

УДК 57.085.23

## ВЛИЯНИЕ БЛОКАТОРОВ КАТИОННЫХ КАНАЛОВ НА АКТИВАЦИЮ ПАПИЛЛЯРНЫХ МЫШЦ СЕРДЦА И КОЛЕЦ АОРТЫ КРЫС ИОНОМ АММОНИЯ.

Аверин А.С.<sup>1</sup>, Накипова О.В.<sup>1</sup>, Андреева Л.А.<sup>1</sup>, Аверина И.В.<sup>1</sup>, Сергеев А.И.<sup>1</sup>, Гришина  
Е.В.<sup>2</sup>, Галимова М.Х.<sup>2</sup>, Ненов М.Н.<sup>2</sup>, Дынник В.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики  
клетки РАН, 142290, Пущино, Институтская 3, РФ

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической  
и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино, Институтская 3, РФ  
e-mail: Dynnik@rambler.ru; Тел: 8-9251506655, 8-(4967)739477

### Реферат

Цель работы – исследовать влияние кофермента  $\text{NAD}^+$  и некоторых и блокаторов катионных каналов или рецепторов каналов на активацию папиллярных мышц сердца (ПМС) и колец аорты (КА) крыс, вызываемую ионом аммония  $\text{NH}_4^+$ . В экспериментах регистрировали изометрическую силу сокращений ( $F_1$ ) исследуемых образцов при электрической стимуляции ПМС (с частотой от 0.03 до 0.3 Hz) и силу  $F_2$  периодических сокращений образцов аорты, вызываемых фенилэфрином (PE) или серотонином (5-HT). Показано, что  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (1–5 mM) вызывает рост силы  $F_1$  ПМС и рост силы ритмической активности  $F_2$  КА на 20–30%. В присутствии  $\text{NAD}^+$  (1–3 mM), регистрируемые величины сил  $F_1$  и  $F_2$  в обоих типах исследуемых образцов уменьшаются на 50–60%. Эффект  $\text{NAD}^+$  полностью устраняется при инкубации ПМС с блокатором P2-пуриновых рецепторов (Reactive Blue) и частично (на 40–40%) – в образцах КА. Введение  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (3–5 mM) также полностью устраняет гиперполяризующий эффект  $\text{NAD}^+$ , вызывая увеличение силы  $F_1$  до 120–130% в сравнении с контролем ( $F_0$ ) в образцах ПМС.  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (1–5 mM) подавляет на 20–30%  $\text{Ca}^{++}$ -токи потенциал-зависимых  $\text{Ca}^{++}$  каналов L-типа в изолированных кардиомиоцитах. В образцах КА, введение  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (1–10 mM) после  $\text{NAD}^+$ , вызывает двухфазный дозозависимый эффект, при котором первичное снижение силы  $F_2$ , сменяется овершутом с выходом на плато. Наблюдающиеся эффекты  $\text{NH}_4\text{Cl}$  в препаратах ПМС исчезают в присутствии ZD 7288 (20–30  $\mu\text{M}$ ) – блокатора активируемых гиперполяризацией циклонуклеотид-зависимых катионных HCN-каналов или при блокировании ибериотоксином (Iberritoxin, 6 nM) рецепторов  $\text{Ca}^{++}$ -зависимых калиевых каналов большой проводимости ( $\text{BK}_{\text{Ca}}$ ). В образцах аорты эти эффекты выражены слабее. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в электровозбудимых клетках миокарда и сосудов, также как и в нейронных сетях, аммоний вызывает универсальную активацию (деполяризацию) клеток, вовлекая группу катионных каналов (HCN,  $\text{BK}_{\text{Ca}}$ ,  $\text{SK}_{\text{Ca}}$  и др.).

**Ключевые слова:** миокард, аорта, ион аммония,  $\text{NAD}^+$ , катионные HCN и  $\text{BK}_{\text{Ca}}$  каналы, гипераммонемия.

**Impact of some cationic channels blockers on the activation of rat papillary muscles and aorta rings by ammonium ions.**

Averin A.S.<sup>1</sup>, Nakipova O.V.<sup>1</sup>, Andreeva L.A.<sup>1</sup>, Averina I.V.<sup>1</sup>, Sergeev A.I.<sup>1</sup>, Grishina E.V.<sup>2</sup>, Galimova M.H.<sup>2</sup>, Nenov N.M., Dynnik V.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Federal State Budget Organization of Science, Institute of Cell Biophysics RAS, 142290, Pushchino, Russia, Institutskaya 3

<sup>2</sup>Federal State Budget Organization of Science, Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, 142290, Pushchino, Russia, Institutskaya 3  
*e-mail: Dynnik@rambler.ru ;Tel: 8-9251506655, 8-(4967)739477*

