

Н. А. Тимонина, В. В. Кравцова, Е. В. Михайлова, А. В. Соколова,
В. М. Михайлов, И. И. Кривой

ЭЛЕКТРОГЕНЕЗ КОНЦЕВЫХ ПЛАСТИНОК ДИАФРАГМЫ МЫШЕЙ mdx: ЭФФЕКТ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ*

Нарушения мышечного электрогенеза наблюдаются при ряде мышечных патологий, в частности у мышей mdx — лабораторной модели миодистрофии Дюшенна. Причиной этой миодистрофии являются мутации в гене белка дистрофина, контролирующего синтез одноименного белка цитоскелета. Эффективность способов терапии, разрабатываемых на основе возможностей клеточной и геной инженерии, в отношении электрогенеза мышечной мембраны изучена недостаточно. В данной работе мышам mdx в возрасте двух месяцев после рентгеновского облучения в дозе 3 Гр внутривенно вводили суспензию клеток костного мозга дикого типа из длинных костей мышей C57Bl/6. Через четыре месяца после такой немиэлоаблативной трансплантации клеток костного мозга у мышей mdx в диафрагмальной мышце наблюдалось восстановление мембранного потенциала покоя и параметров миниатюрных потенциалов концевой пластинки. Полученные данные свидетельствуют об эффективности трансплантации костного мозга дикого типа с целью замены мутантного костного мозга при миодистрофии, обусловленной снижением синтеза белка дистрофина. Библиогр. 20 назв. Ил. 3. Табл. 1.

Ключевые слова: мыши mdx, дистрофин, электрогенез концевой пластинки, немиэлоаблативная трансплантация костного мозга.

N. A. Timonina¹, V. V. Kravtsova¹, E. V. Mikhailova¹, A. V. Sokolova², V. M. Mikhailov², I. I. Krivoi¹

ELECTROGENESIS OF END-PLATES OF mdx MICE DIAPHRAGM: EFFECT OF CELL THERAPY

¹ St. Petersburg State University, 7/9, Universitetskaya nab., St. Petersburg, 199034, Russian Federation; natim77@mail.ru, violettakravtsova@gmail.com, drakia87@gmail.com, iikrivoi@gmail.com

² Institute of Cytology Russian Academy of Science, 4, Tikhoretsky pr., St. Petersburg, 194064, Russian Federation; avokolova@inbox.ru, vmikhailov@mail.cytspb.rssi.ru

Disturbances of muscle electrogenesis are observed in a number of muscle pathologies, particularly, they are found in the mdx mice, which are a laboratory model of Duchenne myodystrophy. This myodystrophy develops due to mutations in the gene of the dystrophin protein, which controls the synthesis of this protein in the cytoskeleton. The effectiveness of therapy for such myodystrophy by methods of cellular and genetic engineering has not been studied with regard to the muscle membrane electrogenesis. In this study, two months old mdx mice were irradiated by X-ray at a dose of 3 Gy and injected intravenously by wild type bone marrow cells suspension from long bones of C57Bl/6 mice. Four months after such non-myeloablative bone marrow cells transplantation the recovery of resting membrane potentials as well as parameters of miniature end-plate potentials of mdx mice diaphragm muscle was observed. Our data show the effectiveness of the replacement of the mutant bone marrow with the bone marrow of wild type in myodystrophy caused by the deficiency in dystrophin protein synthesis. Refs 20. Figs 3. Table 1.

Keywords: mdx mice; dystrophin; end-plate electrogenesis; non-myeloablative bone marrow transplantation.

Н. А. Тимонина (natim77@mail.ru), В. В. Кравцова (violettakravtsova@gmail.com), Е. В. Михайлова (drakia87@gmail.com), И. И. Кривой (iikrivoi@gmail.com): Санкт-Петербургский государственный университет, Российская Федерация, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9; А. В. Соколова (avokolova@inbox.ru), В. М. Михайлов (vmikhailov@mail.cytspb.rssi.ru): Институт цитологии Российской академии наук, Российская Федерация, 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр. 4.

* Работа поддержана грантом Санкт-Петербургского государственного университета № 1.38.231.2014 и грантом РФФИ № 13-04-00973а.

