Влияние модуляции активности Na^+/K^+-АТФазы на жизнеспособность зернистых нейронов мозжечка при индукции окислительного стресса *in vitro*

Е.В. Стельмашук[1], Н.К. Исаев[1,2], Е.Е. Генрихс[1], Л.Г. Хаспеков[1]

[1]ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия;
[2]ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Введение. *Окислительный стресс является важным патогенетическим фактором ишемии головного мозга, которая среди различных форм церебральной патологии занимает одно из ведущих мест по смертности и инвалидизации трудоспособного населения. Один из путей снижения повреждений и смертности от инсультов – изучение механизмов ишемии с помощью моделирования ее повреждающих факторов и способов защиты in vitro.*
Цель исследования: *выявить влияние химического прекондиционирования, индуцируемого транзиторным ингибированием активности Na^+/K^+-АТФазы, на толерантность культивированных зернистых нейронов мозжечка к действию окислительного стресса на разных стадиях их дифференцировки in vitro.*
Материалы и методы. *Активность Na^+/K^+-АТФазы ингибировали уабаином, который добавляли на 3–4-й и 7–8-й дни in vitro к культурам клеток мозжечка 7-дневных крыс в концентрации 0,1 мМ на 24 ч перед индукцией окислительного стресса H_2O_2 (0,05 и 0,075 мМ, 4 ч) или паракватом (0,15 и 0,2 мМ, 24 ч).*
Результаты. *Окислительный стресс, индуцированный паракватом, вызывает наиболее выраженную гибель культивированных зернистых нейронов в незрелых (3–4-дневных) культурах (выживаемость – 44,0±2,5% нейронов) по сравнению со зрелыми (7–8-дневными), в которых выживаемость составляла 61,0±5,4%. Предварительная обработка уабаином оказывает защитный эффект, наиболее значительный в зрелых культурах. Под воздействием H_2O_2 в зрелых культурах погибает более 90% нейронов, а предобработка уабаином повышает выживаемость на 44%. В то же время в незрелых культурах повреждающее действие H_2O_2 и защитный эффект уабаина менее выражены.*
Заключение. *Показана возможность индукции толерантности культивированных зернистых нейронов мозжечка к окислительному стрессу путем транзиторной модуляции активности Na^+/K^+-АТФазы уабаином. Выявлена прямая зависимость эффективности защитного действия уабаина от степени морфохимической дифференцировки нейронов in vitro.*

Ключевые слова: *культивированные зернистые нейроны мозжечка, Na^+/K^+-АТФаза, уабаин, окислительный стресс.*

Адрес для корреспонденции: 105064, Россия, Москва, пер. Обуха, д. 5, стр. 2. ФГБНУ НЦН. E-mail: khaspekleon@mail.ru. Хаспеков Л.Г.

Для цитирования: Стельмашук Е.В., Исаев Н.К., Генрихс Е.Е., Хаспеков Л.Г. Влияние модуляции активности Na^+/K^+-АТФазы на жизнеспособность зернистых нейронов мозжечка при индукции окислительного стресса *in vitro*. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии* 2018; 12(4): 52–56.

DOI: 10.25692/ACEN.2018.4.7

The effect of modulation of Na^+/K^+-ATPase activity on viability of cerebellar granule cells exposed to oxidative stress *in vitro*

Elena V. Stelmashook[1], Nikolay K. Isaev[1,2], Elizaveta E. Genrikhs[1], Leonid G. Khaspekov[1]

[1]Research Center of Neurology, Moscow, Russia;
[2]M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Introduction. *Oxidative stress is an important pathogenic factor in cerebral ischemia, which occupies one of the leading places among various forms of cerebral pathology in mortality and disability of the working-age population and is recognized as an actual problem of experimental and clinical neurology. Naturally, modeling of neurodestructive processes and their correction under the action of oxidative stress in vitro contributes to the study of protective mechanisms that counteract ischemic damage of neurons.*
Objective. *To reveal the influence of chemical preconditioning induced by transient inhibition of Na^+/K^+-ATPase activity on tolerance of cultured cerebellar granule neurons to oxidative stress at different stages of their differentiation in vitro.*

