

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ РЕЦЕПТОРОВ ГЛИЦИНА В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ ПОЗВОНОЧНЫХ

© Г. В. Малеева,<sup>1,2</sup> П. Д. Брежестовский<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт динамики мозга, Университет Экс-Марсель, Марсель, Франция,  
e-mail: piotr.bregestovski@univ-amu.fr

<sup>2</sup> Ключевая лаборатория, Институт физиологии им. А. А. Богомольца, Киев, Украина

Рецептор глицина является анион-избирательным каналом, обеспечивающим быструю синаптическую передачу в центральной нервной системе позвоночных. Вместе с ацетилхолиновым, никотиновым, ГАМК<sub>A</sub> и серотониновым (5-HT<sub>3</sub>R) он принадлежит к семейству цис-петельных пентамерных лиганд-чувствительных рецепторов. Из разных видов позвоночных клонировано одна бета- и четыре альфа-субъединицы. Благодаря их специфическому распределению и молекулярно-функциональным особенностям обеспечивается выполнение разнообразных физиологических функций: от контроля моторной деятельности, регуляции дифференцировки нейронов до обработки сенсорной информации и модуляции болевой чувствительности. Задача данного обзора — отобразить общую картину, сформированную многолетними исследованиями, посвященными глициновому рецептору, кратко представить основные функции этих трансмембранных белков, их распространение, а также молекулярную организацию. Особенное внимание сконцентрировано на результатах последних исследований по молекулярной физиологии рецепторов, позволивших выяснить, какие аминокислоты и молекулярные домены ответственны за модуляцию рецепторов, а также нарушение их функций, приводящих к патологическим последствиям.

Ключевые слова: глицин, синаптическая передача, цис-петельные рецепторы, анион-избирательные каналы, нейропатологии.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 100. № 3. С. 00—00. 2014

*G. Maleeva,<sup>1,2</sup> P. Bregestovski.* <sup>1</sup> MOLECULAR PHYSIOLOGY OF GLYCINE RECEPTORS IN NERVOUS SYSTEM OF VERTEBRATES. <sup>1</sup> Brain Dynamics Institute, Aix-Marseille University, Marseille, France, e-mail: piotr.bregestovski@univ-amu.fr; <sup>2</sup> Key State Laboratory, Bogomoletz Institute of Physiology, Kyiv, Ukraine.

Glycine receptor is the anion-selective channel, providing fast synaptic transmission in the central nervous system of vertebrates. Together with the nicotinic acetylcholine, GABA and serotonin (5-HT<sub>3</sub>R) receptors, it belongs to the superfamily of pentameric cys-loop receptors. It has been cloned one beta and four alpha subunits of glycine receptor, which are specifically distributed in different areas of the nervous system. Due to their specific molecular properties and distribution, different subunits ensure important physiological functions: from control of motor activity and regulation of neuronal differentiation to sensory information processing and modulation of pain sensitivity. In this review we briefly describe main functions of these transmembrane proteins, their distribution and molecular architecture. Special attention is paid to recent studies on the

molecular physiology of these receptors, as well as on presenting of molecular domains responsible for their modulation and dysfunction.

*Key words:* cys-loop receptors; anion-selective channels; hyperekplexia; inhibitory synaptic transmission.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 100. N 3. P. 00—00. 2014

Глицин — самая простая аминокислота биологических организмов. Кроме своей основной роли — строительного «кирпичика» белковых макромолекул, глицин выполняет еще одну чрезвычайно важную функцию, являясь нейротрансмиттером в синапсах нервной системы. Благодаря исследованиям, выполненным в 60—70-х годах прошлого столетия, было доказано, что в нервной системе позвоночных быстрая тормозящая синаптическая передача обеспечивается двумя основными системами: ГАМК-ергической и глицинергической. В первой — нейротрансмиттером выступает гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), во второй — глицин. Ионотропные ГАМК-рецепторы находятся преимущественно в синапсах головного мозга, в то время как, глициновые преобладают в спинном мозге и стволе мозга. В некоторых участках нервной системы эти рецепторы колокализированы [14, 155, 162]. Более того, ГАМК и глицин могут входить в состав одной синаптической везикулы [162] и одновременно выделяться из пресинаптического окончания [79].

Физиологические функции глицинергической системы очень разнообразны: от контроля моторной деятельности и генерации ритма до обработки сенсорной информации. Основной функцией является передача тормозящих импульсов в спинном мозге, обеспечивающая быструю регуляцию моторной деятельности [45]. Функционирование глициновых рецепторов зависит от места их локализации в нервной системе, субъединичного состава, регуляции вторичными посредниками (протеинкиназы, фосфатазы, ионы кальция), а также от концентраций ионов во внутриклеточном и внеклеточном пространствах [100, 106].

В данном обзоре будут рассмотрены физиологические функции семейства глициновых рецепторов, их молекулярная организация и нарушения в структуре этих макромолекулярных комплексов, приводящие к патологическим последствиям.

Первые свидетельства, указывающие на то, что глицин может играть роль тормозного нейротрансмиттера, были получены в 60 гг. прошлого столетия. В электрофизиологических опытах с ионофоретической аппликацией различных соединений к нейронам спинного мозга было обнаружено, что глицин вызывает снижение их активности [34]. Биохимические исследования показали, что концентрация глицина в ткани спинного мозга намного выше, чем в других частях нервной системы [4, 5]. Это дало возможность предположить, что глицин выполняет роль основного тормозного нейромедиатора в спинном мозге. Кроме того, был обнаружен антагонист, стрихнин, который высокоэффективно и избирательно ингибировал действие глицина в спинальных нейронах анестезированных котов [33]. На следующем этапе изучения глицина как нейромедиатора было показано, что глицин может синтезироваться нейронами [145]. Заключительное доказательство было получено в экспериментах на срезах спинного мозга крыс, инкубируемых с глицином меченным радиоактивным углеродом ([<sup>14</sup>C]глицин). Было показано, что стимуляция пресинаптических окончаний приводит к выделению глицина, и эффект значительно уменьшается в бескальциевой наружной среде [69, 70].

Полученные результаты позволили убедительно доказать, что глицин является медиатором нервной системы с преимущественной локализацией в

спинном мозге и гиперполяризирующим действием на постсинаптическую клетку. Открытие специфического антагониста глицинового рецептора, стрихнина [33, 176], создало основу для биохимической изоляции рецептора и стало отправным пунктом активного исследования его молекулярных особенностей, а также физиологической роли глицинергической передачи. Более подробно история развития представлений о роли глицина как нейромедиатора изложена в обзоре [16].

### **Распределение и некоторые функции глициновых рецепторов в нервной системе млекопитающих**

Длительное время считалось, что глициновые рецепторы локализованы преимущественно в спинном мозге и стволе мозга (*brain stem*), однако в течение последних десятилетий они были обнаружены во многих других областях нервной системы: в слуховом и вестибулярном ядрах [46, 92], в сетчатке [163, 180], гиппокампе [17, 35, 170], переднем мозге [101], зубчатой фасции [26], миндалевидном теле [114, 115], гипоталамусе, прилежащем ядре, черной субстанции [111], коре мозжечка и в других частях головного мозга [7, 35, 109] (рис. 1).

В сетчатке разные подтипы глицинового рецептора размещены в биполярных, амакриновых и ганглионарных клетках, формируя довольно сложную и высокоэффективную функциональную систему [61, 64, 163, 165, 166]. О сложности каскада активации соответствующих ганглионарных клеток можно судить по представленной на рис. 2, А упрощенной схеме сигнальных путей сетчатки, которые отвечают за восприятие света и темноты. Дендриты глицин-ергических клеток охватывают незначительную территорию и обеспечивают локальное взаимодействие между разными субслоями внутреннего сетчатого (плексиформного) слоя (между ON- и OFF-субслоями) [72]. Наибольшая концентрация кластеров  $\alpha 1$ -субъединицы характерна для OFF-субслоя внутреннего плексиформного слоя, что соответствует синапсам между АП амакриновыми клетками и окончаниями аксонов OFF-биполярных клеток [141]. Для сетчатки характерна высокая концентрация и равномерное распределение  $\alpha 2$ -субъединицы, которая экспрессируется в основном амакриновыми и ганглионарными клетками [62]. Синапсы, в мембраны которых встроена  $\alpha 3$ -субъединица глицинового рецептора, формируют четыре подслоя во внутреннем плексиформном слое.  $\alpha 3$ -глициновые рецепторы входят в состав мембран дендритов АП амакриновых клеток [61] и А типа ганглионарных клеток [108]. Синапсы, в состав которых входит  $\alpha 4$ -субъединица формируют узкую иммунореактивную полосу во внутреннем плексиформном слое [64] (рис. 2, В).

Таким образом, характерной чертой распределения субъединиц глицинового рецептора в сетчатке является их высокая специфичность по отношению к типам клеток и слоям сетчатки, что необходимо для обеспечения четкого функционирования сложноорганизованной нейрональной системы этого сенсорного органа.

### **Глициновые рецепторы в развитии нервной системы**

В период эмбрионального развития преобладающими в нервной системе позвоночных являются внесинаптические глициновые  $\alpha 2$ -рецепторы [9, 109, 167]. Особенности глицинергической передачи в развивающемся мозге определяются характерной для него высокой внутриклеточной концентрацией

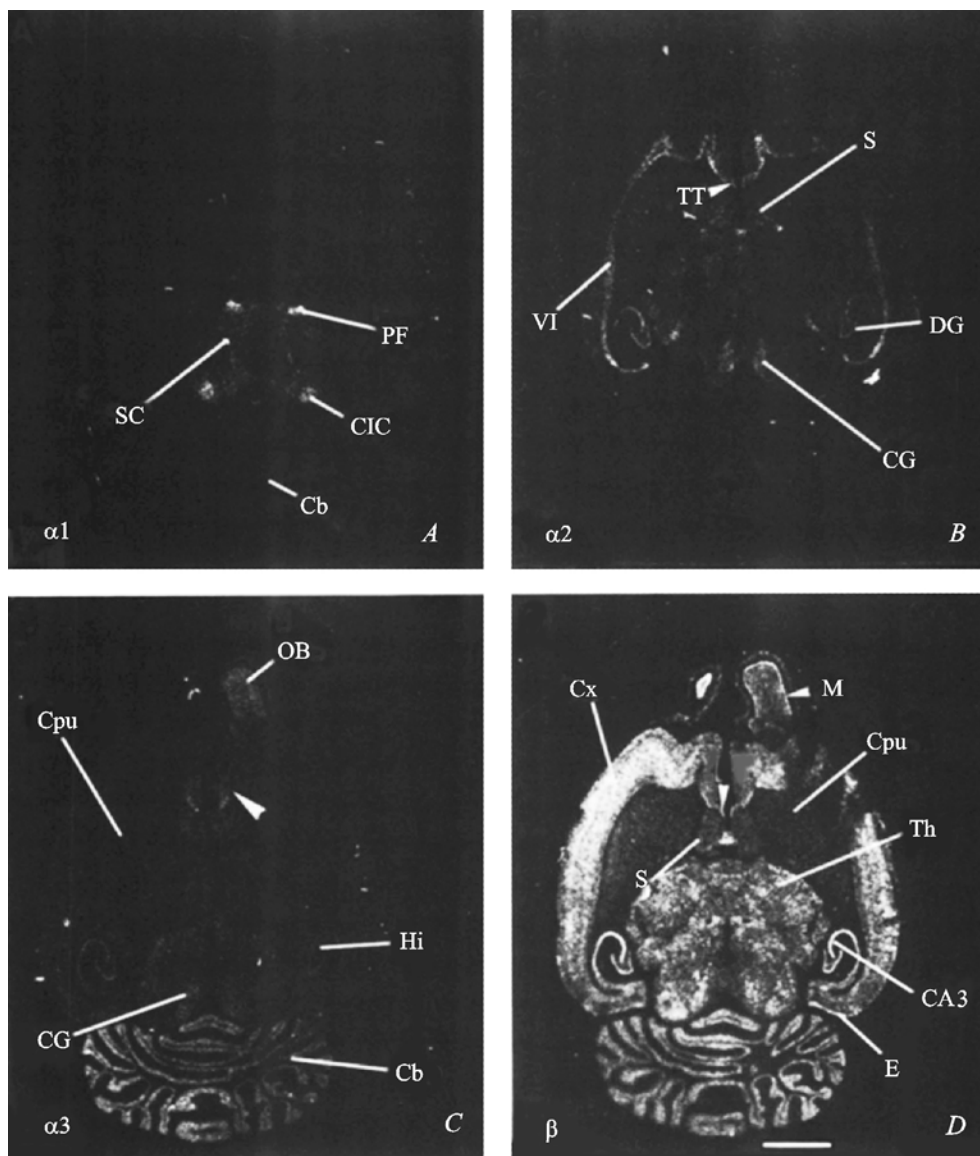


Рис. 1. Распространение глициновых рецепторов в мозге взрослой крысы.

*In situ* гибридизация мРНК-глицинового рецептора в горизонтальных срезах мозга CA3 — зона гиппокампа; Cb — мозжечок; CG — центральное серое вещество; CIC — центральное ядро нижнего двухолмия, Cpu — скорлупа Cx — кора; DG — зубчатая фасция; E — энторинальная кора; Hi — гиппокампа; OB — обонятельная луковица; PF — парафасцикулярное ядро; S — носовая перегородка; Th — таламус; TT — полоска ТЕСТА (спинной рудимент гиппокампа), VI — шестой слой коры больших полушарий.

