

ГАМК-ЭРГИЧЕСКОЕ ТОРМОЖЕНИЕ В ЦНС: ТИПЫ ГАМК-РЕЦЕПТОРОВ И МЕХАНИЗМЫ ТОНИЧЕСКОГО ГАМК-ОПОСРЕДОВАННОГО ТОРМОЗНОГО ДЕЙСТВИЯ

Поступил 26.02.02

В обзоре рассматриваются такие аспекты проблемы ГАМК-эргического торможения в ЦНС, как принципиальные молекулярные механизмы ГАМК-эргической синаптической передачи, современное состояние вопроса о принципах классификации рецепторов ГАМК, разнообразие форм ГАМК-эргического торможения, а также возможные механизмы и функциональное значение тонического ГАМК-опосредованного тормозного действия.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: интернейрон, пирамидный нейрон, тоническое торможение, клеточная специфичность, диффузия, обратный захват.

ВВЕДЕНИЕ

Взаимодействие тормозных и возбуждающих систем нейротрансмиссии в ЦНС фактически является базисом для обработки и сохранения информации мозгом. Нарушение баланса между этими системами приводит к развитию серьезных патологических сдвигов в ЦНС; в частности, такие нарушения являются одним из ключевых факторов, ответственных за развитие эпилепсии. Несмотря на длительную историю изучения процессов торможения и возбуждения, развивающихся в нейронах ЦНС, особенностей синаптической передачи между этими клетками и механизмов ее модуляции, прогресс в прикладном аспекте рассматриваемой проблемы (диагностика и коррекция патологических состояний мозга) все еще относительно ограничен. Тем не менее использование новейших современных методов и технологий (прежде всего фармакологических) позволило достичь определенных успехов в данном направлении. В частности, описаны основные типы молекулярных рецепторов глутамата и ГАМК (соответственно главных возбужда-

ющего и тормозного нейротрансмиттеров в головном мозгу) [1, 2]. Идентифицированы основные церебральные возбуждающие и тормозные пути синаптической передачи. При этом структурно-функциональная “синаптическая модель мозга”, казалось бы, логично выстроенная, все еще далека от совершенства в плане описания работы ЦНС в реальных условиях.

Следовательно, одной из кардинальных задач современных нейронаук стало детальное выяснение механизмов изменений синаптической передачи и возбудимости нервных клеток в различных условиях и состояниях ЦНС. Для этого проводятся исследования субъединичного состава молекулярных рецепторов и поиск специфических активных веществ, влияющих на последние (блокаторов, активаторов, аллостерических модуляторов), а также изучение биохимических каскадов, запускаемых активацией тех или иных рецепторов, особенностей высвобождения, поглощения и синаптического/внесинаптического действия нейротрансмиттеров, интеграции и взаимодействия различных систем нейротрансмиттеров.

В данном обзоре обобщен ряд современных данных об особенностях механизмов ГАМК-эргической синаптической передачи, характеристиках ГАМК-рецепторов и формах ГАМК-эргического торможения.

¹ Институт неврологии, Лондон (Великобритания).
Эл. почта: A.Semyanov@ion.ucl.ac.uk (А. В. Семьянов).

ГАМК-ЭРГИЧЕСКАЯ СИНАПТИЧЕСКАЯ ПЕРЕДАЧА

ГАМК (γ-аминомасляная кислота) – основной тормозный нейромедиатор в ЦНС – синтезируется при декарбоксилировании глутамата. Следует заметить, что ГАМК не является компонентом белков, полипептидные цепи которых состоят из остатков исключительно α-аминокислот. Существуют две изоформы глутаматдекарбоксилазы: GAD67 и GAD65. GAD67 распространена во всей цитоплазме нейронов, а GAD65 в основном локализована в пресинаптических терминалях ГАМК-эргических интернейронов. Экспрессия последнего фермента существенно меняется в зависимости от уровня активности нейрона. Это указывает на то, что данный фактор играет определенную роль в регуляции ГАМК-эргической передачи [3]. Молекулы ГАМК, как и других нейромедиаторов, в пресинаптическом участке переносятся из цитоплазмы в везикулы с помощью специальных транспортеров, которые используют протонный градиент, создаваемый везикулярными АТФазами. Интересно отметить, что механизмы везикулярного захвата возбуждающего или тормозного нейротрансмиттера (глутамата и ГАМК соответственно) принципиально различны. Анионы глутамата непосредственно перемещаются в везикулы по градиенту концентрации H^+ , которая в этих структурах высока. В случае ГАМК по протонному градиенту движутся сначала анионы Cl^- , которые затем обмениваются на анионы ГАМК [4]. Белок, который участвует в поглощении глутамата везикулами, был недавно идентифицирован [5, 6], тогда как белок, опосредующий обмен Cl^- на ГАМК⁻, все еще не определен. Известно только, что захват ГАМК в везикулы происходит при вспомогательном участии фермента VGAT1, который также вовлечен в везикулярный транспорт глицина. Тем не менее этот фермент не является абсолютно необходимым для упаковки ГАМК в везикулы, поскольку в ряде ГАМК-эргических терминалей он отсутствует [7].

После высвобождения ГАМК в синаптическую щель начинается ее захват электрогенными транспортерами. В настоящее время известны три таких транспортера: GAT1, GAT2 и GAT3 [8]. Эти транспортеры локализуются как в астроцитах, так и в самих нейронах. Поскольку транспорт является электрогенным, анион аминокислоты

переносится вместе с двумя катионами Na^+ и, видимо, одним анионом Cl^- [9, 10]. Указанные типы транспортеров различаются спецификой локализации. Так, например, в нейронах GAT1 в отличие от GAT3 практически отсутствует.

ГАМК-РЕЦЕПТОРЫ

ГАМК действует на две основные группы молекулярных рецепторов – ионотропные рецепторы типа ГАМК_A/ГАМК_C (рис. 1) и метаботропные рецепторы типа ГАМК_B [11]. В настоящее время правомерность деления ионотропных рецепторов на два типа (А и С) активно дискутируется. В данном обзоре для сохранения объективности рассмотрение типов ГАМК-рецепторов проводится в алфавитном порядке (“А-В-С”).

ГАМК_A-рецепторы. ГАМК_A-рецепторы у млекопитающих состоят как минимум из 16 субъединиц, которые сгруппированы в семь классов: α, β, γ, δ, ε, π и σ [12, 13]. Комбинации этих субъединиц обуславливают существование множества изоформ рецепторов, причем композиция субъединиц определяет специфичность эффектов аллостерических модуляторов ГАМК_A-рецепторов (таких, как нейростероиды, цинк, бензодиазепины и барбитураты) [13]. Композиция субъединиц также определяет кинетику активации рецепторов и может оказывать влияние на их десенситизацию [14]. Интересно, что наличие тех или иных субъединиц в составе ГАМК-рецептора зависит и от его локализации. Так, например, α₂-субъединица встречается исключительно в соматодендритных синапсах, но не в тормозных синапсах на начальном сегменте аксона [15]. И, наконец, композиция субъединиц ГАМК_A-рецепторов в нейронах может меняться во время эпилептогенеза; эти изменения отражаются в фармакодинамике лекарственных препаратов [16].

