

УДК 577.352.465

Система кальциевой сигнализации при нейродегенерации

И.Б. Безпрозванный

Юго-Западный медицинский центр университета штата Техас, Даллас, Техас, США
 Институт цитологии РАН, 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий просп., 4
 E-mail: Ilya.Bezprozvanny@UTSouthwestern.edu

РЕФЕРАТ Нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Альцгеймера (БА), болезнь Паркинсона (БП), амиотропный латеральный склероз (АЛС), болезнь Хантингтона (БХ) и спинномозжечковые атаксии (СМА) представляют собой важнейшую проблему как с точки зрения фундаментальной науки, так и с позиций практической медицины. Несмотря на интенсивные исследования причин этих заболеваний, клинические исследования имеют очень скромный прогресс, и до сих пор не существует лечения ни для одного из них. Одной из основных преград к разработке методов лечения этих заболеваний является отсутствие ясного понимания их этиологии и патофизиологии. В данном обзоре приведено обсуждение результатов в поддержку «Кальциевой гипотезы нейродегенеративных заболеваний». Кальциевая гипотеза постулирует, что атрофические и дегенеративные процессы в нейронах больных БА, БП, АЛС, БХ, и СМА сопровождаются изменениями кальциевого гомеостаза. Более того, кальциевая гипотеза постулирует, что нарушения кальциевой сигнализации являются одним из ключевых и ранних процессов, приводящих к развитию патологии при этих заболеваниях. На основании обсужденных результатов делается вывод, что кальциевые каналы и другие белки, вовлеченные в нейрональную кальциевую сигнализацию, являются потенциальными белками-мишенями для разработки лекарственных препаратов для лечения БА, БП, АЛС, БХ, и СМА.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, амиотропный латеральный склероз, болезнь Хантингтона, спинномозжечковые атаксии, кальциевые каналы, кальциевая сигнализация, митохондрии, трансгенные мыши, клинические испытания, имаджинг, мемантин, димебон, рилузол.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ эндоплазматический ретикулум (ЭР), митохондриальный Ca^{2+} переносчик (MCU), болезнь Альцгеймера (БА), болезнь Паркинсона (БП), амиотропный латеральный склероз (АЛС), болезнь Хантингтона (БХ), спинномозжечковые атаксии (СМА), белок Хантингтина (Хтт), N-methyl-D-aspartate receptors NMDAR, срединные шипиковые нейроны (СПН), тетрабеназин (ТВЗ), наследственная болезнь Альцгеймера НБА, фосфатидилсерина (PtdS).

Кальциевая сигнализация в нейронах связывает мембранную возбудимость и клеточные биологические функции [1]. Поскольку Ca^{2+} -каналы существуют на границе между «электрическим» и «сигнальным» мирами, они играют ключевую роль в различных аспектах нейрональной функции. Ca^{2+} -сигнализация необходима для кратковременной и долговременной синаптической пластичности. Из-за ее огромной важности нейроны используют многочисленные способы управления концентрацией внутриклеточного Ca^{2+} , чаще всего в пределах местных сигнальных микродоменов.

НЕЙРОНАЛЬНАЯ Ca^{2+} -СИГНАЛИЗАЦИЯ

В нейрональную Ca^{2+} -сигнализацию вовлекается большое количество Ca^{2+} -каналов: потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы плазматической мембраны (VGCC), NMDA-рецепторы, AMPA-рецепторы, TRP-каналы и деполуправляемые каналы. Высвобождение Ca^{2+} из внутриклеточных депо эндоплазматического ретикулума (ЭР) осуществляется рецепторами инозитол-1,4,5-трисфосфата

(InsP₃R) и рианодиновыми рецепторами (RyanR). Помпа SERCA в ЭР, Ca^{2+} помпа плазматической мембраны и $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменник плазматической мембраны контролируют концентрацию Ca^{2+} в цитозоле в узком диапазоне значений. В формировании цитозольных Ca^{2+} -сигналов важную роль играют митохондрии. Митохондриальный Ca^{2+} -переносчик (MCU) является ионным каналом, который вовлекается в мощный и быстрый вход кальция в митохондрии. Большое количество Ca^{2+} -связывающих белков вовлечено в поддержание определенного уровня Ca^{2+} в цитозоле (такие как кальбандин-D28, кальретинин и парвальбумин) и в просвете ЭР (такие как кальретикулин и кальнексин) нейронов.

Поскольку нейроны чрезвычайно чувствительны к изменениям внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , они используют целый ряд Ca^{2+} -зависимых структур, включая белки, вовлеченные в слияние синаптических пузырьков с пресинаптической мембраной (например, синаптогамины), Ca^{2+} -зависимые киназы и фосфатазы (например, $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ киназа и Ca^{2+} -зависимая фосфатаза кальци-

Таблица 1. Нейродегенеративные заболевания (Bezprozvanny, 2009)

Забол.	Затронутые нейроны	Возраст начала болезни	Спор/насл.	Гены	Препараты	Мишень воздействия	Эффект
БА	Нейроны коры и гиппокампа	> 65	95 % спор 5 % насл.	APP PSEN1 PSEN2	Наменда (Мемантин)	блокада NMDA- рецепторов, снижение токсичности	Умеренные улучшения когнитивной функции
					Донепезил (Арицепт), Галантамин (Разадин), Ривастигмин(Экселон)	Ингибиторы ацетилхолинэстеразы. Увеличение концентрации ацетилхолина в мозге	Умеренные улучшения когнитивной функции
БП	Допамиnergические нейроны pars compacta черного вещества	>65	95 % спор 5 % насл.	Synuc1 LRRK2 Parkin PINK1 DJ-1	L-Dopa (Леводопа)	Увеличение содержания допамина в нейронах черного вещества	Симптоматическое облегчение
БАС	Моторные нейроны	40–60	95 % спор 5 % насл.	SOD1	Рилузол (Рилутек)	Антиглутаматное действие (активатор захвата глутамата, блокада рецептора NMDAR и Na ⁺ - каналов)	Увеличивает продолжительность жизни на несколько месяцев
БХ	Срединные шипиковые нейроны стриатума	40–50	100 % насл.	Huntingtin	Тетрабеназин (Ксеназин)	Антидопаминное действие (ингибитор VMAT, снижает количество выделяемого допамина)	Уменьшение хореи
СМА	Различные области мозга, вовлеченные в контроль моторики	40–50	100 % насл.	Ataxins	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует

нейрин), Ca²⁺-зависимые сигнальные энзимы (например, Ca²⁺-зависимые аденилат циклаза и Ca²⁺-зависимая NO-синтаза) и Ca²⁺-зависимые транскрипционные факторы (например, цАМФ-зависимый элемент-связывающий белок, кальцинейрин В-управляемый ядерный фактор активированных Т лимфоцитов и Ca²⁺-связывающий нисходящий регуляторный элементарный модулятор). Такое многообразие Ca²⁺-зависимых элементов обеспечивает возможность тонкой Ca²⁺-зависимой регуляции нейрональных функций во временной шкале, варьирующей от микросекунд (как в случае с Ca²⁺-зависимым слиянием синаптического пузырька с пресинаптической мембраной) до секунд и минут (как в случае с Ca²⁺-зависимым фосфорилированием и дефосфорилированием) и до дней и даже лет (как в случае с Ca²⁺-зависимыми изменениями в нейрональной экспрессии генов). Эти Ca²⁺-зависимые процессы ведут к кратковременным и долговременным изменениям возбудимости нейронов (посредством изменения активности ионных каналов и характера экспрессии) и к изменениям синаптической передачи (посредством модификации синаптической машинерии и облегчения формирования или разобщения синаптических связей). Вследствие чрезвычайной чувствительности нейронов к изменениям Ca²⁺-сигналов даже сравнительно тонкие дефекты и нарушения Ca²⁺-сигнализации могут со временем привести к разрушительным последствиям [2].