Введение

Дистрофиновый гликопротеиновый комплекс играет важную роль в поддержании структурной целостности мембраны, организации постсинаптического скаффолда и кластеризации никотиновых холинорецепторов (нХР) в концевой пластинке. Основным компонентом этого комплекса является белок цитоскелета дистрофин [1–4]. Мутации дистрофина и нарушение компонентов дистрофинового комплекса служат причиной развития мышечной дистрофии, одной из наиболее тяжелых форм которой является X-сцепленная мышечная дистрофия Дюшенна. Миодистрофия Дюшенна классифицируется как моногенное заболевание. Наиболее широко применяемой экспериментальной моделью данного заболевания являются мутантные мыши mdx, у которых точечная мутация в X-хромосоме приводит к блокаде синтеза дистрофина [1]. Скелетные мышцы этих животных отличаются нарушением целостности сарколеммы, деструктивными изменениями нервно-мышечных соединений [2, 5–7], нарушением ионного баланса [8–10] и многими другими отклонениями. Серьезным нарушением является снижение мембранного потенциала покоя (МПП) скелетных мышц [10]. Известно, что поддержание электрогенеза скелетного мышечного волокна является совершенно необходимым фактором обеспечения нормального функционирования нервно-мышечного аппарата. Деполяризация мембраны мышечных волокон ведет к инактивации натриевых каналов, снижению возбудимости волокон, замедлению временного течения мышечных потенциалов действия, нарушению функционирования электромеханического сопряжения [10, 11].

Эффективность различных способов терапии мышечной дистрофии Дюшенна в отношении электрогенеза скелетных мышц практически не изучена. Ранее нам удалось повысить долю дистрофин-положительных мышечных волокон у мышей mdx до 28% после немиэлоаблативной дозы рентгеновского облучения 3 Гр и трансплантации костного мозга дикого типа [12]. Кроме того, после местной трансплантации клеток костного мозга дикого типа у мышей mdx наблюдалось улучшение структуры нейромышечных соединений [7]. В настоящей работе нами впервые исследовано влияние на мышечный электрогенез мышей mdx немиэлоаблативного варианта трансплантации костного мозга дикого типа, приводящей к частичному восстановлению синтеза дистрофина и структуры концевых пластинок [13].

Материал и методика

В качестве объекта исследования использовали мышцы мышей C57Bl/6 (контроль), мышей mdx и мышей mdx после клеточной терапии. Мыши mdx были подарены проф. Т.А.Партриджем (Т.А. Partridge, Hammersmith Hospital, London) чл.-корр. РАН В.С.Баранову и содержались в виварии Института цитологии РАН. Условия содержания животных и приемы работы с ними соответствовали нормам международного и российского законодательства.

Опыты проводили на изолированных нервно-мышечных препаратах диафрагмы самцов мышей возрастом 6 месяцев во всех трех группах. Методика клеточной терапии описана ранее в [12, 13], терапию осуществляли на базе Института цитологии РАН. Чтобы инактивировать мутантный костный мозг, мышей mdx в возрасте двух месяцев подвергали немиэлоаблативному рентгеновскому облучению

в дозе 3 Гр на рентгеновском аппарате РУМ-17 ($U = 200$ кВ; $I = 13$ мА; фильтр 0,5 мм Cu + 1 мм Alu, мощность облучения 45 Р/мин). Затем облученным мышам mdx внутривенно вводили цельную суспензию клеток костного мозга дикого типа, выделенных из длинных костей конечностей мышей C57Bl/6. Из полученных таким образом радиационных химер мышей mdx через 4 месяца после трансплантации костного мозга (т. е. в возрасте 6 мес) выделяли диафрагму.

Приготовление нервно-мышечного препарата и регистрацию мышечного электрогенеза проводили на базе Санкт-Петербургского государственного университета. Сразу после выделения полоску левой полудиафрагмы с отрезком нерва помещали в экспериментальную камеру с проточным физиологическим раствором следующего состава: 137мМ NaCl, 5мМ KCl, 2мМ CaCl₂, 2мМ MgCl₂, 24мМ NaHCO₃, 1мМ NaH₂PO₄, 11мМ глюкозы, pH всех растворов составлял 7,4–7,6. Раствор постоянно аэрировали карбогеном (95% O₂ + 5% CO₂), температура раствора составляла 28 °С. Перед началом эксперимента мышцы выдерживали в этих условиях в течение 60 мин.

