

DOI: 10.1134/S0869813918120075

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ
НЕЙРОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КРЫС
ЛИНИИ КРУШИНСКОГО—МОЛОДКИНОЙ**

© В. Б. Сапарова,^{1,2} А. А. Наумова,¹ А. С. Березовская,¹
Е. В. Черниговская,¹ М. В. Глазова¹

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН
Санкт-Петербург, Россия
E-mail: mglazova@iephb.ru

² Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет
информационных технологий, механики и оптики
Санкт-Петербург, Россия

Развитие эпилепсии сопровождается значительными изменениями процессов нейрогенеза в гиппокампе людей и при моделировании эпилепсии у животных. В качестве объекта исследования были использованы крысы линии Крушинского—Молодкиной (КМ), генетически предрасположенные к аудиогенным судорогам. Эксперименты были проведены *in vitro* на культуре нейрональных стволовых клеток (НСК), изолированных из гиппокампа крыс линии КМ. НСК выделяли на 14—17-й день постнатального развития, что соответствует окончанию формирования нейрогенной ниши гиппокампа. В качестве контроля использовали НСК гиппокампа крыс линии Вистар. Культуры клеток инкубировали в течение 10 дней в среде с добавлением ретиноидной кислоты для стимуляции дифференцировки.

В наших предыдущих исследованиях было показано, что уровень пролиферации НСК крыс линии КМ значительно снижен по сравнению с НСК крыс Вистар. При этом была отмечена повышенная скорость нейрональной дифференцировки НСК крыс КМ относительно НСК крыс Вистар. Данная работа была посвящена исследованию молекулярных механизмов, лежащих в основе указанных альтераций. Анализ АКТ/GSK3 β каскада показал, что в НСК линии КМ активность АКТ была значительно снижена, при этом также был снижен уровень фосфорилирования GSK3 β по Ser9 и уровень белка β -catenin по сравнению с НСК крыс линии Вистар. Эффекты АКТ также могут быть опосредованы транскрипционным фактором CREB, фосфорилирование которого по Ser133 приводит к повышению его транскрипционной активности. Мы оценили активность транскрипционного фактора CREB и показали, что уровень его фосфорилирования по Ser133 был также значительно понижен в клетках крыс КМ. Поскольку содержание АКТ в НСК крыс КМ падает, то уменьшается и его ингибирующее воздействие на GSK3 β . Снятие тормозного влияния ведет к накоплению активной формы белка и проявлению его эффектов через ингибирование пролиферативной активности β -catenin и CREB, что ведет к остановке процесса самообновления и индуцирует дифференцировку клеток.

Таким образом, повышенная скорость дифференцировки НСК крыс КМ опосредована сниженным уровнем активности АКТ/GSK3 β / β -catenin/CREB сигнального пути.

Ключевые слова: эпилепсия, крысы линии Крушинского—Молодкиной, гиппокамп, нейрональные стволовые клетки, нейрональная дифференцировка, АКТ/GSK3 β / β -catenin/CREB сигнальный каскад.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 12. С. 1467—1477. 2018

V. B. Saparova,^{1,2} *A. A. Nauvova*,¹ *A. S. Berezovskaya*,¹ *E. V. Chernigovskaya*,¹ *M. V. Glazova*.¹ MOLECULAR MECHANISMS OF DIFFERENTIATION OF NEURONAL STEM CELLS THE KRUSHINSKY—MOLODKINA RATS. ¹ Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the RAS, St. Petersburg, Russia, e-mail: mglazova@iephb.ru; ² ITMO University, St. Petersburg, Russia.

It is well known that epileptogenesis is accompanied with the aberrations in the hippocampal neurogenesis in human as well as in epileptic animals. The Krushinsky—Molodkina (KM) rats genetically prone to audiogenic seizure were recruited in the experiments. Neuronal stem cells (NSC) isolated from the hippocampus of KM rats at the 14—17 days of postnatal development, which corresponds the final stage for the development of the hippocampal neurogenic niche. NSC isolated from the hippocampus of Wistar rats were used as a control. The cells were incubated for 10 days in a medium supplemented with retinoic acid to stimulate neural differentiation.

Previously we demonstrated that proliferation level of NSC KM was significantly lower in comparison with the NSC of Wistar rats, but neuronal differentiation rate of NSC KM was significantly higher. This research unravels the underlying molecular mechanisms. Analysis of Akt/GSK3 β pathway demonstrated decreased expression of Akt that correlated with attenuation of phosphorylation level of GSK3 β at Ser9 and decreased level of β -catenin. It is known that transcriptional factor CREB is one of the main substrates for Akt and on the other hand CREB tightly participates in the regulation of the cell proliferation. Obtained data revealed decreased activity of CREB in NSC KM in comparison to NSC Wistar that could mediate inhibition of cell cycle and potentiation the differentiation. Thus our results demonstrated that glutamatergic differentiation of NSC KM is mediated by АКТ/GSK3 β / β -catenin/CREB signaling pathway.