Materials and methods. *The activity of Na^+/K^+-ATPase was inhibited with ouabain, which was added at 3–4 and 7–8 days in vitro to cerebellar cell cultures of 7-day rats at a concentration of 0.1 mM for 24 hours before induction of oxidative stress by hydrogen peroxide (0.05 and 0.075 mM, 4 hours) or paraquat (0.15 and 0.2 mM, 24 hours).*

Results. *Oxidative stress induced by paraquat causes the most pronounced death of cultured granular neurons in immature (3–4 days) cultures, in which survival was 44±2,5% of neurons, compared to mature (7–8 days) cultures, in which survival was 61±5,4%. Pretreatment of cultures with ouabain has a protective effect, the most significant in mature cultures. The exposure of mature cultures with hydrogen peroxide kills more than 90% of neurons, whereas pretreatment with ouabain increases the survival rate by 44%. At the same time in the immature cultures the damaging effects of H_2O_2 and the protective effect of ouabain is less pronounced.*

Conclusion. *The increased tolerance of cultured cerebellar granule cells to oxidative stress after transient inhibition of Na^+/K^+-ATPase activity by ouabain is shown. The direct dependence of the efficiency of the ouabain protection on the degree of neuronal morphochemical differentiation in vitro is revealed.*

Keywords: *cultured cerebellar granule cells, Na^+/K^+-ATPase, ouabain, oxidative stress.*

For correspondence: 105064, Moscow, Russia, per. Obukha, 5, build. 2. Research Center of Neurology. E-mail: khaspekleon@mail.ru. Khaspekov L.G.

For citation: Stelmashook E.V., Isaev N.K., Genrikhs E.E., Khaspekov L.G. The effect of modulation of Na^+/K^+-ATPase activity on viability of cerebellar granule cells exposed to oxidative stress *in vitro*. *Annals of clinical and experimental neurology* 2018; 12(4): 52–56. (In Russ.)

DOI: 10.25692/ACEN.2018.4.7

Введение

Ишемический инсульт является актуальной проблемой нейробиологии и медицины, поскольку приводит к значительной смертности и инвалидизации трудоспособного населения. Один из путей снижения последствий инсульта – изучение механизмов ишемии с помощью моделирования ее повреждающих факторов и поиск способов защиты *in vitro*. Результаты многочисленных исследований свидетельствуют о том, что важным патогенетическим фактором повреждения нейронов при ишемии/реперфузии наряду с гиперстимуляцией глутаматных рецепторов является окислительный стресс (ОС) [1–3]. Кроме того, нейродеструктивный эффект потенцируется тем, что во время ишемии и в постишемический период снижается активность Na^+/K^+-АТФазы – важнейшей системы поддержания в клетках ионного гомеостаза [4, 5]. Исходя из этого, мы предположили возможность индукции толерантности нейронов к ОС как составляющей ишемического повреждения [6, 7], транзиторным ингибированием Na^+/K^+-АТРазы. Известно, что нейроны развивающегося мозга значительно отличаются от зрелых нейронов отсутствием или низкой экспрессией рецепторов к возбуждающим медиаторам, а также незрелостью систем антиоксидантной защиты и поддержания ионного гомеостаза. Ранее нами показано, что степень подверженности культивируемых нейронов цитотоксическому воздействию зависит от сроков культивирования [8–10]. В связи с этим можно предположить, что в зависимости от степени развития культур изменение активности Na^+/K^+-АТФазы будет по-разному влиять на выживаемость культивированных зернистых нейронов (КЗН), подвергнутых впоследствии ОС.

Целью работы является исследование влияния химического прекондиционирования, индуцируемого транзиторным ингибированием Na^+/K^+-АТФазы, на выживаемость культивированных нейронов мозжечка при действии ОС на разных стадиях их дифференцировки *in vitro*.