хлора, в результате которой ГАМК и глицин оказывают деполаризирующее действие на мембраны нейронов [169]. Глицин-индуцированная деполаризация эмбриональных нейронов может приводить к открытию потенциал-зависимых кальциевых каналов и повышению внутриклеточной концентрации кальция [137], запускающего различные каскады внутриклеточных реакций, в

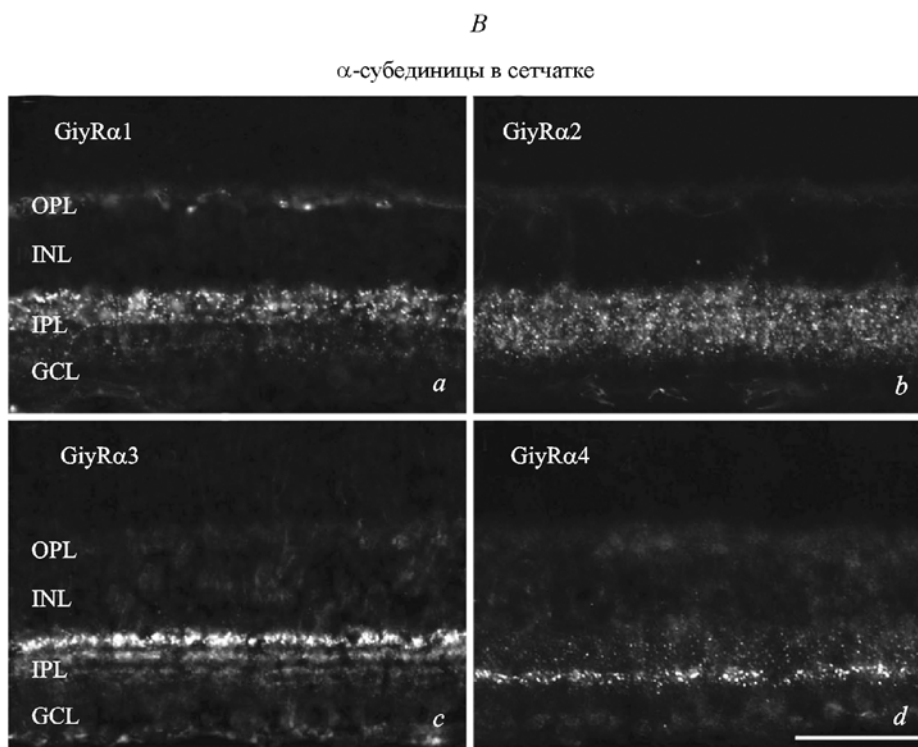
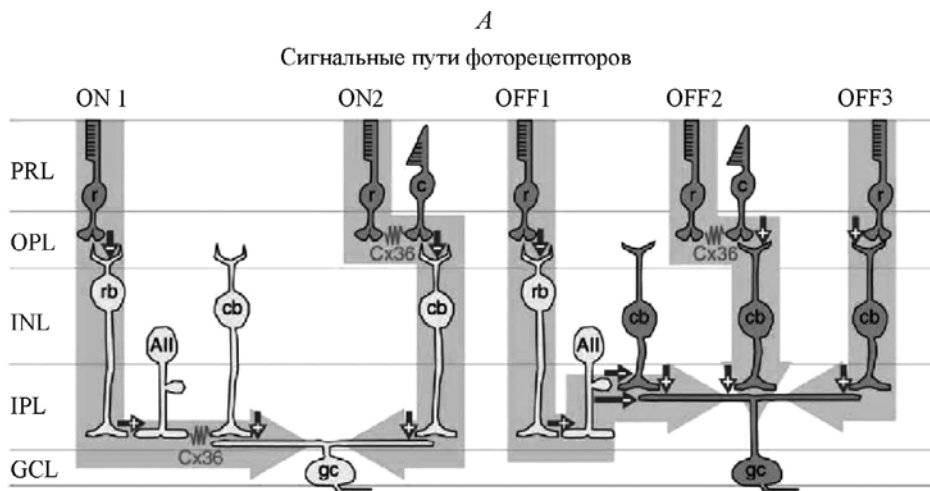


Рис. 2. Распространение субъединиц глицинового рецептора в сетчатке млекопитающих. A — сигнальные пути сетчатки. Палочки соединяются с ON-ганглионарными клетками двумя путями (ON 1, 2), а с OFF-ганглионарными клетками — тремя (OFF1—OFF3). ON-клетки деполяризуются в ответ на свет, а OFF-клетки — в ответ на темноту. Во всех синапсах данных путей основным нейромедиатором является глутамат, кроме синапсов между АП-амакриновыми клетками, которые выделяют глицин и вызывают гиперполяризацию OFF-колбочковых биполярных клеток и OFF-ганглионарных клеток. r — палочки; c — колбочки; rb — палочковые биполярные клетки; cb — колбочковые биполярные клетки; АП — амакриновые клетки; gc — ганглионарные клетки; PRL — фоторецепторный слой; OPL — внешний плексиформный слой; INL — внутренний ядерный слой; IPL — внутренний плексиформный слой; GCL — слой ганглионарных клеток (из [39]). B — распространение подтипов глицинового рецептора в сетчатке мышей: a — высокая иммунореактивность  $\alpha 1$ -субъединицы в поверхностном внутреннем плексиформном слое; b — иммунофлуоресценция  $\alpha 2$ -субъединицы во внутреннем плексиформном слое; c — экспрессия  $\alpha 3$ -субъединицы во внутреннем плексиформном слое; d — иммунореактивность  $\alpha 4$ -субъединицы в сетчатке (из [165]).



частности стимуляции синаптогенеза [86]. Работы по исследованию роли глицинового рецептора в формировании нервной системы показали, что локальное повышение концентрации кальция в постсинаптическом окончании приводит к аккумуляции арматурного белка джеферина с цитоплазматической стороны плазматической мембраны. Джеферин, обладающий сайтом связывания с бета-субъединицей глицинового рецептора, захватывает латерально диффундирующие гетеромерные рецепторы, содержащие бета-субъединицы, способствуя, таким образом, их кластеризации и образованию функциональных глицинергических синапсов [86].

Многие нейромедиаторы играют роль сигнальных молекул, регулирующих процессы миграции нейронов в эмбриогенезе [66]. Глицин не является исключением. В эмбриональных кортикальных нейронах активация  $\alpha 2$ -глициновых рецепторов вызывает повышение внутриклеточной концентрации кальция. В результате происходит модуляция сократимости акто-миозиновых комплексов, обеспечивая таким образом миграцию кортикальных интернейронов в процессе эмбриогенеза [6].

Рецептор-активируемые ионные каналы также принимают участие в развитии других зон нервной системы. Таурин, концентрация которого в мозге во время эмбриогенеза довольно высока, активирует продукцию палочковых фоторецепторов. Активация может быть заблокирована стрихнином и бикукулином, антагонистами глициновых и ГАМК рецепторов. Более того, при нокауте  $\alpha 2$ -глицинового рецептора количество фоторецепторов резко снижается и увеличивается количество других типов клеток сетчатки [177]. Эти данные указывают на важную роль  $\alpha 2$ -глициновых рецепторов в процессе формирования сетчатки позвоночных.

Глициновые рецепторы могут также располагаться пресинаптически, обеспечивая регуляцию глутаматергической передачи. При активации пресинаптических глициновых рецепторов ствола мозга и последующей деполяризации мембраны наблюдается повышение частоты выделения глутамата из пресинаптического окончания [156]. Также глициновые рецепторы локализируются в пресинаптических терминалах мшистых волокон гиппокампа, где, предположительно, отвечают за регуляцию выделения глутамата в процессе эмбрионального развития данного типа волокон [91].

### Глициновые рецепторы в регуляции боли

Интенсивность сигналов, которые передаются спинным мозгом в центр болевой чувствительности головного мозга, зависит не только от интенсивности периферического сигнала, значительное влияние на них имеет локальная нейрональная сеть возбуждающих и тормозящих интернейронов. Глициновые  $\alpha 3$ -рецепторы играют важную роль в контроле болевой чувствительности, центр формирования которой находится в дорсальных рогах спинного мозга.

Простагландин  $E_2$  ( $PGE_2$ ), является одним из медиаторов воспаления. Он выделяется при повреждении тканей и последующем воспалительном процессе, приводит к фосфорилированию глициновых  $\alpha 3$ -рецепторов и их деактивации [178]. В результате происходит освобождение нейронов дорсальных рогов от ингибирующего действия глицина и возрастание болевой чувствительности. При инактивации гена, кодирующего  $\alpha 3$ -рецептор (*Gtra3*), не наблюдается ни ингибирования глициновых токов в дорсальных рогах спинного мозга, ни усиления болевой чувствительности под действием  $PGE_2$  [57].

Таким образом, роль глицинового рецептора в нервной системе далеко не ограничивается контролем моторной деятельности. Благодаря специфическому распределению разных субъединиц глициновые рецепторы принимают участие в зрительном восприятии, модуляции болевой чувствительности, миграции кортикальных нейронов и регуляции возбудимости нейрональных сетей различных отделов центральной нервной системы.

### Субъединицы

Впервые глициновый рецептор был выделен из спинного мозга крысы с использованием аффинной хроматографии и высокоизбирательного антагониста глицинового рецептора — стрихнина [130]. Было обнаружено три белка с молекулярной массой 49, 58 и 93 кД. Первые два были идентифицированы как  $\alpha 1$  и  $\beta$ -субъединицы глицинового рецептора. В последующих экспериментах было показано, что белок весом 93 кД специфически связывается с  $\beta$ -субъединицей и тубулином, играя таким образом главную роль в кластеризации глициновых рецепторов [87]. Его назвали джеферин.

Из мозга млекопитающих выделено и клонировано четыре подтипа  $\alpha$ -субъединицы глицинового рецептора ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$ ), которые на 90 % гомологичны между собой [9, 54], и  $\beta$ -субъединицу, которая имеет 47 % гомологии с  $\alpha 1$  [53]. Аналогичный набор субъединиц характерен для нервной системы рыбки-зебры *Danio rerio* [37, 41, 75, 76]. Субъединицы глицинового рецептора были обнаружены во всех областях центральной нервной системы рыбки-зебры, и их распределение в общем сходно с полученным на млекопитающих [74].

$\alpha 1$ -,  $\alpha 2$ - и  $\alpha 3$ -субъединицы могут формировать функциональные гомомерные и гетеромерные (в комбинации с  $\beta$ -субъединицей) рецепторы, в то время как  $\beta$ -субъединица не обладает способностью формировать функциональные гомомерные рецепторы [15, 52]. Важным свойством  $\beta$ -субъединицы является наличие в цитоплазматическом домене участка связывания с джеферинем — арматурным белком, участвующим в формировании синаптических кластеров [85, 88, 89, 116].

Свойства гомомерных и гетеромерных рецепторов несколько отличаются между собой. Было установлено, что проводимость гомомерных рецепторов приблизительно в 2 раза больше (80—100 пС), чем гетеромерных (40—50 пС) [15]. Более того, гомомерные рецепторы высокочувствительны к блокирующему действию пикротоксина (эффективная доза 10 мкМ), в то время как чувствительность гетеромерных  $\alpha$ -,  $\beta$ -рецепторов к данному блокатору в 100—500 раз меньше [105, 133]. Это обусловлено отличиями аминокислотного состава доменов, формирующих ионопроводящий канал [172, 179].

Необходимо отметить, что гомомерные глициновые рецепторы, образованные разными субъединицами, имеют отличия в кинетике: время открытого состояния ионных каналов, сформированных  $\alpha 1$ -субъединицей значительно меньше, чем каналов, сформированных  $\alpha 2$ -субъединицей (рис. 2, A) [152]. Это свойство имеет важное физиологическое значение, поскольку изменение уровней экспрессии этих субъединиц в процессе постнатального развития (снижение для  $\alpha 2$  и повышение для  $\alpha 1$ ) (рис. 3, D) влияет на кинетику глицинергических синаптических токов (рис. 3, B, C).

С помощью метода *in situ* гибридизации было показано, что для каждой из субъединиц характерно специфическое место локализации в спинном мозге, стволе мозга и определенных зонах головного мозга [109]. В центральной нер-

