия. В случае синаптической передачи источником является пресинаптическая терминаль, высвобождающая нейротрансмиссивный агент, а приемником – участок постсинаптической клетки (например, шипик), располагающийся непосредственно напротив места экзоцитоза. Механизм передачи заключается в кратковременном повышении концентрации нейротрансмиссивного агента в узкой синаптической щели: за пресинаптическим высвобождением незамедлительно следует процесс активации постсинаптических рецепторов и удаления медиатора из щели (диффузия и обратный захват) (Diamond and Jahr 2000). К настоящему времени также определены основные источники и приемники в диффузной нейротрансмиссии.

Источники диффузного сигнала

Источников сигнала в диффузной нейротрансмиссии существует несколько (Рис.1). Во-первых, высвобождение нейротрансмиссивного агента во внеклеточное пространство может происходить за счет обращения захвата глутамата и ГАМК (Laming et al. 2000; Schwartz-Bloom and Sah 2001; Szatkowski et al. 1990). Захват нейротрансмиссивных агентов из внеклеточного пространства принципиально важен для поддержания эффективности синаптической передачи. В этом процессе принимают участие глиальные и нейрональные транспортеры. Клеточное и субклеточное распределение, биофизические и фармакологические свойства транспортеров различны. К настоящему времени описано 5 классов транспортеров глутамата (EAAT 1-5: excitatory amino acid transporter) (Danbolt 2001), и 4 класса транспортеров ГАМК (GAT 1-3: GABA

transporter и BGT-1: betaine/GABA transporter) (Gadea and Lopez-Colome 2001). Традиционно их функция рассматривается как захват нейротрансмиттеров внутрь клеток, но при определенных условиях транспортеры могут “выкачивать” данные аминокислоты во внеклеточное пространство.

Во-вторых, нейротрансмиттер может высвобождаться во внеклеточное пространство при осмотическом стрессе (Kimelberg et al. 1990; Kimelberg and Mongin 1998). Клеткам необходимо поддерживать постоянный объем. А при его изменении в условиях осмотического стресса в них начинает синтезироваться ряд белков (составных частей каналов, транспортеров и метаболических путей), позволяющих этот объем регулировать (Strange et al. 1996). Некоторые из этих “антиосмотических” транспортеров и каналов могут приводить к высвобождению аминокислотных нейротрансмиттеров из клеток наружу.

В-третьих, не только интернейроны, но и глиальные клетки обладают механизмом высвобождения нейротрансмиттеров посредством экзоцитоза (Araque et al. 2000; Attwell 1994; Bezzi et al. 1998; Pappas et al. 1994). Такой экзоцитоз может запускаться при активации глиальных глутаматных рецепторов и является Ca^{2+} -зависимым процессом.

Наконец, принципиально важным источником внеклеточных глутамата и ГАМК является диффузия этих нейротрансмиттеров из синаптической щели. Этот процесс называется спilloвером нейротрансмиттеров (от англ. spillover – перелив, растекание) (Kullmann 2000; Kullmann and Asztely 1998; Rusakov and Kullmann 1998). Несомненно, основной мишенью синаптического экзоцитоза являются постсинаптические рецепторы, но существует ряд доказательств того, что часть нейротрансмиттера не только покидает синапс, но может эффективно изменять внеклеточную концентрацию эндогенного агониста.

Так, от астроцитов можно отвести ток, опосредованный электрогенным захватом глутамата (Bergles et al. 1999). В этих клетках экспрессируется большинство глутаматных транспортеров. Стимуляция глутаматергических аксонов и высвобождение глутамата вызывает в астроцитах ток, опосредованный захватом нейротрансмиттера. Кинетика этого тока, по сравнению с эффектом кратковременной аппликации глутамата на патч, полученный с астроцитарной мембраны, указывает на то, что глутамат может находиться во внеклеточном пространстве в течение значительного времени (Bergles et al. 1997; Bergles and Jahr 1997).

Компьютерное моделирование высвобождения, диффузии и связывания глутамата на рецепторах и транспортерах, основанное на реальных анатомических и физиологических данных, показало, что глутамат может диффундировать за пределы

синаптической щели и активировать NMDA рецепторы в радиусе 0,5 μm от места его высвобождения (Rusakov and Kullmann 1998). Таким образом, спilloвер глутамата в гиппокампе может преодолевать дистанции сравнимые с расстоянием между двумя соседними синапсами. Это дает теоретическую возможность того, что большинство внесинаптических рецепторов в районе высокой плотности синаптических контактов могут быть активированы за счет нейротрансмиттера, покидающего синаптическую щель.

ГАМК, также как и глутамат, может покинуть синаптическую щель и активировать внесинаптические рецепторы (Isaacson 2000; Isaacson et al. 1993; Kullmann 2000). Было показано, что для активации внесинаптических ГАМК_B рецепторов на пирамидных клетках поля СА3 гиппокампа необходимо одновременное возбуждение нескольких интернейронов (Scanziani 2000). При таких условиях спilloвер ГАМК приводит к достижению необходимой внеклеточной концентрации агониста.

Как отмечалось выше, транспортеры глутамата и ГАМК принимают участие не только в повышении внеклеточной концентрации этих аминокислот, но и осуществляют их захват обратно в клетки. В связи с этим, спilloвер традиционно рассматривается как процесс, происходящий при активном захвате нейротрансмиттера (Danbolt 2001; Lehre and Rusakov 2002; Oliet et al. 2001; Rusakov and Kullmann 1998). Таким образом, очень важно определить, как синапсы расположены относительно глиальных клеток, и какая плотность транспортеров на пути спilloвера. Систематический морфометрический анализ показал, что средний синапс в гиппокампе окружен глией в 3-4 раза плотнее с постсинаптической, чем пресинаптической стороны (Lehre and Rusakov 2002). Поскольку, на глиии находится большая часть глутаматных транспортеров, вероятно, так реализуется механизм “направления” спilloвера преимущественно на пресинаптический участок. Это может играть важную роль в активации пресинаптических ауторецепторов и активность зависимой модуляции высвобождения нейротрансмиттера. Помимо этого известно, что плотность и активность транспортеров ГАМК и глутамата может меняться в результате определенных метаболических процессов (например, фосфорилирования) (Danbolt 2001; Gadea and Lopez-Colome 2001). Можно предположить, что не только глиальное окружение, но и локальные изменения в эффективности обратного захвата могут “направлять” спilloвер глутамата и ГАМК. Однако, этот вопрос остается недостаточно изученным.

Приемники диффузного сигнала

Основными приемниками в диффузной нейротрансмиссии являются внесинаптические рецепторы, соответствующие нейромедиаторной природе сигнала (Рис.2). Нельзя исключить, что синаптические рецепторы способны активироваться внеклеточным глутаматом или ГАМК. Однако, в силу низкой аффинности и специализированности этих рецепторов, этот, безусловно, важный приемник диффузной нейротрансмиссии, вероятно, будет играть второстепенную роль. Вопрос, почему одни рецепторы находятся внутри синапсов, а другие нет, является в настоящее время предметом интенсивных исследований. По всей видимости, рецепторы свободно перемещаются по мембране нейронов и лишь временно останавливаются, когда достигают синапсов (Sheng and Nakagawa 2002).

Основным механизмом удержания высокомолекулярного комплекса рецептора в синапсе является его взаимодействие с белками цитоскелета (Sheng and Sala 2001). Это происходит потому, что некоторые субъединицы рецепторов глутамата и ГАМК обладают аминокислотными последовательностями, участвующими в белок-белковом взаимодействии. Как правило, рецепторы, содержащие такие субъединицы, связаны с цитоскелетом посредством ряда адаптерных белков. Эти белки содержат специализированные PDZ домены, связывающие С-конец белковой последовательности (Harris and Lim 2001). Адаптерных белков, “заякоривающих” рецепторы в синапсе, обнаружено достаточно много. Примерами таких белков являются SAP97 (synapse-associated protein) и PSD95 (от postsynaptic density), белки, связывающие рецепторы глутамата с микротрубочками; гефирин и GABARAP (GABA_A receptor-associated protein), белки, связывающие рецепторы ГАМК (Coyle et al. 2002; El-Husseini Ael et al. 2002; Nusser et al. 1998; Sheng and Sala 2001; Tomita et al. 2001). Взаимодействие рецепторов с адаптерными белками регулируется рядом факторов, в том числе такими типами посттрансляционной модификации белков как фосфорилирование и пальмитилирование. Это дает возможность предположить, что метаболические реакции в клетке способны менять как синаптическую эффективность, изменяя число постсинаптических рецепторов, так и регулировать пул внесинаптических рецепторов.