Материалы и методы

В работе использованы культуры клеток мозжечка 7-дневных крыс, приготовленные методом ферментно-механической диссоциации [9]. Клетки культивировали в 96-луночных пластиковых планшетах, покрытых L-полилизином («Sigma», Германия). В каждую лунку добавляли по 0,1 мл суспензии клеток, создавая конечную плотность $3–5\times10^3$ клеток/мм^2. Питательная среда содержала 90% минимальной среды «Игла МЕМ» на солях Эрла («Gibco», Великобритания), 10% эмбриональной телячьей сыворотки («Hy Clone», Великобритания), 2 мМ глутамакса («Gibco»), 10 мМ буфера HEPES («Sigma», США), 25 мМ KCl. Культуры развивались в CO2-инкубаторе при 35,5°C и относительной влажности 98%. Активность Na^+/K^+-АТФазы понижали ингибитором – сердечным гликозидом строфантином-G уабаином («Serva», США; 0,1 мМ, 24 ч). Затем культуры промывали и подвергали ОС, который индуцировали добавлением в питательную среду либо H_2O_2 («Sigma», Великобритания, 0,05 и 0,075 мМ, 4 ч), либо параквата («Sigma», США, 0,15 и 0,2 мМ, 24 ч). Все экспериментальные протоколы были одобрены Этическим комитетом ФГБНУ НЦН.

Жизнеспособность культур оценивали путем подсчета окрашенных трипановым синим КЗН с нормальной морфологией в 5 последовательных полях зрения (объектив ×40) в каждой культуре [11], что дает адекватную оценку выживаемости клеток по диаметру лунки. Выживаемость нейронов в необработанных контрольных культурах принимали за 100%, а в экспериментальных культурах выражали в процентах относительно контроля.

Все данные были получены в 3–4 независимых экспериментах, проведенных на культурах из разных посадок, по 3 культуры на каждую точку в каждом эксперименте. Значения переменных носили характер нормального распределения. Количественные данные обрабатывали статистически с использованием теста ANOVA с посттестом Бонферрони и Дуннетт. Отличия между группами считали достоверными при $p<0,05$. Результаты выражали как среднее и ошибка среднего.

Результаты

Нейронная популяция культур, полученных из мозжечка 7–8-дневных крыс, состоит практически из одного типа нейронов – клеток-зерен. В культуре клеток мозжечка зернистые нейроны легко идентифицируются в препаратах, окрашенных трипановым синим. На микрофотографиях (рис. 1) хорошо видны округлые, компактные, интенсивно

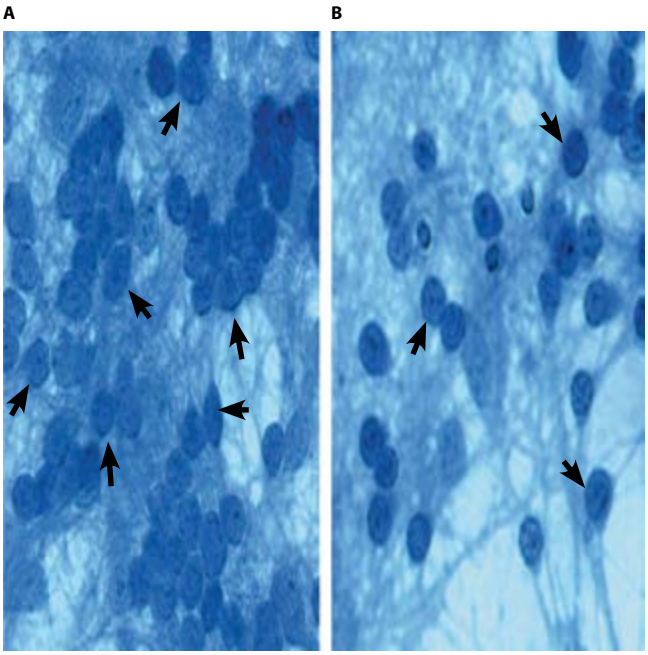

Рис. 1. Первичная монослойная фиксированная культура клеток мозжечка (7 дней *in vitro*), окрашенная трипановым синим.
А – контроль, В – токсическое действие параквата (0,15 мМ, 24 ч). Стрелки указывают на зернистые нейроны с нормальной морфологией. Масштаб 15 мкм

Fig. 1. Primary monolayer fixed cerebellar cell culture (7 days *in vitro*) stained with trypan blue.
A – control, B – toxicity of paraquat (0.15 mM, 24 hours). Arrows show granular neurons with normal morphology. Scale bar, 15 μ

окрашенные в темно-синий цвет тела зернистых нейронов, тогда как глиальные клетки (в основном астроциты) окрашены намного слабее, имеют более крупные ядра, распластаны и образуют подложку, на которой располагаются нейроны.

