

УДК 576.33

Действие гидрофобных моноаминов на протон-активируемые ионные каналы ASIC1b

Э. И. Нагаева*, Н. Н. Потапова, Д. Б. Тихонов

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, 194223, Санкт-Петербург, просп. Тореза, 44

*E-mail: eline00111@gmail.com

Поступила в редакцию 11.11.2014

После доработки 04.04.2015

РЕФЕРАТ Протон-активируемые ионные каналы (ASICs) широко распространены как в центральной, так и в периферической нервной системе позвоночных животных. Однако фармакология этих рецепторов изучена недостаточно подробно, и актуальным представляется поиск новых модуляторов ASICs. Недавно нами было показано, что некоторые моноамины, являющиеся блокаторами NMDA-рецепторов, способны разнонаправленно влиять на протон-активируемые ионные каналы в зависимости от их субъединичного состава. Изучено действие 9-аминокридина, ИЭМ-1921, ИЭМ-2117 и мемантина как на нативные рецепторы, так и на рекомбинантные гомомерные рецепторы ASIC1a, ASIC2a и ASIC3. В представленной работе протестировано действие этих четырех соединений на гомомерные каналы ASIC1b. Эксперименты проводили методом локальной фиксации потенциала (patch clamp) в конфигурации «целая клетка» на рекомбинантных рецепторах, экспрессированных в культуре клеток линии CHO. Только два из четырех соединений, 9-аминокридин и мемантин, ингибировали каналы ASIC1b. Два других, ИЭМ-1921 и ИЭМ-2117, не проявили активности даже в концентрации 1000 мкМ. В целом, действие соединений на ASIC1b было сходным с их действием на ASIC1a. Особенностью гомомерных ASIC1b-каналов является крутой наклон кривой зависимости активации от концентрации агониста, свидетельствующий о кооперативности активации протонами. В наших экспериментах кривая концентрационной зависимости ингибирования ASIC1b-каналов 9-аминокридином также имела крутой наклон (коэффициент Хилла 3.8), в отличие от ингибирования ASIC1a, где коэффициент Хилла был близок к единице. Это свидетельствует о том, что действие 9-аминокридина связано с изменениями активационных свойств протон-управляемых каналов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА ингибирование, ионные каналы, ASIC, 9-аминокридин, мемантин, patch clamp, потенциация.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ASIC – acid-sensing ion channel – протон-активируемые ионные каналы; ЦНС – центральная нервная система; ПНС – периферическая нервная система; GFP – green fluorescent protein – зеленый флуоресцентный белок; ИК₅₀ – концентрация, вызывающая 50% ингибирование; pH₅₀ – уровень pH среды, при котором достигается 50% максимальной амплитуды ответа.

ВВЕДЕНИЕ

Протон – наиболее простой нейротрансмиттер [1], действие которого опосредуется через протон-активируемые ионные каналы (ASICs). ASICs – это потенциал-нечувствительные каналы, которые относятся к суперсемейству дегенерин/эпителиальных натриевых каналов (DEG/ENAC) и активируются в ответ на закисление внеклеточной среды. На данный момент идентифицировано четыре гена (*accn1-4*), кодирующих шесть различных субъединиц ASIC: ASIC1a и ASIC1b – продукты альтернативного сплайсинга гена *accn2*, ASIC2a и ASIC2b – продукты альтернативного сплайсинга гена *accn1*, а также субъеди-

ницы ASIC3 и ASIC4 [2]. Функционально активный канал может быть как гомо-, так и гетеротримерным [3], при этом только субъединицы ASIC1a, ASIC1b, ASIC2a и ASIC3 способны образовывать функционирующий гомомерный канал.

В центральной нервной системе экспрессируются субъединицы ASIC1a, ASIC2a и ASIC2b, преимущественно в таких областях, как гиппокамп, миндалинное тело, мозжечок, полосатое тело, кора больших полушарий и обонятельные луковицы [4–10]. В периферической нервной системе преобладают субъединицы ASIC1b и ASIC3, их можно встретить в чувствительных нейронах задних корешков

спинного мозга, тройничного и блуждающего нервов. Стоит отметить, что только ASIC3 способны давать стационарный ток в ответ на понижение pH. Эта разновидность протон-активируемых каналов, как и ASIC1b, отвечает за восприятие болевых стимулов, сопровождающих воспаление, переломы, опухоли, гематомы и послеоперационные раны, а также участвует в механорецепции [11, 12]. В центральной нервной системе ASICs вовлечены в такие важные физиологические процессы, как синаптическая передача, синаптическая пластичность, память, обучение [13], страх и депрессия [14], наркотическая зависимость [15] и хемочувствительность [16].