Основным условием активации рецепторов, участвующих в диффузной нейротрансмиссии, является то, что они должны быть расположены на таком удалении от места высвобождения агониста, чтобы отвечать на изменения его концентрации. Предположим, что глутамат или ГАМК достигли своего рецептора. В случае синаптической передачи, это приводит к генерации постсинаптического потенциала

или метаболическому ответу постсинаптической клетки. Сходная ситуация наблюдается и при диффузном пути передачи сигнала, только в этом случае ответ будет опосредован активацией рецепторов, расположенных на различных участках нейронов и глии. Интересно, что в глии обнаружены почти все рецепторы, которые есть в нейронах (Berger et al. 1995; Condorelli et al. 1999; von Blankenfeld and Kettenmann 1991). Однако, роль глии как приемника сигнала в диффузной нейротрансмиссии в данном обзоре рассматриваться не будет потому, что сравнительно мало известно о функциях глиальных рецепторов. Можно лишь отметить, что определенные типы глии являются активными участниками диффузной передачи информации в мозге, образуют сети посредством плотных контактов (gap-junction) (Bezzi and Volterra 2001; Vesce et al. 2001) и, таким образом, выглядят как “несинапсирующие нейроны”.

Нейрональные внесинаптические рецепторы изучены в значительно большей степени, чем глиальные. Как и синаптические рецепторы они приводят либо к ионному току, либо метаболическому ответу клетки. Эффект их активации зависит от участка нейрона, на котором они расположены. Активация пресинаптических метаболитных рецепторов ведет к изменению эффективности высвобождения нейротрансмиссива (Belan and Kostyuk 2002; Dietrich et al. 1997; Dietrich et al. 2002; Isaacson 2000; Isaacson et al. 1993; Kew et al. 2001; Kullmann and Semyanov 2002; Macek et al. 1996; Scanziani et al. 1998; Semyanov and Kullmann 2000; Yoshino et al. 1996). Активация аксональных и сомато-дендритных ионотропных рецепторов, приводит к деполяризации или гиперполяризации мембраны (Cossart et al. 1998; Frerking et al. 1998; Nusser and Mody 2002; Stell and Mody 2002; Semyanov et al., submitted). Изменение потенциала мембраны и ее биофизических свойств (проводимости, емкости) при активации этих рецепторов отражается в изменении порога генерации потенциалов действия (Semyanov and Kullmann 2001), их паттерна (Hausser and Clark 1997), в изменении кинетики синаптических токов и их шунтировании (Frerking et al. 1998; Семьянов, ЖВНД в печати).

Таким образом, диффузный глутамат и ГАМК способные передавать различные типы информации в нейрональной сети. С одной стороны, изменение возбудимости клетки-мишени при активации ионотропных рецепторов диффузным нейротрансмиссивом имеет некоторую аналогию с возбуждающей или тормозной нейротрансмиссией (сигнальная функция). С другой стороны, синаптическая и диффузная нейротрансмиссии обладают сложным механизмом взаимодействия друг с другом. Спиловер нейротрансмиссива при синаптическом событии является источником

диффузного сигнала. Активация пресинаптических рецепторов диффузным нейротрансмиттером изменяет эффективность синаптической передачи (модуляторная функция). Поскольку физиологическая роль диффузного глутамата и ГАМК определяется реакцией на них клетки-мишени, в следующих разделах данного обзора будут рассмотрены функции глутамат- и ГАМКергических внесинаптических рецепторов в гиппокампе.

Функции внесинаптических глутаматергических рецепторов

Ионотропные рецепторы

Необходимо отметить, что подавляющее большинство ионотропных глутаматергических рецепторов может быть обнаружено вне области постсинаптического уплотнения. Например, N-метил-D-аспартатные (NMDA) рецепторы, могут перемещаться из синапса во внесинаптическую мембрану и обратно (Tovar and Westbrook 2002). Эти рецепторы имеют высокую аффинность к эндогенному агонисту и связывают глутамат в более низких концентрациях, чем AMPA рецепторы (Patneau and Mayer 1990). Таким образом, они являются идеальным кандидатом на роль приемников в диффузной нейротрансмиссии. В частности, была продемонстрирована модуляторная роль внесинаптических NMDA рецепторов (Clark and Cull-Candy 2002; Hardingham et al. 2002).

AMPA рецепторы также обладают латеральной подвижностью (Sheng and Nakagawa 2002). Этот процесс регулируется пальмитилированием белка постсинаптического уплотнения PSD95, который удерживает этот тип ионотропных глутаматергических рецепторов в синапсе (El-Husseini Ael et al. 2002). Однако, роль внесинаптических AMPA рецепторов недостаточно хорошо изучена, что, вероятно, связано с их низкой аффинностью к глутамату (Patneau and Mayer 1990). По всей видимости, перемещение AMPA рецепторов из синапса и обратно играет роль в регуляции синаптической передачи, но не в формировании функционального пула внесинаптических рецепторов (El-Husseini Ael et al. 2002).

Каинатные рецепторы являются одним из наиболее исследованных к настоящему времени типов внесинаптических ионотропных рецепторов глутамата (Kullmann 2001). Биофизические свойства рекомбинантных каинатных рецепторов во многом похожи на свойства AMPA рецепторов: они быстро активируются и десенситизируются, имеют сходную проводимость одиночного канала и проницаемость для Ca^{2+} (Bowie and Mayer 1995). Каинатные рецепторы опосредуют медленные возбуждающие постсинаптические токи (ВПСТ) в синапсах мшистых волокон (Castillo et al. 1997;

Cossart et al. 2002; Vignes and Collingridge 1997) и в некоторых (но не во всех) гиппокампальных интернейронах (Cossart et al. 2002; Cossart et al. 1998; Frerking et al. 1998). То, что каинатные ВПСТ имеют столь медленную кинетику, небольшую амплитуду и требуют, как правило, высокочастотной стимуляции, чтобы быть замеченными (Castillo et al. 1997; Cossart et al. 1998; Frerking et al. 1998; Vignes and Collingridge 1997) ставит под сомнение значительность их роли в синаптической передаче. По всей видимости, функциональное значение этих рецепторов связано с их ролью в диффузной нейротрансмиссии.

Пресинаптические каинатные рецепторы приводят к деполяризации мшистых волокон (Kamiya and Ozawa 2000; Schmitz et al. 2000) и усиливают в них высвобождение глутамата (Schmitz et al. 2001). Эти рецепторы исключительно чувствительны к агонисту, поскольку гетеросинаптическая деполяризация мшистых волокон возникает в ответ на высвобождение глутамата со сравнительно удаленных сайтов (Schmitz et al. 2000). Сходные данные о роли аксональных деполяризующих каинатных рецепторов были получены для гиппокампальных интернейронов (Semyanov and Kullmann 2001). Кроме того, пресинаптические каинатные рецепторы в этих клетках способны приводить к увеличению высвобождения ГАМК (Cossart et al. 2001). С другой стороны, агонисты каинатных рецепторов подавляют ГАМКергическое торможение в пирамидных клетках гиппокампа (Fisher and Alger 1984; Rodriguez-Moreno et al. 1997). Остается не ясным, в какой степени этот эффект может быть объяснен прямой активацией каинатных рецепторов (Rodriguez-Moreno and Lerma 1998; Rodriguez-Moreno et al. 2000). Поскольку каинат деполяризует интернейроны, они начинают спонтанно разряжаться (Cossart et al. 1998; Frerking et al. 1998; Semyanov and Kullmann 2001). Разряды интернейронов приводят к повышению внеклеточной концентрации ГАМК, которая уже вторично приводит к снижению эффективности ГАМКергического торможения пирамидных клеток (Frerking et al. 1999). Таким образом, возникает вопрос, касающийся физиологической роли взаимодействия диффузных систем нейротрансмиссии, который будет ниже рассмотрен более подробно.

Метаботропные рецепторы

Метаботропные рецепторы глутамата состоят из семи трансмембранных доменов и связаны с G-белками, которые опосредуют большинство из эффектов активации этих рецепторов. Сами рецепторы состоят из двух субъединиц, одна из которых связывает глутамат (Kunishima et al. 2000). Метаботропные рецепторы глутамата (mGluR)

делятся на 3 группы, хотя и обнаружено 8 различных генов, которые их кодируют (Ozawa et al. 1998; Pin and Duvoisin 1995). Метаботропные рецепторы mGluR I, II и III активируются более низкими концентрациями глутамата, чем основные ионотропные AMPA рецепторы (Pin and Duvoisin 1995).

Рецепторы группы I (mGluR1 и mGluR5) обычно расположены на постсинаптической мембране вокруг синаптической щели (Baude et al. 1993). Они связаны через G-белок с фосфолипазой C. Таким образом, их активация приводит к увеличению инозитолтрифосфата и диацилглицерола. Предполагается, что mGluR группы I участвуют в генерации медленных ВПСТ в некоторых гиппокампальных интернейронах (van Hoof et al. 2000). При этом активация этих рецепторов при добавлении агониста приводит к увеличению частоты разрядов и ритмической активности в данных клетках.