Мышечный электрогенез регистрировали внутриклеточно с помощью стеклянных микроэлектродов с внутренними капиллярами (BF150-110-10), изготовленных на микрокузнице Sutter P-97 (Sutter Instrument Co., США). Микроэлектроды заполняли 3М раствором KCl, их сопротивление составляло менее 10 МОм, собственный потенциал кончика не превышал нескольких милливольт. Методика регистрации описана ранее [14]. Регистрацию МПП проводили в постсинаптическом районе мембраны, попадание в который контролировали по наличию миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП) с крутым (<1 мс) фронтом нарастания. После введения микроэлектрода в мышечное волокно нажатием кнопки формировался синхроимпульс, который запускал аналого-цифровой преобразователь и автоматическую регистрацию МПП. После этого микроэлектрод выводили из данного волокна, и подобную процедуру повторяли в 25–35 волокнах. Значение нуля системы оценивалось при компьютерном усреднении шума (микроэлектрод находился в растворе); смещение нуля корректировали с помощью компьютера перед измерением МПП в каждом волокне. В части волокон регистрировали МПКП; оценивали их максимальную амплитуду, время нарастания (10–90% от максимальной амплитуды) и длительность полуспада. Полоса пропускания усилителя при регистрации МПКП составляла 0,1–3000 Гц, интервал оцифровки — 22 мкс.

В работе применяли вещества производства Sigma-Aldrich (США): соли для приготовления растворов, а также уабаин.

Статистическую обработку проводили с использованием пакетов программ Origin 6.1 (OriginLab Corporation, США) и GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, США). Нормальность распределений проверяли с помощью теста Колмогорова—Смирнова. В тексте, таблице и на рисунках приведены средние значения величин с их ошибками.

Результаты и обсуждение

Мембранный потенциал покоя. У контрольных мышей C57Bl/6 величина МПП в постсинаптическом районе мембраны составила в среднем $-81,4 \pm 0,5$ мВ (8 мышц, 173 волокна) (рис. 1), причем гистограмма распределения МПП была

близка к нормальной (рис. 2, а). У мышей mdx величина МПП составила $-74,5 \pm 0,5$ мВ (9 мышц, 161 волокно), что было достоверно ($p < 0,01$) меньше по сравнению с МПП контрольных мышц (рис. 1). Как и у контрольных животных, гистограмма распределения МПП у мышей mdx была близка к нормальной (рис. 2, б). Из этого следует, что наблюдаемое различие средних значений МПП действительно обусловлено деполяризацией постсинаптической мембраны, а не искажением формы распределения МПП.

Для определения электрогенной активности Na,K-АТФазы применяли ее специфический ингибитор убаин [10]. Электрогенную активность определяли как разницу между величинами МПП перед добавлением 500 мкМ убаина и через 15 мин его действия. Электрогенная активность Na,K-АТФазы у мышей mdx составила $-12,4 \pm 0,7$ мВ (5 мышц), что было достоверно ($p < 0,01$) меньше по сравнению с величиной $-19,8 \pm 0,7$ мВ (5 мышц) у контрольных мышей C57Bl/6 (рис. 1).

Наблюдаемая нами деполяризация мембраны мышечных волокон характерна для мышей mdx [10, 15] и обусловлена прежде всего повреждениями мембраны сарколеммы вследствие отсутствия синтеза цитоскелетного белка дистрофина. Важными факторами, по-видимому, являются также увеличение входа натрия вследствие нарушения работы потенциал-зависимых натриевых каналов $Na_v1.4$ типа [8] и накопление внутриклеточного кальция [9]. На величину МПП может также влиять изменение электрогенного эффекта Na,K-АТФазы. Сведения о функционировании Na,K-АТФазы у мышей mdx противоречивы. Имеются данные об увеличении активности [16] и количества [17] Na,K-АТФазы в скелетных мышцах мышей mdx, что рассматривают как компенсаторный механизм, противодействующий накоплению внутриклеточного натрия. В более поздней работе, однако, показано снижение электрогенной активности Na,K-АТФазы у мышей mdx [10], что согласуется с нашими данными.

Отметим, что оценка электрогенной активности Na,K-АТФазы зависит от входного сопротивления мышечных волокон. Однако тенденция к снижению входного сопротивления волокон у мышей mdx наблюдается только в возрасте 5–7 недель, с увеличением возраста (6–24 месяца) это сопротивление растет, что может быть связано с циклами дегенерации—регенерации мышечных волокон на разных возрастных этапах [15, 18]. Поэтому в нашем случае (опыты проведены на 6-месячных мышцах) можно было бы ожидать только усиления электрогенного эффекта Na,K-АТФазы из-за роста входного сопротивления волокон. То же можно сказать и о процитированной работе [10], выполненной на мышцах возраста 7–9 месяцев.