В гиппокампе из 16 субъединиц ГАМК_A-рецепторов только 10 экспрессируются в достаточном количестве [17]. Этого, однако, вполне достаточно, чтобы создать значительную гетерогенность ГАМК-рецепторов в различных участках данной структуры. Считается, что типичные гиппокампальные ГАМК-рецепторы содержат одну-две α-субъединицы и одну-две β-субъединицы. Поскольку рецептор состоит из пяти субъединиц, то в дополнение к упомянутым выше присоединяются одна-две либо γ-, либо δ-субъединицы (предполагается, что γ- и δ-субъединицы не входят

совместно в состав одного рецептора). Наличие γ -субъединицы влияет на различные параметры ГАМК-рецептора. В частности, γ -субъединица взаимодействует с гефирином – цитоскелетным белком, который играет важную роль в “заякоривании” ГАМК-рецепторов в синаптической щели [18]. ГАМК-рецепторы, содержащие δ -субъединицу, располагаются преимущественно вне синапсов. Значение синаптических и внесинаптических рецепторов ГАМК будет обсуждаться далее.

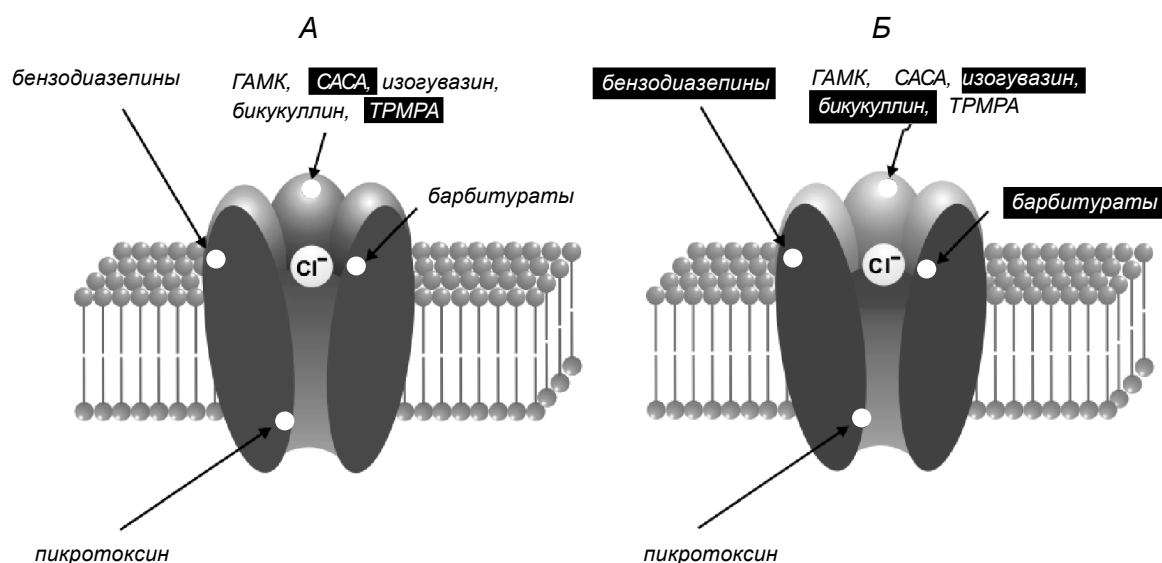
В синаптическом ответе ГАМК_A-рецепторы определяют “быстрый” компонент соответствующего синаптического тока. Канал ГАМК_A-рецептора проницаем для ионов хлора и в некоторой степени для бикарбоната. Поэтому эффект активации данных рецепторов будет зависеть от электрохимического градиента для вышеуказанных ионов на постсинаптической мембране [19]. В нервной системе взрослых животных внеклеточная концентрация ионов хлора выше внутриклеточной, что обуславливает более негативные значения потенциала реверсии для хлорного тока, чем потенциал покоя клеток. Таким образом, активация ГАМК_A-рецепторов, как правило, приводит к входу Cl⁻ в нейрон и к гиперполяризации клетки. Необходимый градиент ионов хлора поддерживается калий/хлорным котранспортером KCC2 [20], который начинает выкачивать Cl⁻ наружу после реализации элементарного синаптического события. Отсутствие указанного транспортера в незрелых нейронах гиппокампа определяет относительно высокую внутриклеточную концентрацию ионов хлора в таких клетках, что ведет к более позитивному потенциалу реверсии для данных анионов, чем потенциал покоя упомянутых клеток. В этом случае при активации ГАМК_A-рецепторов возникает деполяризация нейронов [20–22]. Однако и во взрослом мозгу, в котором активация ГАМК_A-рецепторов обуславливает гиперполяризацию, продолжительное возбуждение ГАМК-эргических терминалей может вызвать развитие длительного деполяризационного постсинаптического потенциала [23]. Возникновение этого потенциала частично опосредуется внеклеточным накоплением калия, который высвобождается при активации KCC2 [24].

Алlostерические модуляторы ГАМК_A-рецепторов. В ГАМК_A-рецепторе (рис. 1) существуют целый ряд модуляторных сайтов, отличных от

сайта связывания агониста. Вещества, воздействующие на данные сайты, повышают или, наоборот, снижают эффективность активации ГАМК_A-рецепторов агонистом [25]. Одним из таких сайтов алlostерических модуляторов является бензодиазепиновый сайт. Этот сайт представляет собой мишень для ряда препаратов, используемых в клинической практике, – антиконвульсантов, седативных и гипногенных средств. Активация бензодиазепинового сайта ведет к увеличению аффинности по отношению к агонисту у определенной группы, но не у всех ГАМК_A-рецепторов. Было показано, что в гиппокампе токи, опосредованные активацией низкоаффинных ГАМК-рецепторов, усиливаются бензодиазепинами в гораздо большей степени, чем опосредованные активацией высокоаффинных рецепторов [26]. Различия ГАМК-рецепторов по их чувствительности к бензодиазепинам могут быть объяснены также неодинаковым составом входящих в данные рецепторы субъединиц. Это подтверждается тем, что диазепам обуславливает усиление ГАМК-эргического тока лишь при наличии γ_2 -субъединицы в составе ГАМК_A-рецепторов [27]. Другим сайтом алlostерической модуляции ГАМК_A-рецепторов является сайт барбитуратов (рис. 1). ГАМК_A-рецепторы, чувствительные к барбитуратам, более широко распространены в мозгу, чем ГАМК_A-рецепторы, чувствительные к бензодиазепинам [25]. В отличие от бензодиазепинов, повышающих аффинность ГАМК-рецептора по отношению к агонисту, барбитураты увеличивают время открытого состояния и проводимость канала такого рецептора [28]. Барбитураты, как и бензодиазепины, широко используются в качестве антиэpileптических и седативных веществ; в частности, барбитураты способны вызывать глубокий сон и обеспечивать анестезию.

Кроме бензодиазепинов и барбитуратов специфичным модулирующим влиянием на ГАМК_A-рецепторы обладают нейростероиды и цинк [13].