**Abstract**

Main purpose of this work is to investigate the effects of coenzyme  $\text{NAD}^+$  and of some cationic channels or receptors blockers on the activation of rat myocardial papillary muscle strips (PMS) and aorta rings (AR) by ammonium ions. Isometric contractions force  $F_1$  of electrically stimulated PMS (0,03 to 0,3Hz) and the force  $F_2$  of periodic contractions of AR, precontracted by phenylephrine (PE) or serotonin (5-HT), were recorded. It was shown that  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (1-5 mM) may result in the increase of force  $F_1$  of PMS and of force  $F_2$  of AR, both by 20-30%. In the presence of  $\text{NAD}^+$  (1-3 mM), registered values of  $F_1$  and  $F_2$  were reduced by 50-60%. The effect of  $\text{NAD}^+$  was completely eliminated, after preincubation of PMS with P2- purinoreceptors blockers (Reactive Blue). In AR the recovery of  $F_2$  in the presence of Reactive Blue was not complete (40-50% of control  $F_0$ ). Application of  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (3-5mM) to PMS, pretreated with  $\text{NAD}^+$ , eliminated hyperpolarizing effect of  $\text{NAD}^+$ , by causing an increase of force  $F_1$  to 120-130% of control force  $F_0$ . In AR, the additions of  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (1-10 mM) were characterized by biphasic dose-dependent effects, in which initial decline in force  $F_2$  were substituted by the overshoots with final plateau phase  $F_2$  values lower than  $F_0$ .  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (1-5 mM) suppresses  $\text{Ca}^{++}$ -currents of potential-dependent  $\text{Ca}^{++}$  L-type channels in isolated cardiomyocytes. Observed effects of  $\text{NH}_4\text{Cl}$  on PMS disappear in the presence of ZD 7288 (20-30 mkM) – the blocker of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide dependent cationic (HCN) -channels, or after the application of Iberiotoxin (6 nM), known blocker of the receptors of  $\text{Ca}^{++}$ -activated high conductivity potassium channels ( $\text{BK}_{\text{Ca}}$ ). The effects, produced by both blockers in AR, were less pronounced. Taken together, all these results may indicate that in electrically excitable myocardial and smooth muscle (vascular) cells, like in neural cells, ammonia causes universal activation (depolarization), implicating the group of cationic channels (HCN,  $\text{BK}_{\text{Ca}}$ ,  $\text{SK}_{\text{Ca}}$ , etc.).

**Keywords:** myocardium, aorta, ammonium ion, coenzyme  $\text{NAD}^+$ , cationic HCN channels,  $\text{BK}_{\text{Ca}}$ -channels, hyperammonemia.

## Введение

Гипераммонемия является неотъемлемым признаком острой и хронической печеночной энцефалопатии (ПЭ)- дисфункции мозга, вызываемой острой (лекарственные и токсические отравления, острый гепатит) или хронической (цирроз) дисфункцией печени. Концентрация иона аммония ( $\text{NH}_4^+$ ) в крови у человека при острых ПЭ может достигать 1–2 мМ [1, 2], а у лабораторных животных 4–5 мМ [3]. Хроническая ПЭ характеризуется содержанием аммония в крови не превышающем 150–250 мкМ [2].

Существующий интерес к нейротоксичности аммония восходит к пионерским работам И.П. Павлова, М. Залески и их коллег, продемонстрировавших в конце 19 века нейротоксические эффекты аммония при шунтировании печеночного кровотока собак [4–6]. Быстрое развитие медицины, физиологии и биохимии позволило к середине прошлого века выработать общие представления о механизмах токсического действия аммония и др. токсинов на мозг и предложить методы лечения ПЭ [7–9], которые востребованы и в настоящее время [1,2 10]. В основе этих методов: уменьшение содержания аммония в крови основанное на подавлении продукции аммония бактериями ЖКТ и активация превращения аммония в мочевины (в Цикле мочевины в больной печени) и в аминокислоты (в разных тканях), а также устранение провоцирующих факторов (инфекция, желудочно-кишечные кровотечения, запоры, токсины и др.).

Астроциты рассматриваются в качестве основной мишени токсического действия аммония на мозг. Набухание астроцитов, вызываемые а накоплением глутамина или лактата, а также неконтролируемый рост  $\text{Ca}^{++}$  ( вследствие деполяризации и активации глутаматных NMDA- рецепторов по неизвестному механизму) и последующее развитие окислительно- нитрозативного стресса, считаются ключевыми причинами, вызывающими отек мозга и гибель организма при острых формах ПЭ [11–13].