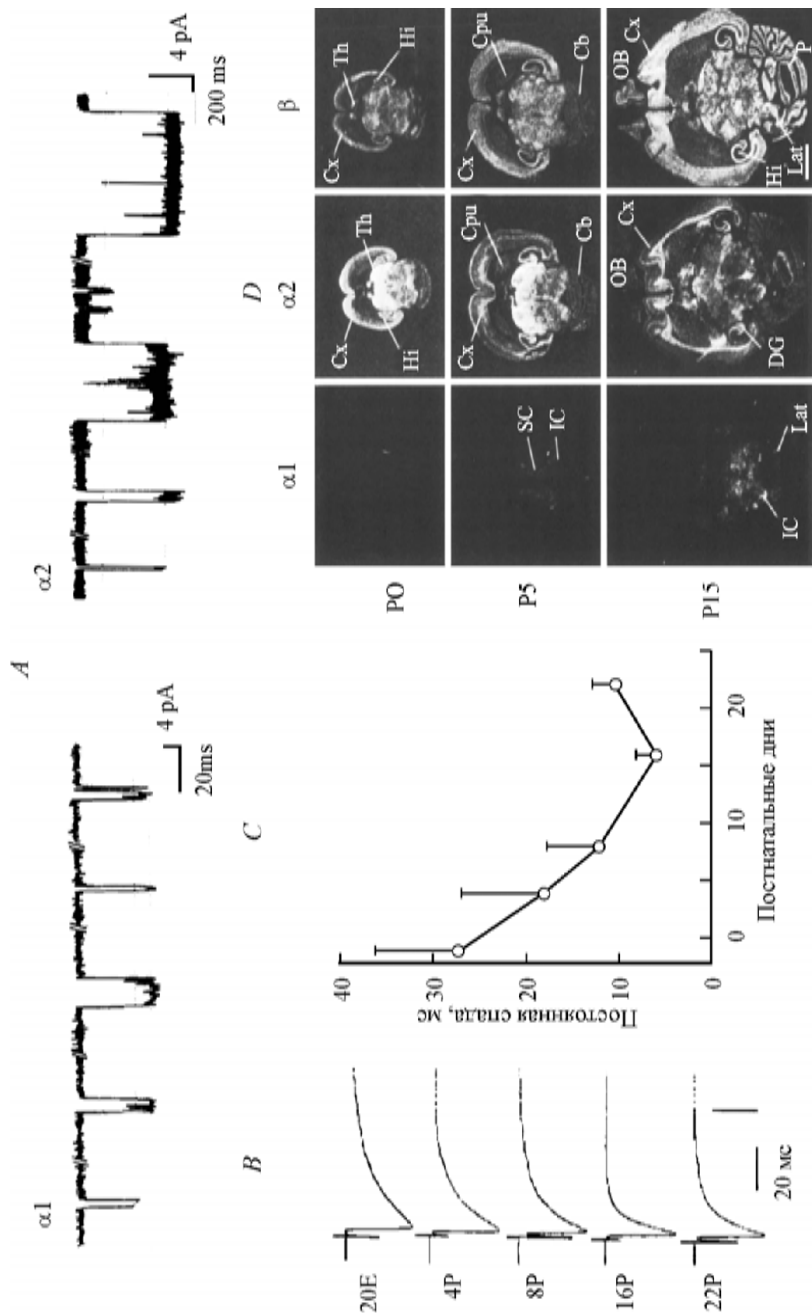


Рис. 3. Кинетика  $\alpha$ 1- и  $\alpha$ 2-субъединиц глицинового рецептора и глицинергические токи в процессе постнатального развития. *A* — токи одиночных глициновых каналов, регистрируемых в outside-out-конфигурации. Экспрессия в ооцитах *Xenopus* [152]; *B* и *C* — глицинергические гормозные постсинаптические токи (ТПСТ) нейронов заднего рога; *B* — усредненные ТПСТ, регистрируемые в разные периоды эмбрионального (Е) или постнатального (Р) развития. Калибровка 100 пикоампер (пА) для Е20 и Р4; 140 пА для Р16 и Р22 и 200 пА для Р8. Поддерживающий потенциал: -83 мВ; *C* — Изменение кинетики спада ТПСТ в процессе развития. Усредненные данные из 11—13 нейронов (из [152] с изменениями); *D* — уровень экспрессии и распределение глициновых рецепторов в мозге крысы в процессе развития. Показаны срезы на стадиях постнатального развития Р0, Р5 и Р15. Сх — cerebellum; СРи — caudate putamen; Сх — cortex; D — diencephalon; DG — dentate gyrus; Hi — hippocampus; IC — inferior colliculus; La — lateral amygdaloid nucleus; Lat — lateral cerebellar nucleus; M — midbrain; OB — olfactory bulb; P — purkinje cell layer; S — septum; SC — superior colliculus; T — telencephalon; Th — thalamus; стрелками указаны внутренние слои infralimbic cortex. Шкала 3,4 мм (из [109]).



воной системе взрослых млекопитающих преобладает  $\alpha 1$ -субъединица. Уровень ее экспрессии высок в ядрах ствола мозга, спинном мозге, таламусе и гипоталамусе. Преимущественная синаптическая локализация  $\alpha 1$  свидетельствует о формировании гетеромерного  $\alpha$ -,  $\beta$ -рецептора, поскольку именно  $\beta$ -субъединица отвечает за синаптическое закоривание глицинового рецептора [10, 83, 116].

В период эмбрионального развития  $\alpha 2$ -субъединица является наиболее распространенной субъединицей глицинового рецептора в центральной нервной системе [9, 109, 167] (рис. 3, D). Высокая чувствительность большинства эмбриональных  $\alpha 2$ -глициновых рецепторов к пикротоксину [92, 110, 164] и их высокая проводимость [110, 152] свидетельствуют об их преимущественной гомомерности. Размещаясь вне синапсов, они, вероятно, обеспечивают тоническую передачу, провоцируемую невезикулярным выделением глицина [45]. Однако через три недели после рождения уровень экспрессии  $\alpha 2$ -субъединицы резко снижается, а ее распределение приобретает синаптический характер (рис. 3, D). Во взрослом организме большинство глицинергических рецепторов сформированы  $\alpha 1$ -субъединицами,  $\alpha 2$ - была обнаружена только в сетчатке [161], ядре обонятельного анализатора и некоторых зонах головного мозга [109]. Следует отметить, что данный рецептор не является критично необходимым для нормального функционирования центральной нервной системы, поскольку нокаут гена  $\alpha 2$ -субъединицы глицинового рецептора не приводит к изменениям поведенческих реакций фенотипа [107].

Для  $\alpha 3$ - и  $\alpha 1$ -субъединиц характерна подобная динамика уровней экспрессии, однако концентрация  $\alpha 3$ -субъединицы намного ниже по сравнению с  $\alpha 1$ - [109]. Локализация  $\alpha 3$ -субъединицы была подтверждена в нескольких регионах центральной нервной системы, однако наиболее детально ее распространение было изучено в сетчатке [61] и ноцептивных нейронах I и II слоев задних рогов спинного мозга (колокализация с джеферином говорит о синаптическом размещении) [57].

Субъединица  $\alpha 4$ -глицинового рецептора пока мало изучена. Была показана ее локализация в спинном мозге, дорсальных ганглиях, симпатических ганглиях цыплят [58] и сетчатке мышей [64].

При условии коэкспрессии  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц происходит формирование гетеромерных глицин-активируемых рецепторов. Стехиометрия данного рецептора долго оставалась спорной и до сих пор убедительно не определена. Некоторое время общепринятой для гетеромерного глицинового рецептора была комбинация  $3\alpha : 2\beta$  [24, 94, 95]. Более поздними исследованиями с использованием мутантных и радиоактивно меченных  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц было показано, что сочетание  $2\alpha : 3\beta$  является более вероятным [55]. В пользу сочетания  $2\alpha : 3\beta$  также указывают опыты с использованием сканирующей атомно-силовой микроскопии, дающие возможность проанализировать число специфических антител, связавшихся с глициновыми рецепторами [173]. Однако в другой недавно опубликованной работе с использованием методов томографии одиночных молекул и ступенчатого фотообесцвечивания предполагается сочетание  $3\alpha : 2\beta$  [44]. Несмотря на то, что эта работа представляется наиболее убедительной, для строгого доказательства стехиометрии гетеромерных рецепторов глицина необходимы дополнительные исследования.

Как отмечалось ранее, одним из ключевых свойств  $\beta$ -субъединицы является ее способность связываться с белком джеферином, который отвечает за формирование кластеров глициновых и некоторых ГАМК-рецепторов в синаптических мембранах [90]. Это служит еще одним подтверждением того, что синаптические глициновые рецепторы гетеромерны. Кроме того,  $\beta$ -субъе-

диница, а точнее ее M2-сегмент, является детерминантом стойкости к пикротоксину [133, 179].

Таким образом, к настоящему времени установлено существование 5 субъединиц глицинового рецептора: 4 $\alpha$  и 1 $\beta$ , формирующих как гомомерные, так и гетеромерные рецепторы. Такое разнообразие субъединичного состава позволяет глициновым рецепторам принимать участие в широком спектре процессов, происходящих в нервной системе позвоночных. Поскольку разные подтипы рецепторов отличаются физиологическими характеристиками, различиями в местах локализации, а также отличиями в уровне экспрессии в процессе развития, они могут обеспечивать высокоэффективное функционирование этой специфической системы контроля нейрональных сетей организмов.

### Структура

Глициновый рецептор входит в суперсемейство цис-петельных ионотропных рецепторов [119]. Результаты исследований последних лет свидетельствуют о том, что цис-петельные рецепторы широко распространены среди биологических организмов — от одноклеточных, моллюсков, насекомых и до млекопитающих [82, 154]. В нервной системе позвоночных к супер-семейству цис-петельных рецепторов относятся никотиновый, ацетилхолиновый, серотониновый (5-НТ<sub>3</sub>), глициновый и ГАМК<sub>A</sub>-рецепторы. Ионотропные каналы этих рецепторов представляют собой гомо- и гетеромерные ансамбли из 5 белковых субъединиц, формирующих центральную пору канала [80, 157, 158]. Все они имеют общие черты строения: большой внеклеточный N-терминальный домен, состоящий более чем из 200 аминокислот, четыре трансмембранных домена (TM1-TM4), соединенные петлями разной длины (цитоплазматическая петля, соединяющая TM3 и TM4 домены состоит почти из ста аминокислотных остатков), и короткий внеклеточный C-конец (рис. 4, А). N-терминальный домен каждой субъединицы имеет консервативный участок из 13 аминокислот, ограниченный цистеинами. Соединяясь ковалентно, цистеины формируют цис-петлю (cys-loop), находящуюся между лиганд-связывающим и трансмембранным доменами белковой субъединицы.

Понимание молекулярной структуры цис-петельных каналов значительно расширилось, благодаря нескольким важным результатам, полученным в последние годы. Во-первых, открытие ацетилхолин-связывающего белка (АХСБ) из пресноводного моллюска *Lymnaea stagnalis* и определение его кристаллической структуры с разрешением 2.7 ангстрем (Å) [21]. Хотя данный белок не ассоциирован с ионным каналом, он представляет собой пентамер, сходный по своему строению с внеклеточным макромолекулярным кластером, образуемым N-концами nAХР и глицинового рецепторов. Это позволило использовать структуру АХСБ для гомологического моделирования рецепторных центров всего семейства цис-петельных каналов. Во-вторых, определение структуры полного ацетилхолинового канала из *Torpedo* с разрешением 4 Å [158]. Это позволило уточнить топологию цис-петельных каналов и локализовать положение многих атомов и боковых цепей. В-третьих, определение с высоким разрешением (1.94 Å) кристаллической структуры экстраклеточного домена  $\alpha$ 1-субъединицы nAХР мыши, связанного с альфа-бунгаротоксином [38]. Это позволило уточнить многие детали молекулярной организации этого участка АХР. И в-четвертых, получение кристаллической структуры двух прокариотических каналов, имеющих гомологическое сродство с цис-петельными

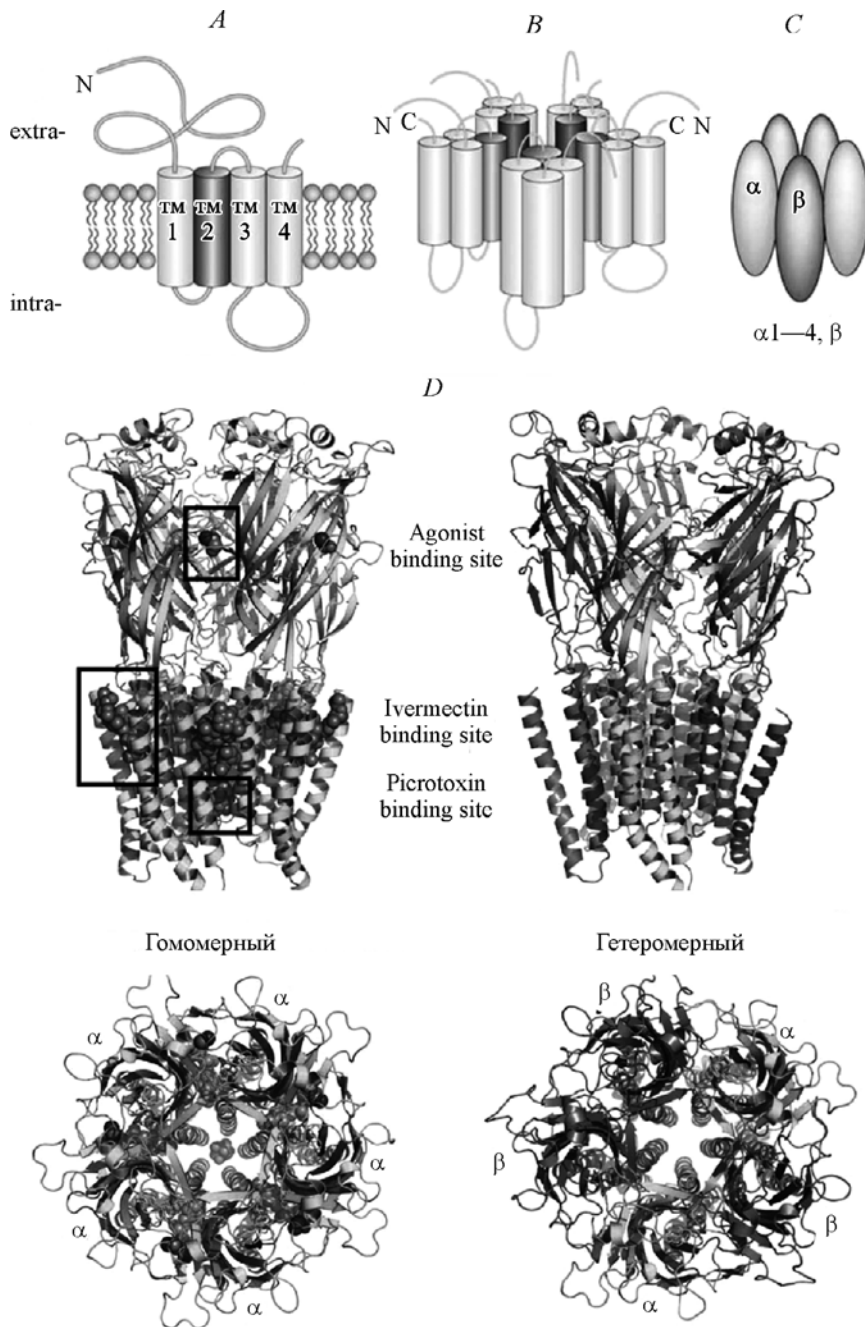


Рис. 4. Структурная организация лиганд-активируемых cys-loop-каналов на примере глицинового рецептора.