ГАМК_B-рецепторы. Метаботропные ГАМК_B-рецепторы представляют собой гетеродимеры [29], которые состоят из двух субъединиц: GBR₁ и GBR₂ [30]. Эти субъединицы возникают благодаря альтернативному сплайсингу [31]. Установлено, что ГАМК_B-рецепторы могут локализоваться как пре-, так и постсинаптически [32, 33]. Тем не менее сведения об их субклеточном распространении весьма ограничены [34]. Другими словами, не



Р и с. 1. Схемы, иллюстрирующие механизмы действия фармакологических агентов на ионотропные ГАМК_А- и ГАМК_С-рецепторы (А и Б соответственно).

На схемах показаны сайты связывания агонистов: ГАМК и изогувазина в случае ГАМК_А-рецептора (А) или ГАМК и САСА (цис-аминокроновой кислоты) в случае ГАМК_С-рецептора (Б). Конкурентные антагонисты ГАМК_А- и ГАМК_С-рецепторов – соответственно бикукуллин (А) и ТРМРА (1,2,5,6-тетрагидропиридин-4-пл)метилфосфиновая кислота) (Б) – также действуют на сайты связывания агонистов. Неконкурентный антагонист ГАМК_А- и ГАМК_С-рецепторов пикротоксин действует на участок внутри канала данных рецепторов, однако в отношении ГАМК_С-рецепторов указанный антагонист менее эффективен. На А показаны также сайты аллостерических модуляторов – бензодиазепинов и барбитуратов; у ГАМК_С-рецепторов такие сайты отсутствуют. На фрагментах А и Б названия фармакологических агентов, не активных в отношении соответственно ГАМК_А-и ГАМК_С-рецепторов, приведены на черном фоне.

Р и с. 1. Схеми, що ілюструють механізми дії фармакологічних агентів на іонотропні ГАМК_А- та ГАМК_С-рецептори (А та Б відповідно).

вполне понятно, группируются ли, например, постсинаптические ГАМК_В-рецепторы в синаптической щели напротив места выброса ГАМК или же они расположены на некотором удалении от синапса. Постсинаптическим эффектом активации данных рецепторов является длительная гиперполяризация, следующая за “быстрым” ионотропным компонентом ГАМК-эргической передачи. В своем недавнем исследовании Сканциани [35] приводит аргументы в пользу того, что ГАМК_В-рецепторы расположены далеко от места выброса медиатора и активируются ГАМК, покидающей синаптическую щель (“перелив” ГАМК, GABA spillover). При этом данный автор считает, что для достижения внеклеточной концентрации ГАМК, достаточной для активации рецепторов указанного типа, необходима одновременная активация нескольких ГАМК-эргических синапсов.

Субклеточное распределение пресинаптических ГАМК_В-рецепторов также не до конца понятно. Не ясно, расположены ли эти рецепторы в перисинаптической области или же они удалены от активной зоны. Пресинаптический эффект активации ГАМК_В-рецепторов заключается в том, что они снижают как высвобождение ГАМК в тормозных синапсах, так и высвобождение глутамата – в возбуждающих [33].

ГАМК_В-рецепторы связаны с тримерным G-белком [36]. Одним из эффектов их активации является ингибирование аденилатциклазы [37]. Кроме того, данные рецепторы прямо связаны через посредство G-белка с потенциалзависимыми кальциевыми каналами N- и P/Q-типов, которые вовлечены в процесс синаптического высвобождения нейротрансмиттеров [38, 39]. Таким образом, пресинаптические ГАМК_В-рецепторы снижают высвобождение нейротрансмиттеров,

уменьшая пресинаптический вход кальция. Наконец, в постсинаптических локусах ГАМК_В-рецепторы запускают каскад реакций, что ведет к открыванию калиевых каналов, связанных с G-белком (GIRK, G protein-gated inward rectifying K⁺ channels) [40, 41]. Благодаря активации указанных каналов и возникают медленные ТПСТ, длящиеся сотни миллисекунд [35]. По этому признаку такие ТПСТ легко отличить от ТПСТ, опосредованных ГАМК_А-рецепторами. Медленный ТПСТ, опосредованный ГАМК_В-рецепторами, характеризуется длительной кинетикой и потенциалом реверсии, отличным от E_{Cl^-} .

ГАМК_С-рецепторы. Соответственно своей композиции ГАМК_С-рецепторы могли бы считаться филогенетически самым старым типом ионотропных ГАМК-рецепторов [42]. Этот тип объединяет гомомерные рецепторы, состоящие только из р-субъединиц, которые в свою очередь делятся на три подкласса: ρ_1 , ρ_2 и ρ_3 [43]. Данные субъединицы в наибольшем количестве сосредоточены в сетчатке позвоночных, хотя обнаружены и в структурах ЦНС (в частности, в гиппокампе) [44–47]. Считается, что р-субъединицы не образуют гетеромерных рецепторов с участием других субъединиц [48, 49]. Тем не менее недавно была продемонстрирована возможность создания в ооцитах *Xenopus* гетеромера из р- и γ_2 -субъединиц [50].

Поскольку композиция субъединиц играет ключевую роль в определении фармакологических свойств ГАМК-рецепторов, ГАМК_С-рецепторы имеют отличный от ГАМК_А-рецепторов фармакологический профиль. Они нечувствительны к бикикуллину, аллостерическим модуляторам и специфическим агонистам ГАМК_А-рецепторов. С другой стороны, существуют специфические агонисты и антагонисты ГАМК_С-рецепторов, неэффективные в отношении типа ГАМК_А (основные фармакологические различия типов рецепторов иллюстрируются рис. 1) [11]. Тем не менее комитет IUPHAR не рекомендовал выделять в классификации ГАМК_С-рецепторы как отдельный тип [1]. Предлагалось считать эти рецепторы особым классом р-содержащих ГАМК_А-рецепторов. В приводимых основных соображениях не учитывался, однако, тот факт, что фармакология, структура, функция и клеточная локализация ГАМК_С-рецепторов достаточно специфичны. Вместо этого акцентировалось внимание на том,

что выделение ГАМК_С-рецепторов как отдельного типа создает опасность неоправданного расширения классификации и разрушения удобной системы “ГАМК_А/ГАМК_В” (ионотропные/метаботропные рецепторы). Однако тенденция к подобному расширению существует. Поступило, например, предложение выделить новый тип рецепторов – ГАМК_Д. В эмбриональной ткани цыплят были обнаружены ГАМК-рецепторы, которые не проявляли чувствительности к антагонистам ни ГАМК_А-, ни ГАМК_В-рецепторов, но активировались агонистами указанных рецепторов [51]. Поступило также предложение выделять ГАМК_Д-рецепторы с ионной селективностью канала, отличной от таковой ГАМК_А-рецептора [52].

Следует отметить, что идея объединения ионотропных ГАМК-рецепторов в один тип нашла как сторонников, так и противников [11, 43]. Таким образом, современная классификация ГАМК-рецепторов еще окончательно не разработана и требует дополнительных экспериментальных исследований, направленных, в частности, на поиск сходных и различных свойств ГАМК_А- и ГАМК_С-рецепторов.

В заключение можно заметить, что даже если принять простое деление ГАМК-рецепторов на ионотропные и метаботропные, т. е. принцип “ГАМК_А/ГАМК_В”, наличие различных комбинаций субъединиц, входящих в состав ионотропных ГАМК-рецепторов, будет вполне достаточным для обеспечения целого ряда фармакологически и функционально различных видов торможения, которые опосредуются активностью таких рецепторов.