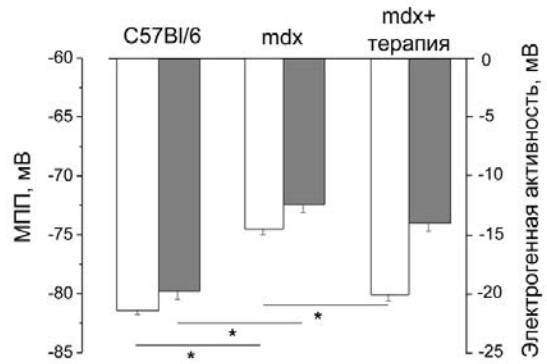


Рис. 1. Значения МПП (светлые столбцы) и электрогенной активности Na,K-АТФазы (темные столбцы) в мышечных волокнах диафрагмы контрольных мышей C57Bl/6, мышей mdx и мышей mdx после клеточной терапии
* — $p < 0,01$.

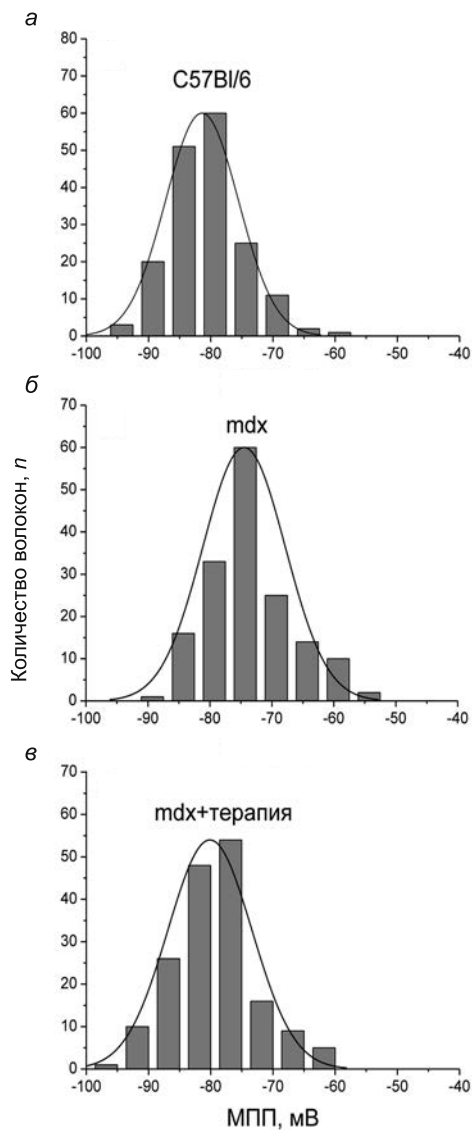


Рис. 2. Гистограммы распределения значений МПП мышечных волокон диафрагмы контрольных мышей C57Bl/6 (а), мышей mdx (б) и мышей mdx после клеточной терапии (в)

Гистограмма распределения амплитуд МПКП у контрольных мышей C57Bl/6 была относительно однородной и характеризовалась одним основным нормальным распределением со средней амплитудой 0,4 мВ. Также наблюдалось относительно небольшое количество МПКП с более высокими амплитудами (рис. 3, а). По-видимому, это так называемые гигантские МПКП, отражающие одновременное освобождение ацетилхолина из нескольких везикул, а также результат случайной генерации одноквантовых ответов в участках, отличающихся

Однако мы наблюдали противоположный эффект — снижение электрогенной активности Na,K-АТФазы. Таким образом, можно полагать, что деполяризация мышечной мембраны у мышей mdx в значительной степени обусловлена нарушением функционирования Na,K-АТФазы, причины которого пока неизвестны.

После клеточной терапии у мышей mdx величина МПП достоверно ($p < 0,01$) возрастала до $-80,1 \pm 0,5$ мВ (10 мышц, 169 волокон), т.е. приближалась к уровню, характерному для контрольных мышей C57Bl/6 (рис. 1). При этом гистограмма распределения МПП оставалась нормальной (рис. 2, в). Таким образом, восстановление мышечного электрогенеза после клеточной терапии действительно является следствием повышения МПП индивидуальных волокон, а не искажением формы распределения МПП. Электрогенная активность Na,K-АТФазы возрастала незначительно: до $-13,9 \pm 0,8$ мВ (5 мышц), что не может быть основной причиной восстановления МПП после клеточной терапии (рис. 1).