При действии уабаина (0,1 мМ, 24 ч) на клетки, культивированные 3–4 («незрелые» КЗН) дня *in vitro* (DIV), количество выживших нейронов соответствовало контрольным показателям, характерным для культур, не обработанных уабаином (рис. 2B, D, столбик 2). В 7–8-дневных («зрелые» КЗН) культурах отмечалась тенденция повышения выживаемости нейронов при данной концентрации уабаина по сравнению с контролем (рис. 2A, C), поскольку после 6 DIV в контрольных культурах может начинаться спонтанный апоптоз КЗН. Как было показано нами ранее, этот тип клеточной гибели предотвращается уабаином [7]. Использованный нами для индукции ОС паракват – 0,15 мМ (рис. 2 A, B, столбик 3) и 0,2 мМ (рис. 2A, B, столбик 5), 24 ч, вызывал значительную гибель КЗН, как в молодых (рис. 2B), так и в зрелых (рис. 2A) культурах. Причем гибель 3–4 DIV КЗН была более выражена, чем 7–8 DIV КЗН, выживаемость при действии меньшей концентрации параквата составляла 44±2,5% и 61±5,4% соответственно. Предварительная обработка культур уабаином (0,1 мМ, 24 ч) уменьшала повреждение нейронов ОС, вызванным паракватом 0,15 мМ (рис. 2, столбик 4) и 0,2 мМ (рис. 2, столбик 6), причем защитный эффект был наиболее выражен в отношении зрелых КЗН, выживаемость которых повышалась на 35 и 45%, в то время как у КЗН 3–4 DIV – лишь на 21 и 17% соответственно.

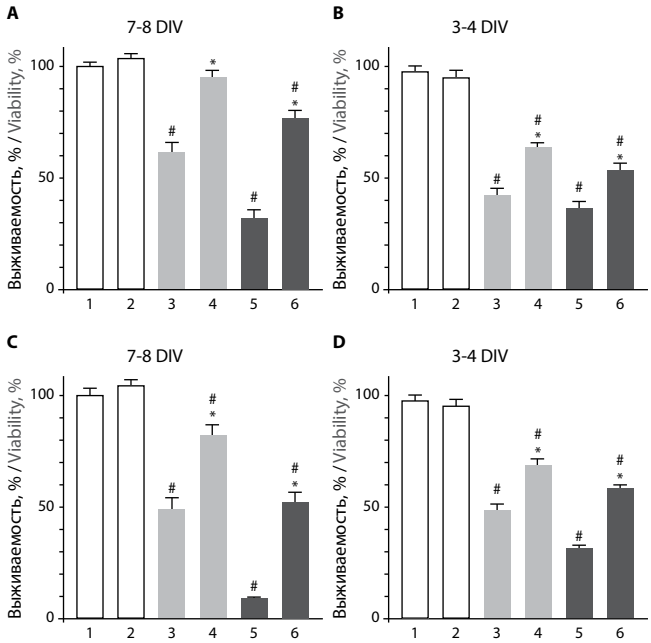

Рис. 2. Влияние уабаина (100 мкМ) на выживаемость зрелых (7–8 DIV, A, C) и незрелых (3–4 DIV, B, D) КЗН при ОС, индуцированном паракватом (A, B) и H_2O_2 (C, D).
1 – интактные культуры; 2 – уабаин (100 мкМ, 24 ч); 3, 5 – не обработанные уабаином культуры перед повреждающим воздействием (паракват, 0,15 мМ и 0,2 мМ или H_2O_2, 0,05 мМ и 0,075 мМ соответственно); 4, 6 – обработанные уабаином культуры перед соответствующим повреждающим воздействием (паракват или H_2O_2)
*p<0,001 по сравнению с действием соответствующего индуктора ОС; #p<0,001 по сравнению с контролем.

Fig. 2. Effect of ouabain (100 mM) on viability of mature (7–8 DIV, A, C) and immature (3–4 DIV) cultured granule cells in oxidative stress induced by paraquat (A, B) and hydrogen peroxide (C, D).
1 – intact cultures (control); 2 – ouabain (100 mM, 24 h); 3, 5 – cultures untreated by ouabain before damage (paraquat 0.15 and 0.2 mM or H_2O_2 0.05 and 0.075 mM, respectively); 4, 6 – cultures treated by ouabain before damage (paraquat or H_2O_2).
*p<0,001 compared with effect of corresponding oxidative stress inductor; #p<0,001 compared with control

Добавление в среду культивирования 0,05 мМ H_2O_2 вызывало гибель половины как зрелых, так и незрелых КЗН, однако и в этом случае защитный эффект уабаина был гораздо более выражен в зрелых культурах: выживаемость увеличивалась на 33 и 21% соответственно.