Очевидно, что токсическое действие аммония не ограничивается астроцитами. Механизмы действия  $\text{NH}_4^+$  на нейроны, клетки миокарда, поджелудочной железы, печени, сосудов и других органов и тканей остаются до настоящего времени недостаточно изученными. Ион аммония  $\text{NH}_4^+$ , имея близкий к  $\text{K}^+$  ионный радиус, способен проходить через различные катионные каналы и тем самым способствовать первичной деполяризации электровозбудимых клеток, с последующей активацией NMDA- каналов.

Ранее на нейрональных культурах, нами было показано, что  $\text{NH}_4\text{Cl}$  вызывает гипервозбуждение нейронных сетей, характеризующееся генерацией пачек импульсов с деполяризацией мембраны нейронов на 20–30 mV в фазе плато потенциала действия [14]. Было также установлено, что помимо блокаторов NMDA- рецепторов, гиперактивация нейронных сетей  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , может быть подавлена также блокаторами активируемых гиперполяризацией циклонуклеотид - зависимых катионных HCN -каналов и  $\text{Ca}^{++}$ -зависимых калиевых каналов малой проводимости ( $\text{SK}_{\text{Ca}}$ ) [15]. Полученные результаты позволяют по новому взглянуть на механизмы активирующего действия аммония на нейронные сети и другие типы электровозбудимых клеток.

NMDA-зависимые  $\text{Ca}^{++}$ -каналы и другие типы каналов, которые могут быть вовлечены в механизмы токсического действия аммония, представлены практически во всех типах электровозбудимых клеток. Ион аммония  $\text{NH}_4^+$ , имея близкий к  $\text{K}^+$  ионный радиус, может проходить через различные катионные каналы и тем самым способствовать

первичной деполяризации электровозбудимых клеток, с последующей активацией NMDA-каналов. Поэтому основной задачей данной работы является выявление таких каналов, возможных мишеней действия иона аммония, в клетках миокарда и сосудов.

### Материалы и методы.

В экспериментах использовали здоровых крыс линии Вистар в возрасте 2-3 месяца. Перед декапитацией животных использовали эфирный наркоз, затем быстро извлекали сердце и препараты аорты и помещали аэрированные растворы Тироде. Исследования сократимости миокарда проводились на папиллярных мышцах (ПМ) правого желудочка сердца при температуре  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ . Выделение папиллярных мышц (ПМ), стимуляцию и измерение амплитуды сокращения в изометрическом режиме проводили по ранее описанной методике [16]. Механическая активность мышц регистрировалась с помощью механотрона 6X-2M и автоматизированной установки на основе РС и плат АЦП-ЦАП (L-Card 154 и L-Card E14-440). Исследование механических свойств сосудистой системы проводили на кольцевых сегментах (длина 3–3,5 мм) грудной аорты по описанной ранее методике [17]. Состав раствора Тироде для колец аорты (в моль/литр):  $\text{Na}^+$  150,0;  $\text{K}^+$  4,0;  $\text{Mg}^{++}$  1,0;  $\text{Ca}^{++}$  2,0;  $\text{HCO}_3^-$  12,0;  $\text{HPO}_4^-$  1,8;  $\text{Cl}^-$  148,4; глюкоза 11,0;  $\text{pH} = 7,4$ . Регистрацию силы изометрического сокращения проводили с помощью механотрона 6X2M на ПК и Line recorder TZ 4221 (Чехия) при температуре раствора  $20^\circ\text{C}$ . Изолированные кардиомиоциты были получены из сердец линейных крыс СД по методу описанному ранее [18]. Измерения производили при  $25^\circ\text{C}$  методом «whole cell patch-clamp» в конфигурации «perforated patch». Поддерживаемый потенциал составлял  $-40\text{mV}$ . Стимулирующий импульс  $+40\text{mV}$ . Длительность прямоугольного импульса  $-300\text{мс}$ . Для обработки результатов использовался пакет программ «BioQuest».

*Материалы:* кофермент  $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NAD}^+$ , Iberiotoxin, Reactive Blue,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  и др. были приобретены у компании Tocris Bioscience (Великобритания). Все исследования на животных были проведены в соответствии с требованиями законодательства и были одобрены Комитетами по этике работы с животными ИТЭБ РАН и ИБК РАН.

### Результаты и обсуждение

#### *1. Увеличение силы сокращений ( $F_1$ ) папиллярных мышц сердца (ПМС) крыс ионом аммония.*

##### *1.1 Активация ПМС аммонием.*

Влияние иона аммония на силу сокращений ПМС ( $F_1$ ), представлено на Рис. 1А. Электрическая стимуляция препаратов производилась в диапазоне частот от 0,03 до 0,3Hz. На рисунке представлен пример стимуляции с частотой 0,3Hz, наиболее близкой к физиологическому диапазону частот. Однако, стимулирующий эффект наблюдается и при меньших частотах стимуляции, что по-видимому связано с ростом  $\text{Ca}^{++}$  в цитоплазме (не показано). Видно, что 5 мМ  $\text{NH}_4\text{Cl}$  вызывает быстрый рост силы  $F_1$  на 25–30%, по сравнению ее величиной в контроле  $F_0$ . При применении меньших концентрациях  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , эффект выражен слабее (3–4 мМ), а при добавках 0,5–1 мМ  $\text{NH}_4\text{Cl}$  необходима длительная преинкубация образцов с  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Сходная чувствительность к  $\text{NH}_4\text{Cl}$  нейронных сетей при их гиперактивации аммонием нами была получена ранее [14].