Key words: epilepsy, Krushinsky—Molodkina rats, hippocampus, neuronal stem cells, neuronal differentiation, АКТ/GSK3 β / β -catenin/CREB signaling pathway.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 12. P. 1467—1477. 2018

Одной из особенностей нейрогенеза взрослого мозга является его чувствительность к различным физиологическим и патологическим стимулам почти на каждой стадии развития: от пролиферации нейрональных предшественников до созревания, интеграции в функциональные сети головного мозга и выживания новых нейронов [1]. Аберрации гиппокампального нейрогенеза были описаны при некоторых патологических состояниях, в частности в нашей лаборатории было показано снижение пролиферативной активности нейрональных стволовых клеток (НСК) гиппокампа крыс Крушинского—Молодкиной (КМ), генетически предрасположенных к аудиогенной эпилепсии. При этом ускоренная дифференцировка НСК приводила к образованию преимущественно дофаминергических и глутаматергических нейронов [19]. Однако возможная роль новообразованных клеток в формировании эпилептогенной сети или восстановлении нормального гомеостаза, а также их интеграция в ранее существовавшие функциональные схемы остается спорной [9]. Кроме того, проводятся исследования, направленные на выявление генетических аномалий, связанных с развитием эпилепсии. Выявлен ряд генов, мутации в которых сопряжены с развитием наследственной эпилепсии у людей, при этом некоторые из этих генов вовлечены в контроль пролиферации и дифференцировки НСК [14].

Гиппокампальный нейрогенез взрослого мозга регулируется множеством внешних и внутренних факторов: от нейротрофинов, факторов роста, нейро-

трансммиттеров и гормонов до физической активности, стресса и судорожных состояний. Основным и наиболее изученным каскадом, вовлеченным в определение судьбы нейрональных предшественников, является ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinases 1 and 2) опосредованный сигналинг [17]. Активность ERK1/2 каскада необходима для роста и дифференцировки НСК по нейрональному пути, однако последние данные указывают на участие ERK1/2 киназ в нейрогенезе, связанном с эпилептическими припадками [4]. Также активация ERK1/2 киназ и ERK-опосредованная регуляция нейрогенеза при судорогах может происходить под действием повышенного уровня p53 [8]. Другим критически важным регулятором самообновления, миграции и дифференцировки НСК является классический Wnt-сигналинг и, в частности, киназа GSK3 β [6].

На основании этих данных нами была выдвинута гипотеза о том, что развитие аббрентного нейрогенеза может реализоваться через генетически запрограммированные изменения активности регуляторных сигнальных путей и являться причиной развития эпилепсии наследственной этиологии. В данной работе были проанализированы молекулярные механизмы, ответственные за пролиферацию и дифференцировку НСК, изолированных из гиппокампа крыс линии КМ, которые генетически предрасположены к аудиогенным судорогам.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проводилась *in vitro* на первичной культуре клеток, выделенных из гиппокампа крыс Крушинского—Молодкиной. В качестве контроля использовались клетки, выделенные из гиппокампа крыс материнской линии Вистар. В эксперименте было задействовано 8 животных (по 4 для экспериментальной и контрольной групп) 14-дневного возраста (P14).

Животные содержались в стандартных условиях вивария при естественном освещении и свободным доступом к еде. Все эксперименты были одобрены этической комиссией ИЭФБ РАН им. И. М. Сеченова. В работе были соблюдены международные принципы по защите лабораторных животных (Guide for the care and use of laboratory animals) Национального института здоровья США.

Культуры НСК гиппокампа. Все манипуляции проводились в стерильных условиях ламинара. Крыс декапитуировали, гиппокампы иссекали и помещали в охлажденную (+4 °C) среду Хэнкса (БиолоТ). Выделенные гиппокампы механически измельчали до однородной массы с помощью скальпеля. Для окончательной сепарации НСК полученный гомогенат инкубировался в растворе Трипсин/EDTA в течение 30 мин при температуре 37 °C. Клетки осаждали центрифугированием 1000 об./мин в течение 5 мин. Инкубация проводилась в смеси сред DMEM (Gibco) и F12 (Sigma) в соотношении 1 : 1 с добавлением 10 % инактивированной лошадиной сыворотки (Gibco), 10 % инактивированной сыворотки плодов коровы (Gibco), добавки B27 (Gibco) и пенициллин/стрептомицина (БиолоТ). Культуры инкубировали на 6-луночных планшетах, предварительно обработанных коллагеном IV типа (Roche). Среду обновляли каждые 2 дня (на 3, 5, 7 и 9-й день инкубации). Для стимуляции нейрональной дифференцировки на 5-й и 7-й день в среду добавляли ретиноевую кислоту (Sigma). На 10-й день инкубации клетки собирали для дальнейшего Вестерн-блот анализа.