Метаботропные глутаматергические рецепторы групп II (mGluR2 и mGluR3) и III (mGluR4, mGluR6, mGluR7 и mGluR8) располагаются пресинаптически. В частности, рецепторы группы II находятся на претерминальной мембране мшистых волокон (Lujan et al. 1996; Yokoi et al. 1996). Рецепторы группы III обнаружены на пресинаптическом участке внутри синапсов: близко к активной зоне или даже внутри нее (Shigemoto et al. 1997; Shigemoto et al. 1996). Обе группы рецепторов снижают через G-белки активность аденилатциклазы. Располагаясь на глутаматергических терминалях, они модулируют высвобождение нейротрансмиттера, выступая в роли ауторецепторов (Dietrich et al. 1997; Dietrich et al. 2002; Kew et al. 2001; Macek et al. 1996; Yoshino et al. 1996). Например, в мшистых волокнах наблюдается частотно-зависимая модуляция высвобождения глутамата при участии пресинаптических mGluR (Scanziani et al. 1997). Одним из принципиальных различий между двумя группами рецепторов является их чувствительность к фармакологическим препаратам. Например, L(+)-2-амино-4-фосфонобутират (L-AP4) является селективным агонистом метаботропных рецепторов группы III, но не группы II.

В своем замечательном обзоре Белан и Костюк (Belan and Kostyuk 2002) достаточно полно характеризуют роль mGluR группы II в пресинаптической депрессии ГАМКергической передачи. Роль рецепторов группы III в гиппокампе также хорошо известна (Scanziani et al. 1998; Semyanov and Kullmann 2000). Интересно, что присутствие метаботропных рецепторов этой группы на пресинаптической терминали зависит от типа постсинаптического нейрона. Рецепторы группы III в поле CA1 обнаруживаются только на глутамат- и ГАМКергических терминалях, оканчивающихся на интернейроне, но не на пирамидной клетке (Shigemoto et al. 1996).

В подтверждение этому, электрофизиологические данные показали, что активация mGluR группы III при аппликации L-AP4 или за счет эндогенного глутамата приводит к снижению амплитуды как тормозных постсинаптических токов (ТПСТ), так и возбуждающих (ВПСТ) в гиппокампальных интернейронах, но не пирамидных клетках (Scanziani et al. 1998; Semyanov and Kullmann 2000).

Функции внесинаптических ГАМКергических рецепторов

Ионотропные рецепторы

По аналогии с ионотропными глутаматергическими рецепторами ионотропные ГАМКергические рецепторы могут находиться как в синаптическом, так и внесинаптическом пуле (Banks and Pearce 2000; Nusser et al. 1998). На настоящий момент описано 19 изоформ субъединиц ионотропных рецепторов ГАМК, которые сгруппированы в α , β , γ , δ , ϵ , θ , π и ρ -классы. Поскольку данные рецепторы являются пентамерными структурами, то число возможных комбинаций субъединиц позволяет существовать их значительному разнообразию (Costa 1998; Mehta and Ticku 1999). Иммуноцитохимические данные указывают на высокую гетерогенность и клеточную специфичность ионотропных рецепторов ГАМК в гиппокампе (Sperk et al. 1997). Рецепторы, содержащие γ_2 субъединицу, связаны с GABARAP (GABA_A receptor-associated protein). GABARAP взаимодействует со скелетным белком геферином, участвующим в организации постсинаптического пула ГАМКергических рецепторов (Coyle et al. 2002; Kneussel 2002). Рецепторы, в которых отсутствует γ_2 субъединица, обнаруживаются за пределами синапсов и, вероятно, могут находиться как сомато-дендритном, так и аксональном компартментах. Причем, некоторые из таких подтипов ГАМК_A рецепторов способны отвечать на очень низкие концентрации ГАМК (Mehta and Ticku 1999).

Еще в конце 70-х годов на примере периферических нервов было сформировано представление о модуляции нейротрансмиссии внесинаптическими, в частности, аксональными ГАМК_A рецепторами (Brown et al. 1979). В последующем было показано, что бикикуллин, антагонист ГАМК_A рецепторов, повышает вероятность возникновения антидромных спайков в аксонах пирамидных клеток поля CA3 (Stasheff et al. 1993), а мусцимол, агонист этих рецепторов, снижает амплитуду потенциала волокон в изолированных коллатеральных Шэффера срезав гиппокампа, измеренную в поле CA1 с помощью внеклеточного электрода (Рис.3).

Некоторые внесинаптические ГАМКергические рецепторы, обладающие высокой аффинностью к ГАМК, характеризуются и медленной десенситизацией (Banks and

Pearce 2000; Mehta and Ticku 1999). К таким рецепторам, в частности, относятся ГАМК_B рецепторы, содержащие δ -субъединицу (Hevers et al. 2000). Эти рецепторы являются идеальным “детектором” внеклеточной концентрации ГАМК и могут реагировать на незначительные ее изменения. Считается, что они опосредуют постоянный ток, или тоническое торможение (Soltesz and Nusser 2001).

В гиппокампе тонический ток был описан в гранулярных клетках зубчатой фасции (Nusser and Mody 2002; Stell and Mody 2002), пирамидных клетках и интернейронах поля CA1 (Bai et al. 2001; Semyanov et al. submitted). Это ток чувствителен к изменению внеклеточной концентрации ГАМК и увеличивается при блокаде обратного захвата этого нейротрансмиттера. Кроме того, тоническое ГАМК_B торможение в гиппокампе характеризуется клеточной специфичностью. В интернейронах поля CA1 тонический ток регистрируется при нормальных условиях, тогда как в пирамидных клетках только при повышении внеклеточной концентрации ГАМК. Причем, фармакологические свойства рецепторов, опосредующих этот ток, в данных типах клеток различны.

Физиологическое значение тонического тока в гиппокампе мало изучено. Предполагается, что он специфически балансирует возбудимость данной структуры и может выступать в качестве антиэпилептогенного защитного механизма (Semyanov et al. submitted). Тоническое торможение способно изменять биофизические свойства мембраны: проводимость и коэффициент затухания токов (Frerking et al. 1999; Семьянов ЖВНД в печати). Подобные изменения будут отражаться в изменении формы синаптических токов и их интеграции нейронами.

Метаботропные рецепторы

Метаботропные ГАМК_B рецепторы являются гетеродимерами (Mohler and Fritschy 1999), состоящими из двух субъединиц: GBR₁ и GBR₂ (Jones et al. 1998). Эти рецепторы активируются более низкими концентрациями ГАМК, чем ионотропные синаптические ГАМК_A рецепторы (Jones et al. 1998).

ГАМК_B рецепторы связаны с тримерным G-белком (Hill et al. 1984). На постсинаптическом участке ГАМК_B рецепторы запускают каскад реакций, который ведет к открыванию G-белок связанных K⁺ каналов (GIRK – G protein-gated inward rectifying K⁺ channels) (Andrade et al. 1986; Misgeld et al. 1995). Благодаря активации данных каналов возникает медленный ТПСТ, длящийся сотни миллисекунд (Scanziani 2000).

Другим эффектом активации ГАМК_B рецепторов является ингибирование аденилатциклазы (Nishikawa et al. 1997). Кроме того, данные рецепторы связаны через G-белок с N и P/Q типами потенциал зависимых кальциевых каналов, которые участвуют в синаптическом высвобождении нейротрансмиттеров (Anwyl 1991; Mintz and Bean 1993). Посредством этого механизма пресинаптические ГАМК_B рецепторы снижают высвобождение нейротрансмиттеров, уменьшая пресинаптический вход кальция.

Важность гетеросинаптических взаимодействий, опосредованных ГАМК_B рецепторами, впервые прямо была продемонстрирована на примере того, что ГАМК, высвобождаемая терминалями интернейронов, может подавлять синаптическую глутаматергическую нейротрансмиссию между коллатеральными Шаффера и пирамидными нейронами в поле CA1 гиппокампа и этот эффект чувствителен к антагонистам данных рецепторов (Isaacson et al. 1993). Несмотря на то, что физиологическая роль этого феномена пока еще не достаточно изучена, можно предположить, что он выступает в роли гомеостатического регулятора возбудимости. Повышение возбуждения в гиппокампе приводит к высокой активности интернейронов, посредством расположенных на них возбуждающих синапсов. Такая активация интернейронов приводит как к высвобождению ГАМК на постсинаптические рецепторы внутри тормозных синапсов, так и к ее диффузии во внеклеточное пространство (спиловер ГАМК). Покидая синаптическую щель, ГАМК достигает ГАМК_B рецепторов на глутаматергических терминалях и снижает возбуждающую передачу между принципиальными клетками. Нам, впервые, удалось показать, что спиловер ГАМК может снижать тормозную нейротрансмиссию в соседних терминалях через ГАМК_B рецепторы (Semyanov and Kullmann 2000). Очевидно, этот феномен существует параллельно с ауторецепторной функцией этих рецепторов.