Ca²⁺-БЛОКАТОРЫ И КОМБИНИРОВАННЫЙ ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ

Нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Альцгеймера (БА), болезнь Паркинсона (БП), амиотропный латеральный склероз (АЛС), болезнь Хантингтона (БХ) и спинномозжечковые атаксии (СМА), представляют собой

важнейшую проблему как с точки зрения фундаментальной науки, так и с позиций практической медицины. Несмотря на интенсивные исследования причин этих заболеваний, клинические исследования имеют очень скромный прогресс, и до сих пор не существует лечения ни для одного из них. Лекарственные препараты, используемые для коррекции указанных нарушений, имеют ограниченный эффект, принося только временное облегчение в проявлении симптомов болезни или несколько задерживая процесс развития заболевания (табл. 1). Основной прогресс в понимании этих нарушений был связан с установлением мутаций, вызывающих патологические процессы. БХ и СМА являются типичными генетическими нарушениями, и гены, ответственные за развитие этих заболеваний, были клонированы 15 лет назад (табл. 1). Большинство случаев БА, БП и АЛС являются спорадическими, но примерно у 5 % пациентов болезнь обусловлена наследственными причинами. Большая часть генов, ответственных за развитие наследственных форм этих заболеваний, клонирована (табл. 1). Изучение генов, вызывающих указанные болезни, позволило сформулировать механистическую гипотезу развития патологических процессов и создать мышиную модель для исследования этих патологий.

Львиная доля попыток изучения указанных патологий сфокусирована на определении основных причин рассматриваемых заболеваний и на развитии путей воздействия на них. Например, основной причиной развития БА считалось накопление амилоида. Поэтому основные усилия исследователей были направлены на предотвращение аккумуляции амилоида путем блокирования его продукции или путем облегчения его вывода из головного мозга. В случае с БХ главной причиной заболевания является экспрессия мутантной формы белка хантингтина (Хтт).

Соответственно, основные усилия экспериментаторов в данном случае были направлены на попытки снижения экспрессии мутантного Хтт в головном мозге (например, применяя интерференцию антисмысловой РНК или нокдаун). Несмотря на блестящие научные результаты, эти подходы очень трудно перенести в клинику. Так, в случае с БА, клинические испытания амилоид-связывающего соединения трамипросата (Альцгемерд) и ингибитора γ -секретазы таренфлурбила (Флуризан) потерпели неудачу. А клинические испытания амилоид-связывающих моноклональных антител (Бапинеузумаб) имели очень ограниченный эффект. Для клинических испытаний подходов в лечении БХ узким местом является создание адекватной системы доставки иРНК или антисмысловой последовательности РНК в головной мозг человека. Пока нет решения этой проблемы, данные клинические испытания не могут быть начаты.

В то время как фокусирование внимания на амилоиде и мутантном Хтт имеет смысл для развития подходов в лечении БА и БХ, следует отметить, что информация, накопленная к настоящему времени, указывает на то, что это очень трудные цели для воздействия, а разработка успешной терапии, основанной на этих подходах, займет значительное время и потребует больших усилий. Вдобавок к развитию методов лечения мы можем предложить терапию, которая позволит отложить возраст проявления симптомов и/или снизить степень проявления заболевания. В данном обзоре мне хотелось бы сфокусировать внимание на идее о том, что белки, вовлеченные в кальциевую сигнализацию в нейронах, представляют собой притягательную цель для развития терапии «отсрочки начала болезни» для нейродегенеративных патологий. Мы считаем, что в клинике наиболее перспективным будет использование комбинации определенных для каждой болезни терапевтических подходов (таких как «амилоид-направленная» терапия при БА или «хантингтин-направленная» терапия при БХ) и блокаторов Ca^{2+} .

НЕЙРОНАЛЬНАЯ Ca^{2+} -СИГНАЛИЗАЦИЯ И СТАРЕНИЕ

Наши нейроны одного с нами возраста. Поэтому не удивительно, что риск развития нейродегенеративных заболеваний увеличивается с возрастом (табл. 1). Сравнительные исследования нейронов молодых и старых грызунов показали, что нейрональный аппарат Ca^{2+} -сигнализации подвергается значительным возрастным изменениям. Этот предмет интенсивно освещался в научной печати [2]. Недавно была предложена интегральная модель зависимых от возраста изменений в обороте гиппокампального Ca^{2+} [3]. Основным свойством стареющих нейронов является увеличение концентрации Ca^{2+} через усиление высвобождения Ca^{2+} из внутриклеточных депо через InsP_3R и RyanR , усиление входа Ca^{2+} через VGCC L-типа, увеличение медленной следовой гиперполяризации вследствие активации Ca^{2+} -зависимых K^+ каналов, уменьшение вклада NMDAR -опосредованного входа Ca^{2+} , уменьшение буферной способности цитозоля и активация кальциейрина и кальпаинов. Такие изменения в нейрональной Ca^{2+} -динамике приводят к усилению восприимчивости к индукции долгосрочной депрессии и к увеличению пороговой частоты для запуска долгосрочной потенциации в стареющих нейронах [4]. Ра-

нее обсуждалось значение этих изменений для возрастных нарушений функций памяти [4].

Механизмы, ответственные за возрастные изменения в нейрональной Ca^{2+} -сигнализации, до сих пор до конца не понятны. Одно из возможных объяснений связано с возрастными дефектами в митохондриальной функции из-за совокупного окислительного повреждения митохондрий. Митохондрии стареющих нейронов деполяризованы и менее эффективно способны управлять входом Ca^{2+} [2]. Были обнаружены возрастные изменения транскрипции генов белков Ca^{2+} -сигнализации [2]. Некоторые из этих изменений напрямую зависят от процесса старения, некоторые являются компенсаторными, но в целом картина согласуется с наличием возрастных изменений в нейрональной Ca^{2+} -сигнализации на самых разных уровнях.

НЕЙРОНАЛЬНАЯ Ca^{2+} -СИГНАЛИЗАЦИЯ И БОЛЕЗНЬ ХАНТИНГТОНА

Болезнь Хантингтона (БХ) – это генетическое нарушение, которое вызывается одиночной мутацией: увеличение CAG (полиглутаминового) повтора в гене хантингтина (Хтт) [5] (табл. 1). Больше всего при БХ повреждаются срединные шпиковые нейроны (СПН) стриатума. Большинство исследователей согласны с мнением о том, что мутантный белок Хтт^{exp} приобретает «новую токсическую функцию» [6]. Дестабилизация нейрональной Ca^{2+} -сигнализации является одной из токсических функций белка Хтт^{exp} . Исследования мозга пациентов с БХ, а также модельные эксперименты на мышах показали, что в мозгу происходят последовательные изменения уровней экспрессии белков Ca^{2+} -сигнализации [7]. Нами была предложена «Кальциевая гипотеза БХ» [8].

Существует несколько основных путей влияния Хтт^{exp} на Ca^{2+} -сигнализацию в СПН (рис. 1). В нашей лаборатории установлено, что Хтт^{exp} напрямую и специфично связывается с $\text{C-концом InsP}_3\text{R1}$ [9]. Ассоциация Хтт^{exp} с $\text{InsP}_3\text{R1}$ была независимо от нас подтверждена [10]. Связывание с Хтт^{exp} увеличивает аффинность $\text{InsP}_3\text{R1}$ к InsP_3 [9]. Ключевое значение активации $\text{InsP}_3\text{R1}$ для нейротоксичности Хтт^{exp} было подтверждено в экспериментах на культуре СПН мышей, служивших моделью БХ [11, 12], а также в генетических экспериментах на модели БХ, на основе *Drosophila* [10]. Мы показали, что вирусная доставка пептида, который разрушает связь между Хтт^{exp} и $\text{InsP}_3\text{R1}$, оказывает защитное действие на СПН стриатума в модели БХ на основе мышей в условиях *in vitro* и *in vivo* [13]. Эти данные подтверждают значение усиления активности $\text{InsP}_3\text{R1}$ в патогенезе БХ.

Экспрессия Хтт^{exp} вызывает усиление активности NR2B -содержащего NMDA -рецептора [14]. Увеличение токов через NMDA -рецептор является следствием действия Хтт^{exp} на транспорт NMDA -рецептора к плазматической мембране [15]. СПН стриатума, экспрессирующие Хтт^{exp} , чувствительны к NMDAR -опосредованной токсичности. Фармакологическое ингибирование NMDA -рецептора оказывает нейропротективный эффект на культуры СПН мышей – моделей БХ [11, 16]. И мемантин, и рилузол в наших исследованиях оказывали нейропротективное действие на культуры СПН с БХ. Причем мемантин был более эффективным [17]. Мемантин продемонстрировал некото-

рые благоприятные эффекты в рамках мелкомасштабной экспериментальной оценки этого препарата у пациентов с БХ [18], и скоро он будет проходить четвертую фазу клинических испытаний терапии БХ (табл. 2). Рилузол прошел третью фазу клинических испытаний на больных БХ, но это исследование не было успешным [19] (табл. 2).

