



К ВОПРОСУ О ВЕЗИКУЛЯРНОМ ПУЛЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ НЕЙРОТРАНСМИТТЕРОВ

БУДАНЦЕВ А. Ю.

Институт биологической физики АН СССР. Пущино

В кратком обзоре приводятся данные о синаптических везикулах, накапливающих аминокислотные нейротрансмиттеры. Отмечается, что одним из факторов, затрудняющих исследование везикулярного накопления аминокислот в синаптических везикулах, являются методические трудности, связанные с прямым выделением фракций везикул, специфично депонирующих аминокислоты. В обзоре обсуждается возможность использования переживающих срезов мозга (в частности гиппокампа) для идентификации и изучения динамики и механизмов накопления аминокислот-нейротрансмиттеров в синаптических везикулах с комплексным применением методов электрофизиологии, электронной микроскопии и функциональной биохимии (в частности с применением суперфузионных методов).

При изучении молекулярных механизмов и систем регуляции синаптического процесса, протекающего с участием аминокислотных нейротрансмиттеров (глутамат, аспартат, ГАМК и др.), одна из важнейших задач заключается в изучении механизмов высвобождения указанных нейротрансмиттеров при деполяризации мембран нервных окончаний.

Для катехоламинов и индоламинов (дофамин, норадреналин, адреналин, серотонин) четко показано, что они накапливаются в пресинаптическом пространстве в специальных синаптических везикулах (СВ) [1—4]; считается, что они высвобождаются в синаптическую щель в основном путем экзоцитоза. Для АХ также показано наличие везикулярного пула в пресинаптическом пространстве [5], однако вопрос о механизме высвобождения «синаптически активного» АХ из пресинаптического окончания еще не решен (под «синаптически активным» понимается тот пул нейротрансмиттера, который высвобождается при деполяризации мембран нервных окончаний). В последние годы дискутируется вопрос о везикулярно-экзоцитозном механизме высвобождения и неэкзоцитозном, цитозольном высвобождении АХ [6, 7].

Изучение возможности везикулярного накопления синаптически активных аминокислот-нейротрансмиттеров (глутаминовая кислота, ГАМК, глицин и др.) с использованием стандартных биохимических методов выделения фракции СВ сопряжено с рядом трудностей [2, 8].

В 1972 году в статье Rossin [9] было высказано сомнение о возможности связывания нейротрансмиттеров-аминокислот, в том числе и глутамата с синаптическими везикулами. Однако уже в 1973 году De Belloroche, Bradford [10] поставили вопрос о пересмотре такого представления и показали накопление целого ряда аминокислот в СВ, хотя при этом утверждали, что высвобождается скорее цитоплазматический, чем везикулярный пул аминокислот-нейротрансмиттеров (глутамат, аспартат, ГАМК и др.). В дальнейшем был получен ряд данных относительно везикулярного накопления нейротрансмиттеров-аминокислот на основе регистрации активного транспорта этих нейротрансмиттеров в СВ, выделенные из мозга: ГАМК [2], l-глутамата и других, аминокислот [8]. В ряде работ прямым биохимическим определением показано наличие аминокислотных нейротрансмиттеров в СВ [11—13], или их накопление в СВ после внутримозговой инъекции соответствующих аминокислот [14].

В результате детального исследования захвата глутамата СВ показано, что эти везикулы (диаметр—50 нм) очень чувствительны к механическим и химическим воздействиям [8]. Например, применение стеклянного гомогенизатора для перемешивания суспензии везикул приводит к уменьшению активности захвата глутамата везикулами на 60%. В целом процесс захвата глутамата СВ ничем в принципе не отличается от захвата других нейротрансмиттеров и является Ca^{2+} , Mg^{2+} и АТР-зависимым механизмом [15], сопряженным с функционированием H^{+} -насоса. Работа специфического переносчика «включается» при инициации Mg -АТР-индуцированного активного транспорта H^{+} внутрь СВ [16]. Однако может происходить и неспецифический захват глутамата в СВ, содержащих в норме другие нейротрансмиттеры. Это связано с тем, что пока не разработаны надежные способы получения фракции СВ из ткани мозга, специфических к захвату и депонированию какого-либо одного нейротрансмиттера, а результаты исследования захвата глутамата, приведенные выше, проводились на суммарных фракциях СВ, выделенных после «мягкой» гомогенизации.

