

УДК 577.352.4

Влияние ингибирования поли (АДФ-рибозо) полимеразы-1 на уровень внутриклеточного кальция, АТФ и выживаемость культивируемых нейронов мозжечка крысы при гиперстимуляции глутаматных рецепторов

Сорокина Е.Г.¹, Черненко М.А.¹, Красильникова И.А.¹, Реутов В.П.², Пинелис В.Г.¹, Сурин А.М.^{1,3}

¹ Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

119991, Москва, Ломоносовский пр., д. 2, стр.1

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

«Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии» Российской академии наук.

117485, Москва, ул. Бултерова д. 5А

³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Актуальность. Изучение механизмов действия ингибиторов ядерного фермента поли (АДФ-рибозо) полимеразы-1 (PARP-1) на динамику изменения внутриклеточной концентрации Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$), содержание АТФ в нейронах и их выживаемость при избыточной стимуляции глутаматных рецепторов способствует пониманию биохимических процессов при инсультах мозга и подбору препаратов для терапии последствий. **Цель.** Определить изменения $[Ca^{2+}]_i$, концентрации АТФ ([АТФ]) и выживаемости клеток при одновременном действии токсических концентраций глутамата (Glu) и ингибиторов PARP-1, и выяснить возможность участия нейрональной NO-синтазы (nNOS) в активации PARP-1. **Методы и материалы.** Исследование выполнено с использованием 7-8 дневных первичных культур нейронов мозжечка крысы. Изменения $[Ca^{2+}]_i$ определяли методом флуоресцентной микроскопии с помощью Fura-FF. Содержание [АТФ] измеряли с использованием люциферин-люциферазной биOLUMИнесценции. Выживаемость нейронов оценивали с помощью МТТ-теста по восстановлению соли тетразолия до формазана. Активность PARP-1 и nNOS контролировали с помощью ингибиторов. **Результаты.** Показано, что ингибиторы PARP-1 миноциклин (0,2 мкМ) и бензамид (1 мМ) отдалают наступление индуцированной глутаматом отсроченной кальциевой дисрегуляции, уменьшают понижение внутриклеточной [АТФ] и увеличивают выживаемость культивируемых нейронов. Ингибитор nNOS 7-нитроиндазол (100мкМ) оказывал на [АТФ] и выживаемость нейронов эффекты, аналогичные ингибиторам PARP-1. **Выводы.** Положительное действие ингибиторов PARP-1 и nNOS на выживаемость клеток, подвергнутых токсическому действию Glu, обусловлено, вероятно, тем, что ингибиторы поддерживают более высокую [АТФ] во время и после прекращения воздействия Glu, позволяя большей доле нейронов в культуре восстановить ионный гомеостаз.

Ключевые слова: нейроны мозжечка; рецепторы глутамата; PARP-1; кальций; АТФ; ингибиторы; NO-синтаза.

Для цитирования: Сорокина Е.Г., Черненко М.А., Красильникова И.А., Реутов В.П., Пинелис В.Г., Сурин А.М. Влияние ингибирования поли (АДФ-рибозо) полимеразы-1 на уровень внутриклеточного кальция, АТФ и выживаемость культивируемых нейронов мозжечка крысы при гиперстимуляции глутаматных рецепторов. Патогенез. 2018; 16(4): 168–173

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.04.168-173

Для корреспонденции: Сурин Александр Михайлович, e-mail: surin_am@mail.ru

Финансирование. Исследование поддержано грантами РФФИ 17-00-00106, 16-04-00792, 18-015-00450. Эксперименты по нейротоксичности выполнены при поддержке гранта РНФ 17-15-01487.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Авторы сердечно благодарят О.Ю. Лисину за помощь при подготовке статьи.