В дополнение к $\text{InsP}_3\text{R1}$ и NMDA-рецептору, Хтт^{exp} также способен воздействовать на функцию потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов (VGCC). Хантингтин напрямую связывается с α_3/δ вспомогательной субъединицей VGCC [10] и с $\text{Ca}_v2.2$ порообразующей субъединицей VGCC N-типа [20]. Генетическое удаление *Dmca1D* (проформировавшей субъединицы кальциевого канала L-типа *Drosophila*) снижает нейродегенерацию фоторецептора у плодовых мушек-моделей БХ [21]. Электрофизиологический анализ нейронов стриатума мышей-моделей БХ выявил первоначальное увеличение плотности VGCC каналов, которое затем сменялось снижением их плотности [22].

Как и в случае с другими нейродегенеративными нарушениями, механизм токсичности Ca^{2+} при БХ вероятно всего опосредуется активацией кальпаинов и избыточным накоплением Ca^{2+} в митохондриях (рис. 1). Активация кальпаинов наблюдается и при БХ, а кальпаин-опосредованное расщепление Хтт^{exp} и NMDA-рецептора играет ключевую роль в патологии этого заболевания [23–25]. Множество данных также указывает на дисфункцию митохондрий при БХ [26]. Митохондрии, изолированные из лимфоцитов пациентов с БХ и из мозга трансгенных БХ мышей, демонстрировали ярко выраженные дефекты кальциевой регуляции [27]. Митохондриальная функция была нарушена и в клеточных моделях БХ [11, 12, 16, 28]. В дополнение к действию на митохондрии, проистекающему из влияния на последние чрезмерной концентрации цитозольного Ca^{2+} , Хтт^{exp} также может оказывать влияние на эти органеллы посредством прямого связывания с их наружной мембраной [27] (рис. 1). Необходимо отметить, что клинически адекватные ингибиторы проницаемости мембраны митохондрии демонстрировали нейропротективный эффект как на клеточных моделях БХ, так и на животных моделях этого заболевания [11, 28].

Первым лекарственным препаратом, одобренным в 2008 г. в США для лечения БХ, явился антагонист допамина тетрабенезин (TBZ) (табл. 1). TBZ – это мощный ингибитор везикулярного транспортера моноаминов, который вызывает опустошение допаминового содержимого из пресинаптических везикул. В клинических испытаниях установлено, что TBZ достоверно снижал симптомы хореи у пациентов с БХ [29]. Наша лаборатория исследовала эффекты TBZ на мышах – моделях БХ. Показано, что воздействие этого препарата на ранних стадиях развития болезни снимает дефицит моторной координации и защищает нейроны стриатума от дегенерации [30]. Было сделано заключение о том, что допамин и глутамат действуют синергично для формирования Ca^{2+} -сигналов в нейронах стриатума и что нейропротективные эффекты TBZ могут быть объяснены снижением Ca^{2+} -сигнализации [30]. (рис. 1). Эти факты подтверждают, что TBZ может использоваться не только как препарат для симптоматического лечения на поздних стадиях заболевания, но и как препарат для предсимптомной терапии. Однако у некоторых пациентов TBZ вызывал

сильную депрессию [29], поэтому необходим поиск других антагонистов допамина в качестве альтернативы TBZ. Например, допамин-специфичный ингибитор везикулярного транспортера моноаминов или блокаторы D1 и D2 рецепторов.

НЕЙРОНАЛЬНАЯ Ca^{2+} -СИГНАЛИЗАЦИЯ И СПИННОМОЗЖЕЧКОВЫЕ АТАКСИИ

Как и в случае с БХ, спинномозжечковые атаксии (СМА) являются аутосомальными доминантными генетическими нарушениями, которые вызываются увеличением полиглутаминовой последовательности в белках атаксинах (*Atx*) [5]. Существует целый ряд свидетельств того, что нарушение нейрональной Ca^{2+} -сигнализации может вносить свой вклад в патогенез этих заболеваний. Некоторые из этих данных приведены ниже.

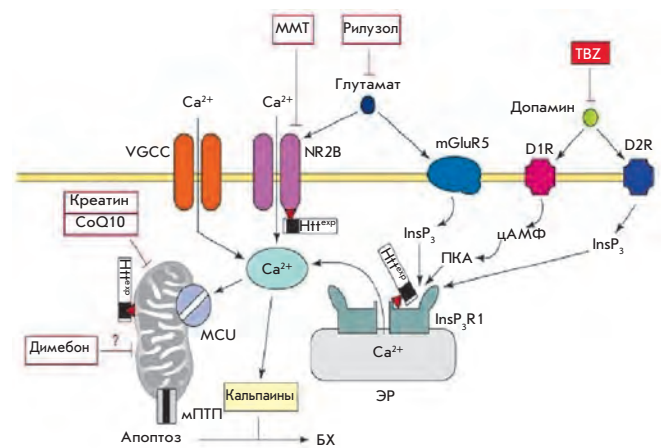


Рис. 1. Модель Ca^{2+} дисрегуляции при БХ (цит. по [30]). В СШН при БХ Хтт^{exp} нарушает Ca^{2+} -сигнализацию посредством 3 синергичных механизмов. Хтт^{exp} усиливает функцию NMDA-рецептора (наиболее вероятно, путем увеличения его транспорта в плазматическую мембрану). Хтт^{exp} прочно связывается с С-концом $\text{InsP}_3\text{R1}$ и увеличивает его сродство к InsP_3 . Низкие уровни глутамата, выделяемого из нейронов кортикостриатальной проекции, вызывают избыточный вход Ca^{2+} через рецептор NMDA и высвобождение Ca^{2+} из ЭР через $\text{InsP}_3\text{R1}$. Добавочный вход Ca^{2+} в СШН опосредуется VGCC. Допамин, выделяемый допаминергическими нейронами среднего мозга, стимулирует рецепторы допамина 1-го (D1R) и 2-го (D2R) типа, которые обильно экспрессируются в СШН. D1R связан с аденилат циклазой, они увеличивают уровень цАМФ и активируют протеин киназу А (PKA). PKA усиливает глутамат-индуцированные Ca^{2+} -сигналы посредством увеличения активности NMDA-рецептора и $\text{InsP}_3\text{R1}$. D2R напрямую связан с продукцией InsP_3 и активацией $\text{InsP}_3\text{R1}$. Чрезмерный вход Ca^{2+} активирует кальпаин, который расщепляет Хтт^{exp} и другие субстраты. Избыток Ca^{2+} в цитозоле приводит к захвату Ca^{2+} митохондриями через MCU, что, в свою очередь, запускает открытие мПТП и апоптоз. Кальциевая регуляция митохондрий продолжает нарушаться вследствие прямой связи Хтт^{exp} с митохондрией. Для симптоматического лечения БХ в США был одобрен антидопаминовый агент тетрабенезин (TBZ). Проходят клинические испытания антагонист NMDA-рецептора мемантин (ММТ), растворимый «митохондриальный агент» димебон (Dimebon) и «стабилизаторы митохондрий» креатин и коэнзим Q10 (CoQ10). Антиглутаматный агент рилузол (Riluzole) прошел клинические исследования, но оказался неподходящим для терапии БХ [19]

Таблица 2. Последние клинические испытания Ca²⁺-ингибиторов и стабилизаторов митохондрий при нейродегенеративных нарушениях

Нарушение	Препарат	Мишень	Стадия клинических испытаний	ID клинических испытаний	Информация предоставлена	Статус/ комментарии
БА	Димебон (Dimebon)	митохондрия (?)	Фаза III	NCT00675623	Medivation	Закончен, неудачный http://www.alzforum.org/new/detail.asp?id=2387
	Кетасин (Ketasyn (AC-1202))	митохондрия	Фаза II	NCT00142805	NIA	Закончен
	MEM-1003	VGCC L-типа	Фаза II	NCT00257673	Memory Pharmaceuticals	Закончен
	ЕВТ-101	NR2B NMDA-рецептор	Фаза I	NCT00526968	Evotec Neurosciences	Закончен, фаза II планируется
HD	Димебон (Dimebon)	митохондрия (?)	Фаза II	NCT00497159	Medivation	Закончен, слабый эффект на когнитивную функцию
	Креатин (Creatine)	митохондрия	Фаза III	NCT00712426	MGH	Набор испытуемых
	Коэнзим Q10 (CoQ10)	митохондрия	Фаза III	NCT00608881	NINDS	Набор испытуемых
	Мемантин (Memantine)	NMDA-рецептор	Фаза IV	NCT00652457	UCSD	Набор испытуемых
	Рилузол (Riluzole)	антиглутаматный	Фаза III	NCT00277602	Sanofi-Aventis	Закончен, неудачный [19]

При СМА1 дегенерация клеток Пуркинье мозжечка вызывается увеличением CAG повторов в цитозольном/ядерном белке атаксине-1 [5]. Клетки Пуркинье мозжечка экспрессируют чрезвычайно высокие уровни белков Ca²⁺-сигнализации и Ca²⁺-связывающих белков. Снижение уровня Ca²⁺-связывающих белков в клетках Пуркинье отмечалось у пациентов на ранних стадиях развития СМА1 и у мышей – моделей этого заболевания [31]. Скрещивание трансгенных СМА1 мышей с мышами, у которых был нокаутирован кальбандин, приводило к усилению фенотипа заболевания [31]. На модели трансгенных СМА1 мышей на ранних этапах развития заболевания было показано снижение экспрессии некоторых белков Ca²⁺-сигнализации, таких как InsP₃R1, Ca²⁺-канала TRPC3 и помпы ЭР SERCA2 [32]. Хотя и косвенно, эти данные подтверждают тот факт, что нарушения кальциевой сигнализации в клетках Пуркинье, вероятно, играют ключевую роль в развитии СМА1.