Несмотря на широкое распространение протон-активируемых каналов как в ЦНС, так и в ПНС, фармакология этих рецепторов изучена слабо. Так, на настоящий момент известно, что только гомомеры ASIC1a и ASIC3 могут специфически блокироваться псалмотоксином 1 (PsTx1) – токсином из яда южноамериканского тарантула *Psalmopoeus cambridgei* [17] и токсином APETx2 из яда морской анемоны *Anthopleura elegantissima* [18] соответственно. При этом специфичность псалмотоксина 1 теряется с увеличением концентрации: в концентрации выше 3 нМ он также способен блокировать гетеромеры ASIC1a/2b, а в концентрации более 100 нМ вызывает потенциацию ASIC1b [19]. Самый известный блокатор протон-активируемых каналов амилорид [20] действует на все типы ASICs, а также на другие натриевые каналы из семейства DEG/ENAC [21]. Все попытки синтезировать более специфические структуры на основе амилорида, содержащие одну или две амидиновые группы, не дали желаемых результатов [22, 23]. Говоря о специфичности, следует упомянуть синтетическое соединение 2-гуанидин-4-метилкуиназолин (GMQ), способное избирательно активировать гомомеры ASIC3, взаимодействуя с лигандсвязывающим доменом, отличным от протонсвязывающего [24]. Таким образом, на сегодняшний день фармакологических инструментов, способных дифференцировать разные подтипы протон-активируемых ионных каналов, крайне мало, и поиск новых специфических блокаторов/активаторов представляет актуальную задачу.

Недавно нами было показано, что четыре различных блокатора NMDA-рецепторов (рис. 1А), а именно, 9-аминоакридин [25], ИЭМ-1921 [26, 27], мемантин [28] и ИЭМ-2117 [29, 30] способны разнонаправленно модулировать работу протон-активируемых ионных каналов в зависимости от их субъединичного состава [31]. Так, 9-аминоакридин (9АА), ИЭМ-2117 и мемантин в разной степени ингибировали гомомеры ASIC1a; ИЭМ-1921 не оказывал никакого действия даже в концентрации 1000 мкМ. Ответы ASIC2a,

напротив, потенцировались ИЭМ-1921, ИЭМ-2117 и мемантином и не изменялись при действии 9АА. Влияние протестированных соединений на ASIC3 было более сложным, ввиду наличия пикового и стационарного компонентов тока через эти каналы. ИЭМ-1921 и 9-аминоакридин потенцировали устойчивый компонент, но ингибировали пиковый. ИЭМ-2117 и мемантин потенцировали оба компонента ответа. При этом ИЭМ-2117 был наиболее активным потенциатором и, кроме того, активировал ASIC3-каналы в нейтральной среде (pH 7.4), вызывая стационарный ток.

В настоящей работе мы изучили действие четырех описанных соединений на гомомерный канал, образуемый субъединицей ASIC1b, которая, как и субъединица ASIC1a, является продуктом альтернативного сплайсинга гена *acsn2*. Этот канал интересен еще и тем, что имеет очень характерную кривую активации с высоким коэффициентом Хилла (n_H), равным 4.8 [32]. Анализ действия потенциаторов/ингибиторов на рецепторе с подобной характеристикой может помочь проверить гипотезу о возможном механизме действия лигандов за счет увеличения/снижения сродства протонов к протонсвязывающему сайту ASICs. Мы показали, что действие гидрофобных моноаминов на ASIC1b подобно их действию на ASIC1a за исключением того, что концентрационная кривая ингибирования 9АА имеет значительно больший коэффициент Хилла по сравнению с ASIC1a.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Клетки линии CHO (культура клеток эпителия яичника китайского хомячка) культивировали в CO₂-инкубаторе при 37°C и 5% CO₂. Среда для роста клеток состояла из раствора DMEM/F12 (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) с добавлением 10% эмбриональной коровьей сыворотки и 1% стрептомицина/пенициллина. Трансфекцию клеток плазмидами проводили при помощи реагента «Липофектамин 2000» (Invitrogen, США) в соответствии с протоколом производителя. Плазмида, несущая конструкцию rASIC1b-pEGFP-C1, любезно предоставлена А. Старущенко. Клетки линии CHO высевали на стекла площадью не более 25 мм², равномерно распределенные по дну чашки Петри диаметром 35 мм. Для экспрессии гомомерных каналов ASIC1b клетки трансфицировали плазмидой (0.5 мкг), несущей ген *ASIC1b*, совместно с плазмидой (0.5 мкг), кодирующей флуоресцентный белок GFP. Электрофизиологические эксперименты проводили через 36–72 ч после трансфекции. Трансфицированные клетки детектировали по зеленому свечению при помощи микроскопа Leica DM IL (Leica Microsystems, Германия).