Поступила: 17.10.2018

Effect of poly (ADP-ribose) polymerase-1 inhibition on concentrations of intracellular calcium and ATP and survival of cultured rat cerebellar neurons in overstimulation of glutamate receptors

Sorokina E.G.¹, Chernenko M.A.¹, Krasilnikova I.A.¹, Reutov V.P.², Pinelis V.G.¹, Surin A.M.^{1,3}

¹ National Medical Research Center of Children's Health,

Lomonosovskii Prospekt 2, Bld. 1, Moscow 119991, Russian Federation

² Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the Russian Academy of Sciences,

Butlerova Str. 5A, Moscow 117485, Russian Federation

³ Institute of General Pathology and Pathophysiology,

Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

Background. Studying mechanisms of the nuclear enzyme, poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1), inhibition on changes in intracellular Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) and ATP [ATP] concentrations in neurons provides understanding of biochemical processes in stroke and helps selection of drugs for the treatment of consequences of glutamate hyperexcitability. **Aim.** To determine changes in $[Ca^{2+}]_i$, [ATP], and cell survival under a simul-

taneous action of toxic concentrations of glutamate (Glu) and PARP-1 inhibitors, and to elucidate a possibility of neuronal NO synthase (nNOS) contribution to the PARP-1 activation. **Methods and materials.** Changes in $[Ca^{2+}]_i$ were studied using fluorescence microscopy. The [ATP] was measured using luciferin-luciferase bioluminescence. Survival of neurons was assessed using the MTT assay based on reduction of a tetrazolium salt into formazan. **Results.** The PARP-1 inhibitors, minocycline (0.2 μ M) and benzamide (1 mM), delayed the onset of the secondary rise of $[Ca^{2+}]_i$ (delayed calcium dysregulation), limited the Glu-induced decrease in intracellular [ATP], and improved survival of cultured neurons. The nNOS inhibitor, 7-nitroindazole (100 μ M), exerted effect on [ATP] and neuron survival similar to those of PARP-1 inhibitors. **Conclusion.** The positive effects of PARP-1 nNOS inhibitors on cell survival were presumably due to the fact that the inhibitors maintained a higher [ATP] during and after the end of the toxic Glu action, which allowed a greater proportion of cultured neurons to restore the ion homeostasis.

Key words: cerebellar neurons; glutamate receptors; calcium; ATP; PARP-1; NO-synthase; inhibitors.

For citation: Sorokina E.G., Chernenko M.A., Krasilnikova I.A., Reutov V.P., Pinelis V.G., Surin A.M. [Effect of poly (ADP-ribose) polymerase-1 inhibition on concentrations of intracellular calcium and ATP and survival of cultured rat cerebellar neurons in overstimulation of glutamate receptors]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2018; 16(4): 168-173 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.04.168-173

For correspondence: Surin Alexander Mikhailovich, e-mail: surin_am@mail.ru

Funding. The research was supported by RFBR grants 17-00-00106, 16-04-00792, 18-015-00450. The neurotoxicity experiments were carried out with the support of the grant of the Russian Science Foundation 17-15-01487.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The authors heartily thank O.Yu.Lisina for help in preparing the article.

Received: 17.10.2018

Введение

Гиперстимуляция глутаматных рецепторов, возникающая при инсульте, черепно-мозговой травме, эпилепсии и некоторых нейродегенеративных заболеваниях, приводит к развитию каскада патологических изменений, существенную роль в которых играют нарушения ионного гомеостаза, образование свободных радикалов и дисфункция митохондрий нейронов [1, 2]. Следствием этих нарушений является повреждение и гибель нейронов. Длительное воздействие глутамата (Glu) на первичные нейрональные культуры вызывает двухфазный подъем внутриклеточной концентрации свободных ионов кальция ($[Ca^{2+}]_i$). Вторичный подъем $[Ca^{2+}]_i$ (отсроченная кальциевая дисрегуляция, ОКД) возникает всегда синхронно с сильной митохондриальной деполяризацией и завершается гибелью нейронов [1-3]. Токсическое действие Glu стимулирует образование в нейронах активных форм кислорода (АФК) и активирует NO-синтазы (NOS). Активация нейрональной (nNOS) и индуцибельной (iNOS) NOS в нейронах и глии приводит к увеличению содержания оксида азота (\bullet NO). При нарушении циклов оксида азота и наличии высоких концентраций АФК \bullet NO быстро превращается в короткоживущий пероксинитрит ($ONOO^-$), распадающийся на чрезвычайно реакционно-способные диоксид азота (\bullet NO₂) и \bullet OH-радикал [4], способные повреждать многие функциональные и структурные компоненты клеток [4], в том числе ДНК [5].