При СМА2 клетки Пуркинье мозжечка подвергаются дегенерации вследствие увеличения CAG повторов в цитозольном белке атаксине-2 [5]. Генетическая связь между полиморфизмом последовательности, кодирующей VGCC P/Q-типа и возрастом проявления первых симптомов у пациентов с СМА2 подтверждает, что Ca²⁺-сигнализация играет немаловажную роль в патогенезе этого заболевания [33]. В нашей лаборатории установлено, что мутантная форма атаксина-2 специфично связывает и активирует InsP₃R1, подобно тому как это имеет место с мутантной формой белка Хантингтина (в печати). Нами также показано, что ингибиторы Ca²⁺-сигнализации при СМА2 защищают клетки Пуркинье от клеточной смерти в условиях *in vitro* и оказывают достоверный положительный эффект в исследованиях с использованием трансгенных СМА2 мышей (в печати).

При СМА3 нейроны черного вещества и ядер моста подвергаются дегенерации в результате увеличения CAG повторов в цитозольном белке атаксине-3 [5]. Кальпаин-опосредованное расщепление атаксина-3 играет важную

роль в патогенезе СМА3 [34]. Недавно нами было показано, что мутантная форма атаксина-3 специфично связывается и активирует InsP₃R1, подобно тому как это имеет место с мутантной формой белка Хантингтина [35]. В дальнейшем было установлено, что длительное кормление трансгенным мышам с СМА3 ингибитора RyanR и Ca²⁺-стабилизатора дантролена облегчает возраст-зависимый дефицит моторной координации у этих мышей и предотвращает потерю нейронов в черном веществе и ядрах моста [35].

При СМА6 клетки Пуркинье мозжечка подвергаются дегенерации вследствие увеличения CAG повторов в С-конце Ca_v2.1 порформирующей субъединицы Ca²⁺-канала P/Q-типа [5]. Сообщалось, что эта мутация увеличивает активность Ca²⁺-канала P/Q-типа в экспрессионной системе [36]. Однако последние исследования, проведенные на мышах со СМА6, показали, что эта патология может быть связана и с агрегацией Ca_v2.1 субъединиц и со снижением плотности Ca²⁺-токов через каналы P/Q-типа в дендритах [37]. Таким образом, вопрос о точной роли нарушения Ca²⁺-сигнализации при СМА6 остается открытым.

Аномальная нейрональная Ca²⁺-сигнализация не ограничивается только атаксиями с увеличением полиглутаминовых повторов, но также может играть немаловажную роль и в атаксиях другого типа. Так, последние генетические исследования показали, что причиной СМА15 является потеря фрагмента гена, кодирующего InsP₃R1 [38].

НЕЙРОНАЛЬНАЯ Ca²⁺-СИГНАЛИЗАЦИЯ И БОЛЕЗНЬ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Болезнь Альцгеймера (БА) – это нейродегенеративное нарушение, приводящее к потере памяти. В большинстве случаев БА является спорадической и характеризуется поздним проявлением симптомов (старше 60 лет). Небольшая часть от всех случаев этого заболевания (наследственная БА, НБА) характеризуется ранним проявлением симптомов и генетическим наследованием.

НЕЙРОНАЛЬНАЯ Ca^{2+} -СИГНАЛИЗАЦИЯ И СПОРАДИЧЕСКАЯ БА

Спорадическая БА является «многоцелевым» нарушением, которое вызывается совместным действием нескольких патологических факторов. Одним из таких факторов является старение. Другие факторы определяются популяциями нейронов, которые поражаются при этом заболевании – в данном случае это кортикальные и гиппокампальные нейроны. Основным «болезнь-специфичным» фактором при БА, вероятно, является накопление амилоидных агрегатов. Из-за того, что данное заболевание является «многоцелевым», успех в его лечении может быть достигнут только с применением комплексной терапии.

Популяции нейронов, в которых экспрессируются высокие уровни Ca^{2+} -связывающих белков, остаются относительно незатронутыми БА, в то время как популяции нейронов с низким уровнем экспрессии этих белков поражаются при этом заболевании в значительной степени. Снижение уровня Ca^{2+} -связывающих белков в нейронах – одно из обычных последствий естественного процесса старения. Вероятно, одна из причин, приводящих к повышенной уязвимости нейронов стареющего организма к БА, – это снижение буферной емкости цитозоля нейронов к ионам Ca^{2+} .

В нейронах престарелых больных, страдающих спорадической формой БА, наблюдается активация Ca^{2+} -зависимых протеаз семейства кальпаина. Активация кальпаинов происходит в ответ на повышение уровня Ca^{2+} в цитозоле. Активированные кальпаины расщепляют разнообразные белки, необходимые для нормального функционирования нейрона, что приводит к нейрональной дисфункции и клеточной гибели.

В нейронах пациентов с БА также серьезно поражаются митохондрии. Эти органеллы частично деполяризуются, в них снижается способность связывать Ca^{2+} , нарушается стехиометрия компонентов цепи передачи электронов, мутирует митохондриальная ДНК. Сходные, но менее выраженные изменения происходят и в митохондриях нейронов при естественном процессе старения. Повреждение митохондрий, вероятно, вызывается переполнением этой органеллы Ca^{2+} , что приводит к образованию больших количеств активных форм кислорода и к оксидативному повреждению митохондриальной ДНК. Таким образом, митохондрии, судя по всему, находятся на самых последних ступенях Ca^{2+} -сигнализации в патогенном каскаде. Тем не менее ожидается, что «стабилизаторы митохондрий» (такие как коэнзим Q10 и креатин) должны оказывать некоторое благоприятное действие при этих нарушениях. Препараты, направленные на митохондриальную проницаемую транзитную пору (мПТП), должны быть также чрезвычайно ценными как «последняя линия защиты» нейрона, откладывающая во времени развитие нейрональной дисфункции и клеточной смерти.

Процесс старения оказывает воздействие на нейрональную Ca^{2+} -сигнализацию и, по всей видимости, является одним из факторов, вовлекаемых в патогенез спорадической формы БА. Так, ожидается, что блокаторы Ca^{2+} -сигнализации могут оказывать благотворное действие при данном заболевании. Антагонист NMDA-рецептора мемантин показал некоторую клиническую эффектив-

ность при БА. Для лечения этого заболевания требуются разработка и клинические испытания новых дополнительных блокаторов Ca^{2+} -сигнализации как самих по себе, так и как части комплексной терапии наряду со «стабилизаторами митохондрий» и ингибиторами мПТП.

НЕЙРОНАЛЬНАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ И НАСЛЕДСТВЕННАЯ БОЛЕЗНЬ АЛЬЦГЕЙМЕРА. КАЛЬЦИЕВАЯ ГИПОТЕЗА ПАТОГЕНЕЗА БА

Основной идеей в объяснении развития БА является «амилоидная гипотеза», которая постулирует, что основной причиной гибели нейронов и снижения числа синапсов при этой болезни является увеличение продукции амилоидного пептида A β 42 (или увеличение соотношения A β 42/40) [39]. Экспериментальное обоснование «амилоидной гипотезы» исходит из того, что: (1) аккумуляция амилоидных бляшек наблюдается в головном мозге пациентов с БА; (2) наследственная форма БА (НБА) обусловлена точечными мутациями в белке-предшественнике β -амилоида A β (APP); (3) НБА также обусловлена точечными мутациями в пресенилинах, которые формируют каталитическую субъединицу γ -секретазы, фермента, расщепляющего APP. В настоящее время «амилоид-направленная» терапия является центральной в разработке лекарственных препаратов для лечения БА. Последние клинические испытания показали, что необходимо искать новые цели для лекарственного воздействия при терапии БА помимо амилоида [40]. Большое количество данных указывает на то, что важную роль в развитии БА играет нарушение гомеостаза Ca^{2+} в нейронах. В последнее время активно обсуждались аргументы в пользу «кальциевой гипотезы» развития БА [41]. Эта гипотеза будет рассмотрена ниже.