Токи, вызванные быстрым закислением среды, регистрировали при помощи метода локальной фиксации потенциала (patch clamp) в конфигурации «целая клетка». Для этого использовали усилитель ЕРС-8 (НЕКА Electronics, Германия); сигнал фильтровали в полосе частот 0–5 кГц, оцифровывали с частотой дискретизации 1 кГц и записывали на персональный компьютер при помощи программного обеспечения Patchmaster того же производителя (НЕКА Electronics, Германия). Все эксперименты проводили при комнатной температуре (23–25 °С). Микропипеточный раствор содержал (в мМ): CsF 100, CsCl 40, NaCl 5, CaCl₂ 0.5, EGTA 5, HEPES 10 (рН доводили до 7.2, добавляя CsOH). Внеклеточный раствор содержал (в мМ): NaCl 143, KCl 5, CaCl₂ 2.5, D-глюкоза 10, HEPES 10, MES 10 (рН доводили до 7.35, добавляя NaOH). Все растворы фильтровали через мелкопоровые целлюлозные мембраны при помощи вакуумного стеклянного фильтра (Sartorius AG, Германия).

Растворы с низкими значениями рН, которые использовали для активации каналов, готовили из базового внеклеточного раствора, добавляя HCl. Тестируемые моноамины были синтезированы ранее по заказу нашей лаборатории В.Е. Гмиро в НИИ Экспериментальной медицины города Санкт-Петербурга. Для получения маточного раствора моноамина с концентрацией 5×10^{-2} М навеску его кристаллической формы растворяли в бидистиллированной воде. Далее нужный объем маточного раствора добавляли к рабочим растворам с разными значениями рН. При приготовлении растворов моноаминов в каждом конкретном случае проверяли рН полученной смеси, при обнаружении сдвига доводили рН до необходимого значения при помощи 0.1 н. раствора HCl или 0.2 н. раствора NaOH. Для подачи тестовых соединений использовали многоканальную систему быстрой аппликации веществ ALA-VM8 (ALA Scientific Instruments, США). Интервал между тестовыми аппликациями составил 60 с.

Все данные представлены в виде «значение \pm стандартное отклонение», определенном на основе, как минимум, пяти экспериментов. Статистическую значимость эффектов оценивали при помощи парного *t*-теста с $p = 0.05$ (значение амплитуды ответа в присутствии тестируемого соединения относительно контроля). Форму ответа анализировали путем измерения времени нарастания тока с 10 до 90% от максимальной амплитуды и расчетом постоянной времени спада ответа при помощи моноэкспоненциальной аппроксимации по методу наименьших квадратов.

Для наглядности оценки изменения кинетики ответа под действием изучаемых соединений применя-

ли метод нормализации токов по амплитуде (рис. 2). Для этого вычисляли соотношение контрольного тока в ответ на рН и тока в присутствии исследуемого соединения. Меньший по амплитуде ток перемножали на полученное отношение и в результате получали ответы, равные по амплитуде.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Уменьшение рН внеклеточной среды от исходного уровня 7.35 приводило к появлению транзиентных токов в клетках, несущих плазмиду ASIC1b. Пороговые токи, превышающие уровень шума более чем в 2 раза (40–100 пА), наблюдали при предъявлении раствора с рН 6.8. При снижении рН раствора до 6.5 (рис. 3А,Б) регистрировались токи до 1 нА. Такое резкое увеличение ответа связано с высоким углом наклона кривой активации ($n_H = 4.9 \pm 0.2$; $pH_{50} = 6.3 \pm 0.2$, $n = 5$) (рис. 3А). Эти данные согласуются с опубликованными ранее [32]. Классический блокатор протон-активируемых ионных каналов амилорид (30 мкМ) блокировал токи на $53 \pm 7\%$ ($n = 6$) при совместной аппликации с раствором, имеющим рН 6.2. Кинетика спада ответа вследствие десенситизации рецепторов ($\tau = 0.67 \pm 0.12$ с, $n = 5$) также соответствовала ранее опубликованным данным.