Длительное повышение $[Ca^{2+}]_i$ и $[\bullet$ NO] и последующее повреждение структуры ДНК вызывает гиперактивацию ядерного фермента поли (АДФ-рибозо) полимеразы (PARP-1) [4, 5]. Избыточная активация PARP-1, входящего в систему репарации ДНК, может приводить к энергетическому коллапсу в результате деэнергизации митохондрий из-за избыточного расхода NAD^+ [5] и ингибирования поли (АДФ-рибозой) начального фермента гликолиза гексокиназы [6].

Ранее было установлено, что ингибиторы PARP-1 защищают культивируемые нейроны от повреждения и гибели при гиперстимуляции Glu рецепторов [2]. В настоящей

работе исследовано влияние ингибиторов PARP-1 и NOS на нарушения Ca^{2+} гомеостаза, снижение [АТФ] и выживаемость клеток в первичных культурах гранулярных нейронов мозжечка при эксайтотоксическом действии Glu.

Материалы и методы исследования

Для приготовления культуры зернистых клеток мозжечка использовали ранее описанную методику [3, 7]. Эксперименты с животными выполняли в соответствии с этическими принципами и нормативными документами, рекомендованными Европейским научным фондом (ESF) и декларацией о гуманном отношении к животным. Кратко: 7-8 дневных крыс анестезировали, декапитировали, выделенные мозжечки трипсинизировали, отмывали раствором Хенкса, а затем культуральной средой NBМ (Neurobasal Medium, «Gibco», США). Клетки диспергировали до получения однородной суспензии, центрифугировали, осажденные клетки ресуспендировали в NBМ и высаживали на покровные стекла или лунки планшетов из расчета (0,4-0,5) \times 10⁶ кл./мл. Клетки использовали после достижения культурами 7-11-дневного возраста.

Для определения $[Ca^{2+}]_i$ культивируемые нейроны нагружали низкоаффинным Ca^{2+} индикатором Fura-FF в форме ацетоксиметилового (AM) эфира (2 мкМ, 50 мин, 37°C). Изменения митохондриального потенциала ($\Delta\Psi_m$) отслеживали, окрашивая клетки потенциал-чувствительным зондом Rh123 (2,5 мкг/мл, 15 мин, при 37°C). Измерения выполнены при 27-29°C в буфере, содержащем (мМ): 135 NaCl, 5 KCl, 2 CaCl₂, 1 MgCl₂, 20 HEPES, 5 D-глюкозы; pH 7,4. Измерения $[Ca^{2+}]_i$ проводили на установке, включающей инвертированный микроскоп Olympus IX -71, систему освещения Sutter Labmda 10-2 с 175 Вт ксенонной лампой (Sutter Instruments, США) и CCD-камеру CoolSNAP HQ2 (Photometrics, США), управляемых с помощью компьютерной программы MetaFluor (Molecular Devices, США).

Для определения содержания АТФ использовали метод люциферин-люциферазной биoluminesценции

с помощью плашечного ридера-люминометра Lucy-1 («Antos», Австрия), как описано ранее [7]. Воздействие 100 мкМ Glu осуществляли в растворе, не содержащем Mg^{2+} , в течение 30 мин в присутствии 10 мкМ глицина при 23-25°C. Для ингибирования PARP-1 использовали 0,2 мкМ миноциклин (Mcp) и 3мМ бензамид (BA). В качестве ингибитора nNOS применяли 7-нитроиндазол (NI, 100 мкМ).

Определение доли нейронов, выживших через 24 часа после воздействия Glu (100 мкМ, 30 мин.) и ингибиторов PARP-1 и nNOS, проводили с помощью МТТ-теста по восстановлению соли тетразолия МТТ до сильно поглощающего свет формазана. Микроагрегаты формазана, образовавшиеся в клетках, растворяли в диметилсульфоксиде и измеряли поглощение растворов в 96-луночной плашке на ридере Униплан (Россия) при $\lambda = 530$ нм. Долю выживших клеток (%) оценивали как отношение оптических плотностей исследуемого образца к поглощению раствора формазана в контрольных лунках.

Сигналы Fura-FF, Rh-123, АТФ-зависимой биолюминесценции и результаты МТТ-теста обрабатывали, используя программы Excel-2007, Prism-4 и методы вариационной статистики. В каждой серии экспериментов одна выборка состояла из 3-5 опытов, выполненных в разные дни. В состав каждого опыта входило 3-4 образца сестринских культур.