*A* — субъединица глицинового рецептора, состоит из длинного наружного N-концевого домена, четырех трансмембранных сегментов (TM1—TM4), длинной внутриклеточной петли и внеклеточного C-конца; *B* — схема организации ионного канала, формируемого TM2-доменами; *C* — глициновый рецептор, является пентамером, состоящим из  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц (из [123] с изменениями); *D* — структура гомомерного  $\alpha 1$ - и гетеромерного  $\alpha 1$ - $\beta$ -глицинового рецептора (из [45]), однако стехиометрия требует уточнения (см. [44]).

рецепторами. Один канал из бактерии *Erwinia chrysanthemi*, сокращенно названный ELIC, был кристаллизован в закрытом состоянии, что позволило выяснить его структуру с разрешением 3.3 Å [67]. Кристаллическая структура другого канала (GLIC) из бактерии *Gleobacter violaceus* была определена в открытом состоянии с разрешением в 2.9 Å [13]. Это позволило сравнить два состояния каналов и высказать предположения о молекулярных деталях изменений конформации, приводящих к открытию ионных пор. Остановимся несколько подробнее на архитектурно-функциональной организации этих белков.

Конец N-терминального домена каждой субъединицы представляет собой α-спираль, за которой следует серия из 10 β-складчатых структур (β-листов). β-листы формируют две гидрофобные зоны, образующие сайт связывания агониста. Консервативная цис-петля, которая входит в состав данного домена и петля, что связывает β-листы 2 и 3 выдаются в сторону трансмембранных доменов и, вероятно, отвечают за передачу информации от лиганд-связывающего сайта к канал-активирующим воротам, находящимся в поре [21, 31, 168]. В формировании лиганд связывающего сайта принимают участие центральные участки N-терминальных доменов двух соседних субъединиц, а именно A—C петли «главной» (или «+») субъединицы и D—F петли комплементарной (или «-») субъединицы [32]. Данные петли являются линкерными участками, соединяющими β-складчатые структуры между собой. В момент связывания агониста с рецептором происходит взаимодействие между аминокислотной группой лиганда и остатком фенилаланина 159 В-петли (триптофан 149 в случае nACh рецептора), именуемое катион-π-взаимодействием [132]. Это приводит к фиксации агониста в месте его связывания, также перемещению цис-петли и петли, которая соединяет β-складчатые структуры 1 и 2 в направлении трансмембранных доменов, и их взаимодействию с TM2-TM3 линкером [21, 120]. Такое перемещение способно вызывать конформационные изменения других доменов рецептора, и в частности TM2 домена, который формирует ионный канал.

Четыре трансмембранных домена субъединиц глицинового рецептора представлены α-спиралями, пронизывающими билипидную мембрану. Пять субъединиц, из которых состоит рецептор, сориентированны таким образом, что их TM2-домены образуют ионселективный канал, а TM1-, TM3- и TM4-домены его окружают и взаимодействуют с липидами цитоплазматической мембраны [120]. В центре каждого TM2-домена α-спираль изгибается, следовательно, канал имеет разную ширину на разных своих участках. В зоне изгиба размещены два гидрофобных кольца, образованных 9'-лейцинами и 13'-валинами, которые, вероятно, формируют главные каналные ворота [120]. Согласно модели Унвина, открытие ионного канала включает поворот TM2-доменов, вызывая дестабилизацию гидрофобных взаимодействий в каналных воротах. Эта модель основана на электронно-микроскопическом анализе фотографий nACh из электрического органа морского ската *Torpedo*, позволившего получить структуру рецепторов с разрешением в 4 Å [157, 158]. Основываясь на результатах анализа кристаллической структуры прокариотических ионных каналов (аналогичных цис-петельным каналам эукариот) GLIC [13] и ELIC [67, 68], предложена другая модель, предполагающая, что во время активации рецептора TM2-TM3 петля смещается наружу и тянет за собой TM2-домен. Это приводит к согласованному движению доменов TM3 и TM2, сопровождающемуся изменением их наклона и увеличением диаметра поры от 2 до 12 Å [31]. При этом кислородные остатки нижнего кольца глутаматов TM2-домена появляются внутри канала, динамически формируя его катион-

ную избирательность. Однако эта модель основана на сравнении структур разных каналов: ELIC — в закрытом, GLIC — в открытом состоянии и требует дальнейшего уточнения. Более подробно архитектура и молекулярные модели открытия цис-петельных каналов представлены в обзорах [20, 31, 168].

## Молекулярная фармакология глициновых рецепторов

### Агонисты

Фармакологическое разнообразие агонистов рецепторов глицина — относительно небольшое. Основными агонистами являются аминокислоты, обладающие разной эффективностью с общим соотношением глицин > бета-аланин > таурин [143]. Это соотношение справедливо для всех субъединиц глицинового рецептора. На культурах органотипических срезов гиппокампа показано, что модуляция специфических транспортеров бета-аланина и таурина приводит к изменению тонической активности глициновых рецепторов, предполагая ингибирующую роль этих аминокислот в функционировании гиппокампа [121]. Очень слабым агонистом является также ГАМК [37, 48]. Поскольку ГАМК и глицин могут быть колокализированы в везикулах пресинаптических окончаний глицинергических синапсов [162], возможно, ГАМК играет определенную роль в регуляции функциональной активности этих синапсов.

### Антагонисты

Наиболее изученными и широко применяемыми антагонистами глициновых рецепторов являются стрихнин и пикротоксин.

*Стрихнин* представляет собой классический конкурентный ингибитор глициновых рецепторов независимо от их субъединичного состава. При воздействии на живые организмы стрихнин вызывает нарушения моторных функций, повышение тонуса мышц, а также гиперактивированность сенсорного, визуального и акустического восприятия. В больших дозах стрихнин приводит к конвульсиям и смерти [53, 176]. Большинство исследований говорят в пользу того, что сайт связывания стрихнина совпадает с сайтом связывания глицина или очень сильно перекрывает его. Мутации в В-, С-, D-, E-петлях внешнечеточного домена, формирующих сайт связывания глицина (G160E, Y161A, K200A, Y202A, F63A, R131A), снижают чувствительность к стрихнину [55].

Следует отметить, что являясь конкурентным антагонистом глициновых рецепторов, блокирующим их активность в наномолярных концентрациях, стрихнин также угнетает активность других ионотропных цис-петельных рецепторов. В микромолярных концентрациях он неконкурентно блокирует также ацетилхолиновые рецепторы в нервномышечных синапсах [49, 93] и является высокоэффективным конкурентным антагонистом нейрональных гомомерных никотиновых рецепторов (альфа-7 и альфа-9/10) [8, 113].

*Пикротоксин* — алкалоид, в состав которого входят два активных вещества: пикротоксинин и пикротин, которые известны своей способностью ингибировать ГАМК и глициновые рецепторы. Долгое время велась дискуссия о механизме действия пикротоксина — аллостерический антагонист или блокатор канала? Поскольку чувствительность к пикротоксину определяется аминокислотными остатками, локализованными в ТМ2 [133], блокирование канала



глицинового рецептора представлялось наиболее вероятным. Однако исследования с применением мутантных и химерных рецепторов продемонстрировали, что механизм действия пикротоксина более сложен, чем классическое блокирование ионного канала и предполагает места аллостерического взаимодействия [63, 105, 127]. С помощью теоретического моделирования было установлено, что сайт связывания пикротина и пикротоксина сформирован аминокислотными остатками, находящимися в 2'- и 6'-позициях ТМ2  $\alpha$ -субъединиц глицинового рецептора [17]. Эксперименты на рецепторах с точечными мутациями аминокислотного состава подтвердили эту гипотезу. Было показано, что пикротин и пикротоксин образуют водородные мостики с треонином, находящимся в 6'-позиции. В 2'-позиции химическая связь между аминокислотой и пикротоксином не играет решающую роль, координация модулятора зависит от размеров аминокислоты. Поэтому  $\alpha 1$ -гомомерный глициновый рецептор, в 2'-локусе которого находится глицин, более чувствителен к пикротоксину, чем  $\alpha 2$ - и  $\alpha 3$ -гомомерные рецепторы, имеющие в 2'-позиции аминокислоты большего размера [63, 172].

Таким образом, можно предполагать, что пикротоксин блокирует глициновые рецепторы, действуя и как блокатор ионопроводящего пути и как аллостерический антагонист. Более подробная информация о действии антагонистов изложена в обзорах [99, 107, 168].

### Модуляция глициновых рецепторов

Активность глициновых рецепторов может регулироваться при взаимодействии модуляторов с разными как вне-, так и внутриклеточными молекулярными доменами. Фармакологическое разнообразие модуляторов глициновых рецепторов достаточно велико, от ионов до сложных химических соединений. Они включают двухвалентные катионы,  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$ , аллостерические модуляторы, такие как анестетики, спирты и эндоканнабиноиды. Функции рецепторов глицина также модулируются фосфорилированием, редактированием РНК и, возможно, G-белками. Мы кратко остановимся только на некоторых фактах, а более подробная информация изложена в обзорах [19, 42, 170, 174, 181].

**Цинк.** Известно, что цинк ( $\text{Zn}^{2+}$ ) является одним из важных ионов нервной системы многоклеточных организмов. Концентрации свободного  $\text{Zn}^{2+}$  варьируют от 100—200 нМ в цереброспинальной жидкости до более 200 мМ в специфических синаптических участках [28].

Катионы  $\text{Zn}^{2+}$  колокализуются с глицином в синаптических везикулах [11, 36, 129] и выделяются из пресинаптических окончаний по кальций-зависимому механизму [71]. Эффект  $\text{Zn}^{2+}$  на активность глициновых рецепторов двухфазный: в низких концентрациях (до 10 нМ) он потенцирует глицинергические токи, а в более высоких концентрациях вызывает их ингибирование [12, 41, 59, 98].

Выяснение молекулярных механизмов двухфазного действия  $\text{Zn}^{2+}$  имеет важное физиологическое значение, поскольку высокие его концентрации могут вносить значительный вклад в усиление epileptогенной активности, нейрональную смерть при ишемии, а также в развитие нейродегенеративных процессов [28, 43], в то время как низкие концентрации, усиливающие ингибирующее действие глицинергических рецепторов могут защищать нейроны от перевозбуждения и глутамат-индуцированной клеточной смерти [25, 27].

Мутационный анализ позволил установить функциональные места связывания  $\text{Zn}^{2+}$  с глициновым рецептором и определить аминокислоты, ответст-

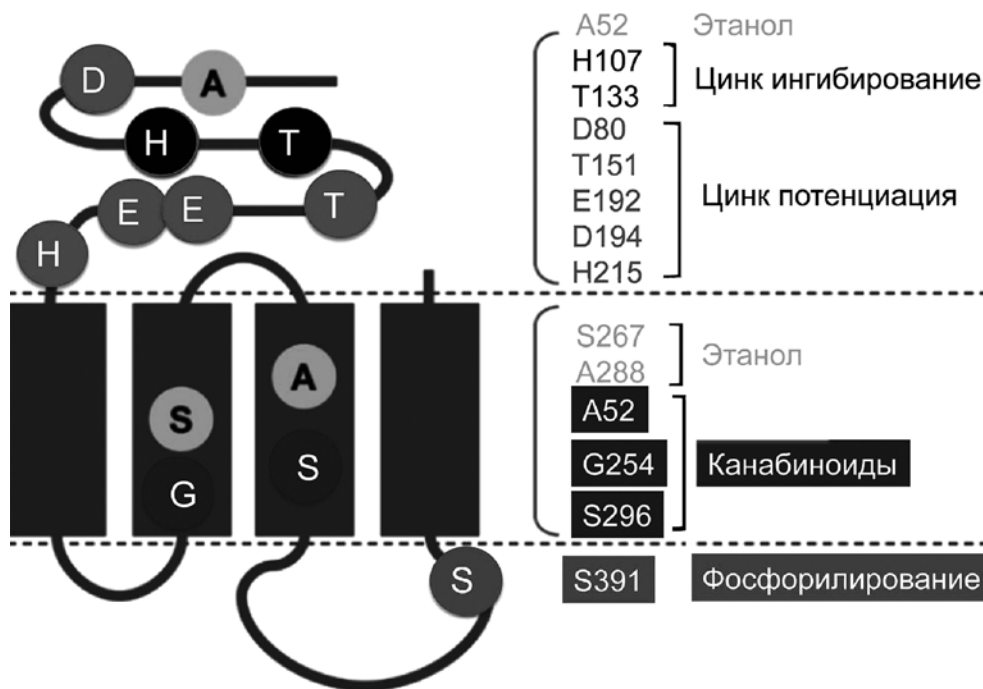


Рис. 5. Аминокислоты, ответственные за аллостерическую модуляцию глицинового рецептора.

Представлены мутации для  $\alpha 1$ -субъединицы. Пунктиром указаны границы плазматической мембраны.

венные за  $Zn^{2+}$ -индуцируемую потенциацию или ингибирование. Было показано, что находящиеся в N-терминали  $\alpha 1$ -субъединицы аминокислоты D80 и D194 (рис. 5), являются ключевыми детерминантами потенцирующего действия цинка. Кроме того, важную роль в регуляции  $Zn^{2+}$ -зависимой потенциации играют остатки E192 и H215, а также T151, находящийся в цис-петле [99] (рис. 5). Ингибирующее действие  $Zn^{2+}$ , по видимому, происходит в результате взаимодействия ионов с H107, H109 и T133 остатками N терминального домена  $\alpha 1$ -субъединицы (рис. 5), N114  $\alpha 2$  и N107  $\alpha 3$ -субъединиц. При этом образуются ионные мостики между двумя субъединицами рецептора, которые препятствуют изменению конформации субъединиц и открыванию канала [59, 97, 104, 118].