Ни одно из четырех исследованных соединений не вызывало токов в нейтральной среде даже в высоких концентрациях (данные не приведены).

ИЭМ-1921 и ИЭМ-2117

Поскольку ASIC1b и ASIC1a – это два варианта альтернативного сплайсинга одного и того же гена *accn2*, можно было предполагать, что действие исследуемых соединений на ASIC1b будет сходным с действием на ASIC1a. Однако это предположение оказалось верным только для некоторых из соединений. Как и в случае с ASIC1a, производное фенилциклогексила ИЭМ-1921 не проявило активности в отношении ASIC1b-каналов в диапазоне концентраций от 10 до 1000 мкМ. Так же вел себя и ИЭМ-2117 (рис. 1Б), хотя в случае с ASIC1a он проявил себя как слабый ингибитор: 1000 мкМ соединения вызывали уменьшение ответа на $34 \pm 10\%$ ($n = 7$).

Мемантин

Единственный применяемый в клинике блокатор NMDA-рецепторов [33], мемантин, не оказывал действия на гомомеры ASIC1b в концентрациях ниже 100 мкМ. Однако в более высоких концентрациях мемантин проявил себя как слабый ингибитор. Так, мемантин в концентрации 300 мкМ ингибировал $19 \pm 6\%$ ($n = 5$) тока, а аппликация 1000 мкМ соединения приводила к снижению амплитуды ответа на $44 \pm 16\%$ ($n = 5$) относительно контроля (рис. 1Б). Поскольку

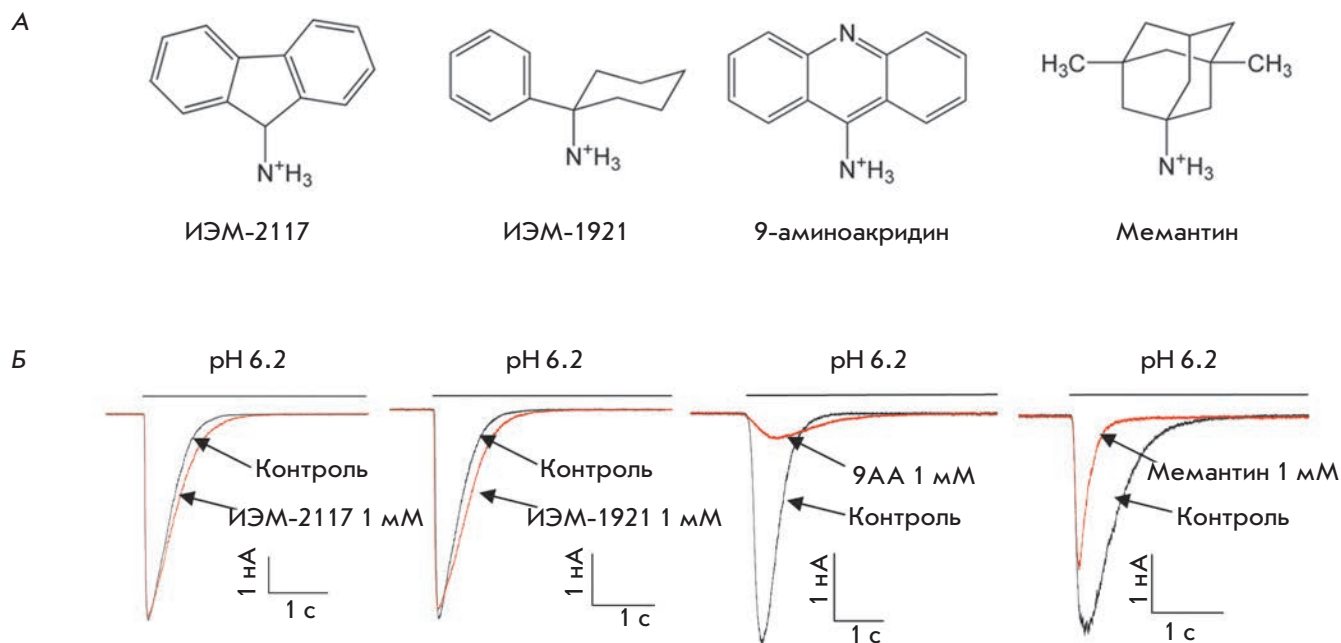


Рис. 1. Действие гидрофобных моноаминов на ASIC1b. А – химические структуры исследованных соединений. Б – примеры токов в контроле (черным) и в присутствии 1000 мкМ исследуемых соединений