При увеличении концентрации H_2O_2 в среде до 0,075 мМ в зрелых культурах погибало более 90% КЗН, при этом уабаин повышал выживаемость на 44%. В то же время в незрелых культурах повреждающее действие H_2O_2 было менее выражено, выживаемость КЗН составила 32±1,9%. В этом случае уабаин снижал токсичность 0,75 мМ H_2O_2 лишь на 27%.

Обсуждение

Na^+/K^+-АТФаза, или натрий-калиевый насос, в дополнение к транспорту ионов через мембрану клетки, включена в множественный протеиновый комплекс в плазматической мембране, что позволяет этой системе выполнять ряд функций, не связанных с транспортом (трансдукцию сигналов и др.). Эти функции важны для развития как физиологических, так и патологических процессов [12] и могут быть вовлечены в развитие ишемической толерант-

ности. Полученные в настоящее время данные ясно показывают, что предварительная обработка КЗН ингибитором Na^+/K^+-АТФазы препятствует их повреждению под действием ОС, что, по-видимому, опосредуется антиоксидантными механизмами [7], а также снижением выброса глутамата из нейронов [13]. В других работах показано, что ингибирование Na^+/K^+-АТФазы сердечными гликозидами, к которым относят и уабаин, блокирует индукцию апоптоза в гладкомышечных клетках [14], а взаимодействие Na^+/K^+-насоса с уабаином активирует внутриклеточные сигнальные каскады, стимулируя клеточный рост, и экспрессию транскрипционных факторов, таких как активаторный протеин и ядерный фактор каппа В, способствуя выживаемости клеток [15, 16]. Кроме того, в экспериментах *in vivo* обнаружено, что сублетальные концентрации уабаина, введенного в стриатум 7-дневных крыс совместно с эксайтотоксином каиновой кислотой, препятствует апоптозу нейронов [17]. Этот эффект обнаруживался через 24 ч после инъекции, а через 6 ч в клетках уже повышался уровень Bcl-2 [17]. Такие результаты указывают на вовлечение в нейропротекторные эффекты уабаина внутриклеточных каскадов, связанных с его взаимодействием с Na^+/K^+-АТФазой, которое модулирует субклеточный уровень Bcl-2. Следовательно, можно предположить, что терапевтическое ингибирование апоптоза сердечными гликозидами окажется эффективным способом защиты нейронов от ОС.

В данной работе показано, что уабаин более эффективно защищает от ОС зрелые, чем незрелые КЗН. Подобное различие было обнаружено ранее при действии индуктора апоптоза стауроспорина, когда предварительное действие уабаина предотвращало апоптоз в зрелых КЗН, но не препятствовало ему в 3–4-дневных культурах [8]. Такая зависимость эффективности нейропротекторного действия уабаина от степени дифференцировки КЗН может быть связана с различными механизмами их гибели в разные сроки *in vitro*. Так, у новорожденных крыс апоптотическая гибель нейронов при церебральной ишемии происходит с участием фактора, индуцирующего апоптоз, тогда как у взрослых животных она развивается по пути, опосредованному активацией каспаз [18]. В то же время, по другим данным, развивающийся мозг по сравнению со зрелым содержит после гипоксии намного больше клеток, позитивных по каспазе-3 [19], а в их митохондриях определяется гораздо более высокое содержание проапоптотического белка Bax [20]. Зрелые и незрелые нейроны различаются по степени активности Na^+/K^+-АТФазы и экспрессируют ее разные изоформы: у нейрональных предшественников и незрелых форм преобладает слабочувствительная к уабаину изоформа. По мере созревания нейронов возрастает как общая активность этой транспортной системы, так и активность высокочувствительной к уабаину изоформы [21–23]. Вероятно, этим обусловлена разная чувствительность нейрохимически зрелых и незрелых нейронов к прекондиционирующему действию уабаина.