**Кальций.** Двухвалентные ионы кальция ( $Ca^{2+}$ ) также модулируют работу глицин-активируемых каналов. Показано, что повышение  $[Ca^{2+}]_i$  приводит к увеличению длительности их работы, и, как следствие, возрастанию амплитуды интегральных ответов на аппликацию агониста [47, 124].  $Ca^{2+}$ -зависимая потенциация описана в экспериментах на нейронах спинного мозга [18, 47], биполярных клетках срезов сетчатки и на мотонейронах ядра подъязычного нерва в срезах ствола мозга [124]. Явление обладает тремя важными свойствами: а) эффект развивается быстро, менее чем за 100 мс; б) возрастание внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$  приводит к повышению эффективности действия глицина; в)  $Ca^{2+}$  модулирует работу каналов не прямо, а через цитоплазматический посредник, возможно  $Ca^{2+}$ -связывающий белок [23].

**Эндоканнабиноиды** — это семейство эндогенно продуцируемых липидных посредников, производных арахидоновой кислоты, модулирующих многие

физиологические функции организмов [81, 131]. Наиболее распространенными в нервной системе позвоночных являются амид арахидоновой кислоты с этаноламином (анандамид) [40] и 2-арахидоноилглицерин (2-АГ) [151]. Показано, что эндоканнабиноиды обладают прямым и ретроградным действием на глицинергические синапсы. Первоначально было показано, что эндоканнабиноиды, выделяющиеся по  $Ca^{2+}$ -зависимому механизму из пресинаптических окончаний, ингибируют глицинергическую передачу ретроградно, а именно, диффундируют к пресинаптическим окончаниям и взаимодействуют с расположенными в мембране каннабиноидными рецепторами (CB1) пресинаптических окончаний. В результате G-белок-индуцируемого уменьшения входа кальция в пресинаптические окончания уменьшаются выброс глицин-содержащих везикул и амплитуда глицинергических синаптических токов [42, 124]. Было также установлено, что эндоканнабиноиды могут и напрямую взаимодействовать с глициновыми рецепторами, вызывая потенциацию [65] или ингибирование их активности и ускорение десенситизации [102, 103]. Большинство аминокислотных остатков, идентифицированных как детерминирующие связывание эндоканнабиноидов с глициновыми рецепторами, размещены во второй внешнечелюстной петле, TM2 и между внутриклеточной петлей и TM4 (рис. 5) [174].

*Спирты* являются позитивными модуляторами глициновых рецепторов. Было показано, что  $\alpha 1$ - и 2-субъединицы глицинового рецептора содержат участки связывания с n-спиртами, пропופолом, пентобарбитоном и летучими анестетиками, потенцирующими их активность [112]. При этом наиболее ярко выраженный потенцирующий эффект имеют молекулы, состоящие из 10—12 углеродов. Такие четкие границы свидетельствуют о существовании специфического ограниченного сайта связывания. Сайт-направленный мутагенез  $\alpha 1$ -глицинового рецептора позволил определить два аминокислотных остатка, которые могут быть ответственны за взаимодействие со спиртами — S267 в TM2 и A288 в TM3 (рис. 5) [117]. Однако Агуайо и коллеги предложили другой механизм действия спиртов, согласно которому потенциация глицинового рецептора вызвана изменением способности протеинкиназы или G-белков взаимодействовать с большой внутриклеточной петлей рецептора [140, 175].

*Фосфорилирование* глицинового рецептора играет важную роль в модуляции работы глицинергических синапсов. Внутриклеточные участки субъединиц глициновых рецепторов, в особенности большая цитоплазматическая петля, соединяющая TM3- и TM4-домены, имеет в своем составе сайты, которые могут специфически взаимодействовать с протеинкиназами и дефосфорилироваться фосфатазами [138, 148]. В нескольких работах наблюдали снижение глицин-активируемых токов при активации протеинкиназы C [2, 153, 159]. Было показано, что протеинкиназа C (ПКС) фосфорилирует S391 аминокислотный остаток  $\alpha 1$ -субъединицы глицинового рецептора (рис. 5) и специфически взаимодействует с окружающими его аминокислотными остатками [138]. Более того, внутриклеточная перфузия нейронов ингибитором фосфатазы вызывала потенциацию ответов на глицин [153]. Однако в других работах был обнаружен противоположный эффект: активация ПКС вызывала увеличение амплитуды глициновых токов [126, 144, 171]. Эти различия могут быть связаны с анализом разных подтипов глициновых рецепторов, экспрессирующихся в разных участках мозга, и использованием разных экспериментальных моделей.

Такие же противоречивые данные получены и для протеинкиназы A (ПКА), активация которой в нейронах спинного мозга увеличивала амплитуду глициновых токов [149, 153, 159], увеличивая при этом вероятность открытого

состояния одиночных глицин-активируемых каналов [149]. Более того, показано, что потенцирующее действие ПКС и ПКА является взаимодополняющим [56]. Однако активация ПКА уменьшала амплитуду глицин-активируемых токов в нейронах черной субстанции [77] и быстро десенситизирующих токов в вентромедиальных нейронах гипоталамуса [1]. В последней работе наблюдалось также ПКА-индуцируемое снижение вероятности активации глициновых рецепторов, что связано, возможно, с ускорением десенситизации.

Фосфорилирование может также приводить к изменению локализации глициновых рецепторов. Так, например, в сетчатке при активации ПКА и ПКС наблюдается снижение амплитуды глициновых токов, которое является следствием интернализации глициновых рецепторов [160]. Кроме того, в цитоплазматическом домене  $\beta$ -субъединицы был идентифицирован остаток S403, фосфорилирование которого ПКС снижает сродство рецептора к джеферину. Поскольку джеферин отвечает за удержание глициновых рецепторов в синапсе, возможно, падение аффинности между ними становится причиной латеральной миграции рецепторов и снижения их количества в синапсах [150]. Более тщательные исследования необходимы для выяснения роли фосфорилирования в функционировании глициновых рецепторов и глицинергической синаптической передачи.

Таким образом, действие агонистов, антагонистов и модуляторов на глициновые рецепторы зависит во многом от их субъединичного состава. Поскольку для рецепторов, сформированных разными субъединицами, характерны различные функции и локализация в ЦНС, поиск специфичных модулирующих агентов представляет особый интерес. Прежде всего, это открыло бы возможности для более детального их изучения, а также лечения заболеваний, связанных с нарушением функций определенных подтипов глициновых рецепторов.

### **Гиперплексия — патология, обусловленная нарушениями функций глициновых рецепторов**

Гиперплексия — заболевание, при котором неожиданный звуковой или световой раздражитель вызывает у больного судорожные гримасы, резкие подергивания плечами, выбрасывания рук, подпрыгивания и другие неконтролируемые движения. Эти необычные патологические «реакции испуга» впервые описал в 1878 г. американский невролог Джорж Берд (1839—1883), наблюдая пациента из сообщества франко-канадских лесорубов. Он назвал его «прыгунство или прыгающий француз» («Jumpers, or jumping Frenchmen») [96]. Более поздние исследования показали, что гиперплексия — наследственное заболевание, фенотипически проявляющееся в виде сильно преувеличенных реакций на неожиданные акустические и тактильные стимулы [3]. К симптомам гиперплексии относятся гипертония и мышечная ригидность, которая может привести к неконтролируемому падению. Известны также случаи смерти, причиной которых являлся коллапс дыхательной системы, связанный с гиперплексией [22, 122, 128]. Заболевания с аналогичными симптомами были обнаружены также у нескольких видов млекопитающих: мышей, крыс и коров [60].

Причины этого редкого наследственного заболевания не были известны до 1993 г., когда была описана мутация в  $\alpha 1$ -субъединице глицинового рецептора, вызывающая такого рода патологию [147]. Генетические исследования показали, что для больных, страдающих гиперплексией, характерны мутации гена  $\alpha 1$ -субъединицы (*GLRA1*), локализованного в 5q33.1-хромосоме,

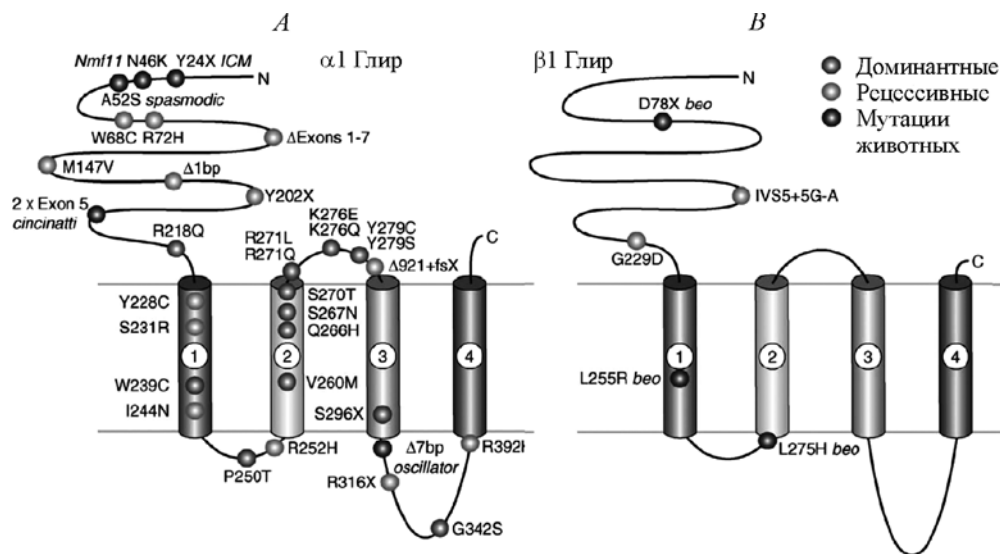


Рис. 6. Мутации глицинового рецептора, вызывающие гиперплексию.  
 А —  $\alpha 1$ -субъединица глицинового рецептора; В —  $\beta$ -субъединица глицинового рецептора.

приводящие к замене аргинина R271 на L или Q [146, 147]. В последующие годы были идентифицированы и другие мутации *GLRA1*, запускающие развитие гиперплексии: аутосомно-доминантные, например, Y279C, K276E, Q266H, P250T [60, 142], главным следствием которых является снижение чувствительности рецептора к агонисту в результате нарушения открывания канала; и аутосомно-рецессивные мутации, например I244N [134] и S231R [73], которые осложняют процесс транскрипции/трансляции и встраивания рецептора в клеточную мембрану [29, 30] (рис. 6).

Нарушение глицинергической передачи, повышающее общий уровень возбудимости мотонейронов спинного мозга, может носить как пресинаптический, так и постсинаптический характер [60, 106]. Мутации нескольких белков, принимающих участие в процессе глицинергической передачи, могут стать причиной формирования гиперплексического фенотипа.  $\beta$ -субъединица глицинового рецептора [136] и глициновый транспортер GlyT2, локализованный в пресинаптической мембране [51], — два белка, чьи мутации имеют наибольшее значение (кроме  $\alpha 1$ -субъединицы) при развитии гиперплексии. Для гена *SLC6A5*, кодирующего GlyT2, характерны мутации, вызывающие нарушение его субклеточной локализации и, как следствие, снижение активности транспорта глицина из синаптической щели назад в пресинаптическое окончание [135]. Повышенный уровень возбудимости также может быть результатом изменения аминокислотной последовательности транспортного белка VIAAT, отвечающего за закачивание глицина и ГАМК в пресинаптические везикулы [50, 139].

Мутации  $\beta$ -субъединицы занимают третье место среди причин гиперплексии. Обнаружено, что у мышей с этим заболеванием, рецессивная мутация, обуславливающая интронное встраивание ретротраспозона LINE-1, вызывает сильное уменьшение экспрессии  $\beta$ -субъединицы в нейронах [84, 125]. Недавно показано, что в  $\beta$ -субъединице мутация W310C нарушает внутримембранную упаковку  $\alpha$ -спиралей, что приводит к значительным осложнениям встраива-



ния гетеромерных рецепторов в постсинаптическую мембрану [78]. Кроме того, мутации остатков G229D и M177R, которые находятся в непосредственной близости к сайту связывания агониста, приводят к снижению чувствительности рецептора к глицину и, как следствие, снижению эффективности функционирования глицинергических синапсов [78].

Таким образом, три основных типа генетических нарушений глицинергической передачи являются причиной гиперплексии у человека и подобных заболеваний у животных. Во-первых, мутации  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц, приводящие к уменьшению проводимости одиночных каналов и снижению чувствительности к глицину; во-вторых, мутации, приводящие к снижению экспрессии глицинергических рецепторов в мембране и локализации их в синаптических зонах; в-третьих, мутации транспортеров нейромедиаторов, приводящие к снижению накопления глицина в пресинаптических везикулах [60].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Глициновый рецептор, относящийся к семейству цис-петельных ионотропных рецепторов, является ключевым элементом системы ингибиторного контроля моторных нейронов, позволяющей выполнять слаженные и требующие точности движения. Однако, благодаря разнообразию субъединичного состава и широкому распространению в нервной системе, глициновые рецепторы также играют важную роль в работе других систем организма: формировании зрительных образов, болевых ощущений и нейрогенезе. Глициновые рецепторы являются потенциальными мишенями для разработки новых фармакологических препаратов, включая мышечные релаксанты, анальгетики и противовоспалительные препараты. Все это делает изучение особенностей их молекулярного строения, функционирования и возможностей модуляции заслуживающим особого интереса направлением современной нейробиологии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] *Agopyan N., Tokutomi N., Akaike N.* Protein kinase A-mediated phosphorylation reduces only the fast desensitizing glycine current in acutely dissociated ventromedial hypothalamic neurons. *Neuroscience*. 56 : 605—615. 1993.
- [2] *Albarran F., Roa J. P., Navarrete R., Castillo R., Nualart F., Aguayo L. G.* Effect of protein kinase C activation on the glycine evoked Cl(-) current in spinal cord neurons. *Brain. Res.* 902 : 1—10. 2001.
- [3] *Andermann F., Keene D. L., Andermann E., Quesney L. F.* Startle disease or hyperplexia: further delineation of the syndrome. *Brain*. 103 : 985—997. 1980.
- [4] *Aprison M. H., Shank R. P., Davidoff R. A., Werman R.* The distribution of glycine, a neurotransmitter suspect in the central nervous system of several vertebrate species. *Life Sci.* 7 : 583—590. 1968.
- [5] *Aprison M. H., Werman R.* The distribution of glycine in cat spinal cord and roots. *Life Sci.* 4 : 2075—2083. 1965.
- [6] *Avila A., Vidal P. M., Dear T. N., Harvey R. J., Rigo J. M., Nguyen L.* Glycine receptor  $\alpha 2$  subunit activation promotes cortical interneuron migration. *Cell. Rep.* 4 : 738—750. 2013.
- [7] *Baer K., Waldvogel H. J., Faull R. L., Rees M. I.* Localization of glycine receptors in the human forebrain, brainstem, and cervical spinal cord: an immunohistochemical review. *Front Mol. Neurosci.* 2 : 25. 2009.
- [8] *Baker E. R., Zwart R., Sher E., Millar N. S.* Pharmacological properties of alpha 9 alpha 10 nicotinic acetylcholine receptors revealed by heterologous expression of subunit chimeras. *Mol. Pharmacol.* 65 : 453—460. 2004.