Вестерн-блот анализ. Клеточные культуры лизировали добавлением горячего 3 \times SDS буфера (на 100 мл: Tris-HCl-2.42 г, pH 6.7; SDS 6 г; глицерин

15 мл; бромфенолеиний 3 мг и 10 % β -меркаптоэтанола) из расчета 100 мкл буфера на 3.5 см² (площадь одной лунки). Затем лизат собирали в пробирки, инкубировали 15 мин при 95 °С и хранили при температуре –20 °С.

Белки в пробах разделяли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле по Лэммли (SDS-PAGE). После переноса белковой фракции на нитроцеллюлозную мембрану (Amersham Biosciences) мембраны инкубировали в 3%-ном растворе бычьего сывороточного альбумина на TBS-T буфере (0.1 M Tris-HCl буфер pH 7.6, содержащий 0.15 M NaCl и 0.1 % Tween-20) в течение 1 ч при комнатной температуре для исключения неспецифического связывания антител. Затем в течение ночи при температуре 4 °С проводилась инкубация в растворе первых антител против киназ MAPK каскада: cRaf1 (кролик, 1 : 1000; Cell Signaling, #9422), p(Ser338)-cRaf1 (кролик, 1 : 1000; Cell Signaling, #2330), ERK1/2 (кролик, 1 : 10000; Cell Signaling, #9102), p(Thr202/Thr204)-ERK1/2 (кролик, 1 : 10000; Cell Signaling, #4376); белков GSK3-зависимого каскада: Akt (кролик, 1 : 1000; Cell Signaling, #4691), p(Thr308)-Akt (кролик, 1 : 100; Cell Signaling, #2965), GSK3 β (кролик, 1 : 1000; Thermo Scientific, #PA1-14183), p(Ser9)-GSK3 β (кролик, 1 : 1000; Cell Signaling, #5558), β -catenin (мышь, 1 : 1000; BD, #610154); белков, участвующих в процессе апоптоза: p53 (мышь, 1 : 1000; Cell Signaling, #2524), p(Ser15)-p53 (кролик, 1 : 10000; Cell Signaling, #12517), p(Ser70)-Bcl2 (мышь, 1 : 1000; Millipore, #05-843R), Cleaved caspase 3 (кролик, 1 : 1000; Cell Signaling, #9661); белков — CREB (кролик, 1 : 1000; Cell Signaling, #9197), p(Ser133)-CREB (мышь, 1 : 1000; Millipore, #05-807) и GAPDH (мышь, 1 : 10000; Abcam, #ab8245).

После промывок в TBST мембраны помещали в раствор вторичных антител против иммуноглобулина G кролика, конъюгированные с биотином (1 : 3000, Sigma) или против иммуноглобулина G мыши, конъюгированные с биотином (1 : 3000, Sigma) в TBST. Затем мембраны инкубировали в растворе стрептавидин-пероксидазы (1 : 5000, Sigma). Визуализация результатов проводилась при помощи ECL plus системы (Amersham Biosciences).

Денситометрический анализ количества белка осуществлялся в программе ImageJ после сканирования пленок, полученных в результате как минимум трех экспериментов. Уровень серого специфических бендов был скорректирован по фоновому сигналу и нормирован по уровню GAPDH или ронсеау для p(Ser70)-Bcl-2 и caspase-3, используемых для определения общего количества белка в пробе. Также в анализе учитывалась площадь специфических бендов.

Статистический анализ результатов. Полученные результаты оценивались по *t*-критерию Стьюдента с использованием коммерческой программы Microsoft Excel 2013. Также статистический анализ проводился в программе GraphPad Prism 7 с использованием непараметрического критерия Манна—Уитни. Данные представлены в виде среднего арифметического \pm ошибка среднего (SEM). Достоверными считались отличия при уровне значимости $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка активности киназ ERK1/2 MAPK каскада. Первоначально мы проанализировали уровень белковой экспрессии и активности членов ERK1/2 сигнального каскада, являющегося одним из основных регуляторов процессов пролиферации и дифференцировки. Полученные результаты не выявили