Одна из ключевых взаимосвязей между патогенезом БА и Ca^{2+} проистекает из данных о том, что олигомеры A β могут формировать Ca^{2+} -проницаемые каналы в мембранах [42]. Способность олигомеров A β ассоциироваться с мембранами усиливается при появлении на поверхности мембраны фосфатидилсерина (PtdS) [43], что обычно является показателем клетки, находящейся в условиях дефицита энергии. Возрастные изменения в митохондриях могут увеличивать уровень поверхностных PtdS в нейронах и таким образом провоцировать в них A β -опосредованное формирование пор, вход Ca^{2+} и клеточную смерть (рис. 2). Действительно, нейроны со сниженным уровнем АТФ в цитозоле и увеличенным уровнем PtdS особенно уязвимы для A β -опосредованной токсичности [44]. Способность олигомеров A β формировать Ca^{2+} -проницаемые каналы в плазматической мембране нейронов согласуется с результатами последних экспериментов по определению внутриклеточной концентрации Ca^{2+} в условиях *in vivo*, проведенных на трансгенных APP мышах [45]. Авторами этого исследования было установлено, что уровни Ca^{2+} примерно в 35 % нейритов, расположенных в непосредственной близости к амилоидным бляшкам, были достоверно выше, чем в контрольных клетках. Наиболее вероятное объяснение этого факта состоит в том, что высокая локальная концентрация олигомеров A β в области, прилегающей к амилоидной бляшке, вызывает формирование Ca^{2+} -проницаемых ионных каналов в плазматической мембране нейронов. Аксоны с увеличенным уровнем Ca^{2+} утрачивают шипики и демон-

стрируют нарушение морфологии [45]. Морфологическое изменение в этих аксонах может быть уменьшено при действии ингибитора кальцинейрина FK-506 [45]. На основании этого можно предположить, что кальцинейрин играет важную роль в патологическом ответе нейронов на повышение уровня Ca^{2+} . Наряду с прямыми эффектами на проницаемость плазматической мембраны для Ca^{2+} олигомеры Aβ также оказывают воздействие на нейрональный Ca^{2+} гомеостаз посредством модулирования активности NMDA-рецептора [46, 47] (рис. 2), AMPA-рецептора [48] и P/Q-типов VGCC [49].

Другая важная взаимосвязь между Ca^{2+} -сигнализацией и БА была выявлена из того факта, что многие мутации пресенилинов при НБА приводят к нарушениям Ca^{2+} -сигнализации. Первоначально связь между пресенилинами и Ca^{2+} -сигнализацией была установлена, когда появилось сообщение о том, что фибробласты пациентов с НБА выделяют сверхнормальные количества Ca^{2+} в ответ на действие $InsP_3$ [50]. Сходные данные были получены в экспериментах на клетках, экспрессирующих мутантные пресенилины, характерные для БА [51], и на кортикальных нейронах мышей, экспрессирующих мутантную форму пресенилинов, характерную для НБА [52, 53]. Для объяснения этих результатов было выдвинуто предположение о том, что мутантные формы пресенилинов воздействуют на депо-управляемый вход Ca^{2+} [54, 55], увеличивают активность и/или экспрессию внутриклеточных Ca^{2+} ионных каналов, таких как RyanR [53, 56, 57] и $InsP_3R$ [58, 59], или модулируют функцию Ca^{2+} -помпы SERCA в ЭР [60]. В нашей лаборатории установлено, что пресенилины сами по себе работают как каналы утечки Ca^{2+} из ЭР и что многие мутации пресенилинов при НБА ведут к утрате этой функции канала утечки Ca^{2+} , что вызывает переполнение ЭР Ca^{2+} и чрезмерное высвобождение Ca^{2+} из ЭР [61, 62]. Несмотря на отличия в деталях предложенных механизмов, большинство представленных исследований согласуются в том, что многие мутации пресенилинов при НБА приводят к избыточному высвобождению Ca^{2+} из ЭР через $InsP_3R$ и RyanR.

Существует несколько особенно токсичных эффектов входа Ca^{2+} через Aβ каналы и чрезмерного высвобождения Ca^{2+} из ЭР. Как указывалось выше, повышенный уровень цитозольного Ca^{2+} может вызывать активацию кальцинейрина и атрофию [45] (рис. 2). Чрезмерно высокий уровень Ca^{2+} также активирует кальпаины, которые разрушают сигнальные ферменты, вовлекаемые в процессы обучения и памяти [25, 63] (рис. 2). Старые нейроны становятся чувствительными к токсичности цитозольного Ca^{2+} , поскольку с возрастом буферная способность цитозоля снижается. Действительно, обнаружена четкая корреляция между снижением экспрессии Ca^{2+} -связывающих белков в районе зубчатой извилины гиппокампа и проявлением когнитивных нарушений при БА [64]. Сверхнормальные цитозольные Ca^{2+} -сигналы могут вызывать чрезмерный вход Ca^{2+} в митохондрии и приводить к апоптозу клетки (рис. 2). Известные благоприятные воздействия нестероидных противовоспалительных препаратов могут быть связаны со способностью этих лекарств уменьшать митохондриальный захват Ca^{2+} [65].

В заключение необходимо отметить, что большое количество экспериментальных данных указывает на избыточ-

ное содержание Ca^{2+} в цитозоле нейронов вследствие накопления олигомеров Aβ или экспрессии мутантных форм пресенилинов, характерных для НБА. Дальнейшее подтверждение связи между Ca^{2+} -сигнализацией и БА было получено из недавнего сообщения о том, что мутация в новом канале входа Ca^{2+} CALHM1 может увеличивать риск