- [9] *Becker C. M., Hoch W., Betz H.* Glycine receptor heterogeneity in rat spinal cord during postnatal development. *EMBO J.* 7 : 3717—3726. 1988.
- [10] *Bedet C., Bruusgaard J. C., Groth-Pedersen L., Eimer S., Triller A., Vannier C.* Regulation of gephyrin assembly and glycine receptor synaptic stability. *J. Biol. Chem.* 281 : 30 046—30 356. 2006.
- [11] *Birinyi A., Parker D., Antal M., Shupliakov O.* Zinc co-localizes with GABA and glycine in synapses in the lamprey spinal cord. *J. Comp. Neurol.* 433 : 208—221. 2001.
- [12] *Bloomenthal A. B., Goldwater E., Pritchett D. B., Harrison N. L.* Biphasic modulation receptor by  $Zn^{2+}$  of the strychnine-sensitive glycine. *Mol. Pharmacol.* 46 : 1156—1159. 1994.
- [13] *Bocquet N., Nury H., Baaden M., Le Poupon C., Changeux J.-P., Delarue M., Corringer P. J.* X-ray structure of a pentameric ligand-gated ion channel in an apparently open conformation. *Nature.* 457 : 111—114. 2009.
- [14] *Bohlhalter S., Mohler H., Fritschy J. M.* Inhibitory neurotransmission in rat spinal cord: co-localization of glycine- and GABAA-receptors at GABAergic synaptic contacts demonstrated by triple immunofluorescence staining. *Brain Res.* 642 : 59—69. 1994.
- [15] *Bormann J., Rundström N., Betz H., Langosch D.* Residues within transmembrane segment M2 determine chloride conductance of glycine receptor homo- and hetero-oligomers. *EMBO J.* 13 : 1493. 1994.
- [16] *Bowery N. G., Smart T. G.* GABA and glycine as neurotransmitters: a brief history. *Br. J. Pharmacol.* 147 : 109—19. 2006.
- [17] *Brackmann M., Zhao C., Schmieden V., Braunewell K.-H.* Cellular and subcellular localization of the inhibitory glycine receptor in hippocampal neurons. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 324 : 1137—1142. 2004.
- [18] *Bregestovski P., Mukhtarov M.* Synaptic function and modulation of glycine receptor channels in hypoglossal nucleus. *Neurophysiology.* 39 : 338—349. 2007.
- [19] *Bregestovski P., Khaspekov G.* Calcium-induced modulation of synaptic transmission. *Biochem. Suppl. Ser. A. Membr. Cell. Biol.* 1 : 28—37. 2007.
- [20] *Bregestovski P.* Architecture of receptor-operated ion channels of biological membranes. *Biophys. J.* 56 : 51—64. 2009.
- [21] *Brejč K., van Dijk W. J., Klaassen R. V., Schuurmans M., van Der Oost J., Smit A. B., Sixma T. K.* Crystal structure of an ACh-binding protein reveals the ligand-binding domain of nicotinic receptors. *Nature.* 411 : 269—276. 2001.
- [22] *Brown P., Rothwell J. C., Thompson P. D., Britton T. C., Day B. L., Marsden C. D.* The hyperekplexias and their relationship to the normal startle reflex. *Brain.* 114 : 1903—1928. 1991.
- [23] *Buldakova S., Real E., Jacob Y., Bregestovski P.* Calcium-dependent modulation of human glycine receptors expressed in cultivated cell lines. *Cell. tissue biol.* 1 : 30—33. 2007.
- [24] *Burzomato V., Beato M., Groot-Kormelink P. J., Colquhoun D., Sivilotti L. G.* Single-channel behavior of heteromeric  $\alpha 1\beta$  glycine receptors: an attempt to detect a conformational change before the channel opens. *J. Neurosci.* 24 : 10 924—10 940. 2004.
- [25] *Chandra T., Maier W., König H.-G., Hirzel K., Kögel D., Schüler T., Chandra A., Demirhan I., Laube B.* Molecular interactions of the type 1 human immunodeficiency virus transregulatory protein Tat with N-methyl-D-aspartate receptor subunits. *Neuroscience.* 134 : 145—153. 2005.
- [26] *Chattipakorn S. C., McMahon L. L.* Strychnine-sensitive glycine receptors depress hyperexcitability in rat dentate gyrus. *J. Neurophysiol.* 89 : 1339—1342. 2003.
- [27] *Chen C. J., Liao S. L.* Neurotrophic and neurotoxic effects of zinc on neonatal cortical neurons. *Neurochem. Int.* 42 : 471—479. 2003.
- [28] *Choi D. W., Koh J. Y.* Zinc and brain injury. *Annu Rev. Neurosci.* 21 : 347—375. 1998.
- [29] *Chung S. K., Bode A., Cushion T. D., Thomas R. H., Hunt C., Wood S. E., Pickrell W. O., Drew C. J., Yamashita S., Shiang R., Leiz S., Longardt A. C., Raile V., Weschke B., Puri R. D., Verma I. C., Harvey R. J., Ratnasingham D. D., Parker M., Rittley C., Masri A., Lingappa L., Howell O. W., Vanbellinghen J. F., Mullins J. G., Lynch J. W., Rees M. I.* GLRB is the third major gene of effect in hyperekplexia. *Hum. Mol. Genet.* 22 : 927—940. 2013.
- [30] *Chung S. K., Vanbellinghen J. F., Mullins J. G., Robinson A., Hantke J., Hammond C. L., Gilbert D., Freilinger M., Ryan M., Krueger M., Masri A., Gurses C., Ferrie C., Harvey K., Shiang R., Christodolou J., Andermann F., Thomas R. H., Harvey R. J., Lynch J., Re-*

es M. I. Pathophysiological mechanisms of dominant and recessive GLRA1 mutations in hyperekplexia. *J. Neurosci.* 30 : 9612—9620. 2010.

[31] *Corringer P. J., Poitevin F., Prevost M. S., Sauguet L., Delarue M., Changeux J. P.* Structure and pharmacology of pentameric receptor channels: from bacteria to brain. *Structure.* 20 : 941—956. 2012.

[32] *Corringer P. J., Le Novère N., Changeux J. P.* Nicotinic receptors at the amino acid level. *Annu Rev. Pharmacol. Toxicol.* 40 : 431—458. 2000.

[33] *Curtis D. R., Hösl L., Johnston G. A.* A pharmacological study of the depression of spinal neurones by glycine and related amino acids. *Exp. Brain Res.* 6 : 1—18. 1968.

[34] *Curtis D. R., Watkins J. C.* The excitation and depression of spinal neurones by structurally related amino acids. *J. Neurochem.* 6 : 117—141. 1960.

[35] *Danglot L., Rostaing P., Triller A., Bessis A.* Morphologically identified glycinergic synapses in the hippocampus. *Mol. Cell. Neurosci.* 27 : 394—403. 2004.

[36] *Danscher G., Jo S. M., Varea E., Wang Z., Cole T. B., Schroder H. D.* Inhibitory zinc-enriched terminals in mouse spinal cord. *Neuroscience.* 105 : 941—947. 2001.

[37] *David-Watine B., Goblet C., De Saint Jan D., Fucile S., Devignot V., Bregestovski P., Korn H.* Cloning, expression and electrophysiological characterization of glycine receptor alpha subunit from zebrafish. *Neuroscience.* 90 : 303—317. 1999.

[38] *Dellisanti C. D., Yao Y., Stroud J. C., Wang Z.-Z., Chen L.* Crystal structure of the extracellular domain of nAChR alpha1 bound to alpha-bungarotoxin at 1.94 Å resolution. *Nat. Neurosci.* 10 : 953—962. 2007.

[39] *Demb J. B., Pugh E. N.* Connexin36 forms synapses essential for night vision. *Neuron.* 36 : 551—553. 2002.

[40] *Devane W. A., Hanus L., Breuer A., Pertwee R. G., Stevenson L. A., Griffin G., Gibson D., Mandelbaum A., Etinger A., Mechoulam R.* Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science.* 258 : 1946—1949. 1992.

[41] *Devignot V., Prado de Carvalho L., Bregestovski P., Goblet C.* A novel glycine receptor  $\alpha$ Z1 subunit variant in the zebrafish brain. *Neuroscience.* 122 : 449—457. 2003.

[42] *Diana M. A., Bregestovski P.* Calcium and endocannabinoids in the modulation of inhibitory synaptic transmission. *Cell. Calcium.* 37 : 497—505. 2005.

[43] *Doraiswamy P. M., Finefrock A. E.* Rapid review Metals in our minds: therapeutic implications for neurodegenerative disorders Rapid review. *Lancet Neurol.* 3 : 431—434. 2004.

[44] *Durisic N., Godin A. G., Wever C. M., Heyes C. D., Lakadamyali M., Dent J. A.* Stoichiometry of the human glycine receptor revealed by direct subunit counting. *J. Neurosci.* 32 : 12 915—12 920. 2012.

[45] *Dutertre S., Becker C.-M., Betz H.* Inhibitory glycine receptors: an update. *J. Biol. Chem.* 287 : 40 216—40 223. 2012.

[46] *Friauf E., Hammerschmidt B., Kirsch J.* Development of adult-type inhibitory glycine receptors in the central auditory system of rats. *J. Comp. Neurol.* 385 : 117—134. 1997.

[47] *Fucile S., De Saint Jan D., de Carvalho L. P., Bregestovski P.* Fast potentiation of glycine receptor channels of intracellular calcium in neurons and transfected cells. *Neuron.* 28 : 571—583. 2000.

[48] *Fucile S., De Saint Jan D., David-Watine B., Korn H., Bregestovski P.* Comparison of glycine and GABA actions on the zebrafish homomeric glycine receptor. *J. Physiol.* 517 (Pt 2) : 369—383. 1999.

[49] *Garcia-Colunga J., Miledi R.* Modulation of nicotinic acetylcholine receptors by strychnine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96 : 4113—4118. 1999.

[50] *Gasnier B.* The loading of neurotransmitters into synaptic vesicles. *Biochimie.* 82 : 327—337. 2000.

[51] *Gomez J., Ohno K., Hülsmann S., Armsen W., Eulenburg V., Richter D. W., Laube B., Betz H.* Deletion of the mouse glycine transporter 2 results in a hyperekplexia phenotype and postnatal lethality. *Neuron.* 40 : 797—806. 2003.

[52] *Grenningloh G., Pribilla I., Prior P., Multhaup G., Beyreuther K., Taleb O., Betz H.* Cloning and expression of the 58 kd beta subunit of the inhibitory glycine receptor. *Neuron.* 4 : 963—970. 1990.

[53] *Grenningloh G., Schmieden V., Schofield P. R., Seeburg P. H., Siddique T., Mohandas T. K., Becker C. M., Betz H.* Alpha subunit variants of the human glycine receptor: primary

structures, functional expression and chromosomal localization of the corresponding genes. *EMBO J.* 9 : 771—776. 1990.

[54] *Grenningloh G., Rienitz A., Schmitt B., Methfessel C., Zensen M., Beyreuther K., Gundelfinger E. D., Betz H.* Molecular cloning of the antagonist-binding subunit of the glycine receptor. *J. Recept. Res.* 8 : 183—193. 1988.

[55] *Grudzinska J., Schemm R., Haeger S., Nicke A., Schmalzing G., Betz H., Laube B.* The beta subunit determines the ligand binding properties of synaptic glycine receptors. *Neuron.* 45 : 727—739. 2005.

[56] *Gu Y., Huang L. Y.* Cross-modulation of glycine-activated Cl<sup>-</sup> channels by protein kinase C and cAMP-dependent protein kinase in the rat. *J. Physiol.* 506 (Pt 2) : 331—339. 1998.

[57] *Harvey R. J., Depner U. B., Wässle H., Ahmadi S., Heindl C., Reinold H., Smart T. G., Harvey K., Schütz B., Abo-Salem O. M., Zimmer A., Poisbeau P., Welzl H., Wolfer D. P., Betz H., Zeilhofer H. U., Müller U.* GlyR alpha3: an essential target for spinal PGE2-mediated inflammatory pain sensitization. *Science.* 304 : 884—887. 2004.

[58] *Harvey R. J., Schmieden V., Von Holst A., Laube B., Rohrer H., Betz H.* Glycine receptors containing the alpha4 subunit in the embryonic sympathetic nervous system, spinal cord and male genital ridge. *Eur. J. Neurosci.* 12 : 994—1001. 2000.