Известна лишь одна работа, в которой при помощи иммуносорбции суммарной фракции СВ с кроличьей антисывороткой к нейроспецифическому белку-синапсину выделена фракция СВ, специфично накапливающая глутамат [17]. Выделенная «чистая» фракция СВ (диаметр везикул 35—40 нм) способна в присутствии Mg -АТР захватывать только глутамат, а не другие аминокислотные нейротрансмиттеры (l- и d-аспартат, глутамин, ГАМК). Активный захват глутамата сопровождается (или

инициируется) гидролизом АТР и не происходит в присутствии негидролизуемого аналога АТР— β , γ -метил-АТР.

Таким образом, можно отметить, что способы выделения СВ, накапливающих аминокислоты-нейротрансмиттеры синаптической передачи в мозгу высших животных еще далеко не совершенны, и полученные фракции представляют в основном интерес для изучения биохимических и биофизических свойств выделенных везикул. Вопрос же о наличии везикулярного пула аминокислот-нейротрансмиттеров в нервном окончании практически остается открытым, несмотря на описанные выше данные. В связи с этим необходимо совершенствование существующих способов биохимического анализа для доказательства наличия везикулярного пула аминокислотных нейротрансмиттеров или поиск и разработка новых подходов для решения этой задачи. Один из возможных путей для функционально-биохимического исследования везикулярного пула аминокислот-нейротрансмиттеров заключается в поиске и изучении СВ в синапсах идентифицированных нейронов, в которых роль нейротрансмиттеров выполняют аминокислоты. С этой точки зрения изучение глутаматсодержащих СВ можно проводить, например, в гигантских синапсах в поле CA_3 мшистых волокон зернистых нейронов зубчатой фассии переживающих срезов гиппокампа. Этот объект позволяет проводить комплексные исследования механизмов и регуляции глутаматергической синаптической передачи с использованием методов электрофизиологии, электронной микроскопии и функциональной биохимии (в частности, с применением суперфузионных методов).

Глутамат—нейротрансмиттер в гигантских синапсах в поле CA_3 гиппокампа?

Прямых данных о химической природе нейротрансмиттера в гигантских синапсах мшистых волокон в литературе нет, хотя вопрос о нейротрансмиттерах цепочки анториальная кора—перфорирующий путь—зубчатая фассия—мшистые волокна—пирамидные нейроны поля CA_2 —коллатерали Шаффера—пирамидные нейроны поля CA_1 являлся предметом многочисленных исследований.

В ряде работ показано, что перфорирующий путь к зубчатой фассии заканчивается синапсами, в котором нейротрансмиттером являются аспартат и глутамат [18—26]. Недавно показано, что глутамат может быть нейротрансмиттером в синапсах, образованных коллатералью Шаффера [27—28] и эфферентными путями от гиппокампа к переднему мозгу и гипоталамусу [29]. В работе Crawford, Connors [30] биохимически показано (мозг кошки), что в поле CA_3 в 2,5 раза уровень глутамата выше, чем в поле CA_1 и соответственно приблизительно на столько же выше активность дегидрогеназы L-глутаминовой кислоты. В противоположность этому концентрации аспартата в поле CA_1 и CA_3 почти одинаковы. При локальной стимуляции срезов (мшистые волокна) наблюдается увеличение высвобождения глутамата в суперфузат, но при сти-