Флуоресцентный Ca^{2+} индикатор Fura-FF/AM и потенциал-чувствительный зонд Rh123 приобретены у ThermoFisher (США). АТФ определяли методом биолюминесценции с помощью аналитического набора («Promega», США). Количество белка в лунках при анализе содержания АТФ определяли по методу Брэдфорда с использованием наборов («Fluka», «Sigma-Aldrich»). Остальные реагенты – фирмы «Sigma» (США).

Результаты исследования

Влияние миноциклина и бензамида на изменения $[Ca^{2+}]_i$, индуцированные Glu.

Изменения $[Ca^{2+}]_i$, индуцированные Glu (100 мкМ, 10 мкМ глицина, 0 Mg^{2+}) в гранулярных нейронах мозжечка крысы, имеют двухфазный характер (рис.1, А, В, Д). Длительное воздействие Glu вызывает сначала быстрый подъем $[Ca^{2+}]_i$, который стабилизируется на уровне 1-3мкМ [3]. После латентного периода (лаг-периода), продолжительность которого индивидуальна для каждой клетки и находится в диапазоне от единиц до десятков минут (рис. 1, А), в нейронах развивается вторичный подъем $[Ca^{2+}]_i$, так называемая, ОКД.

Развитие ОКД сопряжено, по крайней мере, отчасти с дефицитом АТА в цитозоле [8], причиной которого может быть исчерпание NAD^+ в результате гиперактивации PARP-1. Для проверки эффекта ингибиторов PARP-1 на ОКД в культивируемых нейронах из мозжечка мы использовали миноциклин (Mcp, 200 мкМ) и бензамид (BA, 1 мМ). Наиболее часто применяемым ингибитором служит BA, который имеет $IC_{50} = 3,3$ мкМ. Mcp является самым высокоаффинным ингибитором PARP-1 и имеет константу ингибирования ~ 14 нМ [9].

Добавление Mcp или BA к покоящимся нейронам не приводило к заметным изменениям $[Ca^{2+}]_i$ (рис. 1, Б, В) и митохондриального потенциала (не показано). Спустя 30 мин. после добавления Glu развитие ОКД отмечалось у 65,8% (25/38) нейронов, тогда как в присутствии BA и Mcp ОКД развивалась за тот же промежуток времени, соответственно, в 25,6% (10/39) и 56,5% (26/46) нейронов (рис. 1, Г). Дальнейшая инкубация нейрональных культур с одним Glu или в присутствии указанных ингибиторов PARP-1 увеличивало долю клеток, имевших ОКД, нивелируя отличия Ca^{2+} ответов на Glu между контролем и в присутствии ингибиторов PARP-1. Например, к концу первого часа действия Glu ОКД наступала у 84,2% контрольных клеток и в 51,3% и 82,6% нейронов в присутствии BA и Mcp (рис. 1). Отметим, что добавление ингибиторов PARP-1 не исказило динамику роста $[Ca^{2+}]_i$ от начала ОКД до момента выхода на высокое $[Ca^{2+}]_i$ плато. В каждом отдельном нейроне этот процесс длился около 400 с (рис. 1, А, Б, В), как при действии одного Glu, так и в присутствии BA или Mcp.

Нейротоксическое действие Glu вызывает 2-3-кратное снижение внутриклеточной [АТФ] [1]. Развитие ОКД связывают с энергетическим дефицитом, вызванным чрезмерным расходом NAD^+ ферментом PARP-1 [2], без которого невозможен синтез АТФ как в цитозоле, так и в митохондриях. Поэтому мы проверили, могут ли ингибиторы PARP-1 предотвращать падение [АТФ], вызванное Glu.

Влияние ингибиторов PARP-1 и NO-синтазы на содержание АТФ в нейронах мозжечка при действии Glu.

В покоящихся культивируемых нейронах (7-8 DIV) [АТФ] составила $5,05 \pm 0,35$ нмоль/мг белка (принят далее за 100%), и Glu (100 мкМ, 30 мин) понижал ее до $40,4 \pm 5,7\%$ (рис. 2, А). Ингибирование PARP-1 с помощью Mcp во время действия Glu нейронов увеличивало [АТФ] до $60,8 \pm 8,2\%$ от контроля, предотвращая снижение [АТФ] на 20% ($p < 0,05$ по сравнению с Glu) (рис. 2, А). Еще более выраженное защитное действие оказывал BA, увеличивая содержание АТФ до $76 \pm 9\%$ (более чем на 30% по сравнению с Glu, $p < 0,05$) (рис. 2, А).