[59] *Harvey R. J., Thomas P., James C. H., Wilderspin A., Smart T. G.* Identification of an inhibitory Zn<sup>2+</sup> binding site on the human glycine receptor alpha1 subunit. *J. Physiol.* 520 (Pt 1) : 53—64. 1999.

[60] *Harvey R. J., Topf M., Harvey K., Rees M. I.* The genetics of hyperekplexia: more than startle! *Trends Genet.* 24 : 439—447. 2008.

[61] *Haverkamp S., Müller U., Harvey K., Harvey R. J., Betz H., Wässle H.* Diversity of glycine receptors in the mouse retina: localization of the alpha3 subunit. *J. Comp. Neurol.* 465 : 524—539. 2003.

[62] *Haverkamp S., Müller U., Zeilhofer H. U., Harvey R. J., Wässle H.* Diversity of glycine receptors in the mouse retina: localization of the alpha2 subunit. *J. Comp. Neurol.* 477 : 399—411. 2004.

[63] *Hawthorne R., Lynch J. W.* A picrotoxin-specific conformational change in the glycine receptor M2-M3 loop. *J. Biol. Chem.* 280 : 35 836—35 843. 2005.

[64] *Heinze L., Harvey R. J., Haverkamp S., Wässle H.* Diversity of Glycine Receptors in the Mouse Retina: Localization of the  $\alpha$ 4 Subunit. *J. Comp. Neurol.* 500 : 693—707. 2007.

[65] *Hejazi N., Zhou C., Oz M., Sun H., Ye J. H., Zhang L.* Delta9-tetrahydrocannabinol and endogenous cannabinoid anandamide directly potentiate the function of glycine receptors. *Mol. Pharmacol.* 69 : 991—997. 2006.

[66] *Heng J. I.-T., Moonen G., Nguyen L.* Neurotransmitters regulate cell migration in the telencephalon. *Eur. J. Neurosci.* 26 : 537—546. 2007.

[67] *Hilf R. J., Dutzler R.* X-ray structure of a prokaryotic pentameric ligand-gated ion channel. *Nature.* 452 : 375—379. 2008.

[68] *Hilf R. J., Dutzler R.* Structure of a potentially open state of a proton-activated pentameric ligand-gated ion channel. *Nature.* 457 : 115—118. 2009.

[69] *Hopkin J., Neal M. J.* Effect of electrical stimulation and high potassium concentrations on the efflux of 14C-glycine from slices of spinal cord. *Br. J. Pharmacol.* 42 : 215—223. 1971.

[70] *Hopkin J. M., Neal M. J.* The release of 14C-glycine from electrically stimulated rat spinal cord slices. *Br. J. Pharmacol.* 40 : 136—138. 1970.

[71] *Howell G. A., Welch M. G., Frederickson C. J.* Stimulation-induced uptake and release of zinc in hippocampal slices. *Nature.* 308 : 736—738. 1984.

[72] *Hsueh H., Molnar A., Werblin F. S.* Amacrine-to-amacrine cell inhibition in the rabbit retina. *J. Neurophysiol.* 100 : 2077—2088. 2008.

[73] *Humeny A., Bonk T., Becker K., Jafari-Boroujerdi M., Stephani U., Reuter K., Becker C. M.* A novel recessive hyperekplexia allele GLRA1 (S231R): genotyping by MALDI-TOF mass spectrometry and functional characterisation as a determinant of cellular glycine receptor trafficking. *Eur. J. Hum Genet.* 10 : 188—196. 2002.

[74] *Imboden M., Devignot V., Goblet C.* Phylogenetic relationships and chromosomal location of five distinct glycine receptor subunit genes in the teleost *Danio rerio*. *Dev. Genes Evol.* 211 : 415—422. 2001.

[75] *Imboden M., Devignot V., Korn H., Goblet C.* Regional distribution of glycine receptor messenger RNA in the central nervous system of zebrafish. *Neuroscience.* 103 : 811—830. 2001.



- [76] *Imboden M., De Saint Jan D., Leulier F., Korn H., Goblet C., Bregestovski P.* Isolation and characterization of an alpha 2-type zebrafish glycine receptor subunit. *Neuroscience*. 103 : 799—810. 2001.
- [77] *Inomata H., Nabekura J., Akaike N.* Suppression of taurine response in acutely dissociated substantia nigra neurons by intracellular cyclic AMP. *Brain Res*. 615 : 347—350. 1993.
- [78] *James V. M., Bode A., Chung S.-K., Gill J. L., Nielsen M., Cowan F. M., Vujic M., Thomas R. H., Rees M. I., Harvey K., Keramidas A., Topf M., Ginjaar I., Lynch J. W., Harvey R. J.* Novel missense mutations in the glycine receptor  $\beta$  subunit gene (GLRB) in startle disease. *Neurobiol. Dis*. 52 : 137—149. 2013.
- [79] *Jonas P., Bischofberger J., Sandkühler J.* Corelease of Two Fast Neurotransmitters at a Central Synapse. *Science*. 281 : 419—424. 1998.
- [80] *Karlin A.* Emerging structure of the nicotinic acetylcholine receptors. *Nat. Rev. Neurosci*. 3 : 102—114. 2002.
- [81] *Katona I., Freund T. F.* Endocannabinoid signaling as a synaptic circuit breaker in neurological disease. *Nat. Med*. 14 : 923—930. 2008.
- [82] *Kehoe J., Buldakova S., Acher F., Dent J., Bregestovski P., Bradley J.* Aplysia cys-loop glutamate-gated chloride channels reveal convergent evolution of ligand specificity. *J. Mol. Evol*. 69 : 125—141. 2009.
- [83] *Kim E. Y., Schrader N., Vannier C.* Deciphering the structural framework of glycine receptor anchoring by gephyrin. *EMBO J*. 25 : 1385—1395. 2006.
- [84] *Kingsmore S., Giros B., Suh D., Bieniarz M., Caron M., Seldin M.* Glycine receptor beta-subunit gene mutation in spastic mouse associated with LINE-1 element insertion. *Nat. Genet*. 7 : 136—141. 1994.
- [85] *Kirsch J., Betz H.* The Postsynaptic Protein Gephyrin Localization Is Regulated of the Glycine Receptor-Associated by the Cytoskeleton. *J. Neurosci*. 75 : 4148—4156. 1995.
- [86] *Kirsch J., Betz H.* Glycine-receptor activation is required for receptor clustering in spinal neurons. *Nature*. 392 : 717—720. 1998.
- [87] *Kirsch J., Langosch D., Prior P., Littauer U. Z., Schmitt B., Betz H.* The 93-kDa glycine receptor-associated protein binds to tubulin. *J. Biol. Chem*. 266 : 22 242—22 245. 1991.
- [88] *Kirsch J., Meyer G., Betz H.* Synaptic Targeting of Ionotropic Neurotransmitter Receptors. *Mol. Cell. Neurosci*. 8 : 93—98. 1996.
- [89] *Kneussel M., Betz H.* Receptors, gephyrin and gephyrin-associated proteins: novel insights into the assembly of inhibitory postsynaptic membrane specializations. *J. Physiol*. 525 : 1—9. 2000.
- [90] *Kneussel M., Betz H.* Clustering of inhibitory neurotransmitter receptors at developing postsynaptic sites: the membrane activation model. *Trends Neurosci*. 23 : 429—435. 2000.
- [91] *Kubota H., Alle H., Betz H., Geiger J. R.* Presynaptic glycine receptors on hippocampal mossy fibers. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 393 : 587—591. 2010.
- [92] *Kungel M., Friauf E.* Physiology and pharmacology of native glycine receptors in developing rat auditory brainstem neurons. *Brain Res. Dev. Brain Res*. 102 : 157—165. 1997.
- [93] *Landau E. M.* The effect of strychnine on the neuro-muscular junction of the rat. 6 : 2515—2517. 1967.
- [94] *Langosch D., Becker C. M., Betz H.* The inhibitory glycine receptor: a ligand-gated chloride channel of the central nervous system. *Eur. J. Biochem*. 194 : 1—8. 1990.
- [95] *Langosch D., Thomas L., Betz H.* Conserved quaternary structure of ligand-gated ion channels: the postsynaptic glycine receptor is a pentamer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 85 : 7394—7398. 1988.
- [96] *Lanska D. J.* The history of movement disorders. In: Finger S., Boller F., Tyler K., eds. *Handbook of clinical neurology*. Elsevier B. V. 2010.
- [97] *Laube B., Kuhse J., Betz H.* Kinetic and mutational analysis of Zn<sup>2+</sup> modulation of recombinant human inhibitory glycine receptors. *J. Physiol*. 522 (Pt 2) : 215—230. 2000.
- [98] *Laube B., Kuhse J., Rundström N., Kirsch J., Schmieden V., Betz H.* Modulation by zinc ions of native rat and recombinant human inhibitory glycine receptors. *J. Physiol*. 483 (Pt 3) : 613—619. 1995.
- [99] *Laube B., Maksay G., Schemm R., Betz H.* Modulation of glycine receptor function: a novel approach for therapeutic intervention at inhibitory synapses? *Trends Pharmacol. Sci*. 23 : 519—527. 2002.
- [100] *Legendre P.* The glycinergic inhibitory synapse. *Cell. Mol. Life Sci*. 58 : 760—793. 2001.



- [101] *Leite J. F., Cascio M.* Structure of ligand-gated ion channels: critical assessment of biochemical data supports novel topology. *Mol. Cell. Neurosci.* 17 : 777—792. 2001.
- [102] *Lozovaya N., Mukhtarov M., Tsintsadze T., Ledent C., Burnashev N., Bregestovski P.* Frequency-Dependent Cannabinoid Receptor-Independent Modulation of Glycine Receptors by Endocannabinoid 2-AG. *Front. Mol. Neurosci.* 4 : 13. 2011.
- [103] *Lozovaya N., Yatsenko N., Beketov A., Tsintsadze T., Burnashev N.* Glycine receptors in CNS neurons as a target for nonretrograde action of cannabinoids. *J. Neurosci.* 25 : 7499—7506. 2005.
- [104] *Lynch J. W., Jacques P., Pierce K. D., Schofield P. R.* Zinc potentiation of the glycine receptor chloride channel is mediated by allosteric pathways. *J. Neurochem.* 71 : 2159—2168. 1998.
- [105] *Lynch J. W., Rajenda S., Barry P. H., Schofield P.* Mutations affecting the glycine agonist transduction mechanism convert the competitive antagonist, picrotoxin into an allosteric potentiator. *J. Biol. Chem.* 270 : 13 799—13 806. 1995.
- [106] *Lynch J. W.* Molecular structure and function of the glycine receptor chloride channel. *Physiol. Rev.* 84 : 1051—1095. 2004.
- [107] *Lynch J. W.* Native glycine receptor subtypes and their physiological roles. *Neuropharmacology.* 56 : 303—309. 2009.
- [108] *Majumdar S., Heinze L., Haverkamp S., Ivanova E., Wässle H.* Glycine receptors of A-type ganglion cells of the mouse retina. *Vis. Neurosci.* 24 : 471—487. 2007.
- [109] *Malosio M., Marqueze B., Pouey A., Kuhse J., Betz H.* Widespread expression of glycine receptor subunit mRNAs in the adult and developing rat brain. *EMBO J.* 10 : 2401—2409. 1991.
- [110] *Mangin J. M., Baloul M., Prado De Carvalho L., Rogister B., Rigo J. M., Legendre P.* Kinetic properties of the alpha2 homo-oligomeric glycine receptor impairs a proper synaptic functioning. *J. Physiol.* 553 : 369—386. 2003.
- [111] *Mangin J. M., Guyon A., Eug D., Legendre P.* Functional glycine receptor maturation in the absence of glycinergic input in dopaminergic neurones of the rat substantia nigra. *J. Physiol.* 542 : 685—697. 2002.
- [112] *Mascia M. P., Machu T. K., Harris R. A.* Enhancement of homomeric glycine receptor function by long-chain alcohols and anaesthetics. *Br. J. Pharmacol.* 119 : 1331—1336. 1996.
- [113] *Matsubayashi H., Alkondon M., Pereira E. F., Swanson K. L., Albuquerque E. X.* Strychnine: a potent competitive antagonist of alpha-bungarotoxin-sensitive nicotinic acetylcholine receptors in rat hippocampal neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 284 : 904—913. 1998.
- [114] *McCool B., Botting S. K.* Characterization of strychnine-sensitive glycine receptors in acutely isolated adult rat basolateral amygdala neurons. *Brain. Res.* 859 : 341—351. 2000.
- [115] *McCool B., Farroni J. S.* Subunit composition of strychnine-sensitive glycine receptors expressed by adult rat basolateral amygdala neurons. *Eur. J. Neurosci.* 14 : 1082—1090. 2001.
- [116] *Meyer G., Kirsch J., Betz H., Langosch D.* Identification of a Gephyrin Binding Motif on the Glycine Receptor p Subunit. *Neuron.* 15 : 563—572. 1995.
- [117] *Mihic S. J., Ye Q., Wick M. J., Koltchine V. V., Krasowski M. D., Finn S. E., Mascia M. P., Valenzuela C. F., Hanson K. K., Greenblatt E. P., Harris R. A., Harrison N. L.* Sites of alcohol and volatile anaesthetic action on GABA(A) and glycine receptors. *Nature.* 389 : 385—389. 1997.
- [118] *Miller P. S., Da Silva H. M., Smart T. G.* Molecular basis for zinc potentiation at strychnine-sensitive glycine receptors. *J. Biol. Chem.* 280 : 37 877—37 884. 2005.
- [119] *Miller P. S., Smart T. G.* Binding, activation and modulation of Cys-loop receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 31 : 161—174. 2010.
- [120] *Miyazawa A., Fujiyoshi Y., Unwin N.* Structure and gating mechanism of the acetylcholine receptor pore. *Nature.* 423 : 949—955. 2003.
- [121] *Mori M., Gähwiler B. H., Gerber U.* Alanine and taurine as endogenous agonists at glycine receptors in rat hippocampus in vitro. *J. Physiol.* 539 : 191—200. 2002.
- [122] *Morley D. J., Weaver D. D., Garg B. P., Markand O.* Hyperreflexia: an inherited disorder of the startle response. *Clin. Genet.* 21 : 388—396. 1982.
- [123] *Moss S. J., Smart T. G.* Constructing inhibitory synapses. *Nat. Rev. Neurosci.* 2 : 240—250. 2001.
- [124] *Mukhtarov M., Ragozzino D., Bregestovski P.* Dual Ca<sup>2+</sup> modulation of glycinergic synaptic currents in rodent hypoglossal motoneurons. *J. Physiol.* 569 : 817—831. 2005.