муляции энторинальной коры это высвобождение сильно увеличивается (почти в 2 раза) [30]. Эти данные могут косвенно свидетельствовать, что нейротрансмиттером в синапсах мшистых волокон на пирамидных нейронах поля CA_3 может быть глутамат (в меньшей мере аспартат). При аппликации глутаминовой кислоты на срезы гиппокампа наблюдается возбуждение пирамидных нейронов через дендриты [31]. Представляют интерес работы, выполненные с действием канннковой кислоты на гиппокампальные нейроны. При инъекции канннковой кислоты в гиппокамп наблюдается преимущественно разрушение пирамидных нейронов в поле CA_3-CA_4 [32]. Хотя в настоящее время механизм действия канннковой кислоты до конца не выяснен и специфичность ее разрушительного действия на нейроны именно глутаматергической природы не доказана [33], тем не менее высокая чувствительность пирамидных нейронов поля CA_3-CA_4 к канннковой кислоте, циклическому аналогу глутаминовой кислоты, заслуживает внимания. При аппликации канннковой кислоты к срезам гиппокампа наблюдается деполяризация пирамидных клеток в поле CA_3 [34], которые также чувствительны к прямому микроионофоретическому подведению глутамата [35]. В нашей лаборатории Кузнецовым [36, 37] были модифицированы искусственные фосфолипидные мембраны (БЛМ) солюбилизатором синаптических окончаний мшистых волокон. Добавление к такой модифицированной БЛМ глутамата приводило к появлению дискретных скачков проводимости мембран величиной около 15 пОм, сопровождаемых изменением проницаемости для Na^+ , K^+ и Cl^- . Добавление к БЛМ диэтилового эфира глутаминовой кислоты (антагонист глутамата [38]) приводило к снижению на 50% проводимости, вызванной глутаматом. В результате этих экспериментов, изучения распределения цинка в гиппокампе и динамики изменения его концентрации при электрофизиологических стимуляциях было высказано предположение, что нейротрансмиттером в гигантских синапсах мшистых волокон может быть глутамат, находящийся в определенном динамическом комплексе с ионами цинка. При помощи иммуноцитохимического метода удалось прямо наблюдать везикулярное накопление глутамата и ГАМК в синапсах ЦНС млекопитающих, в частности глутамата в синаптических везикулах в гигантских синапсах мшистых волокон в поле CA_3 гиппокампа [39]. Однако при последующем ауторадиографическом анализе захвата L-глутамата, в области окончания мшистых волокон в поле CA_3 было показано небольшое число гранул серебра, что авторы связывают скорее с техническими причинами [40]. Кроме этого, на основе анализа данных [18] об отсутствии изменений содержания захвата и высвобождения L-глутамата в поле CA_3 после дегенерации гранулярных клеток высказывается предположение [40], что только в небольшой части поля CA_3 расположены гигантские синапсы мшистых волокон. Имеется, по крайней мере, одна работа, в которой показано, что в мшистых волокнах и гигантских синапсах зернистых клеток в поле CA_3 нейротрансмиттером не являются аминокислоты (глутамат или аспартат). Эти данные получены при аппликации антагонистов аминокислотных нейротрансмиттеров

(в случае глутамата—диэтиловый эфир глутаминовой кислоты) на переживающие срезы и регистрации ВПСР в поле CA_3 после стимуляции мшистых волокон [41].

Необходимо отметить, что в области str. lucidum поля CA_3 гистохимическими методами не обнаружены биогенные катехоламины, индоламины и активность АХЭ [42—46].

Таким образом, на основе приведенных данных можно сделать вывод, что имеющиеся к настоящему времени результаты могут свидетельствовать о том, что нейротрансмиттером в гигантских синапсах мшистых волокон в поле CA_3 гиппокампа является глутамат. В любом случае можно считать зернистые клетки зубчатой фасции гиппокампа идентифицируемыми нейронами, в нервных окончаниях которых функционирует возбуждающий нейротрансмиттер-аминокислота—глутамат.

Переживающие срезы гиппокампа—модель для изучения везикулярного пула глутамата в пресинаптическом пространстве

Переживающие срезы гиппокампа представляют удобный объект, позволяющий проводить комплексное прижизненное исследование синаптических процессов, в частности в области поля CA_3 (гигантские синапсы нейронов зубчатой фасции), с использованием методов электрофизиологии, электронной микроскопии и функциональной биохимии. Исследование ультраструктуры окончаний мшистых волокон в переживающих срезах гиппокампа показало, что наблюдается хорошая морфологическая сохранность срезов в течение длительного времени инкубации. При этом сохраняются электрофизиологические параметры синаптической передачи [47]. В связи с этим возникает вопрос: нельзя ли при определенной постановке экспериментов попытаться использовать переживающие срезы гиппокампа и комплексный электрофизиологический-электронномикроскопический и функционально-биохимический анализ гигантских синапсов в поле CA_3 для изучения возможности везикулярного накопления аминокислотных нейротрансмиттеров?