Заключение

Таким образом, полученные данные указывают на возможность повышения толерантности нейронов к ОС, достигаемого путем транзиторного ингибирования активности Na^+/K^+-АТФазы, а также на прямую зависимость эффективности защитного эффекта ее ингибитора – сердечного гликозида уабаина от степени морфофункциональной и биохимической дифференцировки КЗН *in vitro*.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare there is no conflict of interest.

Список литературы/References

1. Dirnagl U., Lindauer U., Them A. et al. Global cerebral ischemia in the rat: online monitoring of oxygen free radical production using chemiluminescence *in vivo*. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995; 15: 929–940. DOI: 10.1038/jcbfm.1995.118. PMID: 7593353.
2. McGowan J.E., Chen L., Gao D. et al. Increased mitochondrial reactive oxygen species production in newborn brain during hypoglycemia. *Neurosci Lett* 2006; 399: 111–114. DOI: 10.1016/j.neulet.2006.01.034. PMID: 16490311.
3. Hernandez-Fonseca K., Cardenas-Rodriguez N., Pedraza-Chaverri J., Massieu L. Calcium-dependent production of reactive oxygen species is involved in neuronal damage induced during glycolysis inhibition in cultured hippocampal neurons. *J Neurosci Res* 2008; 86: 1768–1780. DOI: 10.1002/jnr.21634. PMID: 18293416.
4. Kaur G., Arora S.K. Acetylcholinesterase and Na^+,K^+-ATPase activities in different regions of rat brain during insulin-induced hypoglycemia. *Mol Chem Neuropathol* 1994; 21: 83–93. PMID: 8179774.
5. Mrsić-Pelcić J., Pelcić G., Vitezić D. et al. Hyperbaric oxygen treatment: the influence on the hippocampal superoxide dismutase and Na^+,K^+-ATPase activities in global cerebral ischemia-exposed rats. *Neurochem Int* 2004; 44: 585–594. DOI: 10.1016/j.neuint.2003.10.004. PMID: 15016473.
6. Stel'mashuk E.V., Isaev N.K., Andreeva N.A., Viktorov I.V. [Ouabain modulates the toxic effect of glutamate in dissociated cultures of granular cells in the rat cerebellum]. *Bull Exp Biol Med* 1996; 122: 163–166. PMID: 9081467. (In Russ.)
7. Isaev N.K., Stelmashook E.V., Halle A. et al. Inhibition of Na^+,K^+-ATPase activity in cultured rats cerebellar granule cells prevents the onset apoptosis induced by low potassium. *Neurosci Lett* 2000; 283: 41–44. PMID: 10729629.
8. Stel'mashuk E.V., Andreeva N.A., Isaev N.K. [Difference in staurosporine effect on mature and immature rat cerebellar granule cells in culture]. *Neirokhimiya* 2004; 21(1): 68–71. (In Russ.)
9. Stelmashuk E.V., Belyaeva E.A., Isaev N.K. [Effect of acidosis, oxidative stress, and glutamate toxicity on the survival of mature and immature cultured cerebellar granule cells] *Neirokhimiya* 2006; 23(2): 131–135. (In Russ.)
10. Isaev N.K., Avilkina A., Golyshev S.A. et al. N-acetyl-L-cysteine and Mn^{2+} attenuate Cd^{2+}-induced disturbance of the intracellular free calcium homeostasis in cultured cerebellar granule neurons. *Toxicology* 2018; 393: 1–8. DOI: 10.1016/j.tox.2017.10.017. PMID: 29100878.
11. Isaev N.K., Genrikhs E.E., Voronkov D.N. et al. Streptozotocin toxicity in vitro depends on maturity of neurons. *Toxicol Appl Pharmacol* 2018; 348: 99–104. DOI: 10.1016/j.taap.2018.04.024. PMID: 29684395.
12. Cui X., Xie Z. Protein interaction and Na/K-ATPase-mediated signal transduction. molecules. 2017; 22: pii: E990. DOI: 10.3390/molecules22060990. PMID: 28613263.
13. Tauskela J.S., Aylsworth A., Hewitt M. et al. Preconditioning induces tolerance by suppressing glutamate release in neuron culture ischemia models. *J Neurochem* 2012; 122: 470–481. DOI:10.1111/j.1471-4159.2012.07791.x. PMID: 22607164.
14. Orlov S.N., Taurin S., Thorin-Trescases N. et al. Inversion of the intracellular Na^+/K^+ ratio blocks apoptosis in vascular smooth muscle cells by induction of RNA synthesis. *Hypertension* 2000; 35: 1062–1068. PMID: 10818065.
15. Liu J., Tian J., Hass M. et al. Ouabain interaction with cardiac Na^+/K^+ ATPase initiates signal cascades independent of changes in intracellular Na^+ and Ca^{2+} concentrations. *J Biol Chem* 2000; 275: 27,838–27,844. DOI: 10.1074/jbc.M002950200. PMID: 10874029.
16. Xie Z., Askari A. Na^+/K^+-ATPase as a signal transducer. *Eur J Biochem* 2002; 269: 2434–2439. PMID: 12027880.
17. Golden W.C., Martin L.J. Low-dose ouabain protects against excitotoxic apoptosis and up-regulates nuclear Bcl-2 in vivo. *Neuroscience* 2006; 137: 133–144. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2005.10.004. PMID: 16297565.
18. Zhu C., Qiu L., Wang X. et al. Involvement of apoptosis-inducing factor in neuronal death after hypoxia-ischemia in the neonatal rat brain. *J Neurochem* 2003; 86: 306–317. PMID: 12871572.
19. Hu B.R., Liu C.L., Ouyang Y. et al. Involvement of caspase-3 in cell death after hypoxia-ischemia declines during brain maturation. *J Cereb Blood Flow Metab* 2000; 20: 1294–1300. DOI: 10.1097/00004647-200009000-00003. PMID: 10994850.
20. Polster B.M., Robertson C.L., Bucci C.J. et al. Postnatal brain development and neural cell differentiation modulate mitochondrial Bax and BH3 peptide-induced cytochrome c release. *Cell Death Differ* 2003; 10: 365–370. DOI: 10.1038/sj.cdd.4401158. PMID: 12700636.