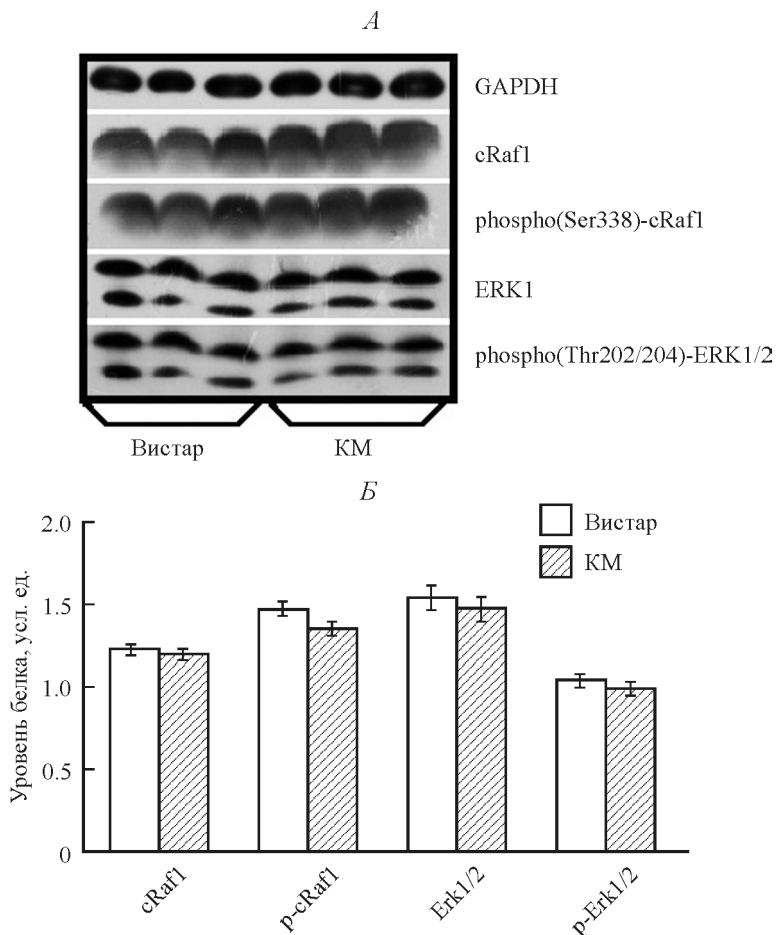


Рис. 1. Оценка уровня экспрессии и фосфорилирования киназ ERK1/2 зависимого сигнального каскада.

А — содержание белков cRaf1, p-cRaf1, ERK1/2, p-ERK1/2 в НСК крыс линии Вистар и КМ. Относительное количество белка оценивалось с помощью Вестерн-блот анализа; Б — на графиках представлены результаты денситометрии. По оси ординат — оптическая плотность, выраженная в условных единицах; по оси абсцисс — белки интереса.

различий в уровне cRaf и ERK1/2 между НСК линий Вистар и КМ (рис. 1). Уровень фосфорилирования cRaf и ERK1/2 в клетках КМ также не отличался от контрольных НСК Вистар (рис. 1). Полученные данные свидетельствуют об отсутствии различий в уровне активности членов ERK1/2 сигнального каскада между НСК крыс линий Вистар и КМ.

Анализ активности Akt/GSK3 β / β -catenin сигнального каскада. Akt/GSK3 β / β -catenin сигнальный каскад является одним из основных каскадов, регулирующих выживаемость нейронов. Также известно, что члены этого каскада, в частности GSK3 β , принимают участие в регуляции нейрональной дифференцировки [7]. Полученные нами данные показали, что в НСК КМ значительно снижен уровень экспрессии Akt по сравнению с НСК Вистар (рис. 2). Также в НСК КМ был значительно снижен уровень фосфорилирования GSK3 β и уровень β -catenin (рис. 2).