РАЗНООБРАЗИЕ ФОРМ ГАМК-ЭРГИЧЕСКОГО ТОРМОЖЕНИЯ

Формы ГАМК-эргического торможения весьма разнообразны; их отличают друг от друга ряд достаточно специфических признаков. Во-первых, принципиальным моментом является то, какая клетка (возбуждающая или тормозная) подвергается торможению [53, 54]. Если тормозятся ГАМК-эргические интернейроны, то конечным результатом будет повышение возбудимости нейронной сети, включающей в себя эти единицы. Если же торможению подвергается возбуждающая пирамидная клетка, то это приведет к снижению возбудимости соответствующей группы нейронов.

Кроме того, согласно данным недавних исследований, от типа постсинаптической клетки в определенной степени зависят и модулирующие воздействия на пресинаптическую терминаль [55].

Во-вторых, важен участок постсинаптической клетки, на котором находятся ГАМК-эргические синапсы. Основываясь на морфологических и функциональных особенностях ГАМК-эргических нейронов, можно выделить два основных класса таких единиц. Первый – это ГАМК-эргические интернейроны, аксоны которых оканчиваются на дендритах клеток-целей; наличие иннервации такого типа позволяет интернейронам контролировать входы “принципиальной” клетки, влияя на распространение кальциевых токов от дендрита к соме. Второй класс представлен ГАМК-эргическими интернейронами, аксоны которых селективно проецируются на сомю постсинаптической клетки. Влияния подобных связей контролируют генерацию потенциалов действия клеткой-целью, воздействуя таким образом на выход “принципиальной” клетки [56].

В-третьих, ГАМК-эргические интернейроны различаются по типу кальциевого тока, который участвует в высвобождении передатчика (ГАМК) в их терминалях. Так, интернейроны в гиппокампе *str. radiatum* обладают кальциевыми каналами N-типа, тогда как интернейроны *str. lucidum* и *str. oriens* – каналами P-типа [57].

Наконец, следует учесть, что помимо “традиционной” квантовой синаптической передачи существует тоническая форма ГАМК-эргического торможения. Небольшой, но статистически значимый тонический ток ГАМК-эргической природы был обнаружен в клетках мозжечка [58, 59], коры [60], таламуса [61] и культуре гиппокампальных нейронов [62, 63].

Вышеописанные типы торможения определенным образом задействованы в процессы эпилептогенеза. При моделировании эпилепсии на животных показано, что в первую очередь развитие данной патологии обуславливает гибель только некоторых классов интернейронов [64]. В ходе этого процесса происходит снижение интенсивности дендритного, но не соматического торможения [65]. Аппликация каината – известного хемоконвульсанта – повышает эффективность ГАМК-эргического торможения в интернейронах [66], но снижает интенсивность такого влияния на пирамидные клетки [67, 68].

Несмотря на успехи в идентификации различных типов ГАМК-эргического торможения в ЦНС, физиологическое и патологическое значение этих феноменов остается предметом интенсивных исследований.

МЕХАНИЗМЫ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ТОНИЧЕСКОГО ГАМК-ЭРГИЧЕСКОГО ТОРМОЖЕНИЯ

Механизмы. Фазное торможение нейронов определяется дискретным выбросом в синаптических соединениях таких количеств ГАМК, что в постсинаптической щели создается весьма высокая концентрация данного передатчика. В этом случае ГАМК эффективно действует на постсинаптические ГАМК-рецепторы (рис. 2). Тоническое торможение связано с постоянной слабой активацией ГАМК-рецепторов. Механизмы тонического ГАМК-эргического торможения изучены еще недостаточно хорошо [63].

Существуют три гипотезы о механизме тонического торможения в гиппокампе. Согласно одной из них, постоянная составляющая ГАМК-эргического тока представляет собой суммацию спонтанных ТПСТ (ТПСТ, возникающих в ответ на спонтанный, не индуцированный пресинаптическим импульсом, выброс ГАМК) [60, 69]. Тем не менее было показано, что фармакологические свойства спонтанных ТПСТ и тонического ГАМК-эргического тока в культуре гиппокампальных нейронов различны [63]. В соответствующих экспериментах бикикуллин и пикротоксин одинаково эффективно блокировали как спонтанные постсинаптические ГАМК-эргические токи, так и тоническое ГАМК-эргическое торможение. Это четко указывает на ГАМК-эргическую природу тонической ионной проводимости. Однако аппликация SR95531, специфического антагониста ГАМК_A-рецепторов, блокировала только спонтанные синаптические токи и не оказывала влияния на тонический ток.

Основываясь на вышеуказанном фармакологическом различии фазных и тонических ГАМК-опосредованных токов, вторая гипотеза предполагает, что тонический ГАМК-эргический ток возникает за счет диффузии ГАМК во внесинаптическое пространство (в результате “перелива”) и последующей активации внесинаптических рецепторов этого транмиссера, свойства которых

отличны от свойств синаптических рецепторов (рис. 2) [58, 70]. Помимо молекул ГАМК, покидающих синаптическую щель, определенную роль в повышении внеклеточной концентрации ГАМК и, следовательно, в тоническом ГАМК-опосредованном торможении могут играть функционирование ГАМК-транспортеров в обратном направлении [71], высвобождение ГАМК астроцитами [72] и (или) снижение активности ГАМК-трансаминазы [73]. Измеренная с помощью микродиализа внеклеточная концентрация ГАМК (0.8–2.9 мкМ) в нормальном мозгу представляется достаточно высокой для того, чтобы обеспечивать заметную активацию внесинаптических ГАМК_A-рецепторов [74].

И, наконец, третья гипотеза о происхождении ГАМК-эргического тонического тока заключается в том, что данный ток возникает при спонтанном (без участия нейротрансмиттера) открывании каналов ГАМК-рецепторов [75–77]. Если открытие канала ГАМК-рецептора действительно может происходить без предварительного высво-

бождения агониста и воздействия последнего на этот рецептор, то конкурентные антагонисты ГАМК (например, SR95531) не должны оказывать влияния на тонический ток, обеспечиваемый такими каналами. При этом важным обстоятельством будет то, что действие указанных антагонистов в подобных условиях должно только предотвращать связывание ГАМК, но не влиять на работу канала. Использование же блокаторов каналов ГАМК-рецепторов (таких, как пикротоксин) будет подавлять тонический ток. Кроме того, в рамках рассматриваемой гипотезы повышение внеклеточной концентрации ГАМК не должно усиливать тонического торможения. Однако было показано, что интенсивность тонического торможения, опосредованного ГАМК_A-рецепторами, с увеличением внеклеточной концентрации ГАМК возрастает [73]. Следует, впрочем, учитывать, что подобные данные не исключают возможности существования двух компонентов тонического тока: зависящего от внеклеточной концентрации ГАМК и не