Взаимодействие диффузных сигналов

Существует много сходного и различного в принципах организации диффузных глутамат- и ГАМКергической нейротрансмиссии. Различия, отчасти, связаны, с биофизическими свойствами рецепторов. Например, это объясняет отсутствие глутаматергического, но наличие ГАМКергического тонического тока. Для поддержания постоянного тока ионотропный рецептор должен не только обладать высокой аффинностью к агонисту и реагировать на небольшие изменения в его внеклеточной концентрации, но и обладать очень медленной десенситизацией. Благодаря высокой аффинности к глутамату, каинатные рецепторы могли бы быть

идеальным кандидатом, опосредующим тонический ток. Однако, их сходная с синаптическими AMPA рецепторами быстрая кинетика десенситизации не позволяет им поддерживать тонический ток (Lerma et al. 1993). Наличие большого числа субъединичных композиций позволяет существовать набору ГАМК_A рецепторов, обладающих подходящими биофизическими свойствами для поддержания тонической проводимости (Mehta and Ticku 1999; Семьянов Нейрофизиология, в печати). Вероятно, такой дисбаланс в работе возбуждающих и тормозных внесинаптических ионотропных рецепторов является необходимым для предотвращения чрезмерной возбудимости нейрональной сети гиппокампа, структуры чувствительной к эпилептогенезу (Dalby and Mody 2001; Семьянов и Годухин, 2001).

Большинство исследований, посвященных диффузной глутамат- и ГАМКергической нейротрансмиссии, фокусируют свое внимание на определенном типе рецептора, воспринимающего диффузный сигнал. Однако, как происходит интеграция сигнала на уровне разных рецепторов или разных медиаторных систем остается рамками этих работ. Например, повышение внеклеточной концентрации глутамата оказывает влияние как на аксональные каинатные рецепторы, так и пресинаптические метаботропные рецепторы группы III в гиппокампальных интернейронах (Kullmann and Semyanov 2002; Semyanov and Kullmann 2000; Semyanov and Kullmann 2001). При этом каинатные рецепторы усиливают потенциал-действия зависимое высвобождение ГАМК, а метаботропные рецепторы наоборот снижают экзоцитоз медиатора.

На первый взгляд метаботропные рецепторы группы III и каинатные рецепторы должны оказывать противоположное действие на эффективность ГАМКергической передачи, поскольку оба эффекта могут подавить друг друга при физиологических условиях, когда ни один из классов рецепторов не блокирован фармакологически. Однако, существуют небольшие, но важные различия в механизмах модуляции ТПСТ этими двумя классами рецепторов, приводящие к предположению о комплиментарности эффектов. mGluR группы III оказывают эффект непосредственно на высвобождение нейротрансмиттера, что связано с их расположением на пресинаптическом участке (Shigemoto et al. 1997; Shigemoto et al. 1996). По этой причине L-AP4 подавляет как потенциал действия зависимые спонтанные ТПСТ, так и потенциал действия независимые миниатюрные ТПСТ в интернейронах (Cossart et al. 2001; Semyanov and Kullmann 2000). Каинатные рецепторы приводят к деполяризации аксонов интернейронов и облегчению возникновения в них потенциалов действия, а, следовательно, усиливают потенциал действия зависимые спонтанные ТПСТ (Semyanov and Kullmann 2001). Таким образом, одновременная активация обоих типов

рецепторов эндогенным агонистом “контрастирует” потенциал действия зависимые ТПСТ (“сигнал”) по отношению к потенциал действия независимым миниатюрным ТПСТ, подавляя преимущественно последние и снижая фоновое торможение (“шум”) (Kullmann and Semyanov 2002).

Совместная активация внесинаптических ГАМК_A и ГАМК_B рецепторов за счет диффузной ГАМК не была систематически исследована. Известно, что повышение внеклеточной концентрации этого нейротрансмиттера ведет к усилению тонического торможения интернейронов и пирамидных клеток в гиппокампе (Semyanov et al., submitted) и активации пресинаптических ГАМК_B рецепторов, снижающих эффективность глутамат- и ГАМКергической синаптической передач (Isaacson 2000; Isaacson et al. 1993; Semyanov and Kullmann 2000). Как эти эффекты вместе отразятся на общей возбудимости нейрональной сети остается неясным.

В предыдущих разделах данного обзора обсуждалось влияние диффузных глутамата и ГАМК на нейрональную возбудимость и эффективность синаптической передачи. При этом взаимодействие между самими диффузными системами осталось за кадром. К настоящему моменту проведено сравнительно немного исследований посвященных данному вопросу. Таковыми, например, являются исследования эффекта активации внесинаптических каинатных рецепторов в интернейронах гиппокампа на повышение внеклеточной концентрации ГАМК (Frerking et al. 1999; Семьянов, ЖВНД в печати). Активация каинатных рецепторов приводит к деполяризации аксонов интернейронов и увеличению потенциал-действия зависимого высвобождения и накопления ГАМК (Semyanov and Kullmann 2001). Накопление внеклеточной ГАМК приводит к активации пресинаптических ГАМК_B рецепторов на тормозных и возбуждающих терминалях и тонической активации ГАМК_A рецепторов. Вероятно, предложенная схема не исчерпывает всех возможных эффектов диффузных сигналов в нейрональной сети. Однако, она показывает насколько более сложно организована система обработки информации в гиппокампе по сравнению с традиционной синаптической схемой его организации.

Заключение

Диффузная нейротрансмиссия является предметом интенсивных исследований. Тем не менее, многие ее аспекты остаются мало изученными. Как отмечалось выше, не было детально исследовано как активация одной системы нейротрансмиссии может повлиять на другую и какой при этом будет общий эффект на возбудимость нейрональной сети гиппокампа. Кроме этого, большая часть приведенных здесь исследований была

проведена на срезах гиппокампа, зачастую при комнатной температуре. Каким образом будет происходить диффузная нейротрансмиссия *in vivo*, когда морфологическая структура полностью сохранена, а оборот транспортеров происходит при физиологической температуре (Hertz et al. 1998; Vizi 1998). В этом случае, приведет ли увеличение оборота транспортеров к более высокой интенсивности обратного захвата или к более эффективному высвобождению нейротрансмиттеров за счет их обращенной работы остается не ясным.

Описание функциональных особенностей внесинаптических рецепторов является крайне важным не только для понимания механизмов обработки информации в гиппокампе, но и для объяснения действия ряда нейроактивных препаратов. Фармакологические свойства большинства клинически применяемых лекарств традиционно исследовались по влиянию данных веществ на синаптическую нейротрансмиссию и ионные каналы. Оказалось, что некоторые из них, в частности, бензодиазепины и барбитураты, аллостерические модуляторы ГАМК_A рецепторов, способны усиливать не только ТПСТ, но и тонический ГАМКергический ток (Semyanov et al., submitted). Таким образом, механизм терапевтического эффекта подобных препаратов может быть существенно дополнен, а в некоторых случаях и пересмотрен. Кроме этого, открывается перспектива создания лекарств, специфически влияющих на системы глутамат- и ГАМКергической диффузных нейротрансмиссий.

Наконец, если изменения в эффективности синаптической передачи традиционно связывают с рядом процессов высшей нервной деятельности, такими как обучение и память (Winder and Schramm 2001), то роль внесинаптической диффузной нейротрансмиссии еще только предстоит исследовать. Интересно, что на примере гипоталамуса было показано, что у крыс в зависимости от их состояния (до, во время и после лактации) происходят изменения в глиальном окружении нейронов и внеклеточной концентрации глутамата (Oliet et al. 2001). В этой связи, перспективными выглядят исследования по изучению роли диффузной нейротрансмиссии в гиппокампе для различных процессов высшей нервной деятельности.

Благодарности

Автор искренне благодарен О.В. Годухину за критическое чтение статьи.