Чрезмерное стимулирование ионотропных рецепторов Glu приводит к активации NOS и росту внутриклеточного оксида азота ($\bullet NO$), продукты дальнейшего окисления которого нарушают структуру ядерной ДНК и избыточно активируют PARP-1 [4-6]. Поэтому мы проверили, могут ли ингибиторы NOS предотвращать снижение [АТФ]. Действительно, ингибитор nNOS 7-нитроиндазол (NI, 100 мкМ) уменьшал падение [АТФ], вызванное Glu, и эффект NI находился в соответствии с действием Mcp и BA: введение в инкубационную среду NI снижало Glu-индуцированное падение [АТФ] на 24% ([АТФ] увеличивалась с $40,4 \pm 5,7\%$ до $64,0 \pm 9,1\%$, $p < 0,05$) (рис. 2, А). Полученные результаты находятся в соответствии с опубликованными ранее сравнительными исследованиями индуцированных Glu изменений [АТФ] в молодых и зрелых культурах [7].

Сопоставление $[Ca^{2+}]_i$ ответов нейронов на Glu с последующими морфологическими изменениями этих

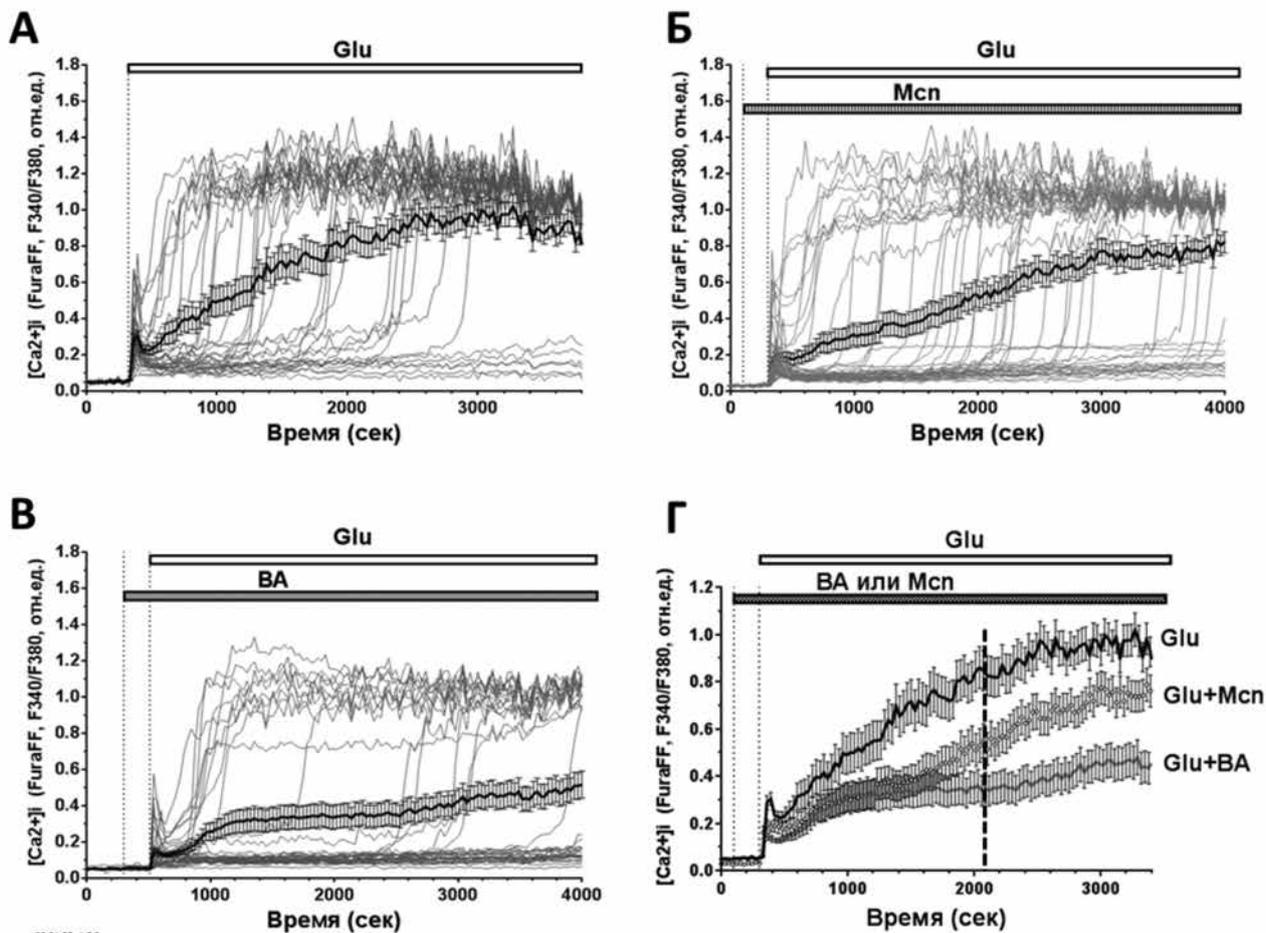


Рис. 1. Изменения концентрации свободного Ca^{2+} [Ca^{2+}]_i, индуцированные в гранулярных нейронах мозжечка крысы одним глутаматом (Glu) (А) и в присутствии ингибиторов