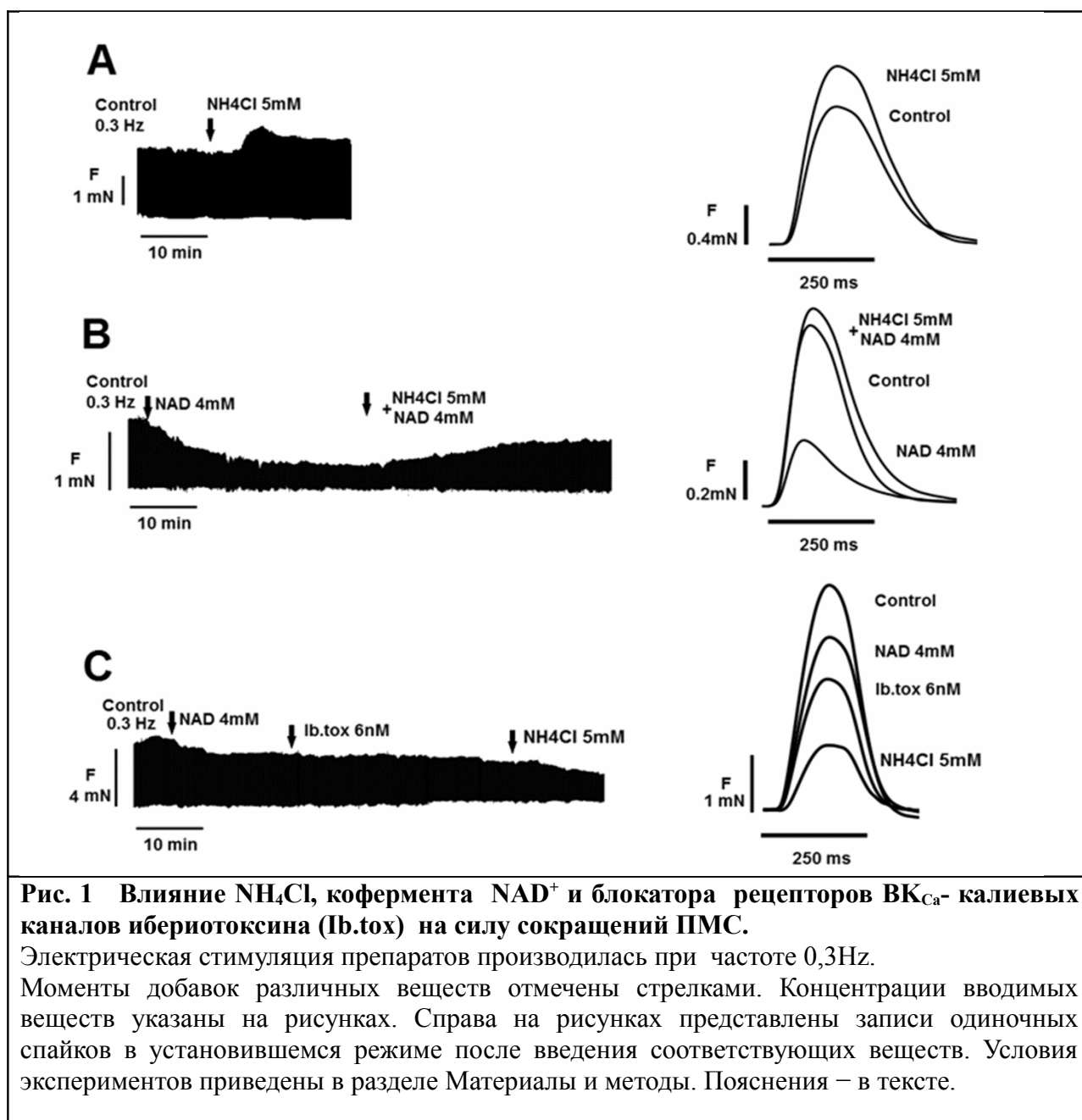
### ***1.2 Противоположное влияние $NAD^+$ и $NH_4Cl$ на силу сокращений ПМС - $F_1$ .***

Известно, что кофермент  $NAD^+$  являясь агонистом пуринорецепторов (P2Y<sub>11</sub>), может активировать группу калиевых потенциал-зависимых каналов [19, 20]. Очевидно, что имеющая в этом случае место гиперполяризация клеток должна приводить к снижению уровня  $Ca^{++}$  в цитоплазме и к уменьшению силы регистрируемых сокращений (Рис. 1Б). Добавки  $NH_4Cl$  в таких условиях вызывают восстановление силы  $F_1$  до контрольных значений  $F_0$ . Этот эффект сохраняется при всех частотах стимуляции (не показано), что может свидетельствовать о деполяризации клеток, сопровождающейся ростом  $Ca^{++}$ .