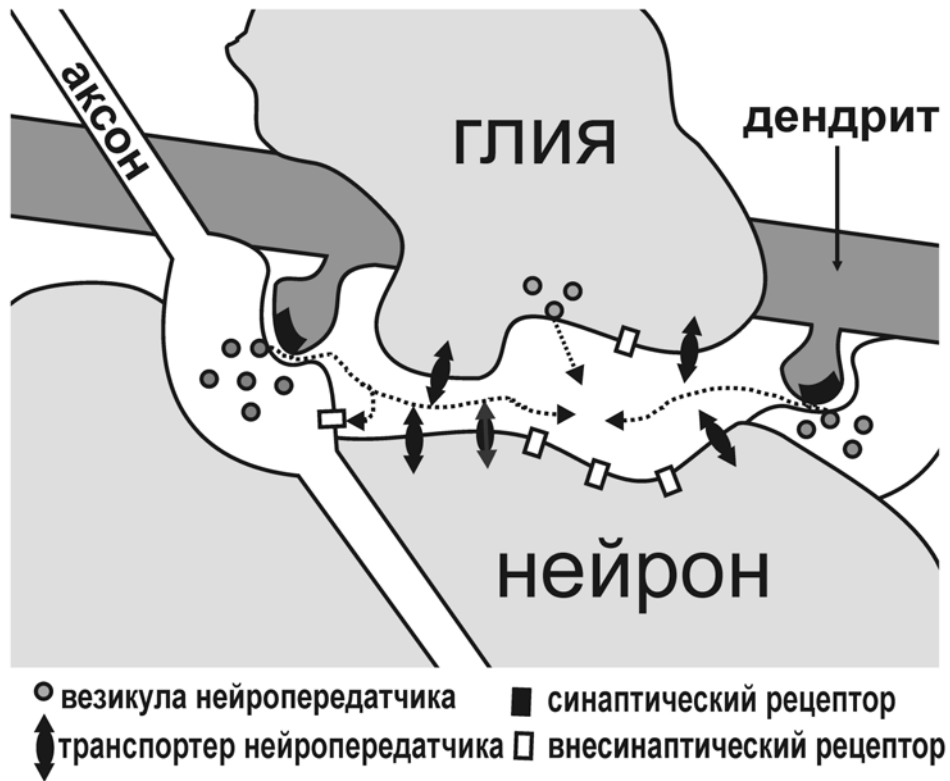


Рисунок 1. Источники диффузного сигнала

Источники внеклеточной концентрации нейротрансмиттера: обратная работа транспортеров, глиальный экзоцитоз и его спilloвер от близкорасположенных синапсов. Пунктирными стрелками продемонстрирован путь диффузии нейротрансмиттера. Внесинаптические рецепторы, расположенные на пресинаптических терминалях выступают в качестве ауторецепторов.

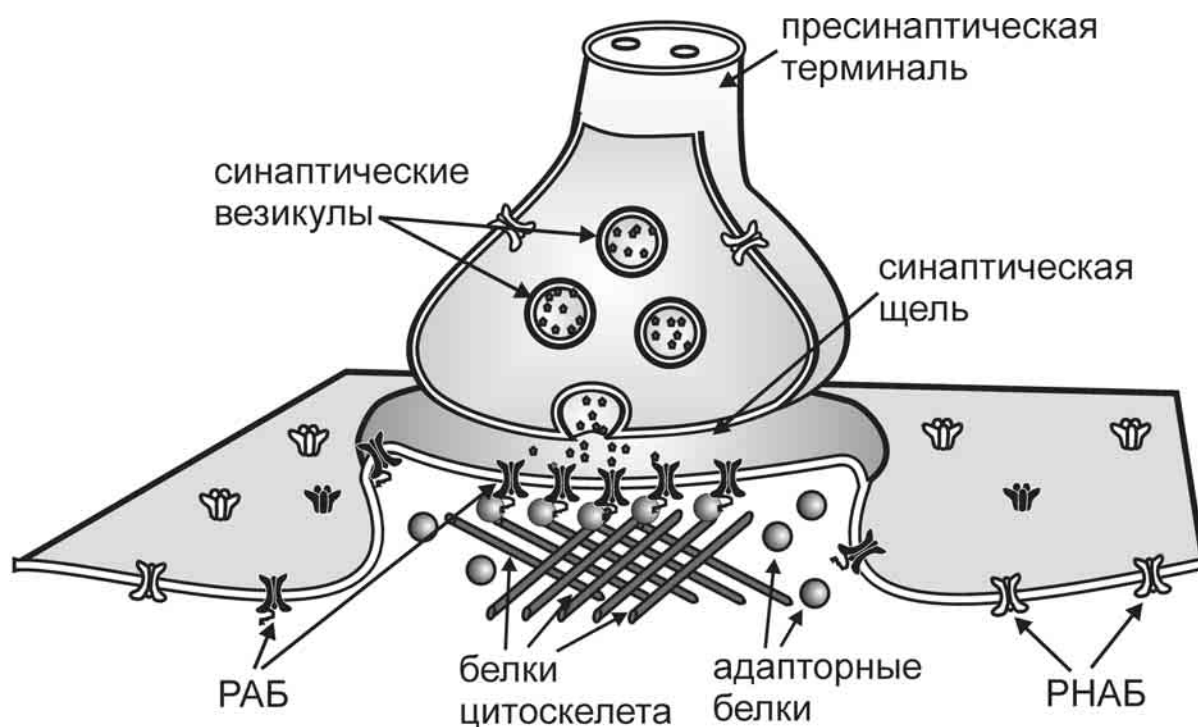


Рисунок 2. Синаптические и внесинаптические рецепторы

Внесинаптические рецепторы находятся за пределами синаптического уплотнения, как на постсинаптической клетке, так и пресинаптической терминали. Рецепторы, взаимодействующие с адапторными белками - (РАБ), способны образовывать кластеры напротив места синаптического экзоцитоза. Это определяется тем, что адапторные белки “привязывают” данные рецепторы к белкам цитоскелета. Процесс взаимодействия таких рецепторов с адапторными белками регулируется рядом факторов, в том числе фосфорилированием и пальмитилированием (см. текст). В результате такой регуляции РАБ способны покинуть синапс и перемещаться во внесинаптическую мембрану. Рецепторы, не взаимодействующие с адапторными белками (РНАБ), находятся преимущественно вне синапсов.

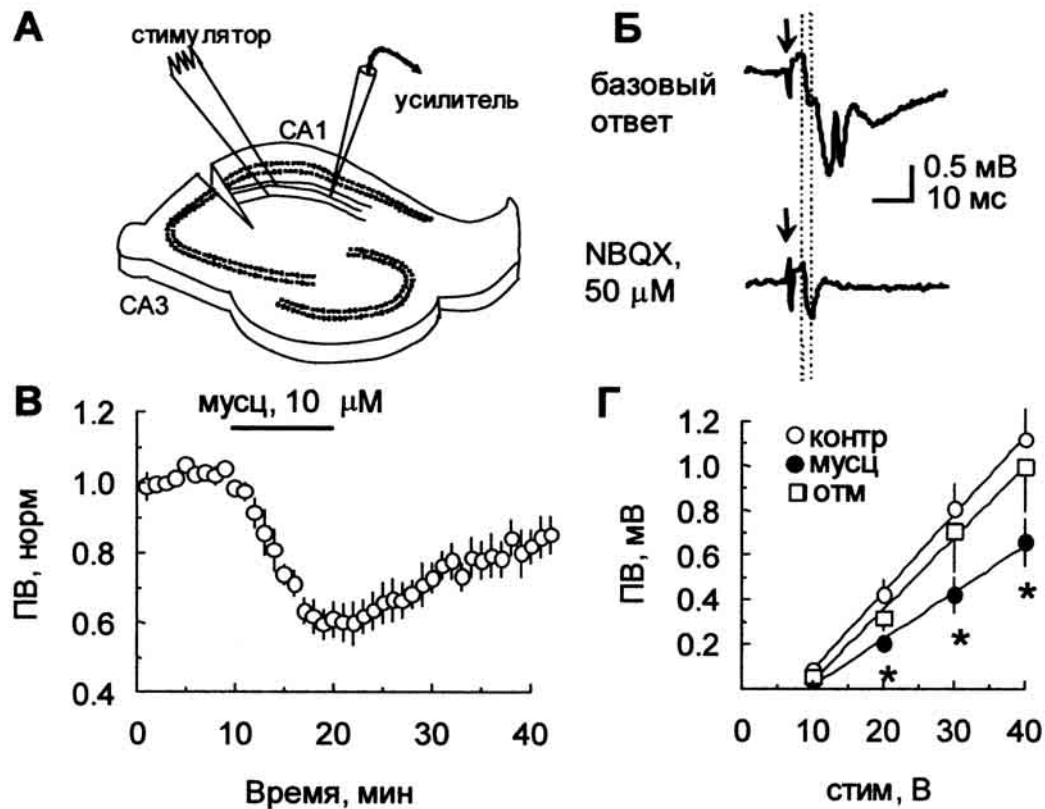


Рисунок 3. Агонист ГАМК_A рецепторов (мусцимол, 10 мкМ) снижает амплитуду потенциала волокон в коллатералиях Шаффера

А. Коллатерали Шаффера отделялись от сомато-дендритного компартмента путем микроперезки между полями CA3 и CA1 срезов гиппокампа. Стимулирующий электрод устанавливался в str.radiatum рядом с местом перезки, а регистрирующий на удалении, также в str.radiatum.

Б. Электрическая стимуляция вызывает комплексный полевой потенциал, в котором отражаются потенциал пресинаптических волокон (ПВ), полевой ВПСП и популяционный спайк. При блокаде AMPA/каинатных рецепторов с помощью NBQX (50 мкМ), полевой ВПСП и популяционный спайк исчезают и регистрируется только ПВ, или суммарный разряд изолированных коллатералей Шаффера.