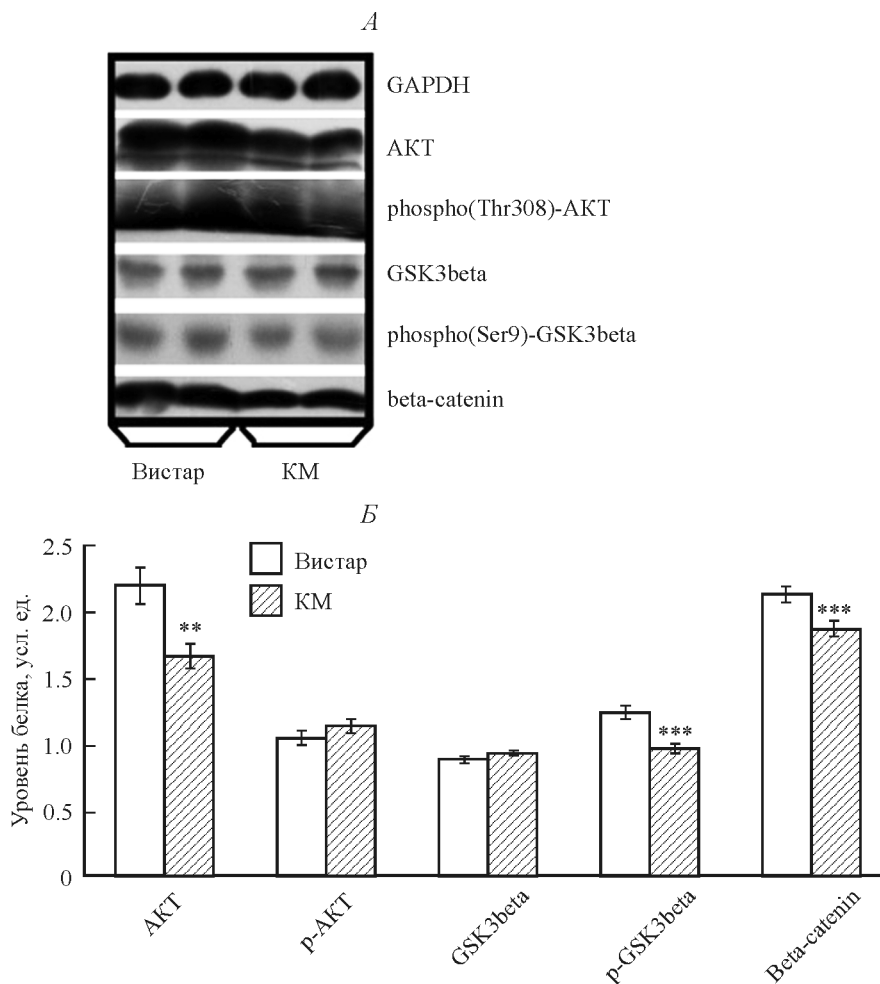


Рис. 2. Анализ активности членов Akt/GSK3 β сигнального каскада.

А — содержание белков АКТ, р-АКТ, GSK3 β , р-GSK3 β , β -catenin в НСК крыс линии Вистар и КМ. Относительное количество белка оценивалось с помощью Вестерн-блот анализа; Б — на графиках представлены результаты денситометрии. По оси ординат — оптическая плотность, выраженная в условных единицах; по оси абсцисс — белки интереса. ** $p < 0.005$, *** $p < 0.001$.

НСК крыс линии КМ характеризуются сниженной активностью транскрипционного фактора CREB. Далее мы проанализировали активность транскрипционного фактора CREB. Известно, что CREB регулируют экспрессию множества различных генов, в том числе генов, регулирующих пролиферацию, дифференцировку и выживаемость нейронов. При этом его активность регулируется множеством факторов, в том числе ERK1/2 и Akt. Полученные данные показали, что в НСК КМ значительно снижен не только уровень белка CREB, но также и уровень его фосфорилирования по сравнению с контрольными НСК Вистар (рис. 3). По всей видимости, контроль синтеза и активности CREB в НСК КМ осуществляется ERK-независимым путем и регулируется Akt сигналингом, поскольку уровень активности ERK1/2 каскада не различался между линиями НСК (рис. 1), а уровень активности Akt каскада был снижен в НСК КМ (рис. 2).

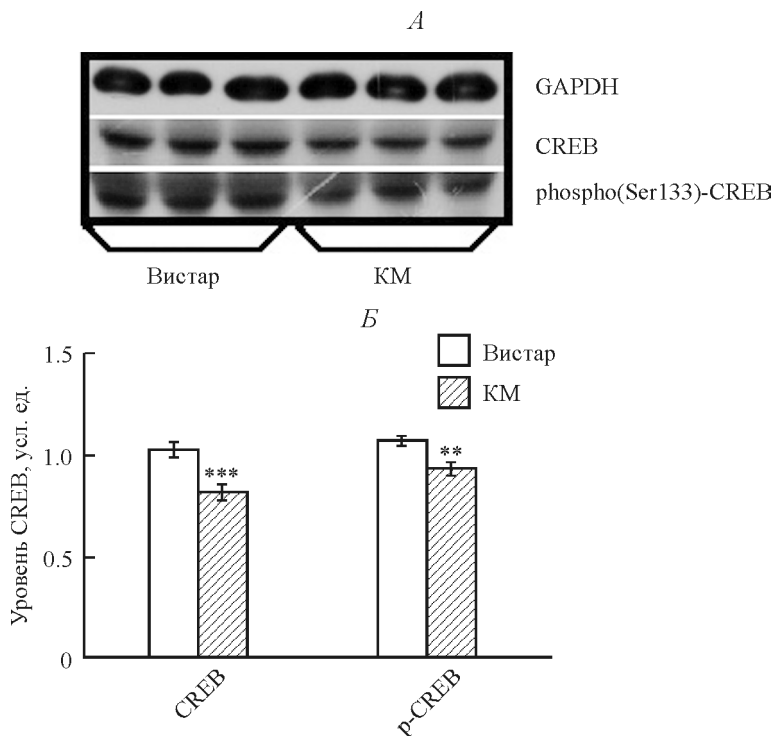


Рис. 3. Анализ уровня экспрессии и активности транскрипционного фактора CREB.

А — содержание нефосфорилированный и фосфорилированной формы CREB в НСК крыс линии Вистар и КМ. Относительное количество белка оценивалось с помощью Вестерн-блот анализа; Б — на графиках представлены результаты денситометрии. По оси ординат — оптическая плотность, выраженная в условных единицах; по оси абсцисс — белки интереса. ** $p < 0.005$, *** $p < 0.001$.