### ***1.3 Влияние блокаторов $Ca^{++}$ -зависимых калиевых каналов на эффект $NH_4Cl$ .***

Реактивирующий эффект  $NH_4Cl$ , наблюдающийся в препаратах ПМС в присутствии  $NAD^+$ , исчезает при введении ибериотоксина (Iberiotoxin, 6 нМ)- блокатора рецепторов  $Ca^{++}$ -зависимых калиевых каналов большой проводимости ( $BK_{Ca}$ ) (Рис. 1С). Блокирующий эффект ибериотоксина на активацию сократимости препаратов ПМС аммонием сохраняется и в отсутствие  $NAD^+$  в среде (не показано).

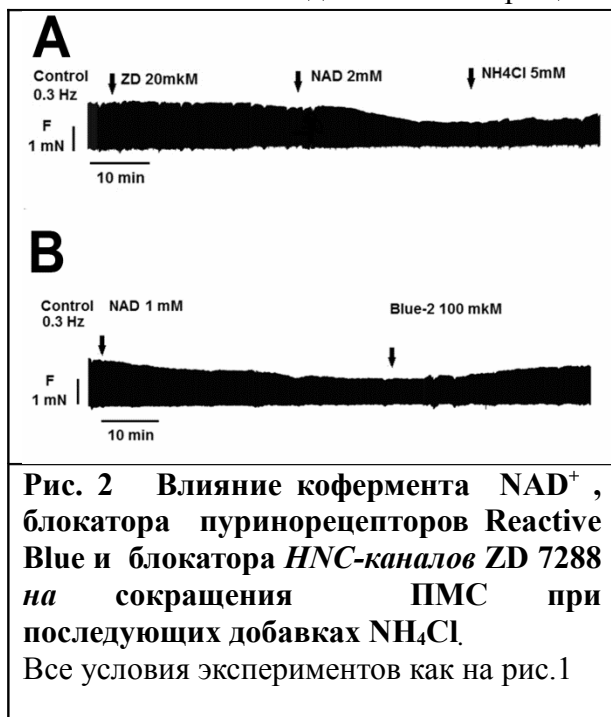
Ранее нами было показано, что реактивация нейронных сетей аммонием (в присутствии  $NAD^+$ ) зависит активности  $Ca^{++}$ -зависимых калиевых каналов малой проводимости ( $SK_{Ca}$ ). Преинкубация нейроглиальных культур с блокатором каналов  $SK_{Ca}$  - арамине, приводила к тому, что исчезал быстрый ответ большой группы нейронов на  $NH_4Cl$  [15]. Учитывая, что ион аммония  $NH_4^+$  имеет близкий к  $K^+$  ионный радиус, можно полагать, что в наблюдаемых эффектах аммонии имеет место активация различных  $K^+$ -каналов, включая  $SK_{Ca}$  и  $BK_{Ca}$  – каналы.



#### 1.4 Вовлечение, активируемых гиперполяризацией циклонуклеотид - зависимых катионных HCN-каналов в активирующий эффект $\text{NH}_4\text{Cl}$ .

Введение в среду инкубации блокатора HCN -каналов ZD 7288 (20–30  $\mu\text{M}$ ) также устраняет реактивирующий эффект  $\text{NH}_4\text{Cl}$  на клетки ПМС гиперполяризованные в присутствии кофермента  $\text{NAD}^+$  (Рис. 2А). Сочетанное использование  $\text{NAD}^+$  и  $\text{NH}_4\text{Cl}$  нами использовано для того, чтобы разделить во времени включение HCN-каналов и NMDA-каналов. Активация HCN-каналов осуществляется с участием нескольких факторов, включая гиперполяризацию мембран и активацию циклическими нуклеотидами. Гиперполяризация клеток, вызываемая  $\text{NAD}^+$ , устраняется при инкубации ПМС с блокатором P2-пуриновых рецепторов – Reactive Blue (Рис. 2Б). Ингибирование активности P2Y11-пуриновых рецепторов в этих условиях устраняет гиперполяризацию клеток,