21. Inoue N., Matsui H., Tsukui H., Hatanaka H. The appearance of a highly digitalis-sensitive isoform of Na^+,K^+-ATPase during maturation in vitro of primary cultured rat cerebral neurons. *J Biochem* 1988; 104: 349–354. PMID: 2853703.
22. Habiba A., Blanco G., Mercer R.W. Expression, activity and distribution of Na,K-ATPase subunits during in vitro neuronal induction. *Brain Res* 2000; 875: 1–13. PMID: 10967293.
23. Corthésy-Theulaz I., Mérillat A.M., Honegger P., Rossier B.C. $Na^{(+)}$-$K^{(+)}$-ATPase gene expression during in vitro development of rat fetal forebrain. *Am J Physiol* 1990; 258: C1062–C1069. DOI: 10.1152/ajpcell.1990.258.6.C1062. PMID: 1694395.

Поступила/Received 14.05.2018
Принята в печать/Accepted 31.08.2018

Со списком литературы на русском языке можно ознакомиться на сайте журнала.

Информация об авторах: Стельмашук Елена Викторовна – д.б.н., в.н.с. лаб. экспериментальной нейроцитологии, отдел исследований мозга ФГБНУ НЦН, Москва, Россия;
Исаев Николай Константинович – д.б.н., в.н.с. лаб. экспериментальной нейроцитологии, отдел исследований мозга ФГБНУ НЦН; НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, биологический факультет ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;
Генрихс Елизавета Евгеньевна – к.б.н., с.н.с. лаб. экспериментальной нейроцитологии, отдел исследований мозга ФБНУ НЦН, Москва, Россия;
Хаспеков Леонид Георгиевич – д.б.н., зав. лаб. экспериментальной нейроцитологии, отдел исследований мозга ФГБНУ НЦН, Москва, Россия

Information about the authors: Elena V. Stelmashook, Dr. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of experimental neurocytology, Department of brain research, Research Center of Neurology, Moscow, Russia;
Nikolay K. Isaev, Dr. Sci. (Biol), leading researcher, Laboratory of experimental neurocytology, Department of brain research, Research Center of Neurology, Moscow, Russia; Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology, Biological Faculty, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;
Elizaveta E. Genrikhs, PhD (Biol.), senior researcher, Laboratory of experimental neurocytology, Department of brain research, Research Center of Neurology, Moscow, Russia;
Leonid G. Khaspekov, D. Sci. (Biol), Head of Laboratory of experimental neurocytology, Department of brain research, Research Center of Neurology, Moscow, Russia