PARP-1 миноциклина (Мсн) (Б) и бензамида (ВА) (В). Серыми линиями показаны изменения [Ca^{2+}]_i в индивидуальных нейронах, черными линиями – средние величины ± стандартная ошибка среднего ($n = 40$ для каждого среднего). Средние значения [Ca^{2+}]_i совмещены на панели (Г). Вертикальная пунктирная линия на панели (Г) соответствует 30 мин инкубации клеток с Glu (см. рис.2). Изменения [Ca^{2+}]_i представлены как отношение сигналов Ca^{2+} индикатора Fura-FF при возбуждении флуоресценции на 340 и 380 нм (F340/F380) и регистрации при 525 нм. Концентрации Glu, ВА и Мсн составляли соответственно 100 мкМ, 1 мМ и 200 нМ.

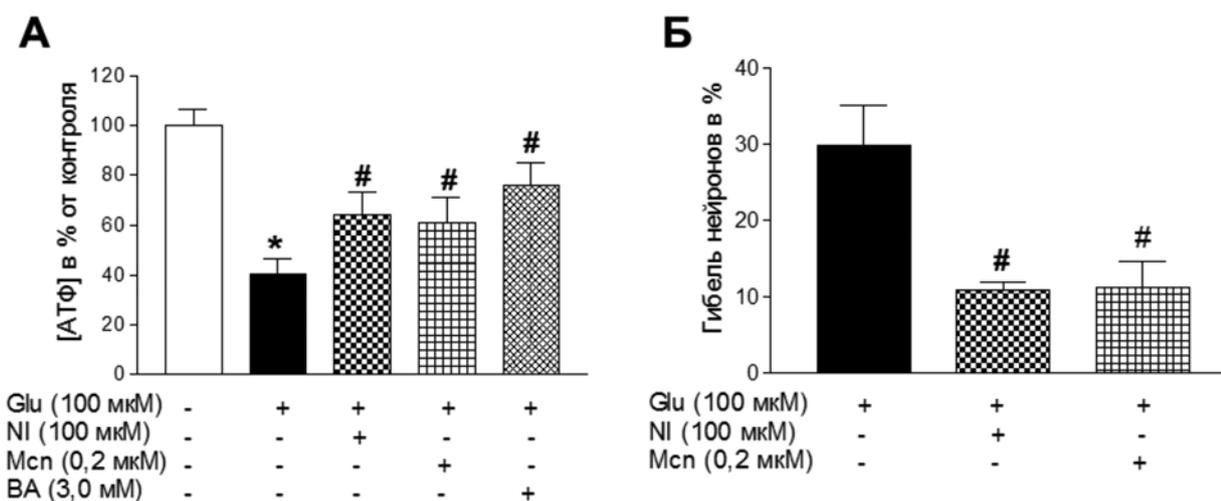


Рис. 2. Влияние одного глутамата (Glu) и Glu в присутствии ингибиторов PARP-1 и nNOS на внутриклеточную концентрацию [АТФ] (А) и гибель клеток (Б) в первичной культуре нейронов мозжечка крысы. Концентрации Glu, ингибиторов PARP-1 бензамида (ВА) и миноциклина (Мсн), и ингибитора nNOS 7- нитроиндазола (NI) указаны рядом с гистограммами. Значок # соответствует $p < 0,05$ по сравнению с эффектом одного Glu; значок * соответствует $p < 0,01$ по сравнению с контролем.