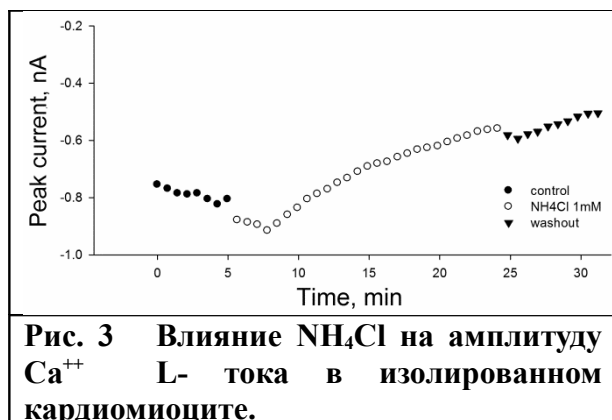
вызываемую группой калиевых потенциал-зависимых каналов и, поэтому имеет место восстановление исходной силы сокращений ПМС.



Хорошо известно, что последовательная активация  $\text{HCN}$  и  $\text{Ca}^{++}$ -зависимых калиевых каналов во время генерации потенциала действия в фазе гиперполяризации, обеспечивает возврат потенциала к пороговому значению, необходимому для генерации следующего спайка.

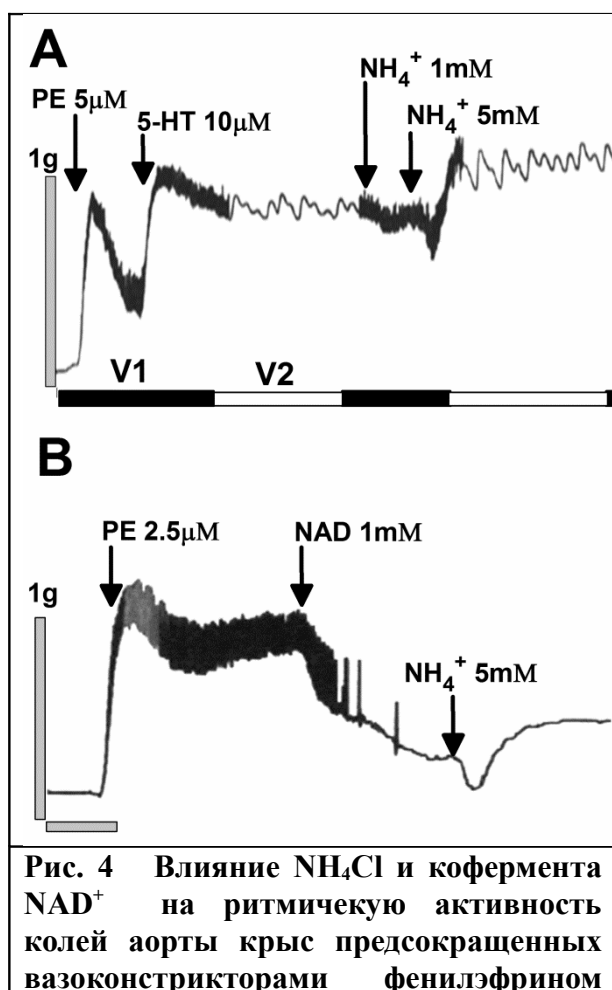
Таким образом, наличие в среде инкубации  $\text{NAD}^+$  обеспечивает первое условие активации  $\text{HCN}$ -каналов – гиперполяризацию мембраны, а последующие добавки  $\text{NH}_4\text{Cl}$  вызывают активацию неселективных катионных  $\text{HCN}$ -каналов, по-видимому, обеспечивая базовую активацию  $\text{NO/cGMP/PKG}$ -сигнального пути, входящим в цитозоль  $\text{Ca}^{++}$ . В условиях гиперполяризации,  $\text{NMDA}$ -каналы неактивны и не могут обеспечить вход  $\text{Ca}^{++}$  и активацию  $\text{NO/cGMP/PKG}$ -сигнального пути, если не предполагать прямую активацию этих каналов аммонием, что до сих пор не показано.

### **1.5 Подавление $\text{Ca}^{++}$ -токов потенциал-зависимых $\text{Ca}^{++}$ -каналов L- типа аммонием в кардиомиоцитах.**



Эксперименты, выполненные на изолированных кардиомиоцитах с использованием перфорированного Пэтч-клямпа метода фиксации токов и потенциалов показывают, что добавки  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (1–5 мМ) вызывают уменьшение амплитуды  $\text{Ca}^{++}$ -токов  $\text{Ca}^{++}$ -каналов L-типа (Рис. 3). Наблюдаемый эффект, по-видимому, является следствием ингибирования каналов этого типа избытком входящего в клетки  $\text{Ca}^{++}$ , при активацией группы катионных каналов аммонием.