Активность белков, участвующих в процессе апоптоза. Хорошо известно, что сигнальные белки апоптоза также играют важную роль в процессе нейрональной дифференцировки и пролиферации [16]. Полученные результаты показали, что уровень белка p53 и его фосфорилированной по Ser15 активной формы, а также связанной с ним каспазы-3 в культуре НСК КМ не отличается от контроля (рис. 4). При этом мы наблюдали повышенный уровень фосфорилирования Bcl-2 в НСК КМ, что может свидетельствовать, с одной стороны, об активации апоптоза, а с другой — об остановке клеточного цикла Bcl-2 зависимым путем [2].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Пролиферация нейрональных стволовых клеток, миграция и дифференцировка клеток-предшественниц, а также интеграция новообразованных нейронов в существующие функциональные схемы мозга являются чрезвычайно сложными процессами, тонкая регуляция которых осуществляется взаимодействием множества внутриклеточных сигнальных путей. Ранее мы показали, что в условиях *in vitro* НСК крыс КМ раньше выходили из клеточного цикла и начинали дифференцироваться по нейрональному пути по сравнению с НСК крыс Вистар [19]. Известно, что остановка клеточного цикла зависит от множества факторов, в том числе от уровня фосфорилирования Bcl-2 [2]. По-

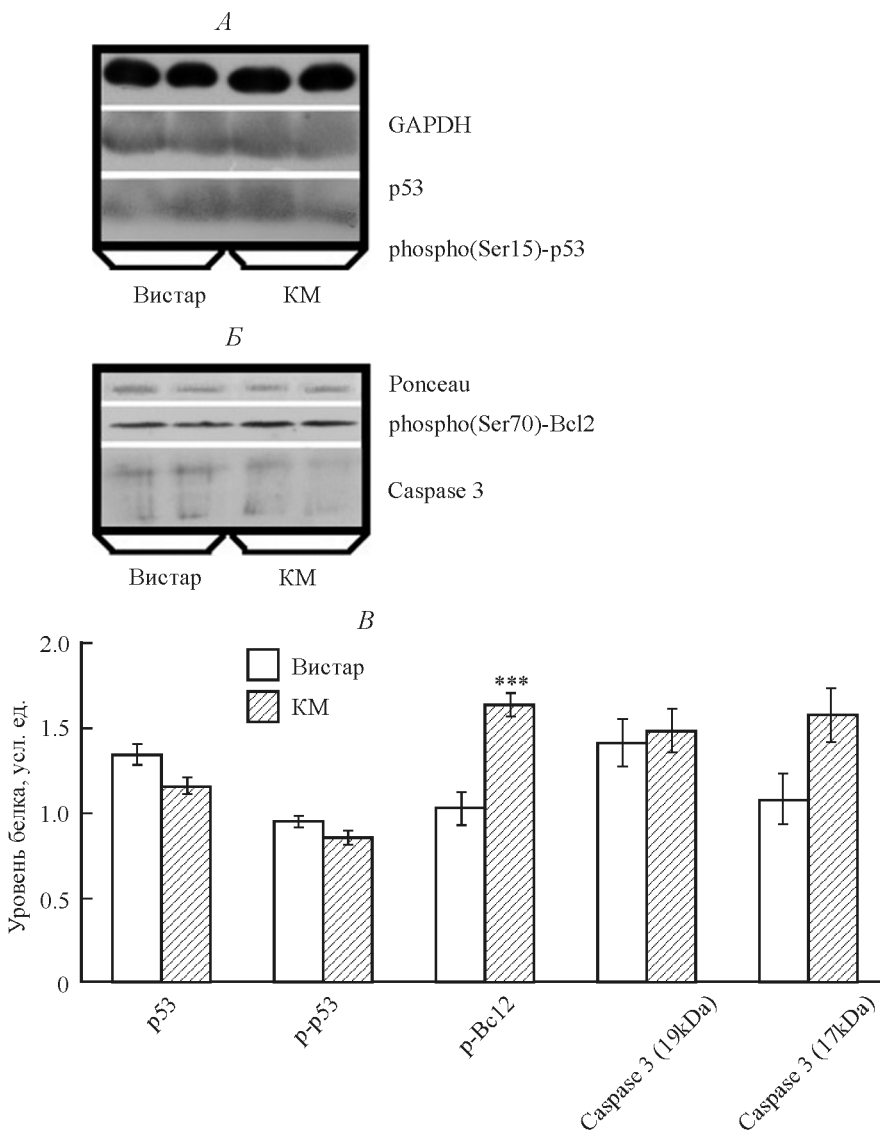


Рис. 4. Оценка уровня экспрессии и фосфорилирования белков, участвующих в процессе апоптоза.