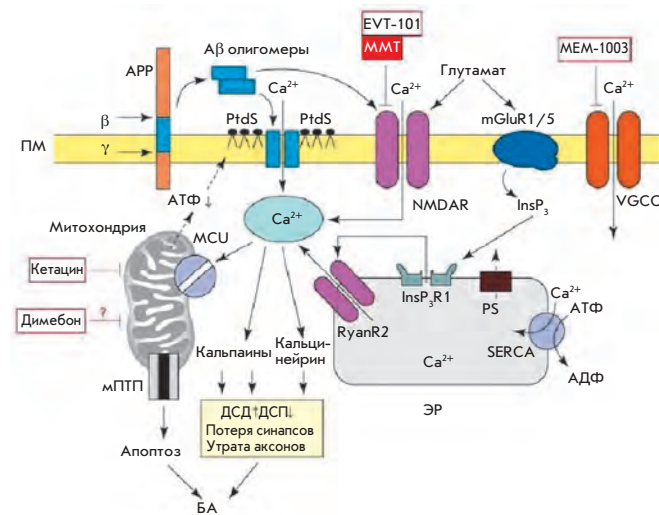


Рис. 2. Модель Ca^{2+} -дисрегуляции при БА (цит. по [41]). Последовательное расщепление белка-предшественника β-амилоида (APP) β-секретазой (β) и γ-секретазой (γ) приводит к образованию Aβ. Aβ формирует олигомеры, которые могут встраиваться в плазматическую мембрану (ПМ) и формировать Ca^{2+} -проницаемые поры. Ассоциация олигомеров Aβ с плазматической мембраной усиливается посредством связывания с поверхностным фосфатидилсерином (PtdS); процесс старения и Ca^{2+} -опосредованное повреждение митохондрий приводят к уменьшению содержания АТФ и могут запускать перемещение PtdS со внутренней поверхности плазматической мембраны на ее внешнюю поверхность. Снижение уровня АТФ и потеря целостности мембраны ведут к деполяризации мембраны, что, в свою очередь, вызывает усиление входа Ca^{2+} через NMDA рецепторы и VGCC. Олигомеры Aβ также могут напрямую воздействовать на аффинность NMDA-рецептора, AMPA-рецептора и VGCC. Глутамат вызывает активацию рецепторов mGluR1/5, продукцию $InsP_3$ и $InsP_3$ -опосредованное высвобождение Ca^{2+} из ЭР. Пресенилины (PS) функционируют как каналы утечки Ca^{2+} из ЭР, и многие мутации при НБА нарушают функцию пресенилинов как каналов утечки Ca^{2+} . Последнее приводит к чрезмерному накоплению Ca^{2+} в ЭР. Увеличение уровня Ca^{2+} в ЭР приводит к усилению его выброса через рецептор $InsP_3$ первого типа ($InsP_3R1$) и риадиноновый рецептор второго типа (RyanR2). PS также могут напрямую модулировать активность $InsP_3R$, RyanR и помпы SERCA. Увеличение концентрации цитозольного Ca^{2+} ведет к активации кальцинейрина и кальпаинов, что усиливает долгосрочную депрессию (ДСД), подавляет долгосрочную потенциацию (ДСП), приводит к модификации нейронального цитоскелета, потере синапсов и атрофии аксонов. Чрезмерно высокий уровень Ca^{2+} в митохондриях, возникший вследствие работы митохондриального Ca^{2+} -переносчика (MCU), в конечном итоге приводит к открытию митохондриальной проницаемой транзитной поры (мПТП) и апоптозу. Для лечения БА был одобрен ингибитор NMDA-рецептора мемантин (ММТ), и недавно разработан NR2B-специфичный антагонист EVT-101. Сейчас проходят клинические испытания следующие препараты для терапии БА: «оптимизированный для ЦНС» ингибитор VGCC L-типа MEM-1003, возможный «митохондриальный агент» Димебон (Dimebon) и «митохондриальный витамин» Кетацин (Ketaspyn).

позднего развития БА [66] (но см. также [67]). Предложенная модель (рис. 2) предлагает целый ряд потенциальных мишеней для терапии БА. Образованные $A\beta$ Ca^{2+} -каналы сами по себе являются чрезвычайно привлекательной мишенью для воздействия [68]. Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США для лечения БА уже одобрен мемантин – неконкурентный ингибитор NMDA-рецептора (табл. 1). Могут быть разработаны потенциально более специфичные ингибиторы NMDA-рецептора, такие как нитромемантины [69]. В последнее время компанией Evotec Inc для терапии БА разработан NR2B-специфичный антагонист EVT101 (табл. 2). Ингибитор VGCC L-типа MEM-1003 (Memory Pharmaceuticals) прошел вторую фазу клинических испытаний (табл. 2). Другие потенциальные и в основном неисследованные мишени для терапии БА включают в себя: внутриклеточные Ca^{2+} -каналы (RyanR и InsP₃R), помпу SERCA, кальцинейрин и митохондриальную систему регулирования Ca^{2+} .

Представленные данные позволяют по-новому взглянуть на терапию нейродегенеративных патологий. Предложенная нами Ca^{2+} -гипотеза закладывает основу для разработки новых классов препаратов.

Ca²⁺-СИГНАЛИЗАЦИЯ: ТЕКУЩИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРИЛОЖЕНИЯ

Митохондриальные стабилизаторы и антидепрессанты. Кетасин (Ketasyn), креатин, коэнзим Q10 (CoQ10) и MitoQ прошли клинические испытания на БА и БХ. Поскольку митохондрии играют ключевую роль в патогенезе указанных заболеваний [70], от этих клинических испытаний ожидалось некоторые благотворные эффекты. Однако митохондрии задействуются в патологическом процессе на довольно поздних стадиях, и эффекты этих препаратов, вероятно, будут ограниченными. Действительно, согласно имеющимся сообщениям в данном классе соединений обнаружены весьма скромные эффекты при терапии нейродегенеративных нарушений [70].

Димебон (Dimebon). Димебон (Medivation Inc) показал обещающие результаты (основанные на результатах когнитивных исследований больных) на второй фазе клинических испытаний терапии БА [71]. Димебон также прошел вторую фазу клинических испытаний терапии БХ, в результате которой наблюдался слабый эффект на мозговую деятельность пациентов (Kiebertz K., McDermott M.P., Voss T.S., Corey-Bloom J., Deuel L.M., Dorsey E.R., Factor S., Geschwind M.D., Hodgeman K., Kayson E., Noonberg S., Pourfar M., Rabinowitz K., Ravina B.,

Sanchez-Ramos J., Seely L., Walker F., Feigin A.; and the Dimebon in Subjects with Huntington Disease (DIMOND) Investigators of the Huntington Study Group. A randomized, placebo-controlled trial of latrepirdine in Huntington Disease. Arch Neurol. 2010 Feb;67(2):154-60). Димебон – давно известный в России антигистаминный препарат, который, как сообщалось, обладает нейропротективным действием в пикомолярных концентрациях посредством нового механизма действия на митохондрии [72]. Однако в наших исследованиях на культуре срединных шипиковых нейронов стриатума мы наблюдали достоверный нейропротективный эффект Димебона в концентрации 50 мкМ [73]. Мы заключили, что когнитивное действие Димебона, отмеченное в клинических испытаниях при терапии БА [71], вероятно обусловлено способностью этого соединения ингибировать α -адренергические, гистаминовые и серотониновые высокоаффинные рецепторы [73]. В марте 2010 г. третья фаза клинических испытаний Димебона для терапии БА закончилась полной неудачей (<http://www.alzforum.org/new/detail.asp?id=2387>). В настоящий момент неясно, будет ли продолжена разработка Димебона для лечения БА и БХ.

Антагонисты NMDA-рецептора. Мемантин (Memantine) – неконкурентный антагонист NMDA-рецептора, который одобрен FDA для терапии БА. Мемантин также проходит клинические испытания при БХ. Для лечения БА был разработан NR2B-специфичный антагонист EVT101 и EVT103 (Evotec Inc), и вскоре ожидается вторая фаза клинических испытаний этих препаратов. Эти же соединения представляют большой интерес с точки зрения терапии БХ.

Рилузол (Riluzole). Антиглутаматный агент рилузол одобрен FDA для лечения АЛС. Рилузол также прошел третью фазу клинических испытаний при БХ, но не показал сколько-нибудь достоверных улучшений при измерении моторики пациентов [19].

Антагонисты VGCC L-типа. «Оптимизированный для ЦНС» ингибитор VGCC L-типа MEM-1003 (Memory Pharmaceuticals) показал некоторый положительный эффект на второй фазе клинических испытаний при БА.

В заключение необходимо признать, что развитие новых направлений в исследовании мозга с помощью современных молекулярно-биологических и электрофизиологических подходов неизбежно приведет к раскрытию тайн высокоэффективной передачи информации и вместе с тем поможет продвинуться по пути излечения нейродегенерации. ●

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Berridge M.J. Neuronal calcium signaling. *Neuron* 21:13-26. 1998.
- Toescu E.C., Verkhratsky A. The importance of being subtle: small changes in calcium homeostasis control cognitive decline in normal aging. *Aging Cell*. 2007. 6:267-273
- Gant J.C., Sama M.M., Landfield P.W., Thibault O. Early and simultaneous emergence of multiple hippocampal biomarkers of aging is mediated by Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release. *J. Neurosci*. 2006. 26:3482-3490.
- Foster T.C. Calcium homeostasis and modulation of synaptic plasticity in the aged brain. *Aging Cell*. 2007. 6:319-325.
- Gusella J.F., MacDonald M.E. Molecular genetics: unmasking polyglutamine triggers in neurodegenerative disease. *Nat. Rev. Neurosci*. 2000. 1:109-115.
- Li S., Li X.J. Multiple pathways contribute to the pathogenesis of Huntington disease. *Mol. Neurodegener*. 2006. 1:19.
- Kuhn A. et al. Mutant huntingtin's effects on striatal gene expression in mice recapitulate changes observed in human Huntington's disease brain and do not differ with mutant huntingtin length or wild-type huntingtin dosage. *Hum. Mol. Genet*. 2007. 16:1845-1861.
- Bezprozvanny I., Hayden M.R. Deranged neuronal calcium signaling and Huntington disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2004. 322:1310-1317.
- Tang T.-S., Tu H., Chan E.Y., Maximov A., Wang Z., Wellington C.L., Hayden M.R., Bezprozvanny I. Huntingtin and huntingtin-associated protein 1 influence neuronal calcium signaling mediated by inositol-(1,4,5) triphosphate receptor type 1. *Neuron*. 2003. 39:227-239.
- Kaltenbach L.S. et al. Huntingtin interacting proteins are genetic modifiers of neurodegeneration. *PLoS. Genet*. 2007. 3:e82.
- Tang T.-S., Slow E.J., Lupu V., Stavrovskaya I.G., Sugimori M., Llinas R., Kristal B.S., Hayden M.R., Bezprozvanny I. Disturbed Ca^{2+} signaling and apoptosis of medium spiny neurons in Huntington's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2005. 102:2602-2607.
- Zhang H., Li Q., Graham R.K., Slow E., Hayden M.R., Bezprozvanny I. Full length mutant huntingtin is required for altered Ca^{2+} signaling and apoptosis of striatal neurons in the YAC mouse model of Huntington's disease. *Neurobiol. Dis*. 2008. 31:80-88.
- Tang T.S., Guo C., Wang H., Chen X., Bezprozvanny I. Neuroprotective effects of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor C-terminal fragment in a Huntington's disease mouse model. *J. Neurosci*. 2009. 29:1257-1266.