Добавление мусцимола (10 мкМ), агониста ГАМК_A рецепторов приводит к снижению амплитуды ПВ: **В.** Динамика амплитуды ПВ нормированной к контрольным значениям при фиксированной силе стимула. **Г.** Мусцимол изменяет наклон зависимостей амплитуды ПВ от силы стимула (Семьянов, неопубликованные данные).

Список литературы

1. Базян, А.С. (а). Дивергентные и конвергентные механизмы интегративной деятельности головного мозга млекопитающих // Журн. Высш. Нервн. Деят. 2001. Т.51. № 4. С. 514-528.
2. Базян А.С. (b). Взаимодействие медиаторных и модуляторных систем головного мозга и их возможная роль в формировании психофизиологических и психопатологических состояний // Усп. Физиол. Наук. 2001. Т.32. № 3. С. 3-22.
3. Семьянов А.В., Годухин О.В. Клеточно-молекулярные механизмы фокального эпилептогенеза // Усп. Физиол. Наук. 2001. Т.32. № 1. С. 60-78.
4. Семьянов А.В ГМК-эргическое торможение в ЦНС: типы ГМК-рецепторов и механизмы тонического ГМК-опосредованного тормозного действия // Нейрофизиология/Neurophysiology. 2002 (в печати)
5. Семьянов А.В. Эффект активации каинатных рецепторов на тоническое и фазическое ГМК-эргическое торможение в интернейронах поля СА1 срезов гиппокампа морской свинки // Журн. Высш. Нервн. Деят. (в печати).
6. Копаниця М.В., Бойчук Я.А., Лозова Н.О., Крышталь О.О. Міжнейронна сигналізація, опосередкована трансинаптичною дифузією нейротрансмітерів // Фізіол. журн. 1999. Т.45. №4. С. 132-147.
7. Agnati, L. F., Zoli, M., Stromberg, I., and Fuxe, K. (1995). "Intercellular communication in the brain: wiring versus volume transmission." *Neuroscience*, 69(3), 711-26.
8. Andrade, R., Malenka, R. C., and Nicoll, R. A. (1986). "A G protein couples serotonin and GABA_B receptors to the same channels in hippocampus." *Science*, 234(4781), 1261-5.
9. Anwyl, R. (1991). "Modulation of vertebrate neuronal calcium channels by transmitters." *Brain Res Brain Res Rev*, 16(3), 265-81.
10. Araque, A., Li, N., Doyle, R. T., and Haydon, P. G. (2000). "SNARE protein-dependent glutamate release from astrocytes." *J Neurosci*, 20(2), 666-73.
11. Attwell, D. (1994). "Glia and neurons in dialogue." *Nature*, 369(6483), 707-8.
12. Bai, D., Zhu, G., Pennefather, P., Jackson, M. F., MacDonald, J. F., and Orser, B. A. (2001). "Distinct functional and pharmacological properties of tonic and quantal inhibitory postsynaptic currents mediated by gamma-aminobutyric acid(A) receptors in hippocampal neurons." *Mol Pharmacol*, 59(4), 814-24.
13. Banks, M. I., and Pearce, R. A. (2000). "Kinetic differences between synaptic and extrasynaptic GABA(A) receptors in CA1 pyramidal cells." *J Neurosci*, 20(3), 937-48.
14. Baude, A., Nusser, Z., Roberts, J. D., Mulvihill, E., McIlhinney, R. A., and Somogyi, P. (1993). "The metabotropic glutamate receptor (mGluR1 alpha) is concentrated at perisynaptic membrane of neuronal subpopulations as detected by immunogold reaction." *Neuron*, 11(4), 771-87.
15. Belan, P. V., and Kostyuk, P. G. (2002). "Glutamate-receptor-induced modulation of GABAergic synaptic transmission in the hippocampus." *Pflugers Arch*, 444(1), 26-37.
16. Berger, T., Muller, T., and Kettenmann, H. (1995). "Developmental regulation of ion channels and receptors on glial cells." *Perspect Dev Neurobiol*, 2(4), 347-56.

17. Bergles, D. E., Diamond, J. S., and Jahr, C. E. (1999). "Clearance of glutamate inside the synapse and beyond." *Curr Opin Neurobiol*, 9(3), 293-8.
18. Bergles, D. E., Dzubay, J. A., and Jahr, C. E. (1997). "Glutamate transporter currents in bergmann glial cells follow the time course of extrasynaptic glutamate." *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94(26), 14821-5.
19. Bergles, D. E., and Jahr, C. E. (1997). "Synaptic activation of glutamate transporters in hippocampal astrocytes." *Neuron*, 19(6), 1297-308.
20. Bezzi, P., Carmignoto, G., Pasti, L., Vesce, S., Rossi, D., Rizzini, B. L., Pozzan, T., and Volterra, A. (1998). "Prostaglandins stimulate calcium-dependent glutamate release in astrocytes." *Nature*, 391(6664), 281-5.
21. Bezzi, P., and Volterra, A. (2001). "A neuron-glia signalling network in the active brain." *Curr Opin Neurobiol*, 11(3), 387-94.
22. Boguszewicz, J., Skrajny, B., Kohli, J., and Roth, S. H. (1996). "Evidence that GABA, serotonin, and norepinephrine are involved in the modulation of in vitro rhythmical activity in rat hippocampal slices." *Can J Physiol Pharmacol*, 74(12), 1322-6.
23. Bouron, A. (2001). "Modulation of spontaneous quantal release of neurotransmitters in the hippocampus." *Prog Neurobiol*, 63(6), 613-35.
24. Bowie, D., and Mayer, M. L. (1995). "Inward rectification of both AMPA and kainate subtype glutamate receptors generated by polyamine-mediated ion channel block." *Neuron*, 15(2), 453-62.
25. Brown, D. A., Adams, P. R., Higgins, A. J., and Marsh, S. (1979). "Distribution of gaba-receptors and gaba-carriers in the mammalian nervous system." *J Physiol*, 75(6), 667-71.
26. Castillo, P. E., Malenka, R. C., and Nicoll, R. A. (1997). "Kainate receptors mediate a slow postsynaptic current in hippocampal CA3 neurons." *Nature*, 388(6638), 182-6.
27. Cherubini, E., and Conti, F. (2001). "Generating diversity at GABAergic synapses." *Trends Neurosci*, 24(3), 155-62.
28. Clark, B. A., and Cull-Candy, S. G. (2002). "Activity-dependent recruitment of extrasynaptic NMDA receptor activation at an AMPA receptor-only synapse." *J Neurosci*, 22(11), 4428-36.
29. Condorelli, D. F., Conti, F., Gallo, V., Kirchhoff, F., Seifert, G., Steinhauser, C., Verkhratsky, A., and Yuan, X. (1999). "Expression and functional analysis of glutamate receptors in glial cells." *Adv Exp Med Biol*, 468, 49-67.
30. Cossart, R., Epsztein, J., Tyzio, R., Becq, H., Hirsch, J., Ben-Ari, Y., and Crepel, V. (2002). "Quantal Release of Glutamate Generates Pure Kainate and Mixed AMPA/Kainate EPSCs in Hippocampal Neurons." *Neuron*, 35(1), 147-59.
31. Cossart, R., Esclapez, M., Hirsch, J. C., Bernard, C., and Ben-Ari, Y. (1998). "GluR5 kainate receptor activation in interneurons increases tonic inhibition of pyramidal cells." *Nat Neurosci*, 1(6), 470-8.
32. Cossart, R., Tyzio, R., Dinocourt, C., Esclapez, M., Hirsch, J. C., Ben-Ari, Y., and Bernard, C. (2001). "Presynaptic kainate receptors that enhance the release of GABA on CA1 hippocampal interneurons." *Neuron*, 29(2), 497-508.
33. Costa, E. (1998). "From GABA_A receptor diversity emerges a unified vision of GABAergic inhibition." *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 38, 321-50.