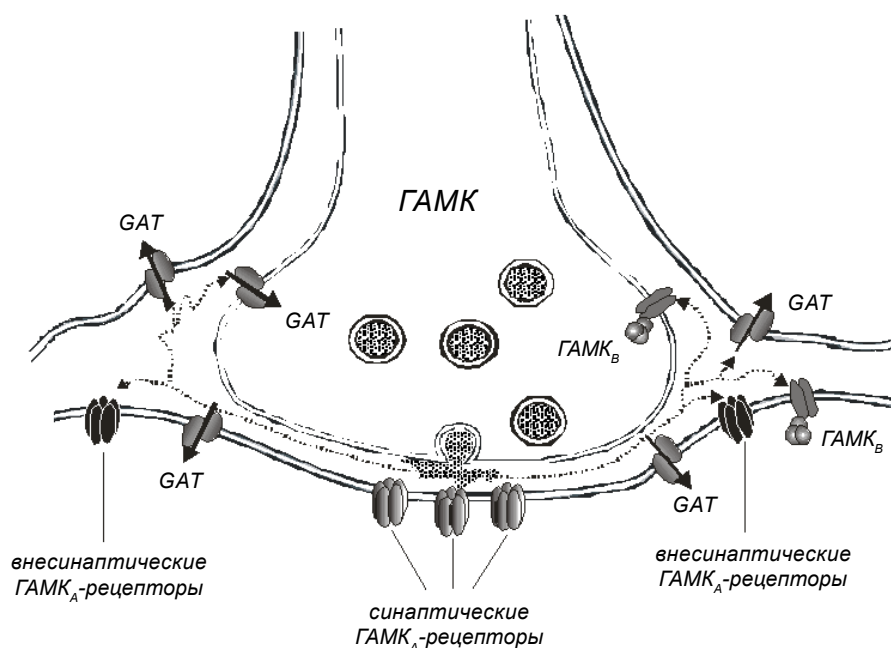


Рис. 2. Участие рецепторов и транспортеров ГАМК в фазном и тоническом ГАМК-опосредованном торможении.

Синаптически высвобождаемая ГАМК активирует ионотропные рецепторы, локализованные на постсинаптической мембране в районе активной зоны. Кроме того, ГАМК может покидать синаптическую щель (“переливаться”) и активировать внесинаптические ионотропные рецепторы, а также пре- и постсинаптические ГАМК_B-рецепторы. Процесс диффузии ГАМК во внесинаптическое пространство ограничен наличием транспортеров ГАМК (GAT1, GAT2 и GAT3) в мембране пре- и постсинаптических нейронов и глиальных клеток. Считается, что быстрые ТПСТ опосредованы ионотропными рецепторами ГАМК, расположенными непосредственно в пределах активной зоны. Согласно одной из гипотез, медленное тоническое ГАМК-опосредованное торможение обеспечивается внесинаптическими ионотропными рецепторами ГАМК.

Рис. 2. Участь рецепторів та транспортерів ГАМК у фазному й тонічному ГАМК-опосередкованому гальмуванні.

зависящего, опосредованного спонтанным открытием ГАМК-эргических каналов.

Функциональное значение. Как указывалось выше, функция внесинаптических ГАМК-рецепторов, по всей видимости, заключается в детектировании внеклеточной концентрации ГАМК и поддержании соответствующего уровня тонического торможения. Роль тонического ГАМК-опосредованного тока состоит в поддержании определенного значения потенциала на мембране и соответствующей модуляции возбудимости клетки. Так, например, в гранулярных клетках мозжечка аппликация бикакуллина – селективного антагониста ГАМК_A-рецепторов – приводит к повышению возбудимости упомянутых клеток [58]. Это выражается в снижении порога генерации потенциалов действия в ответ на деполяризующий сдвиг потенциала в режиме фиксации тока. Было также показано [78], что тоническое торможение модулирует паттерны генерации разрядов и синаптической интеграции в тормозных нейронах мозжечка. В нормальных условиях клетки Пуркинье и интернейроны мозжечка генерируют нерегулярные последовательности потенциалов действия. При блокировании тонического тока антагонистами ГАМК_A-рецепторов разряды приобретают регулярный характер. Таким образом, один из критериев электрофизиологической классификации клеток соответственно регулярности паттерна импульсной активности [79] может быть частично связан с наличием или отсутствием воздействия на них тонического торможения [80].

Другой функцией тонического торможения, вероятно, является шунтирование фазных пре- и постсинаптических трансмембранных токов (ТПСТ, ВПСТ, токов при развитии потенциалов действия) [81, 82]. Шунтирование быстрых токов происходит из-за того, что тоническая проводимость, связанная с наличием открытых каналов ГАМК-рецепторов, снижает сопротивление мембраны. Повышение электрической проводимости (уменьшение сопротивления) мембраны приводит к падению амплитуды потенциала действия, поступающего в пресинаптический участок аксона, уменьшая тем самым вход Ca^{2+} и снижая вероятность выброса медиатора [83, 84].

Тоническое открывание каналов внеклеточных ГАМК-рецепторов не только модулирует электрический потенциал на мембране, но и приводит к возникновению постоянного хлорного тока. В клетках мозга взрослых млекопитающих, как

указывалось выше, хлорный ток входящего направления сбалансирован работой калий/хлорных котранспортеров [21, 85]. Однако изменения (увеличение или уменьшение) тонической проводимости будут менять величину хлорного тока и, как результат, модулировать калиевый ток упомянутых транспортеров. В данной ситуации можно ожидать изменения трансмембранных ионных градиентов как калия, так и хлора и, следовательно, сдвигов потенциалов реверсии для калиевых ВПСТ и хлорных ТПСТ. Доказательством этого может служить тот факт, что при длительной стимуляции ГАМК-эргических терминалей ГАМК-эргические ТПСТ в нейронах взрослого мозга превращаются из гиперполяризующих в деполяризующие [20–22].

Субъединичная композиция ГАМК-рецепторов, опосредующих тоническое торможение. Способность рецептора к активации за счет внесинаптической ГАМК определяется его сравнительно высокой аффинностью к данному агонисту и локализацией вне синапса [70]. Рецепторы, содержащие γ_2 -субъединицу, сконцентрированы внутри синапсов, поскольку такие рецепторы взаимодействуют с гефирином [86]. Эти рецепторы обладают аффинностью, достаточной для участия в генерации ТПСТ, но, возможно, недостаточной для того, чтобы активация происходила при базисной внеклеточной концентрации ГАМК. ГАМК-рецепторы, содержащие δ -субъединицу, не связаны с гефирином и находятся вне синапса. Кроме того, при наличии данной субъединицы рецепторы проявляют высокую аффинность по отношению к ГАМК и не десенситизируются в случае длительного действия агониста. Такие рецепторы представляются идеальными кандидатами на роль рецепторов, опосредующих тоническое торможение.

Было обнаружено, что рецепторы, локализованные в мозжечке и содержащие δ -субъединицу, всегда содержат и α_6 -субъединицу [86]. Чтобы оценить роль тонического торможения в упомянутой структуре, были выведены мыши, у которых в подобных рецепторах α_6 -субъединица отсутствовала [87]. Таким образом, данные животные были лишены внесинаптических рецепторов ГАМК. Тем не менее значительных отклонений в поведении и выживаемости таких мышей замечено не было. Скорее всего потеря α_6 -субъединицы не оказывает влияния на тоническое торможение в других структурах мозга, и общая возбудимость структур

ЦНС меняется незначительно. Кроме того, у мышей-мутантов был обнаружен компенсаторный механизм, проявляющийся в повышенной экспрессии постоянно активных калиевых каналов TASK-1 [88]. Функционирование этих каналов, как и тоническое ГАМК-эргическое торможение, тонически подавляло возбудимость клетки.