14. Zeron M.M., Hansson O., Chen N., Wellington C.L., Leavitt B.R., Brundin P., Hayden M.R., Raymond L.A. Increased sensitivity to N-methyl-D-aspartate receptor-mediated excitotoxicity in a mouse model of Huntington's disease. *Neuron*. 2002. 33:849–860.
15. Fan M.M., Fernandes H.B., Zhang L.Y., Hayden M.R., Raymond L.A. Altered NMDA receptor trafficking in a yeast artificial chromosome transgenic mouse model of Huntington's disease. *J. Neurosci*. 2007. 27:3768–3779.
16. Shehadeh J., Fernandes H.B., Zeron Mullins M.M., Graham R.K., Leavitt B.R., Hayden M.R., Raymond L.A. Striatal neuronal apoptosis is preferentially enhanced by NMDA receptor activation in YAC transgenic mouse model of Huntington disease. *Neurobiol. Dis.* 2006. 21:392–403.
17. Wu J., Tang T.-S., Bezprozvanny I. Evaluation of clinically-relevant glutamate pathway inhibitors in vitro model of Huntington's disease. *Neurosci. Lett.* 2006. 407:219–223.
18. Ondo W.G., Mejia N.I., Hunter C.B. A pilot study of the clinical efficacy and safety of memantine for Huntington's disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* 2007. 13:453–454.
19. Landwehrmeyer G.B., Dubois B., de Yébenes J.G., Kremer B., Gaus W., Kraus P.H., Przuntek H., Dib M., Doble A., Fischer W., Ludolph A.C. Riluzole in Huntington's disease: a 3-year, randomized controlled study. *Ann. Neurol.* 2007. 62:262–272.
20. Swayne L.A., Chen L., Hameed S., Barr W., Charlesworth E., Colicos M.A., Zamponi G.W., Braun J.E. Crosstalk between huntingtin and syntaxin 1A regulates N-type calcium channels. *Mol. Cell. Neurosci.* 2005. 30:339–351.
21. Romero E., Cha G.H., Verstreken P., Ly C.V., Hughes R.E., Bellen H.J., Botas J. Suppression of neurodegeneration and increased neurotransmission caused by expanded full-length huntingtin accumulating in the cytoplasm. *Neuron*. 2008. 57:27–40.
22. Cepeda C., Wu N., Andre V.M., Cummings D.M., Levine M.S. The corticostriatal pathway in Huntington's disease. *Prog. Neurobiol.* 2007. 81:253–271.
23. Gafni J., Hermel E., Young J.E., Wellington C.L., Hayden M.R., Ellerby L.M. Inhibition of calpain cleavage of huntingtin reduces toxicity: accumulation of calpain/caspase fragments in the nucleus. *J. Biol. Chem.* 2004. 279:20211–20220.
24. Cowan C.M., Fan M.M., Fan J., Shehadeh J., Zhang L.Y., Graham R.K., Hayden M.R., Raymond L.A. Polyglutamine-modulated striatal calpain activity in YAC transgenic huntingtin disease mouse model: impact on NMDA receptor function and toxicity. *J. Neurosci.* 2008. 28:12725–12735.
25. Vosler P.S., Brennan C.S., Chen J. Calpain-mediated signaling mechanisms in neuronal injury and neurodegeneration. *Mol. Neurobiol.* 2008. 38:78–100.
26. Bossy-Wetzell E., Petrilli A., Knott A.B. Mutant huntingtin and mitochondrial dysfunction. *Trends Neurosci.* 2008. 31:609–616.
27. Panov A.V., Gutekunst C.A., Leavitt B.R., Hayden M.R., Burke J.R., Strittmatter W.J., Greenamyre J.T. Early mitochondrial calcium defects in Huntington's disease are a direct effect of polyglutamates. *Nat. Neurosci.* 2002. 5:731–736.
28. Wang X., Zhu S., Pei Z., Drozda M., Stavrovskaya I.G., Del Signore S.J., Cormier K., Shimony E.M., Wang H., Ferrante R.J., Kristal B.S., Friedlander R.M. Inhibitors of cytochrome c release with therapeutic potential for Huntington's disease. *J. Neurosci.* 2008. 28:9473–9485.
29. Savani A.A., Loggin I.S. Tetraabenazine as antichorea therapy in Huntington disease: a randomized controlled trial. *Neurology*. 2007. 68:797; author reply 797.
30. Tang T.S., Chen X., Liu J., Bezprozvanny I. Dopaminergic signaling and striatal neurodegeneration in Huntington's disease. *J. Neurosci.* 2007. 27:7899–7910.
31. Vig P.J., Subramony S.H., McDaniel D.O. Calcium homeostasis and spinocerebellar ataxia-1 (SCA-1). *Brain Res. Bull.* 2001. 56:221–225.
32. Lin X., Antalffy B., Kang D., Orr H.T., Zoghbi H.Y. Polyglutamine expansion down-regulates specific neuronal genes before pathologic changes in SCA1. *Nat. Neurosci.* 2000. 3:157–163.
33. Pulst S.M., Santos N., Wang D., Yang H., Huynh D., Velazquez L., Figueroa K.P. Spinocerebellar ataxia type 2: polyQ repeat variation in the CACNA1A calcium channel modifies age of onset. *Brain*. 2005. 128:2297–2303.
34. Haacke A., Hartl F.U., Breuer P. Calpain inhibition is sufficient to suppress aggregation of polyglutamine-expanded ataxin-3. *J. Biol. Chem.* 2007. 282:18851–18856.
35. Chen X., Tang T.-S., Tu H., Nelson O., Pook M.A., Hammer R.E., Nukina N., Bezprozvanny I. Deranged calcium signaling and neurodegeneration in spinocerebellar ataxia type 3. *J. Neurosci.* 2008. 28:12713–12724.
36. Piedras-Renteria E.S., Watase K., Harata N., Zhuchenko O., Zoghbi H.Y., Lee C.C., Tsien R.W. Increased expression of alpha 1A Ca²⁺ channel currents arising from expanded trinucleotide repeats in spinocerebellar ataxia type 6. *J. Neurosci.* 2001. 21:9185–9193.
37. Watase K., Barrett C.F., Miyazaki T., Ishiguro T., Ishikawa K., Hu Y., Unno T., Sun Y., Kasai S., Watanabe M., Gomez C.M., Mizusawa H., Tsien R.W., Zoghbi H.Y. Spinocerebellar ataxia type 6 knockin mice develop a progressive neuronal dysfunction with age-dependent accumulation of mutant Ca_v2.1 channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2008. 105:11987–11992.
38. van de Leemput J. et al. Deletion of ITPRI1 underlies ataxia in mice and spinocerebellar ataxia 15 in humans. *PLoS Genet.* 2007. 3:e108.
39. Hardy J., Selkoe D.J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*. 2002. 297:353–356.
40. Seabrook G.R., Ray W.J., Shearman M., Hutton M. Beyond amyloid: the next generation of Alzheimer's disease therapeutics. *Mol. Interv.* 2007. 7:261–270.
41. Bezprozvanny I., Mattson M.P. Neuronal calcium mishandling and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Trends Neurosci.* 2008. 31:454–463.
42. Arispe N., Rojas E., Pollard H.B. Alzheimer disease amyloid beta protein forms calcium channels in bilayer membranes: blockade by tromethamine and aluminum. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 1993. 90:567–571.
43. Lee G., Pollard H.B., Arispe N. Annexin 5 and apolipoprotein E2 protect against Alzheimer's amyloid-beta-peptide cytotoxicity by competitive inhibition at a common phosphatidylserine interaction site. *Peptides*. 2002. 23:1249–1263.
44. Simakova O., Arispe N.J. The cell-selective neurotoxicity of the Alzheimer's Abeta peptide is determined by surface phosphatidylserine and cytosolic ATP levels. Membrane binding is required for Abeta toxicity. *J. Neurosci.* 2007. 27:13719–13729.