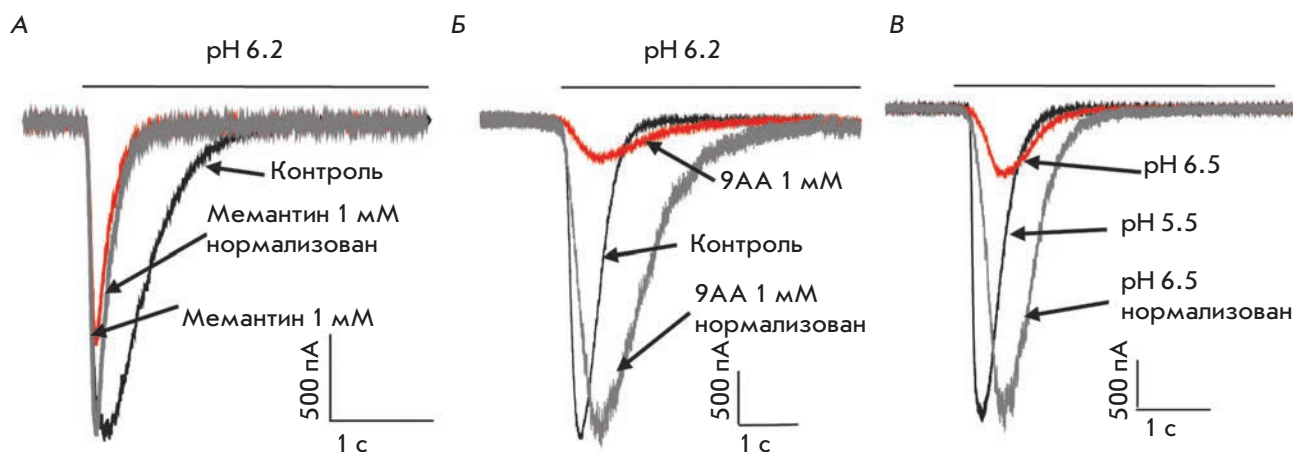


Рис. 2. Изменение кинетики ответа при действии 1000 мкМ мемантина (А) и 1000 мкМ 9АА (Б). Серая линия представляет ответ в присутствии ингибитора, нормализованный по амплитуде до уровня контрольного ответа. Видно, что мемантин, будучи слабым ингибитором, сильно уменьшает постоянную времени спада тока, что выглядит как резкое сужение ответа. 9АА, напротив, расширяет ответ за счет увеличения этой постоянной. В – примеры токов в ответ на более низкую (красный) и более высокую (черный) концентрацию протонов. При нормализации (серый) ответов по амплитуде видно расширение ответа как и в случае с 9АА (Б)

насыщающая концентрация соединения не была достигнута, измерить параметр IK_{50} не представлялось возможным. Помимо ингибирующего эффекта, 1000 мкМ мемантина вызывали уменьшение постоянной времени спада ответа с 0.50 ± 0.12 с ($n = 6$) до 0.15 ± 0.02 с ($n = 5$) (рис. 2А). Подобное изменение

формы ответа наблюдалось нами ранее и для гомомеров ASIC1a.

9-аминоакридин

9АА оказался наиболее активным ингибитором ASIC1b-каналов. 1000 мкМ 9АА снижали амплитуду