клеток показало, что нейроны, в которых развилась индуцированная глутаматом ОКД, погибают от апоптоза или некроза [3]. В данной работе использовали МТТ-тест для оценки влияния ингибирования PARP-1 и nNOS на выживаемость культивируемых нейронов. Оба ингибитора, Мсн и NI, увеличивали выживаемость нейронов, снижая долю погибших (рис. 2, Б). Гибель нейронов в культуре нейронов через 24 ч после действия Glu (100мкМ, 30 мин) составила $29,8 \pm 5,2\%$, тогда как в присутствии Мсн и NI этот показатель был равен, соответственно, $11,3 \pm 3,3\%$ и $10,8 \pm 1,2\%$.

Обсуждение

На примере первичной культуры нейронов мозжечка показано, что ингибирование PARP-1 не изменило двухфазный характер $[Ca^{2+}]_i$ ответов нейронов на токсическую дозу Glu, но привело к задержке наступления начала ОКД (удлинило лаг-период ОКД). Динамика развития второй фазы сохранилась как при действии одного Glu, так и при наличии ВА или Мсн в буфере (рис. 1). Эти обстоятельства указывают на то, что дефицит АТФ ускоряет наступление ОКД, но не является доминирующей причиной самого процесса перехода от умеренных значений $[Ca^{2+}]_i$ в лаг-периоде ОКД к высокому $[Ca^{2+}]_i$ плато. На то, что в лаг-периоде происходит падение $[АТФ]$, указывают и измерения $[АТФ]$ методом люциферин-люциферазной биоллюминесценции. В совокупности полученные результаты согласуются с измерениями $[АТФ]$, выполненными с помощью флуоресцентного белкового сенсора в индивидуальных культивируемых нейронах гиппокампа [8]. Наблюдение того, что ингибирование nNOS 7-нитроиндазолом также ограничивает снижение $[АТФ]$ при действии Glu, свидетельствует о возможном вкладе •NO и/или его метаболитов в суммарное снижение $[АТФ]$. Положительный эффект ингибиторов PARP-1 и nNOS на выживаемость клеток обусловлен, вероятно, тем, что, благодаря ингибиторам, поддерживается более высокая $[АТФ]$ во время и после прекращения токсического действия Glu, позволяя большей доле нейронов в культуре восстановить ионный баланс.

Список литературы

1. Khodorov B. Glutamate-induced deregulation of calcium homeostasis and mitochondrial dysfunction in mammalian central neurones. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2004; 86(2): 279-351. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2003.10.002
2. Duchon M.R. 2012. Mitochondria, calcium-dependent neuronal death and neurodegenerative disease. *Pflugers Arch.* 2012; 464(1): 111-121. DOI: 10.1007/s00424-012-1112-0
3. Сурин А.М., Красильникова И.А., Пинелис В.Г., Ходоров Б.И. Исследование взаимосвязи между индуцированной глутаматом отсроченной Ca^{2+} дисрегуляцией, митохондриальной деполаризацией и последующей гибелью нейронов. *Патогенез.* 2014; 12(4): 41-47.
4. Реутов В.П. Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2000; 4: 35-41.
5. Duan Y., Gross R.A., Sheu S.S. Ca^{2+} -dependent generation of

mitochondrial reactive oxygen species serves as a signal for poly(ADP-ribose)polymerase-1 activation during glutamate excitotoxicity. *J. Physiol.* 2007; 585(Pt 3): 741-758. DOI: 10.1113/jphysiol.2007.145409