Приведем некоторые исследования, проведенные в нашей лаборатории В. В. Петуховым, Е. Н. Безгиной, В. И. Поповым (часть результатов опубликована [48, 49]). Эксперименты проводили на крысах-самцах^{*} линии Wistar массой 120—150 г. Переживающие срезы гиппокампа толщиной 300—400 мкм готовили на специальном резке [50], помещали в среду Кребса-Рингера следующего состава (в мМ): $NaCl$ —124; KCl —5; $CaCl_2$ —2; $MgSO_4$ —2; $NaHCO_3$ —26; KH_2PO_4 —1,25; глюкоза—10 (газовая фаза $O_2:CO_2$ —95%:5%; pH 7,4). После преникубации в течение 1,5 ч в протоке раствора Кребса-Рингера (200 мкл/мин) срезы переносили в экспериментальную проточную ячейку и с помощью вольфрамового микроэлектрода (диаметр кончика около 1 мкм) регистрировали спонтанную электрическую активность в пирамидном слое поля CA_3 . Срезы, обладающие такой активностью, то есть имеющие неритмические, одиночные или пачечные потенциалы с частотой 0,15—1 Гц, использовали в последующих 3 группах экспериментов.

В I-ой, контрольной серии опытов, проводили тестирующую стимуляцию зубчатой фасции одиночными импульсами с амплитудой 10—12 В и длительностью 0,1 мс и регистрацию ответов в области слоя пирамидных нейронов поля СА₁.

Во II-ой серии опытов после тестирующей стимуляции и регистрации ответов в поле СА₁ зубчатую фасцию подвергали тетанической стимуляции—частота 15—20 Гц, напряжение 10—12 В; время стимуляции—10—15 с. После такой стимуляции в поле СА₂ отмечалась посттетаническая потенциация.

В III-ей серии опытов после контрольного тестирования срезы подвергались «истощающей» стимуляции импульсами амплитудой 10—12 В и частотой 30—50 Гц. «Истощение» считалось достигнутым, если в течение 10 мин после такой стимуляции ответы в поле СА₂ не восстанавливались. Такое состояние достигалось за 30—60 мин «истощающей» стимуляции. В дополнительной серии опытов было показано, что приблизительно через 60 мин после достижения состояния истощения и отключения «истощающей» стимуляции восстанавливалось число ответов в поле СА₂ до 80—90% от исходного уровня.

Во всех трех сериях опытов после электрофизиологических измерений срезы фиксировались для электронномикроскопического анализа, как указано в работе Петушков, Попов [49].

Для морфологического анализа отбирали хорошо выраженные профили синаптических окончаний, в которых были отчетливо видны СВ, активная зона с межщелевым материалом и постсинаптическая мембрана с постсинаптическим уплотнением. Во всех экспериментах определяли удельную плотность везикул (число везикул на $\mu\text{м}^2$ профиля синаптического контакта), строили гистограмму распределения площадей СВ и рассчитывали их среднюю площадь. Все площади измеряли планиметром ПП-2. Статистическую оценку результатов проводили по критерию Стьюдента.