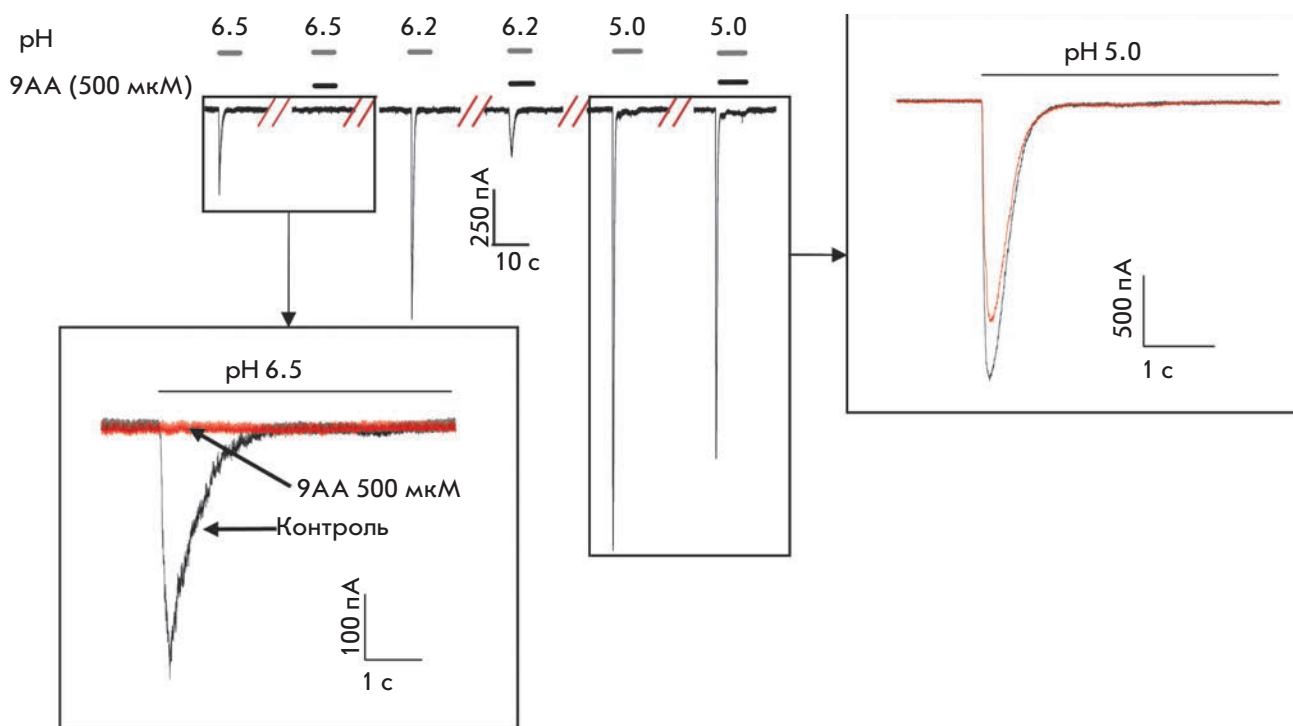


Рис. 4. Действие 9AA на каналы ASIC1b в зависимости от уровня их активации. Примеры токов через ASIC1b-каналы в ответ на разные pH в отсутствие и в присутствии 500 мкМ 9AA. В блоках вынесены увеличенные наложения токов при предъявлении раствора с pH 6.5 (нижний блок) и с pH 5.0 (правый блок). Видно, что при низкой концентрации агониста (pH 6.5) процент ингибирования достигает практически 100% (красная линия). При насыщающей концентрации агониста (pH 5.0) ингибирующий эффект резко снижается

Поскольку действие 9-аминоакридина на гомомеры ASIC1a характеризовалось выраженной pH-зависимостью (ослабление ингибирования при уменьшении значения активирующего pH), мы решили проанализировать этот эффект и на ASIC1b-каналы. В условиях относительно низкой концентрации протонов (pH 6.5) наблюдалось практически полное подавление ответа (на $92 \pm 3\%$, $n = 7$). При более сильном закислении (pH 5.0) выраженность эффекта снижалась до $28 \pm 8\%$ ($n = 5$) (рис. 4). Это обстоятельство свидетельствует в пользу гипотезы о снижении сродства протонов к рецептору как возможному механизму действия 9AA на ASIC1b-каналы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Как и можно было предполагать, действие гидрофобных моноаминов на гомомеры ASIC1b во многом напоминает их действие на гомомеры ASIC1a. Производное фенилциклогексила ИЭМ-1921 никак не влияло на активность обоих каналов. Мемантин и 9AA оказывали выраженное ингибирующее действие при совместной аппликации с кислым раствором. Как и в случае с ASIC1a, мемантин не только

снижал амплитуду ответа, но и сильно уменьшал постоянную времени спада тока. 9AA оказался наиболее активным ингибитором: в концентрации 1000 мкМ вызывал $86 \pm 10\%$ ($n = 7$) ответа через ASIC1b и $77 \pm 9\%$ ($n = 6$) через ASIC1a. Действие 9AA характеризовалось выраженной pH-зависимостью в обоих случаях – ингибирующий эффект заметно уменьшался в условиях насыщающей концентрации агониста. Только ИЭМ-2117 показал некоторую субъединичную специфичность и не ингибировал гомомеры ASIC1b. Несмотря на небольшие различия в действии исследованных соединений на два родственных гомомера, можно заключить, что альтернативный сплайсинг не оказывает прямого влияния на действие гидрофобных моноаминов.