По всей видимости, определенный прогресс в исследовании роли тонического торможения в мозгу может быть сделан при изучении генетически модифицированных животных, у которых в ГАМК-рецепторах отсутствует δ -субъединица. Кроме того, важным шагом в этом направлении было бы создание специфических блокаторов ГАМК-эргических рецепторов, содержащих эту субъединицу.

О. В. Сем'янов¹

ГАМК-ЕРГІЧНЕ ГАЛЬМУВАННЯ В ЦНС:
ТИПИ ГАМК-РЕЦЕПТОРІВ ТА МЕХАНІЗМИ ТОНІЧНОЇ
ГАМК-ОПОСЕРЕДКОВАНОЇ ГАЛЬМІВНОЇ ДІЇ

¹ Інститут неврології, Лондон (Велика Британія).

Резюме

В огляді аналізуються такі аспекти проблеми ГАМК-ергічного гальмування в ЦНС, як принципові молекулярні механізми ГАМК-ергічної синаптичної передачі, сучасний стан питання щодо принципів класифікації рецепторів ГАМК, розмаїття форм ГАМК-ергічного гальмування, а також можливі механізми та функціональне значення тонічної ГАМК-опосередкованої гальмівної дії.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. E. A. Barnard, P. Skolnick, R. W. Olsen, et al., "International Union of Pharmacology. XV. Subtypes of gamma-aminobutyric acid A receptors: classification on the basis of subunit structure and receptor function," *Pharmacol. Rev.*, **50**, No. 2, 291-313 (1998).
2. Y. C. Chen, S. S. Kung, B. Y. Chen, et al., "Identifications, classification, and evolution of the vertebrate alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid (AMPA) receptor subunit genes," *J. Mol. Evol.*, **53**, No. 6, 690-702 (2001).
3. J. J. Soghomonian and D. L. Martin, "Two isoforms of glutamate decarboxylase: why?" *Trends Pharmacol. Sci.*, **19**, No. 12, 500-505 (1998).
4. E. M. Fykse and F. Fonnum, "Amino acid neurotransmission: dynamics of vesicular uptake," *Neurochem. Res.*, **21**, No. 9, 1053-1060 (1996).
5. S. Takamori, J. S. Rhee, C. Rosenmund, et al., "Identification of a vesicular glutamate transporter that defines a glutamatergic phenotype in neurons," *Nature*, **407**, No. 6801, 189-194 (2000).
6. E. E. Bellocchio, R. J. Reimer, R. T. Freneau, Jr., et al., "Uptake of glutamate into synaptic vesicles by an inorganic phosphate transporter," *Science*, **289**, No. 5481, 957-960 (2000).
7. F. A. Chaudhry, R. J. Reimer, E. E. Bellocchio, et al., "The vesicular GABA transporter, VGAT, localizes to synaptic vesicles in sets of glycinergic as well as GABA-ergic neurons," *J. Neurosci.*, **18**, No. 23, 9733-9750 (1998).
8. A. Schousboe, "Pharmacological and functional characterization of astrocytic GABA transport: a short review," *Neurochem. Res.*, **25**, Nos. 9/10, 1241-1244 (2000).
9. M. P. Kavanaugh, J. L. Arriza, R. A. North, et al., "Electrogenic uptake of gamma-aminobutyric acid by a cloned transporter expressed in *Xenopus* oocytes," *J. Biol. Chem.*, **267**, No. 31, 22007-22009 (1992).
10. J. N. Cammack, S. V. Rakhilin, and E. A. Schwartz, "A GABA transporter operates asymmetrically and with variable stoichiometry," *Neuron*, **13**, No. 4, 949-960 (1994).
11. J. Bormann, "The 'ABC' of GABA receptors," *Trends Pharmacol. Sci.*, **21**, No. 1, 16-19 (2000).
12. E. Costa, "From GABA_A receptor diversity emerges a unified vision of GABA-ergic inhibition," *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **38**, 321-350 (1998).
13. A. K. Mehta and M. K. Ticku, "An update on GABA_A receptors," *Brain Res.-Brain Res. Rev.*, **29**, Nos. 2/3, 196-217 (1999).
14. M. T. Bianchi, K. F. Haas, and R. L. Macdonald, "Structural determinants of fast desensitization and desensitization-deactivation coupling in GABA_A receptors," *J. Neurosci.*, **21**, No. 4, 1127-1136 (2001).
15. Z. Nusser, W. Sieghart, D. Benke, et al., "Differential synaptic localization of two major gamma-aminobutyric acid type A receptor alpha subunits on hippocampal pyramidal cells," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, No. 21, 11939-11944 (1996).
16. A. R. Brooks-Kayal, M. D. Shumate, H. Jin, et al., "Selective changes in single cell GABA(A) receptor subunit expression and function in temporal lobe epilepsy," *Nat. Med.*, **4**, No. 10, 1166-1172 (1998).
17. G. Sperk, C. Schwarzer, K. Tsunashima, et al., "GABA(A) receptor subunits in the rat hippocampus. I: immunocytochemical distribution of 13 subunits," *Neuroscience*, **80**, No. 4, 987-1000 (1997).
18. C. Essrich, M. Lorez, J. A. Benson, et al., "Postsynaptic clustering of major GABA_A receptor subtypes requires the gamma 2 subunit and gephyrin," *Nat. Neurosci.*, **1**, No. 7, 563-571 (1998).
19. R. L. Macdonald and R. W. Olsen, "GABA_A receptor channels," *Annu. Rev. Neurosci.*, **17**, 569-602 (1994).
20. C. Rivera, J. Voipio, J. A. Payne, et al., "The K⁺/Cl⁻ co-transporter KCC2 renders GABA hyperpolarizing during neuronal maturation," *Nature*, **397**, No. 6716, 251-255 (1999).
21. K. Ganguly, A. F. Schinder, S. T. Wong, et al., "GABA itself promotes the developmental switch of neuronal GABA-ergic responses from excitation to inhibition," *Cell*, **105**, No. 4, 521-532 (2001).
22. Y. Ben-Ari, V. Tseeb, D. Ragozzino, et al., "Gamma-aminobutyric acid (GABA): a fast excitatory transmitter which may regulate the development of hippocampal neurones in early postnatal life," *Prog. Brain Res.*, **102**, 261-273 (1994).
23. M. F. Jackson, B. Esplin, and R. Capek, "Activity-dependent enhancement of hyperpolarizing and depolarizing gamma-aminobutyric acid (GABA) synaptic responses following inhibition of GABA uptake by tiagabine," *Epilepsy Res.*, **37**, No. 1, 25-36 (1999).
24. S. Smirnov, P. Paalasmaa, M. Uusisaari, et al., "Pharmacological isolation of the synaptic and nonsynaptic components of the GABA-mediated biphasic response in rat CA1 hippocampal pyramidal cells," *J. Neurosci.*, **19**, No. 21, 9252-9260 (1999).
25. G. A. Johnston, "GABA_A receptor pharmacology," *Pharmacol. Ther.*, **69**, No. 3, 173-198 (1996).
26. B. Schonrock and J. Bormann, "Functional heterogeneity of hippocampal GABA_A receptors," *Eur. J. Neurosci.*, **5**, No. 8, 1042-1049 (1993).
27. D. B. Pritchett, H. Luddens, and P. H. Seeburg, "Type I and type II GABA_A-benzodiazepine receptors produced in transfected cells," *Science*, **245**, No. 4924, 1389-1392 (1989).