На рис. 1 представлены синаптические профили из str. lucidum поля СА₂ срезов гиппокампа (контроль). Как видно, площадь синаптических профилей плотно заполнена СВ, митохондриями и профилями шипиков, хорошо видны уплотнения активных зон. В пресинаптическом профиле СВ двух типов: большая часть везикулярных структур представлена мелкими везикулами округлой или слегка овальной формы, окруженными мембранами и имеющими «светлую» сердцевину. Меньшая часть везикул (практически одиночные везикулы в одном синаптическом профиле) содержит электронно-плотную сердцевину. Эти везикулы округлой формы, расположены беспорядочно в синаптическом профиле и приблизительно в два раза больше по диаметру, чем «светлые» мелкие везикулы. На рис. 2 представлены гистограммы размеров «светлых» везикул и везикул с электронно-плотной сердцевиной. Видно, что наибольшее количество «светлых» везикул имеет площадь в пределах 1000—2000 нм^2 (максимум 1200 нм^2 , что соответствует диаметру везикул, если принять их форму за окружность, равную 39 нм), а наибольшее число везикул с электрон-



Рис. 1. Синаптические профили в str. lucidum поля CA₁ срезов гиппокампа. Контроль. Увеличение 30,000. Стрелками показаны синаптические везикулы с электроно-плотной сердцевиной

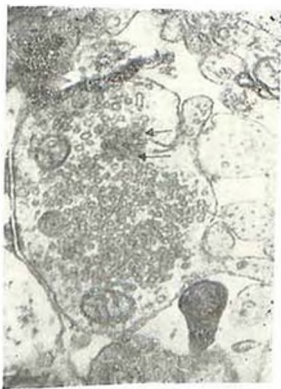


Рис. 3. Синаптические профили в str. lucidum поля CA₃ срезов гиппокампа. «Истощение». Увеличение 25,000. Стрелками показаны синаптические везикулы с электроно-плотной сердцевиной

но-плотной сердцевинной имеет площадь в пределах 2000—3000 нм² (максимум 300 нм²—диаметр 62 нм). Окаймленные везикулы в контрольных препаратах увидеть практически не удается. Расположение СВ на площади пресинаптического профиля равномерное, не видно какой-либо особой локализации везикул, например, не наблюдается сосредоточение их около активных зон.

	Контроль <i>n</i> = 34	Посттетани- ческая по- тенциация <i>n</i> = 33	"Истощение" <i>n</i> = 61	"Восстано- вление" <i>n</i> = 67
Число везикул на 1 мкм ² площади си- наптического профиля	256 ± 16,0 (100%)	232 ± 16,0 (90,6%)	171 ± 8,0 (66,8%)	227 ± 12,0 (88,7%)

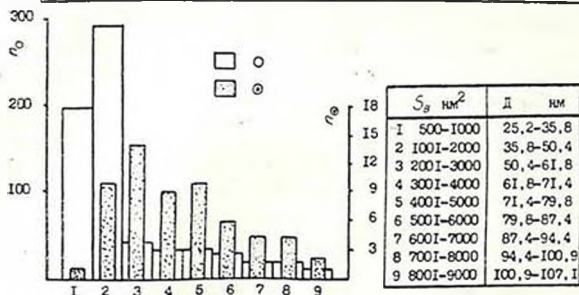


Рис. 2. Гистограмма размеров синаптических везикул (агранулярные — $\square$, гранулярные — $\circ$). S — площадь везикул, D — диаметр СВ. Вверху — изменение числа везикул на 1 мкм² синаптических профилей при различных функциональных состояниях переживающих срезов гиппокампа

При посттетанической потенциации количество «светлых» везикул заметно уменьшается, они становятся несколько сморщенными, окружающие их мембраны неравномерно электронно-плотными, хотя размеры везикул не изменяются. Меньшие изменения претерпевают везикулы с плотной сердцевинной. Необходимо отметить, что за поведением этого пула везикул, также как за «одетыми» везикулами, следить очень трудно из-за их небольшого количества. Изменение общей локализации везикул по площади синаптического профиля (по сравнению с контролем) не наблюдается.

В состоянии «истощения» (рис. 3) количество «светлых» везикул резко уменьшается. Оставшиеся везикулы имеют приблизительно такую же морфологию и распределение по площади синаптического профиля, как и в состоянии «посттетанической потенциации».