Сделать окончательные выводы о механизме действия исследованных соединений на ASIC-каналы на данном этапе не представляется возможным. Вероятно, существуют различия в механизмах действия мемантина и 9AA, поскольку эти соединения по-разному меняют форму ответа на закисление (рис. 2А,Б). Действие мемантина (уменьшение постоянной времени спада) напоминает действие блокато-

ров открытого канала или промоторов десенситизации. Действие 9AA связано, возможно, с изменением сродства к протонам. Аргументами в пользу этой гипотезы являются: (1) корреляция между коэффициентами Хилла для активации каналов и их ингибирования 9AA (рис. 3А,В) и (2) аналогия между изменением формы ответа в присутствии 9AA и при активации канала небольшим закислением (рис. 2Б,В). Для более точных выводов о механизмах и сайтах связывания гидрофобных моноаминов с ASICs требуются дополнительные исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе в дополнение к полученным ранее результатам мы показали, что классические блокаторы NMDA-рецепторов способны модулировать работу всех функционально активных гомомеров ASIC, и направленность эффекта зависит от субъединичного состава рецептора. Важно отметить, что все исследованные соединения имеют крайне простую химическую структуру, состоящую из одной аминогруппы и гидрофобного «ядра». Такая структура в корне отличается от амидин-содержащих производных амилорида и других

известных модуляторов протон-активируемых ионных каналов. Этот факт позволяет отнести гидрофобные моноамины к новому классу лигандов ASICs. Кроме того, это позволяет предположить, что ASICs могут служить мишенью для многих уже используемых в клинике лекарств (например, трициклических антидепрессантов, некоторых психотропных соединений), а также для эндогенных моноаминов и их производных. Последнее предположение крайне важно для определения физиологической роли протон-активируемых ионных каналов в ЦНС. Как сказано выше, ASICs имеют высокий уровень экспрессии во всех наиболее значимых для жизнедеятельности отделах мозга. Однако диапазон pH, в котором эти каналы активируются, не реализуется в нормальных физиологических процессах. Следовательно, высока вероятность существования эндогенных активаторов/модуляторов этих каналов. Поиск таких эндогенных аминов представляется перспективным. ●