## 2. Увеличение силы ритмических сокращений ( $F_2$ ) колец аорты (КО) крыс ионом аммония.



**(РЕ) и серотонином (5-НТ).**

Моменты добавок различных веществ отмечены стрелками. Концентрации вводимых веществ указаны на рисунках. На рис. 4А запись производилась со скоростями  $V1 = 0.06$  мм/мин и  $V2 = 6$  мм/мин. На рис. 4Б запись производилась со скоростями  $V1 = 0.06$  мм/мин. Условия экспериментов приведены в разделе Материалы и методы. Пояснения - в тексте.

Влияние  $\text{NH}_4\text{Cl}$  на силу римических сокращений образцов КО ( $F_2$ ), вызываемых вазоконстрикторами фенилэфрином (РЕ) и серотонином (5-НТ) представлено на Рис 4А. В различных образцах КО добавки малых концентраций  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (1–2 мМ) могут не оказывать никакого действия или вызывать слабый активирующий эффект. Введение 5–6 мМ  $\text{NH}_4\text{Cl}$  во всех препаратах вызывает увеличение силы сокращений (на 20–40%) и характера ритмической активности образцов КО. Независимо от наличия или отсутствия аммония в среде, добавки Ацетилхолина, NO или никотинамида- вызывают полное расслабление образцов, что указывает на отсутствие гиперактивации NO/cGMP/PKG-сигнального пути в КО в присутствии аммония в условиях данных экспериментов (не показано).

Также как и в образцах ПМС, в кольцах аорты добавленный  $\text{NAD}^+$  вызывает дозозависимое расслабление образцов, сопровождающееся расслаблением и утратой ритмической активности (Рис. 4Б). Характер ответа на аппликацию  $\text{NH}_4\text{Cl}$  также существенно изменяется, наблюдается сходный с другими типами клеток двухфазный ответ, при котором амплитуды фазы падения сократимости (1 фаза) и фазы овершута (2 фаза) с выходом на плато силы сокращения ( $F_2$ ) пропорциональны величине концентрации добавленного  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (не показано). Однако, даже при добавках 10–20 мМ  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , конечная величина  $F_2$  не превышает контрольных величин  $F_0$ . Первичное уменьшение силы сокращений, как и в других типах клеток, по-видимому, вызвано временным закислением цитозоля клеток. Все наблюдаемые эффекты сохраняются в КО лишенных эндотелия, что свидетельствует о ключевой роли гладкомышечных клеток в наблюдаемых эффектах аммония. В отличие от препаратов ПМС, в КО эффекты блокаторов каналов и рецепторов выражены слабее (не показано).

**Заключение**

Суммируя полученные результаты можно предположить, что активация электровозбудимых клеток разных типов ионом аммония представляет собой универсальный механизм, основанный на первичном вовлечении группы катионных каналов ( $\text{HCN}$ ,  $\text{BK}_{\text{Ca}}$ ,  $\text{SK}_{\text{Ca}}$  и др.), активация которых приводит к деполяризации клеток и последующей активации массивованного входа  $\text{Ca}^{++}$  в клетки с участием NMDA-зависимых каналов,  $\text{Ca}^{++}$ -каналов L-типа и др.