A — содержание фосфорилированной и нефосфорилированной форм белка p53 в НСК крыс линии Вистар и КМ; *Б* — содержание белков p-Bcl-2 и caspase 3 в НСК крыс линии Вистар и КМ. Относительное количество белка оценивалось с помощью Вестерн-блот анализа; *В* — на графиках представлены результаты денситометрии. По оси ординат — оптическая плотность, выраженная в условных единицах; по оси абсцисс — белки интереса. *** $p < 0.001$.

лученные нами данные показали, что уровень фосфорилирования Bcl-2 в культуре НСК КМ был значительно выше, чем в клетках крыс Вистар. Эти данные позволяют предположить, что активация Bcl-2 может быть одним из факторов, приводящих к снижению пролиферации в клетках крыс КМ.

Было показано, что НСК КМ преимущественно дифференцировались в возбуждающие глутаматергические нейроны, что может обуславливать пред-

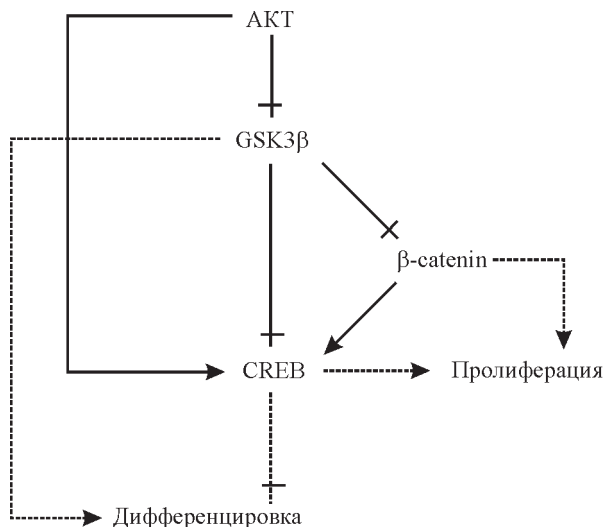


Рис. 5. Роль АКТ/ GSK3β/β-catenin/CREB сигнального пути в регуляции пролиферации и дифференцировки нейрональных стволовых клеток.

расположенность крыс КМ к аудиогенным судорожным припадкам [19]. Известно, что одним из основных каскадов, регулирующих нейрональную дифференцировку, является ERK1/2 сигнальный каскад [12]. Также в регуляции нейрональной дифференцировки принимает участие белок p53 [13]. Кроме того, имеются данные о функциональной связи между MAPK/ERK каскадом и белком p53 [10]. Однако полученные нами данные не выявили изменений в активности p53 и членов ERK1/2 каскада в культуре НСК крыс КМ. Соответственно активация дифференцировки НСК крыс линии КМ не зависит от активности p53 и/или ERK1/2.

Помимо ERK1/2 сигнального пути в регуляции клеточного цикла, выживания, пролиферации, дифференцировки и миграции клеток важную роль играет протеинкиназа Akt, основной мишенью которой является GSK3β [3]. Akt негативно регулирует активность киназы GSK3β фосфорилированием по Ser9. В свою очередь ингибирование GSK3β и соответственно стабилизация бета-катенина удерживает клетку в стволовом состоянии. Кроме того, GSK3β негативно регулирует активность белка CRMP-2, который участвует в росте аксонов и нейрональной полярности [18]. Анализ АКТ/GSK3β каскада показал, что в НСК линии КМ активность АКТ была значительно снижена, при этом также был снижен уровень фосфорилирования GSK3β по Ser9 и уровень белка β-catenin по сравнению с НСК крыс линии Вистар.

Эффекты Akt также могут быть опосредованы транскрипционным фактором CREB, фосфорилирование которого по Ser133 приводит к повышению его транскрипционной активности [5]. Известно, что CREB регулирует экспрессию множества генов, в том числе необходимых для поддержания жизнеспособности и регуляции дифференцировки новообразованных нейронов в гиппокампе [11].

Мы оценили активность транскрипционного фактора CREB и показали, что уровень его фосфорилирования по Ser133 был также значительно понижен в клетках крыс КМ. Важно отметить, что показанные нами различия в относительном уровне и активности белков Akt, GSK3β, β-catenin и CREB

между НСК крыс КМ и Вистар могут быть взаимосвязаны. Поскольку содержание Акт в НСК крыс КМ падает, то уменьшается и его ингибирующее воздействие на GSK3 β . Снятие тормозного влияния ведет к накоплению активной формы белка и проявлению его эффектов через ингибирование пролиферативной активности β -catenin и CREB, что ведет к остановке процесса самообновления и индуцирует дифференцировку клеток.

Таким образом, наши данные, полученные в экспериментах *in vitro*, показали, что повышенная скорость дифференцировки нейрональных стволовых клеток крыс линии Крушинского—Молодкиной опосредована сниженным уровнем активности АКТ/GSK3 β / β -catenin/CREB сигнального пути (рис. 5).