28. M. Eghbali, P. W. Gage, and B. Birnir, "Pentobarbital modulates gamma-aminobutyric acid-activated single-channel conductance in rat cultured hippocampal neurons," *Mol. Pharmacol.*, **58**, No. 3, 463-469 (2000).
29. H. Mohler and J. M. Fritschy, "GABA_B receptors make it to the topas dimers," *Trends Pharmacol. Sci.*, **20**, No. 3, 87-89 (1999).
30. K. A. Jones, B. Borowsky, J. A. Tamm, et al., "GABA(B) receptors function as a heteromeric assembly of the subunits GABA(B)R1 and GABA(B)R2," *Nature*, **396**, No. 6712, 674-679 (1998).
31. R. Kuner, G. Kohr, S. Grunewald, et al., "Role of heteromer formation in GABA_B receptor function," *Science*, **283**, No. 5398, 74-77 (1999).
32. A. Couve, S. J. Moss, and M. N. Pangalos, "GABA_B receptors: a new paradigm in G protein signaling," *Mol. Cell Neurosci.*, **16**, No. 4, 296-312 (2000).
33. D. D. Mott and D. V. Lewis, "The pharmacology and function of central GABA_B receptors," *Int. Rev. Neurobiol.*, **36**, 97-223 (1994).
34. J. M. Fritschy, V. Meskenaite, O. Weinmann, et al., "GABA_B-receptor splice variants GB1a and GB1b in rat brain: developmental regulation, cellular distribution and extrasynaptic localization," *Eur. J. Neurosci.*, **11**, No. 3, 761-768 (1999).
35. M. Scanziani, "GABA spillover activates postsynaptic GABA(B) receptors to control rhythmic hippocampal activity," *Neuron*, **25**, No. 3, 673-681 (2000).
36. D. R. Hill, N. G. Bowery, and A. L. Hudson, "Inhibition of GABA_B receptor binding by guanyl nucleotides," *J. Neurochem.*, **42**, No. 3, 652-657 (1984).
37. M. Nishikawa, M. Hirouchi, and K. Kuriyama, "Functional coupling of G_i subtype with GABA_B receptor/adenylyl cyclase system: analysis using a reconstituted system with purified GTP-binding protein from bovine cerebral cortex," *Neurochem. Int.*, **31**, No. 1, 21-25 (1997).
38. I. M. Mintz and B. P. Bean, "GABA_B receptor inhibition of P-type Ca²⁺ channels in central neurons," *Neuron*, **10**, No. 5, 889-898 (1993).
39. R. Anwyl, "Modulation of vertebrate neuronal calcium channels by transmitters," *Brain Res.-Brain Res. Rev.*, **16**, No. 3, 265-281 (1991).
40. U. Misgeld, M. Bijak, and W. Jarolimek, "A physiological role for GABA_B receptors and the effects of baclofen in the mammalian central nervous system," *Prog. Neurobiol.*, **46**, No. 4, 423-462 (1995).
41. R. Andrade, R. C. Malenka, and R. A. Nicoll, "A G protein couples serotonin and GABA_B receptors to the same channels in hippocampus," *Science*, **234**, No. 4781, 1261-1265 (1986).
42. J. Bormann and A. Feigenspan, "GABA_C receptors," *Trends Neurosci.*, **18**, No. 12, 515-519 (1995).
43. D. Zhang, Z. H. Pan, M. Awobuluyi, et al., "Structure and function of GABA(C) receptors: a comparison of native versus recombinant receptors," *Trends Pharmacol. Sci.*, **22**, No. 3, 121-132 (2001).
44. R. Enz, J. H. Brandstatter, E. Hartveit, et al., "Expression of GABA receptor rho 1 and rho 2 subunits in the retina and brain of the rat," *Eur. J. Neurosci.*, **7**, No. 7, 1495-1501 (1995).
45. K. Wegelius, M. Pasternack, J. O. Hiltunen, et al., "Distribution of GABA receptor rho subunit transcripts in the rat brain," *Eur. J. Neurosci.*, **10**, No. 1, 350-357 (1998).
46. R. Enz and G. R. Cutting, "GABA_C receptor rho subunits are heterogeneously expressed in the human CNS and form homo- and heterooligomers with distinct physical properties," *Eur. J. Neurosci.*, **11**, No. 1, 41-50 (1999).
47. T. Ogurusu, K. Yanagi, M. Watanabe, et al., "Localization of GABA receptor rho 2 and rho 3 subunits in rat brain and functional expression of homooligomeric rho 3 receptors and heterooligomeric rho 2 rho 3 receptors," *Receptors Channels*, **6**, No. 6, 463-475 (1999).
48. A. S. Hackam, T. L. Wang, W. B. Guggino, et al., "Sequences in the amino termini of GABA rho and GABA(A) subunits specify their selective interaction *in vitro*," *J. Neurochem.*, **70**, No. 1, 40-46 (1998).
49. P. Koulen, J. H. Brandstatter, R. Enz, et al., "Synaptic clustering of GABA(C) receptor rho-subunits in the rat retina," *Eur. J. Neurosci.*, **10**, No. 1, 115-127 (1998).
50. H. Qian and H. Ripps, "Response kinetics and pharmacological properties of heteromeric receptors formed by coassembly of GABA rho- and gamma 2-subunits," *Proc. Roy. Soc. Lond., Ser., B, Biol. Sci.*, **266**, No. 1436, 2419-2425 (1999).
51. Y. Momose-Sato, K. Sato, A. Hirota, et al., "Optical characterization of a novel GABA response in early embryonic chick brainstem," *Neuroscience*, **80**, No. 1, 203-219 (1997).
52. K. L. Perkins and R. K. Wong, "Ionic basis of the postsynaptic depolarizing GABA response in hippocampal pyramidal cells," *J. Neurophysiol.*, **76**, No. 6, 3886-3894 (1996).
53. T. F. Freund and A. I. Gulyas, "Inhibitory control of GABA-ergic interneurons in the hippocampus," *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **75**, No. 5, 479-487 (1997).
54. T. F. Freund and G. Buzsaki, "Interneurons of the hippocampus," *Hippocampus*, **6**, No. 4, 347-470 (1996).
55. M. Scanziani, B. H. Gahwiler, and S. Chrapak, "Target cell-specific modulation of transmitter release at terminals from a single axon," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, No. 20, 12004-12009 (1998).
56. R. Miles, K. Toth, A. I. Gulyas, et al., "Differences between somatic and dendritic inhibition in the hippocampus," *Neuron*, **16**, No. 4, 815-823 (1996).
57. J. C. Poncer, R. A. McKinney, B. H. Gahwiler, et al., "Either N- or P-type calcium channels mediate GABA release at distinct hippocampal inhibitory synapses," *Neuron*, **18**, No. 3, 463-472 (1997).
58. S. G. Brickley, S. G. Cull-Candy, and M. Farrant, "Development of a tonic form of synaptic inhibition in rat cerebellar granule cells resulting from persistent activation of GABA_A receptors," *J. Physiol.*, **497**, No. 3, 753-759 (1996).
59. M. J. Wall and M. M. Usowicz, "Development of action potential-dependent and independent spontaneous GABA_A receptor-mediated currents in granule cells of postnatal rat cerebellum," *Eur. J. Neurosci.*, **9**, No. 3, 533-548 (1997).
60. P. A. Salin and D. A. Prince, "Spontaneous GABA_A receptor-mediated inhibitory currents in adult rat somatosensory cortex," *J. Neurophysiol.*, **75**, No. 4, 1573-1588 (1996).
61. Q. Y. Liu, J. Vautrin, K. M. Tang, et al., "Exogenous GABA persistently opens Cl⁻ channels in cultured embryonic rat thalamic neurons," *J. Membrane Biol.*, **145**, No. 3, 279-284 (1995).
62. T. S. Otis, K. J. Staley, and I. Mody, "Perpetual inhibitory activity in mammalian brain slices generated by spontaneous GABA release," *Brain Res.*, **545**, Nos. 1/2, 142-150 (1991).
63. D. Bai, G. Zhu, P. Pennefather, et al., "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**, No. 4, 814-824 (2001).
64. C. Bernard, R. Cossart, J. C. Hirsch, et al., "What is GABA-ergic inhibition? How is it modified in epilepsy?" *Epilepsia*, **41**, No. 6, S90-S95 (2000).
65. R. Cossart, C. Dinocourt, J. C. Hirsch, et al., "Dendritic but not somatic GABA-ergic inhibition is decreased in experimental epilepsy," *Nat. Neurosci.*, **4**, No. 1, 52-62 (2001).
66. R. Cossart, R. Tyzio, C. Dinocourt, et al., "Presynaptic kainate receptors that enhance the release of GABA on CA1 hippocampal interneurons," *Neuron*, **29**, No. 2, 497-508 (2001).
67. R. S. Fisher and B. E. Alger, "Electrophysiological mechanisms of kainic acid-induced epileptiform activity in the rat hippocampal slice," *J. Neurosci.*, **4**, No. 5, 1312-1323 (1984).
68. A. Rodriguez-Moreno, O. Herreras, and J. Lerma, "Kainate receptors presynaptically downregulate GABA-ergic inhibition in the rat hippocampus," *Neuron*, **19**, No. 4, 893-901 (1997).