45. Kuchibhotla K.V., Goldman S.T., Lattarulo C.R., Wu H.Y., Hyman B.T., Bacskai B.J. Abeta plaques lead to aberrant regulation of calcium homeostasis in vivo resulting in structural and functional disruption of neuronal networks. *Neuron*. 2008. 59:214–225.
46. De Felice F.G., Velasco P.T., Lambert M.P., Viola K., Fernandez S.J., Ferreira S.T., Klein W.L. Abeta oligomers induce neuronal oxidative stress through an N-methyl-D-aspartate receptor-dependent mechanism that is blocked by the Alzheimer drug memantine. *J. Biol. Chem.* 2007. 282:11590–11601.
47. Shankar G.M., Bloodgood B.L., Townsend M., Walsh D.M., Selkoe D.J., Sabatini B.L. Natural oligomers of the Alzheimer amyloid-beta protein induce reversible synapse loss by modulating an NMDA-type glutamate receptor-dependent signaling pathway. *J. Neurosci.* 2007. 27:2866–2875.
48. Hsieh H., Boehm J., Sato C., Iwatsubo T., Tomita T., Sisodia S., Malinow R. AMPAR removal underlies Abeta-induced synaptic depression and dendritic spine loss. *Neuron*. 2006. 52:831–843.
49. Nimrich V., Grimm C., Draguhn A., Barghorn S., Lehmann A., Schoemaker H., Hillen H., Gross G., Ebert U., Bruehl C. Amyloid beta oligomers (A beta(1–42) globulomer) suppress spontaneous synaptic activity by inhibition of P/Q-type calcium currents. *J. Neurosci.* 2008. 28:788–797.
50. Ito E., Oka K., Etcheberrigaray R., Nelson T.J., McPhie D.L., Tofel-Grehl B., Gibson G.E., Alkon D.L. Internal Ca²⁺ mobilization is altered in fibroblasts from patients with Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 1994. 91:534–538.
51. Leissring M.A., Paul B.A., Parker I., Cotman C.W., LaFerla F.M. Alzheimer's presenilin-1 mutation potentiates inositol 1,4,5-trisphosphate-mediated calcium signaling in Xenopus oocytes. *J. Neurochem.* 1999. 72:1061–1068.
52. Stutzmann G.E., Caccamo A., LaFerla F.M., Parker I. Dysregulated IP3 signaling in cortical neurons of knock-in mice expressing an Alzheimer's-linked mutation in presenilin1 results in exaggerated Ca²⁺ signals and altered membrane excitability. *J. Neurosci.* 2004. 24:508–513.
53. Stutzmann G.E., Smith I., Caccamo A., Oddo S., Laferla F.M., Parker I. Enhanced ryanodine receptor recruitment contributes to Ca²⁺ disruptions in young, adult, and aged Alzheimer's disease mice. *J. Neurosci.* 2006. 26:5180–5189.
54. Leissring M.A., Akbari Y., Fanger C.M., Cahalan M.D., Mattson M.P., LaFerla F.M. Capacitative calcium entry deficits and elevated luminal calcium content in mutant presenilin-1 knockin mice. *J. Cell. Biol.* 2000. 149:793–798.
55. Yoo A.S., Cheng I., Chung S., Grenfell T.Z., Lee H., Pack-Chung E., Handler M., Shen J., Xia W., Tesco G., Saunders A.J., Ding K., Froesch M.P., Tanzi R.E., Kim T.W. Presenilin-mediated modulation of capacitative calcium entry. *Neuron*. 2000. 27:561–572.
56. Chan S.L., Mayne M., Holden C.P., Geiger J.D., Mattson M.P. Presenilin-1 mutations increase levels of ryanodine receptors and calcium release in PC12 cells and cortical neurons. *J. Biol. Chem.* 2000. 275:18195–18200.
57. Rybalchenko V., Hwang S.Y., Rybalchenko N., Koulen P. The cytosolic N-terminus of presenilin-1 potentiates mouse ryanodine receptor single channel activity. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2008. 40:84–97.
58. Cai C., Lin P., Cheung K.H., Li N., Levchook C., Pan Z., Ferrante C., Boulianne G.L., Foskett J.K., Danielpour D., Ma J. The presenilin-2 loop peptide perturbs intracellular Ca²⁺ homeostasis and accelerates apoptosis. *J. Biol. Chem.* 2006. 281:16649–16655.
59. Cheung K.H., Shineman D., Muller M., Cardenas C., Mei L., Yang J., Tomita T., Iwatsubo T., Lee V.M., Foskett J.K. Mechanism of Ca²⁺ disruption in Alzheimer's disease by presenilin regulation of InsP(3) receptor channel gating. *Neuron*. 2008. 58:871–883.
60. Green K.N., Demuro A., Akbari Y., Hitt B.D., Smith I.F., Parker I., LaFerla F.M. SERCA pump activity is physiologically regulated by presenilin and regulates amyloid beta production. *J. Cell. Biol.* 2008. 181:1107–1116.
61. Tu H., Nelson O., Bezprozvanny A., Wang Z., Lee S.-F., Hao Y.H., Searns L., De Strooper B., Yu G., Bezprozvanny I. Presenilins form ER peptide leak channels, a function disrupted by mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Cell*. 2006. 126:981–993.
62. Nelson O., Tu H., Lei T., Bentahir M., de Strooper B., Bezprozvanny I. Familial Alzheimer disease-linked mutations specifically disrupt Ca²⁺ leak function of presenilin 1. *J. Clin. Invest.* 2007. 117:1230–1239.
63. Trinchese F., Fa M., Liu S., Zhang H., Hidalgo A., Schmidt S.D., Yamaguchi H., Yoshii N., Mathews P.M., Nixon R.A., Arancio O. Inhibition of calpains improves memory and synaptic transmission in a mouse model of Alzheimer disease. *J. Clin. Invest.* 2008. 118:2796–2807.
64. Palop J.J., Jones B., Kekoni L., Chin J., Yu G.-Q., Raber J., Masliah E., Mucke L. Neuronal depletion of calcium-dependent proteins in the dentate gyrus is tightly linked to Alzheimer's disease-related cognitive deficits. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2003. 100:9572–9577.
65. Sanz-Blasco S., Valero R.A., Rodriguez-Crespo I., Villalobos C., Nunez L. Mitochondrial Ca²⁺ overload underlies Abeta oligomers neurotoxicity providing an unexpected mechanism of neuroprotection by NSAIDs. *PLoS ONE*. 2008. 3:e2718.
66. Dreses-Werringloer U. et al. A polymorphism in CALHM1 influences Ca²⁺ homeostasis, A beta levels, and Alzheimer's disease risk. *Cell*. 2008. 133:1149–1161.
67. Bertram L., Schjeide B.M., Hooli B., Mullin K., Hiltunen M., Soininen H., Ingelsson M., Lannfelt L., Blacker D., Tanzi R.E. No association between CALHM1 and Alzheimer's disease risk. *Cell*. 2008. 135:993–994; author reply 994–996.
68. Arispe N., Diaz J.C., Simakova O. Abeta ion channels. Prospects for treating Alzheimer's disease with Abeta channel blockers. *Biochim. Biophys. Acta*. 2007. 1768:1952–1965.
69. Lipton S.A. Paradigm shift in neuroprotection by NMDA receptor blockade: memantine and beyond. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2006. 5:160–170.
70. Chaturvedi R.K., Beal M.F. Mitochondrial approaches for neuroprotection. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2008. 1147:395–412.
71. Doody R.S., Gavrilova S.I., Sano M., Thomas R.G., Aisen P.S., Bachurin S.O., Seely L., Hung D. Effect of dimebon on cognition, activities of daily living, behaviour, and global function in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Lancet*. 2008. 372:207–215.
72. Bernales S., Wagner S., Protter A.A., Hung D.T. Dimebon induces neurite outgrowth and mitochondrial stabilization. *Society for Neuroscience Abstracts*. 2008. 543.29.
73. Wu J., Li Q., Bezprozvanny I. Evaluation of Dimebon in cellular model of Huntington's disease. *Mol. Neurodegener.* 2008. 3:15.