Таким образом, в гигантских синапсах мшистых волокон в поле СА₃ гиппокампа, согласно нашим данным, имеются СВ двух типов: мелкие со «светлой» сердцевинной (агранулярные) и крупные с электронно-плотной сердцевинной (гранулярные). После электрической стимуляции

зернистых клеток зубчатой фасции наблюдается уменьшение популяции мелких агранулярных везикул в гигантских синапсах в поле СА₃ гиппокампа и при блокировании синаптической передачи в случае «истощающей» стимуляции в гигантских синапсах сохранялось 60% указанных везикул.

Как было показано выше, в гигантских синапсах мшистых волокон в поле СА₃ гиппокампа в качестве нейротрансмиттера функционирует глутамат. В связи с этим можно предположить, что глутамат в этих синапсах содержится в синаптических агранулярных везикулах диаметром 40 нм, причем «синаптически активный» нейротрансмиттер локализован в 40% всей популяции указанных СВ. Размеры СВ в наших наблюдениях практически аналогичны результатам электронно-микроскопических исследований синаптических везикул в глутаматергических возбуждающих синапсах на соматических мышцах у членистоногих ($44,8 \pm 2$ нм) [51] и СВ, накапливающих глутамат, выделенных из мозга быка при помощи иммуносорбции с антисывороткой к синапсину [17].

Вопрос о функциональном значении крупных гранулярных везикул остается открытым. Как указывалось выше, в слое пирамидных нейронов поля СА₃ биогенных моноаминов и АХ не обнаружено. По-видимому, этот тип везикул не связан с цинксодержащими структурами, выделяемыми в гигантских синапсах при гистохимической реакции Тимма [37]. В последние годы в мшистых волокнах иммуногистохимически обнаружен энкефалин [52—54], хотя наибольшее количество иммунореактивных структур обнаружено в тонких волокнах, локализованных в зоне под слоем пирамидных нейронов в поле СА₃, то есть пока нет данных о локализации энкефалина непосредственно в гигантских синапсах мшистых волокон. Из-за небольшого количества крупных гранулярных везикул в рассматриваемых синапсах невозможно точно определить их поведение при истощающей стимуляции, хотя можно отметить, что их количество в изученных синапсах в состоянии «истощения» уменьшается.

На основе только электронно-микроскопических данных практически невозможно установить какой механизм высвобождения нейротрансмиттера действует в рассматриваемых синапсах: экзоцитозный или неэкзоцитозный, хотя в ряде случаев наблюдаются типичные для экзоцитоза омегаподобные профили, отражающие взаимодействие пресинаптической мембраны и мембраны СВ. Необходимо отметить, что, если все приведенные утверждения справедливы, гигантские синапсы мшистых волокон гиппокампа при изучении на переживающих срезах являются перспективной модельной системой для изучения везикулярного накопления (и высвобождения) глутамата в синапсах с использованием сочетания биохимического анализа (суперфузионные методы) с фармакологическими, электрофизиологическими и электронно-микроскопическими методами [55].

В обзоре Dingleline приводятся данные о доказательствах глутамат-аспартатной природы нейротрансмиттеров в синапсах, образованных коллатералью Шаффера в str. radiatum поля СА₁ гиппокампа и высказывается сомнение относительно того, что в гигантских синапсах мшистых

волокон нейротрансмиттерами являются глутамат или аспартат [56]. В связи с этим на срезах гиппокампа анализ везикулярного пула накопления аминокислотных возбуждающих нейротрансмиттеров с использованием нашего подхода можно проводить не только на гигантских синапсах мышечных волокон в поле CA_3 гиппокампа, но и в поле CA_1 в зоне окончания коллатералей Шаффера.

ON THE VESICULAR POOL OF NEUROTRANSMITTER AMINO ACIDS

BUDANTSEV A. Yu.

Institute of Biological Physics, USSR Acad. Sci., Pushino, Moscow Region, USSR

The data about synaptic vesicles that accumulate neurotransmitter amino acids are reviewed. It has been noted that methodological difficulties connected with the direct extraction of vesicles fractions specifically depositing aminoacids were among the factors impeding the studies of neurotransmitter amino acids accumulation in vesicles. The possibility to use surviving brain slices (in particular, that of hippocampus) for the identification and investigation of the dynamics and mechanisms of neurotransmitter amino acids accumulation in synaptic vesicles with the combined application of electrophysiology, electron microscopy and functional biochemistry techniques (specifically superfusing methods) are discussed.