- [125] Müllhardt C., Fischer M., Gass P., Simon-Chazottes D., Guénet J. L., Kuhse J., Betz H., Becker C. M. The spastic mouse: aberrant splicing of glycine receptor beta subunit mRNA caused by intronic insertion of L1 element. *Neuron*. 13 : 1003—1015. 1994.
- [126] Nabekura J., Omura T., Akaike N. Alpha 2 adrenoceptor potentiates glycine receptor-mediated taurine response through protein kinase A in rat substantia nigra neurons. *J. Neurophysiol.* 76 : 2447—2454. 1996.
- [127] Newland C. F., Cull-Candy S. G. On the mechanism of action of picrotoxin on GABA receptor channels in dissociated sympathetic neurones of the rat. *J. Physiol.* 447 : 191—213. 1992.
- [128] Nigro M. A., Lim H. C. Hyperekplexia and sudden neonatal death. *Pediatr Neurol.* 8 : 221—225. 1992.
- [129] Pérez-Clausell J., Danscher G. Intravesicular localization of zinc in rat telencephalic boutons. A histochemical study. *Brain Res.* 337 : 91—98. 1985.
- [130] Pfeiffer F., Graham D., Betz H. Purification by affinity chromatography of the glycine receptor of rat spinal cord. *J. Biol. Chem.* 257 : 9389—9393. 1982.
- [131] Piomelli D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat. Rev. Neurosci.* 4 : 873—884. 2003.
- [132] Pless S. A., Millen K. S., Hanek A. P., Lynch J. W., Lester H. A., Lummis S. C., Dougherty D. A. A cation- $\pi$  interaction in the binding site of the glycine receptor is mediated by a phenylalanine residue. *J. Neurosci.* 28 : 10 937—10 942. 2008.
- [133] Pribilla I., Takagi T., Langosch D., Bormann J., Betz H., Pribilla I. The atypical M2 segment of the subunit confers picrotoxinin resistance to inhibitory glycine receptor channels. *EMBO J.* 11 : 4305—4311. 1992.
- [134] Rees M. I., Andrew M., Jawad S., Owen M. J. Evidence for recessive as well as dominant forms of startle disease (hyperekplexia) caused by mutations in the alpha 1 subunit of the inhibitory glycine receptor. *Hum. Mol. Genet.* 3 : 2175—2179. 1994.
- [135] Rees M. I., Harvey K., Pearce B. R., Chung S.-K., Duguid I. C., Thomas P., Beatty S., Graham G. E., Armstrong L., Shiang R., Abbott K. J., Zuberi S. M., Stephenson J. B., Owen M. J., Tijssen M. A., van den Maagdenberg A. M., Smart T. G., Supplisson S., Harvey R. J. Mutations in the gene encoding GlyT2 (SLC6A5) define a presynaptic component of human startle disease. *Nat. Genet.* 38 : 801—806. 2006.
- [136] Rees M. I., Lewis T. M., Kwok J. B. J., Mortier G. R., Govaert P., Snell R. G., Schofield P. R., Owen M. J. Hyperekplexia associated with compound heterozygote mutations in the beta-subunit of the human inhibitory glycine receptor (GLRB). *Hum. Mol. Genet.* 11 : 853—860. 2002.
- [137] Reichling D. B., Kyrozi A., Wang J., MacDermott A. B. Mechanisms of GABA and glycine depolarization-induced calcium transients in rat dorsal horn neurons. *J. Physiol.* 476 : 411—421. 1994.
- [138] Ruiz-Gómez A., Vaello M. L., Valdivieso F., Mayor F. Phosphorylation of the 48-kDa subunit of the glycine receptor by protein kinase C. *J. Biol. Chem.* 266 : 559—566. 1991.
- [139] Sagné C., El Mestikawy S., Isambert M. F., Hamon M., Henry J. P., Giros B., Gasnier B. Cloning of a functional vesicular GABA and glycine transporter by screening of genome databases. *FEBS Lett.* 417 : 177—183. 1997.
- [140] San Martín L., Cerda F., Jimenez V., Fuentealba J., Muñoz B., Aguayo L. G., Guzman L. Inhibition of the ethanol-induced potentiation of  $\alpha 1$  glycine receptor by a small peptide that interferes with G $\beta\gamma$  binding. *J. Biol. Chem.* 287 : 40 713—40 721. 2012.
- [141] Sassoè-Pognetto M., Wässle H., Grünert U. Glycinergic synapses bipolar cells express in the rod pathway of the rat retina: cone bipolar cells express the  $\alpha 1$  subunit of the glycine receptor. *J. Neurosci.* 14 : 5131—5145. 1994.
- [142] Saul B., Kuner T., Sobetzko D., Brune W., Hanefeld F., Meinck H. M., Becker C. M. Novel GLRA1 missense mutation (P250T) in dominant hyperekplexia defines an intracellular determinant of glycine receptor channel gating. *J. Neurosci.* 19 : 869—877. 1999.
- [143] Schmieden V., Kuhse J., Betz H. Agonist pharmacology of neonatal and adult glycine receptor alpha subunits: identification of amino acid residues involved in taurine activation. *EMBO J.* 11 : 2025—2032. 1992.
- [144] Schönrock B., Bormann J. Modulation of hippocampal glycine receptor channels by protein kinase C. *Neuroreport.* 6 : 301—304. 1995.
- [145] Shank R. P., Aprison M. H. The metabolism in vivo of glycine and serine in eight areas of the rat central nervous system. *J. Neurochem.* 17 : 1461—1475. 1970.

- [146] *Shiang R., Ryan S. G., Zhu Y. Z., Fielder T. J., Allen R. J., Fryer A., Yamashita S., O'Connell P., Wasmuth J. J.* Mutational analysis of familial and sporadic hyperekplexia. *Ann. Neurol.* 38 : 85—91. 1995.
- [147] *Shiang R., Ryan S. G., Zhu Y. Z., Hahn A. F., O'Connell P., Wasmuth J.* Mutations in the alpha 1 subunit of the inhibitory glycine receptor cause the dominant neurologic disorder, hyperekplexia. *Nat. Genet.* 5 : 351—358. 1993.
- [148] *Smart T. G.* Regulation of excitatory and inhibitory neurotransmitter-gated ion channels by protein phosphorylation. *Curr. Opin. Neurobiol.* 7 : 358—367. 1997.
- [149] *Song Y. M., Huang L. Y.* Modulation of glycine receptor chloride channels by cAMP-dependent protein kinase in spinal trigeminal neurons. *Nature.* 348 : 242—245. 1990.
- [150] *Specht C. G., Grünewald N., Pascual O., Rostgaard N., Schwarz G., Triller A.* Regulation of glycine receptor diffusion properties and gephyrin interactions by protein kinase C. *EMBO J.* 30 : 3842—3853. 2011.
- [151] *Sugiura T., Kondo S., Sukagawa A., Nakane S., Shinoda A., Itoh K., Yamashita A. W. K.* 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 215 : 89—97. 1995.
- [152] *Takahashi T., Momiyama A., Hirai K., Hishinuma F., Akagi H.* Functional correlation of fetal and adult forms of glycine receptors with developmental changes in inhibitory synaptic receptor channels. *Neuron.* 9 : 1155—1161. 1992.
- [153] *Tapia J. C., Espinoza F., Aguayo L. G.* Differential intracellular regulation of cortical GABA(A) and spinal glycine receptors in cultured neurons. *Brain Res.* 769 : 203—210. 1997.
- [154] *Tasneem A., Iyer L. M., Jakobsson E., Aravind L.* Identification of the prokaryotic ligand-gated ion channels and their implications for the mechanisms and origins of animal Cys-loop ion channels. *Genome Biol.* 6 : R4. 2005.
- [155] *Todd A. J., Watt C., Spike R. C., Sieghart W.* Colocalization of GABA, glycine, and their receptors at synapses in the rat spinal cord. *J. Neurosci.* 16 : 974—982. 1996.
- [156] *Turecek R., Trussell L. O.* Presynaptic glycine receptors enhance transmitter release at a mammalian central synapse. *Nature.* 411 : 587—590. 2001.
- [157] *Unwin N.* Structure and action of the nicotinic acetylcholine receptor explored by electron microscopy. *FEBS Lett.* 555 : 91—95. 2003.
- [158] *Unwin N.* Refined structure of the nicotinic acetylcholine receptor at 4Å resolution. *J. Mol. Biol.* 346 : 967—989. 2005.
- [159] *Vaello M. L., Ruiz-Gómez A., Lerma J., Mayor F.* Modulation of inhibitory glycine receptors by phosphorylation by protein kinase C and cAMP-dependent protein kinase. *J. Biol. Chem.* 269 : 2002—2008. 1994.
- [160] *Velázquez-Flores M. Á., Salceda R.* Glycine receptor internalization by protein kinases activation. *Synapse.* 65 : 1231—1238. 2011.
- [161] *Veruki M. L., Gill S. B., Hartveit E.* Spontaneous IPSCs and glycine receptors with slow kinetics in wide-field amacrine cells in the mature rat retina. *J. Physiol.* 581 : 203—219. 2007.
- [162] *Vesselkin N. P., Rio J. P., Adanina V. O., Repérant J.* GABA- and glycine-immunoreactive terminals contacting motoneurons in lamprey spinal cord. *J. Chem. Neuroanat.* 19 : 69—80. 2000.
- [163] *Vitanova L., Haverkamp S., Wässle H.* Immunocytochemical localization of glycine and glycine receptors in the retina of the frog *Rana ridibunda*. *Cell. Tissue. Res.* 317 : 227—235. 2004.
- [164] *Wang F., Xiao C., Ye J. H.* Taurine activates excitatory non-synaptic glycine receptors on dopamine neurones in ventral tegmental area of young rats. *J. Physiol.* 2 : 503—516. 2005.
- [165] *Wässle H., Heinze L., Ivanova E., Majumdar S., Weiss J., Harvey R. J., Haverkamp S.* Glycinergic transmission in the Mammalian retina. *Front. Mol. Neurosci.* 2 : 6. 2009.
- [166] *Wässle H., Puller C., Müller F., Haverkamp S.* Cone contacts, mosaics and territories of bipolar cells in the mouse retina. *J. Neurosci.* 29 : 106—117. 2009.
- [167] *Watanabe E., Akagi H.* Distribution patterns of mRNAs encoding glycine receptor channels in the developing rat spinal cord. *Neurosci Res.* 23 : 377—382. 1995.
- [168] *Webb T. I., Lynch J. W.* Molecular pharmacology of the glycine receptor chloride channel. *Curr. Pharm. Des.* 13 : 2350—2367. 2007.
- [169] *Wu W., Ziskind-Conhaim L., Sweet M. A.* Early Development Spinal Cord of Glycine- and GABA-mediated Synapses in Rat spinal cord. *J. Neurosci.* 12 : 3935—3945. 1992.

- [170] *Xu T.-L., Gong N.* Glycine and glycine receptor signaling in hippocampal neurons: diversity, function and regulation. *Prog. Neurobiol.* 91 : 349—361. 2010.
- [171] *Xu T. L., Nabekura J., Akaike N.* Protein kinase C-mediated enhancement of glycine response in rat sacral dorsal commissural neurones by serotonin. *J. Physiol.* 496 (Pt 2) : 491—501. 1996.
- [172] *Yang Z., Cromer B. A., Harvey R. J., Parker M. W., Lynch J. W.* A proposed structural basis for picrotoxinin and picrotin binding in the glycine receptor pore. *J. Neurochem.* 103 : 580—589. 2007.
- [173] *Yang Z., Taran E., Webb T. I., Lynch J. W.* Stoichiometry and subunit arrangement of  $\alpha\beta$  glycine receptors as determined by atomic force microscopy. *Biochemistry.* 51 : 5229—5231. 2012.
- [174] *Yévenes G. E., Zeilhofer H. U.* Molecular sites for the positive allosteric modulation of glycine receptors by endocannabinoids. *PLoS One.* 6 : e23886. 2011.
- [175] *Yévenes G. E., Moraga-Cid G., Romo X., Aguayo L. G.* Activated G Protein alpha Subunits Increase the Ethanol Sensitivity of Human Glycine Receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 339 : 386—393. 2011.
- [176] *Young A. B., Snyder S. H.* Strychnine binding associated with glycine receptors of the central nervous system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 70 : 2832—2836. 1973.
- [177] *Young T. L., Cepko C. L.* A Role for Ligand-Gated Ion Channels in Rod Photoreceptor Development. *Neuron.* 41 : 867—879. 2004.
- [178] *Zeilhofer H. U.* The glycinergic control of spinal pain processing. *Cell. Mol. Life Sci.* 62 : 2027—2035. 2005.
- [179] *Zhorov B. S., Bregestovski P. D.* Chloride channels of glycine and GABA receptors with blockers: Monte Carlo minimization and structure-activity relationships. *Biophys. J.* 78 : 1786—1803. 2000.
- [180] *Zhou Z. J.* A critical role of the strychnine-sensitive glycinergic system in spontaneous retinal waves of the developing rabbit. *J. Neurosci.* 21 : 5158—5168. 2001.

Поступила 27 I 2014