Данная работа поддержана фондом РФФИ (грант №16-04-00777), гос. заданием АААА-А18-118012290371-3 и частично выполнена в ЦКП ИЭФБ РАН № 441590.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] *Balu D. T., Lucki, I.* Adult hippocampal neurogenesis: regulation, functional implications, and contribution to disease pathology. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 33 : 232—252. 2009.
- [2] *Bartessaghi S., Salomoni P.* Tumor suppressive pathways in the control of neurogenesis. *Cellular, Molecular Life Sci.* 70: 581—597. 2012.
- [3] *Beurel E., Grieco S., Jope R.* Glycogen synthase Kinase-3 (GSK3): regulation, actions, and diseases. *Pharmacol. Ther.* 0: 114—131. 2015.
- [4] *Colombo E., Giannelli S.G., Galli R., Tagliafico E., Foroni C., Tenedini E., Ferrari S., Ferrari S., Corte G., Vescovi A.* Embryonic stem-derived versus somatic neural stem cells: A comparative analysis of their developmental potential and molecular phenotype. *Stem Cells.* 24 : 825—834. 2006.
- [5] *Du K., Montminy M.* CREB is a regulatory target for the protein kinase Akt/PKB. *J. Biol. Chem.* 273: 32 377—32 379. 1998.
- [6] *Inestrosa N. C., Varela-Nallar L.* Wnt signalling in neuronal differentiation and development. *Cell Tissue Res.* 359 : 215—223. 2015.
- [7] *Jurado-Arjona J., Llorens-Martín M., Ávila J., Hernández F.* GSK3 β overexpression in dentate gyrus neural precursor cells expands the progenitor pool and enhances memory skills. *J. Biol. Chem.* 291: 8199—8213. 2016.
- [8] *Kim E. K., Choi E.-J.* Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) — Mol. Basis Disease.* 1802(4): 396—405. 2010.
- [9] *Kokaia M.* Seizure-induced neurogenesis in the adult brain. *Eur. J. Neurosci.* 33 : 1133—1138. 2011.
- [10] *Lee S.-Y., Shin S. J., Kim H.-S.* ERK1/2 activation mediated by the nutlin-3-induced mitochondrial translocation of p53. *Int. J. Oncol.* 42 : 1027—1035. 2013.
- [11] *Li Y. F., Huang Y., Amsdell S. L., Xiao L., O'Donnell J. M., Zhang H. T.* Antidepressant and anxiolytic-like effects of the phosphodiesterase-4 inhibitor rolipram on behavior depend on cyclic AMP response element binding protein-mediated neurogenesis in the hippocampus. *Neuropsychopharmacology.* 34 : 2404—2419. 2009.
- [12] *Li Z., Theus M. H., Wei L.* Role of ERK 1/2 signaling in neuronal differentiation of cultured embryonic stem cells. *Development, Growth Differentiation.* 48 : 513523. 2006.
- [13] *Medrano S., Scrabble H.* Maintaining appearances — the role of p53 in adult neurogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 331(3): 828—833. 2005.
- [14] *Orsini A., Zera F., Striano P.* Recent advances in epilepsygenetics. *Neurosci. Letters.* 667 : 4—9. 2017.
- [15] *Segal R. A.* Selectivity in neurotrophin signaling: Theme and variations. *Ann. Rev. Neurosci.* 26(1): 299—330. 2003.
- [16] *Sola S., Aranha M. M., Rodrigues C. M. P.* Driving apoptosis-relevant proteins towards neural differentiation. *Mol. Neurobiol.* 46 : 316—331. 2012.
- [17] *Sun Y., Liu, W.-Z., Liu, T., Feng, X., Yang, N., Zhou, H.-F.* Signaling pathway of MAPK/ERK in cell proliferation, differentiation, migration, senescence and apoptosis. *J. Recept. Signal Transduct. Res.* 35 : 600—604. 2015.

[18] *Taghian K., Lee J. Y., Petratos S.* Phosphorylation and cleavage of the family of collapsin response mediator proteins may play a central role in neurodegeneration after CNS trauma. *J. Neurotrauma*. 29(9): 1728—1735. 2012.

[19] *Сапарова В. Б., Зосен Д. В., Наслузова Е. В., Березовская А. С., Бахтеева В. Т., Горбачева Е. Л., Черниговская Е. В., Глазова М. В.* Анализ нейрональных стволовых клеток крыс линии Крушинского—Молодкиной, генетически предрасположенных к аудиогенным судорогам. *Рос. физиол. журн.* 104 (2): 226—237. 2018. [*Saparova V. B., Zosen D. V., Nasluzova E. V., Berezovskaya A. S., Bahteeva V. T., Gorbachova E. L., Chernigovskaya E. B., Glazova M. V.* The analysis of neural stem cells of Krushinsky—Molodkina rats, genetically prone to audiogenic seizures. *Russ. J. Physiol.* 104 (2): 226—237. 2018. (In Russ.)].

Поступила в редакцию 14.11.2018

После доработки 19.11.2018

Принята к публикации 05.12.2018