ЛИТЕРАТУРА

1. Philippu A., Beyer J. Naunyn-Schmeidebergs Arch. exp. Path. Pharmac., v. 278 p. 387—402, 1973.
2. Philippu A., Matthaei H. Naunyn-Schmeidebergs Arch. exp. Path. Pharmac., v. 287, p. 191—204, 1975.
3. Slotkin T. A., Salvaggio M., Lan C., Kirksey D. F. Life Sci., v. 22, p. 823—830, 1978.
4. Blanchet B. K., Takimoto G. S. Life Sci., v. 34(7), p. 607—615, 1981.
5. Тучек С. Синтез ацетилхолина в нейронах, М., Мир, 1981.
6. Giompres P. E., Zimmermann H., Whittaker V. P.—In: Ontogenesis and Functional mechanisms of peripheral synapses (ed. J. Taxi). INSEBM Symposium, № 13, p. 91—93, Elsevier/North—Holland Biomedical Press, Amsterdam, 1980.
7. Dunant Y., Corthay J., Eder L., Loctin F.—In: Ontogenesis and Functional mechanisms of peripheral synapses (ed. J. Taxi). INSEBM Symposium, № 13, p. 99—108, Elsevier/North—Holland Biomed. Press, Amsterdam, 1980.
8. Karpplinen A., Lahdesmaki P. Cell and Mol. Biol., v. 25, № 3, p. 195—202, 1979.
9. Rossin D. K. J. Neurochem., v. 19, p. 139—143, 1972.
10. De Bellorocche J. S., Bradford H. F. J. Neurochem., v. 21, p. 441—451, 1973.
11. Kurtyama K., Roberts E., Kakefuda T. Brain Res., v. 8, 132—152, 1968.
12. Lahdesmaki P., Karpplinen A., Saarni H., Winter R. Brain Res., v. 138, p. 295—308, 1977.