**Работа выполнена при поддержке РФФИ.**

**Гранты: № 14-04-01695, 2014-2016 гг.; № 14-04-01597, 2014-2016 гг.**

## Литература

1. Bjerring, P.N.; Eefsen, M.; Hansen, B.A.; Larsen, F.S. The brain in acute liver failure. A tortuous path from hyperammonemia to cerebral edema. *Metab Brain Dis.* 2009 Mar;24(1):5-14.
2. Perazzo, J.C.; Tallis, S.; Delfante, A.; Souto, P.A.; Lemberg, A.; Eizayaga, F.X.; Romay, S. Hepatic encephalopathy: An approach to its multiple pathophysiological features. *World J Hepatol*, **2012**, 4(3), 50-65.
3. Grishina, E.V.; Kravtchenko, I.N.; Lobanov, A.V.; Sergeev, A.I.; Sadovnikova, E.S.; Dynnik, V.V. Selection of complex compositions of protectors of hyperammonemia and acute hepatic encephalopathy. *Medline.ru*, **2015**, 16 (art.96), 1077-1098.
4. Häussinger D., Görg B. Interaction of oxidative stress, astrocyte swelling and cerebral ammonia toxicity// *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 2010, vol.13, pp. 87– 92.
5. Jayakumar, A.R.; Bethea, J.R.; Tong, X.Y.; Gomez, J.; Norenberg, M.D. NF-κB in the mechanism of brain edema in acute liver failure: studies in transgenic mice. *Neurobiol Dis*, **2011**, 41(2), 498-507.
4. Hahn, M.; Massen, O.; Nencki, M.; Pawlow, J.; Die Ecksche Fistel zwi der unteren Hohlvene und der Pfortader und ihre Folgen fur den Organismus; *Arch. Exp.Pathol. Pharmakol*, **1893**, 32, 161-210.
5. Nencki, M.; Zaleski, J. Ueber die Bestimmung des Ammoniaks in Thierischen Fluessigkeiten und Geweben. *Arch. Exp. Pathol. Pharmakol*. **1895**, 36, 385–396.
6. Nencki, M.; Pawlow, J.P.; Zaleski, J. Ueber den Ammoniakgehalt des Blutes und der Organe. Die Harnstoffbildung bei den Saugetieren. *Arch. Exp. Pathol. Pharmakol*, **1896**, 37, 26-51.
7. McDermott, W.V. Jr. The role of ammonia intoxication in hepatic coma. *Bull. N. Y. Acad. Med*, **1958**, 34(6), 357-65.
8. Sherlock, S. Hepatic coma. *Gastroenterology. Official publication of the American Gastroenterological Association*, **1961**, 7, 1–8.
9. Zuidema, G.D.; Kirsh, M.M.; Gaisford, W.D. Hepatic encephalopathy. *Major Probl Clin Surg*, **1964**, 1, 102-126.
10. Rose, C.F. Ammonia-lowering strategies for the treatment of hepatic encephalopathy. *Clin Pharmacol Ther*, **2012**, 92(3), 321-31.
11. Rama Rao, K.V.; Norenberg, M.D. Glutamine in the pathogenesis of hepatic encephalopathy: the trojan horse hypothesis revisited. *Neurochem Res*, **2014**, 39(3), 593-8.
12. Bosoi, C.R.; Zwingmann, C.; Marin, H.; Parent-Robitaille, C.; Huynh, J.; Tremblay, M.; Rose, C.F. Increased brain lactate is central to the development of brain edema in rats with chronic liver disease. *J Hepatol*, **2014**, 60(3), 554-60.
13. Cauli, O.; González-Usano, A.; Cabrera-Pastor, A.; Gimenez-Garzó, C.; López-Larrubia, P.; Ruiz-Sauri, A.; Hernández-Rabaza, V.; Duszczek, M.; Malek, M.; Lazarewicz, J.W.; Carratalá, A.; Urios, A.; Miguel, A.; Torregrosa, I.; Carda, C.; Montoliu, C.; Felipo, V. Blocking NMDA receptors delays death in rats with acute liver failure by dual protective mechanisms in kidney and brain. *Neuromolecular Med*, **2014**, 16(2), 360-75.

14. Dynnik, V.V.; Kononov, A.V.; Sergeev, A.I.; Teplov, I.Y.; Zinchenko, V.P. To break or to brake neuronal network accelerated by ammonium ions? *PLoS ONE*, **2015**, 10(7), e0134145.
15. Kononov, A.V.; Galimova, M.H.; Dynnik, V.V. Impact of Methyl L-Methionine, coenzyme NAD<sup>+</sup>, certain blockers of cation channels and kinase G on hyperactivation of neuronal networks by ammonium ions. *Medline.ru*, **2015**, 16 (95), 1062-1076.
16. Nakipova O.V., Zakharova N.M., Andreeva L.A., Chumaeva N.N Averin AS. Kosarskii L.S., Anufriev A.I. Lewinski DV, Kockskamper J, Pieske B. The seasonal peculiarities of force-frequency relationships in active ground squirrel *Spermophilus undulatus* ventricle. *J. Cryobiology*, 2007, v. 55, № 3, pp. 173 – 181.
17. Andreeva, L.A.; Grishina, E.V.; Sergeev, A.I.; Lobanov, A.V.; Slastcheva, G.A.; Rykov, V.A.; Temyakov, A.V.; Dynnik, V.V. «EMERGENCE OF ACETYLCHOLINE RESISTANCE AND LOSS OF RHYTHMIC ACTIVITY ASSOCIATED WITH THE DEVELOPMENT OF HYPERTENSION, OBESITY, AND TYPE 2 DIABETES», *Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*. 2016, 10(3),199-206.
18. Грушин К.С., Ненов М.Н., Дынник В.В., Семушина С.Г., Пахомова И.А., Мурашев А.Н., Кокоз Ю.М. Роль NO-сGMP каскада в регуляции Ca<sup>2+</sup> тока L-типа в изолированных кардиомиоцитах. // Биологические мембраны. т.25, №5, с. 377-387, 2008
19. [Moreschi I.](#), Bruzzone S., Nicholas R.A et al. Extracellular NAD<sup>+</sup> is an agonist of the human P2Y<sub>11</sub> purinergic receptor in human granulocytes. // *J. Biol. Chem.*, 2006, vol. 281(42), pp. 31419-29.
20. Kilfoil P.J., Tipparaju S.M., Barski O.A. et al. Regulation of ion channels by pyridine nucleotides. // *Circ. Res.*, 2013, vol. 112 (4), pp.721–741.