6. Andrabi S.A., Umanah G.K.E., Chang C., Stevens D.A., Karuppagounder S.S., Gagné J.P., Poirier G.G., Dawson V.L., Dawson T.M. Poly (ADP-ribose) polymerase-dependent energy depletion occurs through inhibition of glycolysis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2014; 111(28): 10209-10214. DOI: 10.1073/pnas.1405158111
7. Салькина М.А., Сорокина Е.Г., Красильникова И.А., Реутов В.П., Пинелис В.Г. Влияние селективных ингибиторов нейрональной и индуцибельной NO-синтазы на содержание АТФ и выживаемость культивируемых нейронов мозжечка крысы при гиперстимуляции глутаматных рецепторов. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2013; 155(1): 747-751.
8. Шарипов Р.Р., Красильникова И.А., Пинелис В.Г., Горбачева Л.Р., Сурин А.М. Исследование механизма сенситизации нейронов к повторному действию глутамата. *Биологические мембраны.* 2018; 35(5): 384-397. DOI: 10.1134/S0233475518040138
9. Alano C.C., Kauppinen T.M., Valls A.V., Swanson R.A. Minocycline inhibits poly (ADP-ribose) polymerase-1 at nanomolar concentrations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2006; 20; 103(25): 9685-9690. DOI: 10.1073/pnas.0600554103

References

1. Khodorov B. Glutamate-induced deregulation of calcium homeostasis and mitochondrial dysfunction in mammalian central neurones. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2004; 86(2): 279-351. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2003.10.002
2. Duchon M.R. 2012. Mitochondria, calcium-dependent neuronal death and neurodegenerative disease. *Pflugers Arch.* 2012; 464(1): 111-121. DOI: 10.1007/s00424-012-1112-0
3. Surin A.M., Krasil'nikova I.A., Pinelis V.G., Khodorov B.I. [Study of the relationship between glutamate-induced delayed Ca^{2+} dysregulation, mitochondrial depolarization and the subsequent death of neurons]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2014; 12(4): 41-47. (in Russian)
4. Reutov V.P. [Biomedical aspects of cycles of nitric oxide and superoxide anion radical]. *Vestnik Rossijskoj akademii medicinskih nauk [Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences]*. 2000; 4: 35-41. (in Russian)
5. Duan Y., Gross R.A., Sheu S.S. Ca^{2+} -dependent generation of mitochondrial reactive oxygen species serves as a signal for poly(ADP-ribose)polymerase-1 activation during glutamate excitotoxicity. *J. Physiol.* 2007; 585(Pt 3): 741-758. DOI: 10.1113/jphysiol.2007.145409
6. Andrabi S.A., Umanah G.K.E., Chang C., Stevens D.A., Karuppagounder S.S., Gagné J.P., Poirier G.G., Dawson V.L., Dawson T.M. Poly (ADP-ribose) polymerase-dependent energy depletion occurs through inhibition of glycolysis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2014; 111(28): 10209-10214. DOI: 10.1073/pnas.1405158111
7. Salykina M.A., Sorokina E.G., Krasil'nikova I.A., Reutov V.P., Pinelis V.G. [Effect of selective inhibitors of neuronal and inducible NO-synthase on ATP content and survival of cultured rat cerebellar neurons during hyperstimulation of glutamate receptors]. *Byulleten' ehksperimental'noj biologii i mediciny [Bulletin of experimental biology and medicine]*. 2013; 155(1): 747-751. (in Russian)
8. Sharipov R.R., Krasil'nikova I.A., Pinelis V.G., Gorbacheva L.R., Surin A.M. [Investigation of the mechanism of neuronal sensitization to repeated glutamate action]. *Biologicheskie membrany [Biological membranes]*. 2018; 35(5): 384-397. DOI: 10.1134/S0233475518040138 (in Russian)
9. Alano C.C., Kauppinen T.M., Valls A.V., Swanson R.A. Minocycline inhibits poly (ADP-ribose) polymerase-1 at nanomolar concentrations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2006; 20; 103(25): 9685-9690. DOI: 10.1073/pnas.0600554103

Сведения об авторах:

Сорокина Елена Геннадиевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории нейробиологии и фундаментальных основ развития мозга Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Черненко Марина Анатольевна – младший научный сотрудник лаборатории нейробиологии и фундаментальных основ развития мозга Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Красильникова Ирина Александровна – научный сотрудник лаборатории нейробиологии и фундаментальных основ развития мозга Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Реутов Валентин Палладиевич – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории функциональной нейробиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии» Российской академии наук

Пинелис Всеволод Григорьевич – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории нейробиологии и фундаментальных основ развития мозга Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Сурин Александр Михайлович – доктор биологических наук, и.о. заведующего лабораторией нейробиологии и фундаментальных основ развития мозга Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, главный научный сотрудник лаборатории фундаментальных и прикладных проблем боли Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»