34. Coyle, J. E., Qamar, S., Rajashankar, K. R., and Nikolov, D. B. (2002). "Structure of GABARAP in two conformations: implications for GABA(A) receptor localization and tubulin binding." *Neuron*, 33(1), 63-74.
35. Dalby, N. O., and Mody, I. (2001). "The process of epileptogenesis: a pathophysiological approach." *Curr Opin Neurol*, 14(2), 187-92.
36. Danbolt, N. C. (2001). "Glutamate uptake." *Prog Neurobiol*, 65(1), 1-105.
37. Diamond, J. S., and Jahr, C. E. (2000). "Synaptically released glutamate does not overwhelm transporters on hippocampal astrocytes during high-frequency stimulation." *J Neurophysiol*, 83(5), 2835-43.
38. Dietrich, D., Beck, H., Kral, T., Clusmann, H., Elger, C. E., and Schramm, J. (1997). "Metabotropic glutamate receptors modulate synaptic transmission in the perforant path: pharmacology and localization of two distinct receptors." *Brain Res*, 767(2), 220-7.
39. Dietrich, D., Kral, T., Clusmann, H., Friedl, M., and Schramm, J. (2002). "Presynaptic group II metabotropic glutamate receptors reduce stimulated and spontaneous transmitter release in human dentate gyrus." *Neuropharmacology*, 42(3), 297-305.
40. El-Husseini Ael, D., Schnell, E., Dakoji, S., Sweeney, N., Zhou, Q., Prange, O., Gauthier-Campbell, C., Aguilera-Moreno, A., Nicoll, R. A., and Brecht, D. S. (2002). "Synaptic strength regulated by palmitate cycling on PSD-95." *Cell*, 108(6), 849-63.
41. Fisher, R. S., and Alger, B. E. (1984). "Electrophysiological mechanisms of kainic acid-induced epileptiform activity in the rat hippocampal slice." *J Neurosci*, 4(5), 1312-23.
42. Frerking, M., Malenka, R. C., and Nicoll, R. A. (1998). "Synaptic activation of kainate receptors on hippocampal interneurons." *Nat Neurosci*, 1(6), 479-86.
43. Frerking, M., Petersen, C. C., and Nicoll, R. A. (1999). "Mechanisms underlying kainate receptor-mediated disinhibition in the hippocampus." *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(22), 12917-22.
44. Gadea, A., and Lopez-Colome, A. M. (2001). "Glial transporters for glutamate, glycine, and GABA: II. GABA transporters." *J Neurosci Res*, 63(6), 461-8.
45. Hardingham, G. E., Fukunaga, Y., and Bading, H. (2002). "Extrasynaptic NMDARs oppose synaptic NMDARs by triggering CREB shut-off and cell death pathways." *Nat Neurosci*, 5(5), 405-14.
46. Harris, B. Z., and Lim, W. A. (2001). "Mechanism and role of PDZ domains in signaling complex assembly." *J Cell Sci*, 114(Pt 18), 3219-31.
47. Hausser, M., and Clark, B. A. (1997). "Tonic synaptic inhibition modulates neuronal output pattern and spatiotemporal synaptic integration." *Neuron*, 19(3), 665-78.
48. Hertz, L., Peng, L., and Lai, J. C. (1998). "Functional studies in cultured astrocytes." *Methods*, 16(3), 293-310.
49. Hevers, W., Korpi, E. R., and Luddens, H. (2000). "Assembly of functional alpha6beta3gamma2delta GABA(A) receptors in vitro." *Neuroreport*, 11(18), 4103-6.
50. Hill, D. R., Bowery, N. G., and Hudson, A. L. (1984). "Inhibition of GABAB receptor binding by guanyl nucleotides." *J Neurochem*, 42(3), 652-7.
51. Isaacson, J. S. (2000). "Spillover in the spotlight." *Curr Biol*, 10(13), R475-7.

52. Isaacson, J. S., Solis, J. M., and Nicoll, R. A. (1993). "Local and diffuse synaptic actions of GABA in the hippocampus." *Neuron*, 10(2), 165-75.
53. Jansson, A., Lippoldt, A., Mazel, T., Bartfai, T., Ogren, S. O., Sykova, E., Agnati, L. F., and Fuxe, K. (2000). "Long distance signalling in volume transmission. Focus on clearance mechanisms." *Prog Brain Res*, 125, 399-413.
54. Jones, K. A., Borowsky, B., Tamm, J. A., Craig, D. A., Durkin, M. M., Dai, M., Yao, W. J., Johnson, M., Gunwaldsen, C., Huang, L. Y., Tang, C., Shen, Q., Salon, J. A., Morse, K., Laz, T., Smith, K. E., Nagarathnam, D., Noble, S. A., Branchek, T. A., and Gerald, C. (1998). "GABA(B) receptors function as a heteromeric assembly of the subunits GABA(B)R1 and GABA(B)R2." *Nature*, 396(6712), 674-9.
55. Kamiya, H., and Ozawa, S. (2000). "Kainate receptor-mediated presynaptic inhibition at the mouse hippocampal mossy fibre synapse." *J Physiol*, 523 Pt 3, 653-65.
56. Kew, J. N., Ducarre, J. M., Pflimlin, M. C., Mutel, V., and Kemp, J. A. (2001). "Activity-dependent presynaptic autoinhibition by group II metabotropic glutamate receptors at the perforant path inputs to the dentate gyrus and CA1." *Neuropharmacology*, 40(1), 20-7.
57. Khakh, B. S., and Henderson, G. (2000). "Modulation of fast synaptic transmission by presynaptic ligand-gated cation channels." *J Auton Nerv Syst*, 81(1-3), 110-21.
58. Kimelberg, H. K., Goderie, S. K., Higman, S., Pang, S., and Waniewski, R. A. (1990). "Swelling-induced release of glutamate, aspartate, and taurine from astrocyte cultures." *J Neurosci*, 10(5), 1583-91.
59. Kimelberg, H. K., and Mongin, A. A. (1998). "Swelling-activated release of excitatory amino acids in the brain: relevance for pathophysiology." *Contrib Nephrol*, 123, 240-57.
60. Kneussel, M. (2002). "Dynamic regulation of GABA(A) receptors at synaptic sites." *Brain Res Brain Res Rev*, 39(1), 74-83.
61. Kullmann, D. M. (2000). "Spillover and synaptic cross talk mediated by glutamate and GABA in the mammalian brain." *Prog Brain Res*, 125, 339-51.
62. Kullmann, D. M. (2001). "Presynaptic kainate receptors in the hippocampus: slowly emerging from obscurity." *Neuron*, 32(4), 561-4.
63. Kullmann, D. M., and Asztely, F. (1998). "Extrasynaptic glutamate spillover in the hippocampus: evidence and implications." *Trends Neurosci*, 21(1), 8-14.
64. Kullmann, D. M., and Semyanov, A. (2002). "Glutamatergic modulation of GABAergic signaling among hippocampal interneurons: novel mechanisms regulating hippocampal excitability." *Epilepsia*, 43(Suppl 5), 174-8.
65. Kunishima, N., Shimada, Y., Tsuji, Y., Sato, T., Yamamoto, M., Kumasaka, T., Nakanishi, S., Jingami, H., and Morikawa, K. (2000). "Structural basis of glutamate recognition by a dimeric metabotropic glutamate receptor." *Nature*, 407(6807), 971-7.
66. Laming, P. R., Kimelberg, H., Robinson, S., Salm, A., Hawrylak, N., Muller, C., Roots, B., and Ng, K. (2000). "Neuronal-glia interactions and behaviour." *Neurosci Biobehav Rev*, 24(3), 295-340.
67. Lehre, K. P., and Rusakov, D. A. (2002). "Asymmetry of Glia near Central Synapses Favors Presynaptically Directed Glutamate Escape." *Biophys J*, 83(1), 125-34.

68. Lerma, J., Paternain, A. V., Naranjo, J. R., and Mellstrom, B. (1993). "Functional kainate-selective glutamate receptors in cultured hippocampal neurons." *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90(24), 11688-92.
69. Lujan, R., Nusser, Z., Roberts, J. D., Shigemoto, R., and Somogyi, P. (1996). "Perisynaptic location of metabotropic glutamate receptors mGluR1 and mGluR5 on dendrites and dendritic spines in the rat hippocampus." *Eur J Neurosci*, 8(7), 1488-500.
70. Macek, T. A., Winder, D. G., Gereau, R. W. t., Ladd, C. O., and Conn, P. J. (1996). "Differential involvement of group II and group III mGluRs as autoreceptors at lateral and medial perforant path synapses." *J Neurophysiol*, 76(6), 3798-806.
71. Mehta, A. K., and Ticku, M. K. (1999). "An update on GABAA receptors." *Brain Res Brain Res Rev*, 29(2-3), 196-217. Mintz, I. M., and Bean, B. P. (1993). "GABAB receptor inhibition of P-type Ca²⁺ channels in central neurons." *Neuron*, 10(5), 889-98.
72. Misgeld, U., Bijak, M., and Jarolimek, W. (1995). "A physiological role for GABAB receptors and the effects of baclofen in the mammalian central nervous system." *Prog Neurobiol*, 46(4), 423-62.
73. Mohler, H., and Fritschy, J. M. (1999). "GABAB receptors make it to the top--as dimers." *Trends Pharmacol Sci*, 20(3), 87-9. 3_00001323.
74. Nishikawa, M., Hirouchi, M., and Kuriyama, K. (1997). "Functional coupling of Gi subtype with GABAB receptor/adenylyl cyclase system: analysis using a reconstituted system with purified GTP-binding protein from bovine cerebral cortex." *Neurochem Int*, 31(1), 21-5.
75. Nusser, Z., and Mody, I. (2002). "Selective modulation of tonic and phasic inhibitions in dentate gyrus granule cells." *J Neurophysiol*, 87(5), 2624-8.
76. Nusser, Z., Sieghart, W., and Somogyi, P. (1998). "Segregation of different GABAA receptors to synaptic and extrasynaptic membranes of cerebellar granule cells." *J Neurosci*, 18(5), 1693-703.
77. Oliet, S. H., Piet, R., and Poulain, D. A. (2001). "Control of glutamate clearance and synaptic efficacy by glial coverage of neurons." *Science*, 292(5518), 923-6.
78. Ozawa, S., Kamiya, H., and Tsuzuki, K. (1998). "Glutamate receptors in the mammalian central nervous system." *Prog Neurobiol*, 54(5), 581-618.
79. Parpura, V., Basarsky, T. A., Liu, F., Jęftinija, K., Jęftinija, S., and Haydon, P. G. (1994). "Glutamate-mediated astrocyte-neuron signalling." *Nature*, 369(6483), 744-7.
80. Patneau, D. K., and Mayer, M. L. (1990). "Structure-activity relationships for amino acid transmitter candidates acting at N-methyl-D-aspartate and quisqualate receptors." *J Neurosci*, 10(7), 2385-99.
81. Pin, J. P., and Duvoisin, R. (1995). "The metabotropic glutamate receptors: structure and functions." *Neuropharmacology*, 34(1), 1-26.
82. Rodriguez-Moreno, A., Herreras, O., and Lerma, J. (1997). "Kainate receptors presynaptically downregulate GABAergic inhibition in the rat hippocampus." *Neuron*, 19(4), 893-901.
83. Rodriguez-Moreno, A., and Lerma, J. (1998). "Kainate receptor modulation of GABA release involves a metabotropic function." *Neuron*, 20(6), 1211-8.
84. Rodriguez-Moreno, A., Lopez-Garcia, J. C., and Lerma, J. (2000). "Two populations of kainate receptors with separate signaling mechanisms in hippocampal interneurons." *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97(3), 1293-8.