Работа поддержана РФФИ (гранты № 14-04-31861 мол_а, 13-04-00724) и программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Du J., Reznikov L.R., Price M.P., Zha X.-M., Lu Y., Moninger T.O., Wemmie J.A., Welsh M.J. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2014. V. 111. № 24. P. 8961–8966.
- Deval E., Gasull X., Noël J., Salinas M., Baron A., Diochot S., Lingueglia E. // Pharmacol. Ther. 2010. V. 128. № 3. P. 549–558.
- Jasti J., Furukawa H., Gonzales E.B., Gouaux E. // Nature. 2007. V. 449. № 7160. P. 316–323.
- Alvarez de la Rosa D., Zhang P., Shao D., White F., Canessa C.M. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. V. 99. № 4. P. 2326–2331.
- Baron A., Waldmann R., Lazdunski M. // J. Physiol. 2002. V. 539. № 2. P. 485–494.
- Bolshakov K.V., Essin K.V., Buldakova S.L., Dorofeeva N.A., Skatchkov S.N., Eaton M.J., Tikhonov D.B., Magazanik L.G. // Neuroscience. 2002. V. 110. № 4. P. 723–730.
- García-Añoveros J., Derfler B., Neville-Golden J., Hyman B.T., Corey D.P. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. V. 94. № 4. P. 1459–1464.
- Lingueglia E., de Weille J.R., Bassilana F., Heurteaux C., Sakai H., Waldmann R., Lazdunski M. // J. Biol. Chem. 1997. V. 272. № 47. P. 29778–29783.
- Price M.P., Snyder P.M., Welsh M.J. // J. Biol. Chem. 1996. V. 271. № 14. P. 7879–7882.
- Wemmie J.A., Askwith C.C., Lamani E., Cassell M.D., Freeman J.H., Welsh M.J. // J. Neurosci. 2003. V. 23. № 13. P. 5496–5502.
- Price M.P., Lewin G.R., McIlwrath S.L., Cheng C., Xie J., Heppenstall P.A., Stucky C.L., Mannsfeldt A.G., Brennan T.J., Drummond H.A., et al. // Nature. 2000. V. 407. № 6807. P. 1007–1011.
- Wemmie J.A., Price M.P., Welsh M.J. // Trends Neurosci. 2006. V. 29. № 10. P. 578–586.
- Wemmie J.A., Chen J., Askwith C.C., Hruska-Hageman A.M., Price M.P., Nolan B.C., Yoder P.G., Lamani E., Hoshi T., Freeman J.H., et al. // Neuron. 2002. V. 34. № 3. P. 463–477.
- Wemmie J.A., Coryell M.W., Askwith C.C., Lamani E., Leonard A.S., Sigmund C.D., Welsh M.J. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. V. 101. № 10. P. 3621–3626.
- Kreple C.J., Lu Y., Taugher R.J., Schwager-Gutman A.L., Du J., Stump M., Wang Y., Ghobbeh A., Fan R., Cosme C.V., et al. // Nat. Neurosci. 2014. V. 17. № 8. P. 1083–1091.
- Ziemann A.E., Allen J.E., Dahdaleh N.S., Drebot I.I., Coryell M.W., Wunsch A.M., Lynch C.M., Faraci F.M., Howard M.A., Welsh M.J., et al. // Cell. 2009. V. 139. № 5. P. 1012–1021.
- Escoubas P., De Weille J.R., Lecoq A., Diochot S., Waldmann R., Champigny G., Moinier D., Ménez A., Lazdunski M. // J. Biol. Chem. 2000. V. 275. № 33. P. 25116–25121.
- Diochot S., Baron A., Rash L.D., Deval E., Escoubas P., Scanzello S., Salinas M., Lazdunski M. // EMBO J. 2004. V. 23. № 7. P. 1516–1525.
- Baron A., Diochot S., Salinas M., Deval E., Noël J., Lingueglia E. // Toxicol. 2013. V. 75. P. 187–204.
- Waldmann R., Champigny G., Bassilana F. // Nature. 1997. V. 386. № 6621. P. 173–177.
- Kellenberger S., Schild L. // Physiol. Rev. 2002. V. 82. № 3. P. 735–767.
- Chen X., Orser B.A., MacDonald J.F. // Eur. J. Pharmacol. 2010. V. 648. № 1–3. P. 15.
- Kuduk S.D., Chang R.K., Wai J.M.-C., Di Marco C.N., Cofre V., DiPardo R.M., Cook S.P., Cato M.J., Jovanovska A., Urban M.O., et al. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2009. V. 19. № 15. P. 4059–4063.
- Yu Y., Chen Z., Li W., Cao H., Feng E., Yu F., Liu H., Jiang H., Xu T. // Neuron. 2010. V. 68. P. 61–72.
- Benveniste M., Mayer M.L. // J. Physiol. 1995. V. 483. № 2. P. 367–384.

26. Rogawski M.A., Thurkauf A., Yamaguchi S., Rice K.C., Jacobson A.E., Mattson M.V. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1989. V. 249. № 3. P. 708–712.
27. Bolshakov K.V., Kim K.H., Potapjeva N.N., Gmiro V.E., Tikhonov D.B., Usherwood P.N.R., Mellor I.R., Magazanik L.G. // *Neuropharmacology.* 2005. V. 49. № 2. P. 144–155.
28. Bormann J. // *Eur. J. Pharmacol.* 1989. V. 166. № 3. P. 591–592.
29. Barygin O.I., Gmiro V.E., Kim K., Magazanik L.G., Tikhonov D.B. // *Neurosci. Lett.* 2009. V. 451. № 1. P. 29–33.
30. Bolshakov K.V., Gmiro V.E., Tikhonov D.B., Magazanik L.G. // *J. Neurochem.* 2003. V. 87. № 1. P. 56–65.
31. Tikhonova T.B., Nagaeva E.I., Barygin O.I., Potapieva N.N., Bolshakov K.V., Tikhonov D.B. // *Neuropharmacology.* 2015. V. 89. P. 1–10.
32. Hesselager M., Timmermann D.B., Ahring P.K. // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 12. P. 11006–11015.
33. Chen H.S.V., Pellegrini J.W., Aggarwal S.K., Lei S.Z., Warach S., Jensen F.E., Lipton S.A. // *J. Neurosci.* 1992. V. 12. № 11. P. 4427–4436.