13. Zisapel N., Zurgil N. *Life Sci.*, v. 23, p. 231—236, 1978.
14. Karppinen A., Kumpulainen E., Lahdesmaki P. *Acta physiol.-scand.*, v. 105, № 2, p. 156—162, 1979.
15. Maito S., Ueda T. *J. Neurochem.*, v. 44, p. 99—109, 1985.
16. Глэбоу Р. Н., Мельник В. И., Титов С. Ю. *Биохимия*, т. 52, № 11, с. 1818—1828, 1987.
17. Naito S., Ueda T. *J. Biol. Chem.*, v. 258, p. 696—699, 1983.
18. Nadler J. V., Vaca K. W., White W. F., Lynch G. S., Cotman C. W. *Nature*, v. 260, p. 538—540, 1976.
19. Nadler J. V., White W. F., Vaca K. W., Redburn D. A., Cotman C. W. *J. Neurochemistry*, v. 29, p. 279—290, 1977.
20. Nadler J. V., Smith E. M. *Neurosci. Lett.*, v. 25, № 3, p. 275—280, 1981.
21. Segal M. *Brit. J. Pharmacol.*, v. 58, № 3, p. 341—345, 1976.
22. White W. F., Nadler J. V., Hamberger A., Cotman C. W., Cummins J. T. *Nature*, v. 270, p. 356—357, 1977.
23. Sandoval M. E., Horch P., Cotman C. W. *Brain Res.*, v. 142, p. 285—299, 1978.
24. Hicks T. P., McLennan H. *Can. J. Physiol. and Pharmacol.*, v. 57, № 9, p. 973—979, 1979.
25. Cotman C. W., Nadler J. V.—In: *Glutamate: Transmitter in the central nervous system* (eds. Roberts P. J., Storm-Mathisen J., Johnston G. A. R.), Wiley, Sons, Chichester, 1981.
26. Di Lamo A., Schmidt R. W., Meek J. L. *Brain Res.*, v. 207, p. 476—480, 1981.
27. Baudry M., Oliver M. *Life Sci.*, v. 27, № 4, p. 325—330, 1980.
28. Van Harreveld A., Strumwasser F. *Neuroscience*, v. 6, № 12, p. 2495—2503, 1981.
29. Walaas I., Fonnum F. *Neuroscience*, v. 5, № 10, p. 1691—1698, 1983.
30. Crawford J. L., Connor J. D. *Nature*, v. 244, p. 442—443, 1973.
31. Dudar J. D. *Neuropharmacology*, v. 13, p. 1083—1089, 1974.
32. Nadler J. V., Evenson D. A., Cuthbertson G. J. *Neuroscience*, v. 6, № 12, p. 2505—2517, 1981.
33. Coyle J. T. *Trends Neurosci.*, v. 1, № 2, p. 132—135, 1978.
34. Robinson J. H., Dedwyler S. A. *Brain Res.*, v. 221, № 1, p. 117—127, 1981.
35. Biscoe T. J., Stranghach D. W., *J. Physiol.*, v. 183, p. 341—350, 1966.
36. Кузнецов В. И., Мошленский Д. Н. *Studia biophysica (Berlin)* Bd. 49, № 1, S. 61—66, 1975.
37. Кузнецов В. И.—В сб. *Нейрохимия и физиология синаптических процессов* (под ред. А. Ю. Будагцева), с. 26—47, Пушкино, 1976.
38. Lunt G. G., Stefani E., De Robertis E. J. *Neurochem.*, v. 18, p. 1545—1551, 1971.
39. Storm-Mathisen J., Leknes A. K., Bore A. T., Vaaland J. L., Edminson P., Hang F.—M. S., Ottersen O. P. *Nature*, v. 301, № 5900, p. 517—520, 1983.
40. Taxt T., Storm-Mathisen J. *Neuroscience*, v. 14, № 1, p. 79—100, 1984.
41. White W. F., Nadler J. V., Cotman C. W. *Brain Res.*, v. 164, p. 177—194, 1979.
42. Pohle N., Matthies H. *Acta biol. et Med. germ.*, v. 25, p. 447—455, 1970.
43. Moore K. J., Mialaret A. E. *J. Comp. Neurol.*, v. 164, p. 171—184, 1975.
44. Будагцев А. Ю. *Моноэнергетические системы мозга* М., Наука, 1976.
45. Azmatia E., Segal M. J. *Comp. Neurol.*, v. 179, p. 641—648, 1978.
46. Valdes F., Fanelli R. J., McNamara J. O. *Life Sci.*, v. 29, p. 1895—1900, 1981.
47. Frotscher M., Malsgud U., Nitsch C. *Exp. Brain Res.*, v. 41, p. 247—255, 1981.
48. Попов В. И., Петухов В. В. *Докл. АН СССР*, т. 265, с. 1005—1009, 1982.
49. Petukhov V. V., Popov V. I. *Neuroscience*, v. 18, № 4, p. 823—835, 1986.
50. Будагцев А. Ю. *Авт. свид. № 1141303, Бюлл. изобр.*, № 7, 128, 1985.
51. Sherman R. G., Atwood H. L. *J. Gen. Physiol.*, v. 59, p. 586—615, 1972.
52. Fitzpatrick D., Johnson R. P. *Neuroscience*, v. 6, № 12, p. 2485—2498, 1981.

53. Gall C., Brecha N., Karten H. J., Chang D. J. *Comp. Neurol.* v. 198, p. 335—350, 1981.
54. Stenglard-Pedersen K., Fredens K., Larsson L. I. *Brain Res.* v. 212, № 1, p. 230—233, 1981.
55. Буданцев А. Ю. Микротом МНТ-84—срезы нативной ткани—прижизненные исследования на молекулярно-клеточном уровне. Информационный материал. Изд. ОНТИ НЦБИ АН СССР, г. Пушкино, 1985.
56. Dingledine R. In: *Brain Slices* (ed. R. Dingledine), p. 87—112, Plenum Press, New York, London, 1984.

Поступила 12. IV 1988