Амплитудно-временные характеристики МПКП. Визуальный анализ показал, что МПКП у мышей mdx и мышей mdx после терапии по форме не отличаются от МПКП у контрольных мышей C57Bl/6. Средние значения амплитуды, времени нарастания и длительности полуспада МПКП у мышей mdx были достоверно ($p < 0,01$) меньше по сравнению с контролем соответственно на 20, 25 и 20% (таблица). После клеточной терапии наблюдалось возвращение амплитудно-временных характеристик МПКП к контрольным значениям (таблица).

Амплитудно-временные характеристики МПКП в диафрагмальной мышце трех групп мышей

Параметры МПКП	Контроль C57Bl/6	mdx	mdx + терапия
Амплитуда, мВ	0,61 ± 0,01	0,49 ± 0,01 *	0,67 ± 0,02#
Время нарастания, мс	0,59 ± 0,02	0,44 ± 0,01 *	0,56 ± 0,02#
Длительность полуспада, мс	1,14 ± 0,02	0,91 ± 0,01 *	1,05 ± 0,02#
Количество МПКП (число синапсов)	783 (17)	867 (18)	637 (13)

Примечание. * — $p < 0,01$ по сравнению с контролем; # — $p < 0,01$ по сравнению с линией mdx.

структурными неоднородностями (низкая плотность ацетилхолинэстеразы, повышенная плотность нХР), повышающими амплитуду МПКП [19].

У мышей mdx нельзя было выделить одного основного распределения амплитуд МПКП. Гистограмма имела хаотичную форму и наилучшим образом аппроксимировалась несколькими нормальными распределениями (рис. 3, б). Такой характер распределения отражает возрастание вариабельности амплитуд МПКП у мышей mdx, описанное ранее [15]. Предположительно, это является следствием дискретности зон генерации МПКП и вариабельности плотности нХР в этих зонах в индивидуальных синапсах, что соответствует декластеризации нХР и их пространственному перераспределению в виде островков в скелетных мышцах мышей mdx [2, 6, 15]. МПКП с высокими амплитудами (более 1 мВ) встречались у мышей mdx, в отличие от контроля, очень редко.

Гистограмма распределения амплитуд МПКП у мышей mdx после клеточной терапии наилучшим образом аппроксимировалась двумя нормальными распределениями и также существенно отличалась от контрольного распределения (рис. 3, в). Появлялись спонтанные ответы с амплитудами более 2 мВ (не показано).

Данные об амплитудно-временных характеристиках МПКП у мышей mdx противоречивы. По некоторым источникам наблюдается зависящее от возраста снижение амплитуды МПКП у мышей mdx, что связывают с изменением в плотности распределения и функционировании нХР [15, 20]. По другим данным амплитуда и временное течение миниатюрных токов

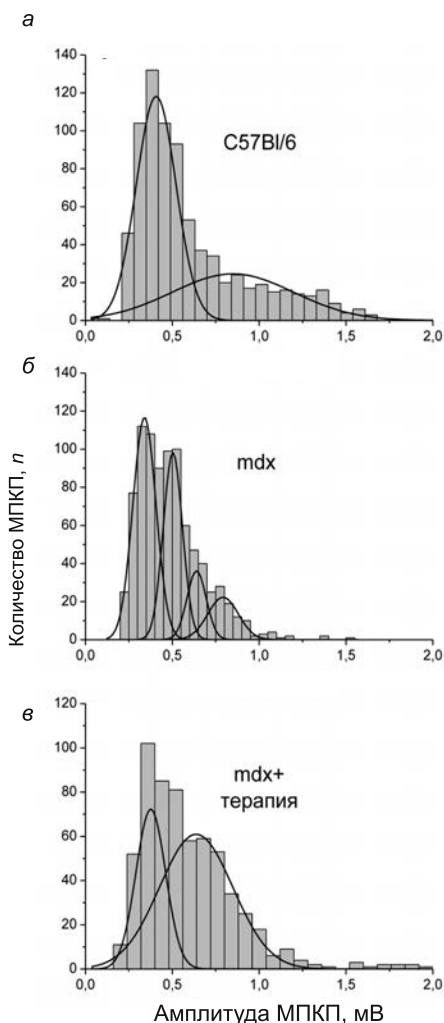


Рис. 3. Гистограммы распределения амплитуд МПКП в мышечных волокнах диафрагмы контрольных мышей C57Bl/6 (а), мышей mdx (б) и мышей mdx после клеточной терапии (в)