85. Rusakov, D. A., and Kullmann, D. M. (1998). "Extrasynaptic glutamate diffusion in the hippocampus: ultrastructural constraints, uptake, and receptor activation." *J Neurosci*, 18(9), 3158-70.
86. Scanziani, M. (2000). "GABA spillover activates postsynaptic GABA(B) receptors to control rhythmic hippocampal activity." *Neuron*, 25(3), 673-81.
87. Scanziani, M., Gahwiler, B. H., and Charpak, S. (1998). "Target cell-specific modulation of transmitter release at terminals from a single axon." *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(20), 12004-9.
88. Scanziani, M., Salin, P. A., Vogt, K. E., Malenka, R. C., and Nicoll, R. A. (1997). "Use-dependent increases in glutamate concentration activate presynaptic metabotropic glutamate receptors." *Nature*, 385(6617), 630-4.
89. Schmitz, D., Frerking, M., and Nicoll, R. A. (2000). "Synaptic activation of presynaptic kainate receptors on hippocampal mossy fiber synapses." *Neuron*, 27(2), 327-38.
90. Schmitz, D., Mellor, J., and Nicoll, R. A. (2001). "Presynaptic kainate receptor mediation of frequency facilitation at hippocampal mossy fiber synapses." *Science*, 291(5510), 1972-6.
91. Schwartz-Bloom, R. D., and Sah, R. (2001). "gamma-Aminobutyric acid(A) neurotransmission and cerebral ischemia." *J Neurochem*, 77(2), 353-71.
92. Semyanov, A., and Kullmann, D. M. (2000). "Modulation of GABAergic signaling among interneurons by metabotropic glutamate receptors." *Neuron*, 25(3), 663-72.
93. Semyanov, A., and Kullmann, D. M. (2001). "Kainate receptor-dependent axonal depolarization and action potential initiation in interneurons." *Nat Neurosci*, 4(7), 718-23.
94. Sheng, M., and Nakagawa, T. (2002). "Neurobiology: glutamate receptors on the move." *Nature*, 417(6889), 601-2.
95. Sheng, M., and Sala, C. (2001). "PDZ domains and the organization of supramolecular complexes." *Annu Rev Neurosci*, 24, 1-29.
96. Shigemoto, R., Kinoshita, A., Wada, E., Nomura, S., Ohishi, H., Takada, M., Flor, P. J., Neki, A., Abe, T., Nakanishi, S., and Mizuno, N. (1997). "Differential presynaptic localization of metabotropic glutamate receptor subtypes in the rat hippocampus." *J Neurosci*, 17(19), 7503-22.
97. Shigemoto, R., Kulik, A., Roberts, J. D., Ohishi, H., Nusser, Z., Kaneko, T., and Somogyi, P. (1996). "Target-cell-specific concentration of a metabotropic glutamate receptor in the presynaptic active zone." *Nature*, 381(6582), 523-5.
98. Soltesz, I., and Nusser, Z. (2001). "Neurobiology. Background inhibition to the fore." *Nature*, 409(6816), 24-5, 27.
99. Sperk, G., Schwarzer, C., Tsunashima, K., Fuchs, K., and Sieghart, W. (1997). "GABA(A) receptor subunits in the rat hippocampus I: immunocytochemical distribution of 13 subunits." *Neuroscience*, 80(4), 987-1000.
100. Stasheff, S. F., Mott, D. D., and Wilson, W. A. (1993). "Axon terminal hyperexcitability associated with epileptogenesis in vitro. II. Pharmacological regulation by NMDA and GABAA receptors." *J Neurophysiol*, 70(3), 976-84.
101. Stell, B. M., and Mody, I. (2002). "Receptors with different affinities mediate phasic and tonic GABA(A) conductances in hippocampal neurons." *J Neurosci*, 22(10), RC223.

102. Strange, K., Emma, F., and Jackson, P. S. (1996). "Cellular and molecular physiology of volume-sensitive anion channels." *Am J Physiol*, 270(3 Pt 1), C711-30.
103. Szatkowski, M., Barbour, B., and Attwell, D. (1990). "Non-vesicular release of glutamate from glial cells by reversed electrogenic glutamate uptake." *Nature*, 348(6300), 443-6.
104. Tomita, S., Nicoll, R. A., and Brecht, D. S. (2001). "PDZ protein interactions regulating glutamate receptor function and plasticity." *J Cell Biol*, 153(5), F19-24.
105. Tovar, K. R., and Westbrook, G. L. (2002). "Mobile NMDA receptors at hippocampal synapses." *Neuron*, 34(2), 255-64.
106. van Hooft, J. A., Giuffrida, R., Blatow, M., and Monyer, H. (2000). "Differential expression of group I metabotropic glutamate receptors in functionally distinct hippocampal interneurons." *J Neurosci*, 20(10), 3544-51.
107. Vesce, S., Bezzi, P., and Volterra, A. (2001). "Synaptic transmission with the glia." *News Physiol Sci*, 16, 178-84.
108. Vignes, M., and Collingridge, G. L. (1997). "The synaptic activation of kainate receptors." *Nature*, 388(6638), 179-82.
109. Vinogradova, O. S. (2001). "Hippocampus as comparator: role of the two input and two output systems of the hippocampus in selection and registration of information." *Hippocampus*, 11(5), 578-98.
110. Vitten, H., and Isaacson, J. S. (2001). "Synaptic transmission: exciting times for presynaptic receptors." *Curr Biol*, 11(17), R695-7.
111. Vizi, E. S. (1998). "Different temperature dependence of carrier-mediated (cytoplasmic) and stimulus-evoked (exocytotic) release of transmitter: a simple method to separate the two types of release." *Neurochem Int*, 33(4), 359-66.
112. Vizi, E. S. (2000). "Role of high-affinity receptors and membrane transporters in nonsynaptic communication and drug action in the central nervous system." *Pharmacol Rev*, 52(1), 63-89.
113. Vizi, E. S., and Kiss, J. P. (1998). "Neurochemistry and pharmacology of the major hippocampal transmitter systems: synaptic and nonsynaptic interactions." *Hippocampus*, 8(6), 566-607.
114. von Blankenfeld, G., and Kettenmann, H. (1991). "Glutamate and GABA receptors in vertebrate glial cells." *Mol Neurobiol*, 5(1), 31-43.
115. Winder, D. G., and Schramm, N. L. (2001). "Plasticity and behavior: new genetic techniques to address multiple forms and functions." *Physiol Behav*, 73(5), 763-80.
116. Yokoi, M., Kobayashi, K., Manabe, T., Takahashi, T., Sakaguchi, I., Katsuura, G., Shigemoto, R., Ohishi, H., Nomura, S., Nakamura, K., Nakao, K., Katsuki, M., and Nakanishi, S. (1996). "Impairment of hippocampal mossy fiber LTD in mice lacking mGluR2." *Science*, 273(5275), 645-7.
117. Yoshino, M., Sawada, S., Yamamoto, C., and Kamiya, H. (1996). "A metabotropic glutamate receptor agonist DCG-IV suppresses synaptic transmission at mossy fiber pathway of the guinea pig hippocampus." *Neurosci Lett*, 207(1), 70-2.