69. I. Soltesz, D. K. Smetters, and I. Mody, "Tonic inhibition originates from synapses close to the soma," *Neuron*, **14**, No. 6, 1273-1283 (1995).
70. D. J. Rossi and M. Hamann, "Spillover-mediated transmission at inhibitory synapses promoted by high affinity $\alpha 6$ subunit GABA(A) receptors and glomerular geometry," *Neuron*, **20**, No. 4, 783-795 (1998).
71. H. L. Gaspary, W. Wang, and G. B. Richerson, "Carrier-mediated GABA release activates GABA receptors on hippocampal neurons," *J. Neurophysiol.*, **80**, No. 1, 270-281 (1998).
72. Q. Y. Liu, A. E. Schaffner, Y. H. Chang, et al., "Persistent activation of GABA(A) receptor/ Cl^- channels by astrocyte-derived GABA in cultured embryonic rat hippocampal neurons," *J. Neurophysiol.*, **84**, No. 3, 1392-1403 (2000).
73. L. S. Overstreet and G. L. Westbrook, "Paradoxical reduction of synaptic inhibition by vigabatrin," *J. Neurophysiol.*, **86**, No. 2, 596-603 (2001).
74. J. Lerma, A. S. Herranz, O. Herreras, et al., "In vivo determination of extracellular concentration of amino acids in the rat hippocampus. A method based on brain dialysis and computerized analysis," *Brain Res.*, **384**, No. 1, 145-155 (1986).
75. B. Birnir, A. B. Everitt, M. S. Lim, et al., "Spontaneously opening GABA(A) channels in CA1 pyramidal neurones of rat hippocampus," *J. Membrane Biol.*, **174**, No. 1, 21-29 (2000).
76. B. Birnir, M. Eghbali, A. B. Everitt, et al., "Bicuculline, pentobarbital and diazepam modulate spontaneous GABA(A) channels in rat hippocampal neurons," *Br. J. Pharmacol.*, **131**, No. 4, 695-704 (2000).
77. T. R. Neelands, J. L. Fisher, M. Bianchi, et al., "Spontaneous and gamma-aminobutyric acid (GABA)-activated GABA(A) receptor channels formed by epsilon subunit-containing isoforms," *Mol. Pharmacol.*, **55**, No. 1, 168-178 (1999).
78. M. Hausser and B. A. Clark, "Tonic synaptic inhibition modulates neuronal output pattern and spatiotemporal synaptic integration," *Neuron*, **19**, No. 3, 665-678 (1997).
79. B. Cauli, J. T. Porter, K. Tsuzuki, et al., "Classification of fusiform neocortical interneurons based on unsupervised clustering," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, No. 11, 6144-6149 (2000).
80. A. R. Granata, "Effects of gamma-aminobutyric acid on putative sympatho-excitatory neurons in the rat rostral ventrolateral medulla in vitro. Intracellular study," *Neurosci. Lett.*, **300**, No. 1, 49-53 (2001).
81. D. Cattaert and A. El Manira, "Shunting versus inactivation: analysis of presynaptic inhibitory mechanisms in primary afferents of the crayfish," *J. Neurosci.*, **19**, No. 14, 6079-6089 (1999).
82. M. F. Jackson, B. Esplin, and R. Capek, "Inhibitory nature of tiagabine-augmented GABA_A receptor-mediated depolarizing responses in hippocampal pyramidal cells," *J. Neurophysiol.*, **81**, No. 3, 1192-1198 (1999).
83. C. R. Shields, M. N. Tran, R. O. Wong, et al., "Distinct ionotropic GABA receptors mediate presynaptic and postsynaptic inhibition in retinal bipolar cells," *J. Neurosci.*, **20**, No. 7, 2673-2682 (2000).
84. Z. H. Pan, "Voltage-activated Ca^{2+} channels and ionotropic GABA receptors localized at axon terminals of mammalian retinal bipolar cells," *Vis. Neurosci.*, **18**, No. 2, 279-288 (2001).
85. C. A. Hubner, V. Stein, I. Hermans-Borgmeyer, et al., "Disruption of KCC2 reveals an essential role of K-Cl cotransport already in early synaptic inhibition," *Neuron*, **30**, No. 2, 515-524 (2001).
86. Z. Nusser, W. Sieghart, and P. Somogyi, "Segregation of different GABA_A receptors to synaptic and extrasynaptic membranes of cerebellar granule cells," *J. Neurosci.*, **18**, No. 5, 1693-1703 (1998).
87. S. G. Brickley, V. Revilla, S. G. Cull-Candy, et al., "Adaptive regulation of neuronal excitability by a voltage-independent potassium conductance," *Nature*, **409**, No. 6816, 88-92 (2001).
88. F. Duprat, F. Lesage, M. Fink, et al., "TASK, a human background K^+ channel to sense external pH variations near physiological pH," *EMBO J.*, **16**, No. 17, 5464-5471 (1997).