концевой пластинки (т. е. кинетика ионных каналов нХР), а также плотность распределения нХР в концевой пластинке у 8-месячных мышей mdx не отличаются от контроля [5]. В нашем исследовании наблюдалось относительно небольшое (на 20%) уменьшение средней амплитуды МПКП у 6-месячных мышей mdx, что может быть результатом деполяризации мембраны у этих животных. У мышей mdx наблюдалось также сравнительно небольшое (на 25 и 20%), но достоверное уменьшение времени нарастания и длительности полуспада МПКП (см. таблицу). Известно, что временные характеристики МПКП прямо зависят от емкостных свойств мембраны [11], а у мышей mdx наблюдается снижение удельной емкости мембраны мышечных волокон [18] прежде всего из-за повреждения сарколеммы вследствие дефицита дистрофина. Поэтому ускорение временного течения МПКП у мышей mdx в наших опытах скорее объясняется этим обстоятельством, нежели ускорением кинетики нХР. Важно, что применение клеточной терапии восстанавливало амплитудно-временные характеристики МПКП до контрольных значений, что может отражать восстановление нормальных характеристик сарколеммы у мышей mdx.

Механизмы наблюдаемых эффектов клеточной терапии до конца неясны и их обсуждение не входит в задачи нашей работы. Однако полученные данные уже сейчас свидетельствуют об эффективности примененного нами способа клеточной терапии в отношении восстановления электрогенеза скелетной мышцы при миодистрофии, обусловленной снижением синтеза белка дистрофина.

Литература

1. Partridge T.A. Models of dystrophinopathy, pathological mechanisms and assessment of therapies // *Dystrophin — a Gene, Protein and Cell Biology* / eds S.C. Brown, J.A. Lucy. Cambridge: Cambridge University Press, 1997. P.310–330.
2. Dystrophin and utrophin influence fiber type composition and post-synaptic membrane structure / Rafael J. A., Townsend E. R., Squire S. E., Potter A. C., Chamberlain J. S., Davies K. E. // *Hum. Mol. Genet.* 2000. Vol. 9, N 9. P. 1357–1367.
3. Galbiati F., Razani B., Lisanti M. P. Caveolae and caveolin-3 in muscular dystrophy // *Trends Mol. Med.* 2001. Vol. 7, N 10. P.435–441.
4. O'Brien K. F., Kunkel L. M. Dystrophin and muscular dystrophy: past, present, and future // *Mol. Genet. Metab.* 2001. Vol. 74, N 1–2. P.75–88.
5. Lyons P.R., Slater C. R. Structure and function of the neuromuscular junction in young adult mdx mice // *J. Neurocytol.* 1991. Vol. 20, N 12. P.969–981.
6. Increased expression of acetylcholine receptors in the diaphragm muscle of MDX mice / Ghedini P. C., Viel T. A., Honda L., Avellar M. C., Godinho R. O., Lima-Landman M. T., Lapa A. J., Souccar C. // *Muscle Nerve.* 2008. Vol. 38, N 6. P. 1585–1594.
7. Соколова А. В., Михайлов В. М. Трансплантация стволовых клеток костного мозга как способ лечения миодистрофии мышей mdx // *Цитология.* 2010. Т. 52, № 6. С. 506–507.
8. Hirn C., Shapovalov G., Petermann O., Roulet E., Ruegg U. T. Na_v1.4 deregulation in dystrophic skeletal muscle leads to Na⁺ overload and enhanced cell death // *J. Gen. Physiol.* 2008. Vol. 132, N 2. P. 199–208.
9. Allen D. G., Gervasio O. L., Yeung E. W., Whitehead N. P. Calcium and the damage pathways in muscular dystrophy // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2010. Vol. 88. P. 83–91.
10. Miles M. T., Cotter E., Cotter A., Stefanski C., Carlson C. G. Reduced resting potentials in dystrophic (mdx) muscle fibers are secondary to NF-κB-dependent negative modulation of ouabain sensitive Na⁺-K⁺ pump activity // *J. Neurosci.* 2011. Vol. 303, N 1–2. P. 53–60.
11. Wood S. J., Slater C. R. Safety factor at the neuromuscular junction // *Prog. Neurobiol.* 2001. Vol. 64, N 4. P. 393–429.
12. Соколова А. В., Зенин В. В., Михайлов В. М. Структура нейромышечных соединений и дифференцировка поперечно-полосатых мышечных волокон у мышей mdx после клеточной терапии стволовыми клетками костного мозга // *Цитология.* 2010. Т. 52, № 5. С. 399–406.

13. Non-myeloablative bone marrow stem cell transplantation for mdx mice myodystrophy therapy / Mikhailov V. M., Sokolova A. V., Kravtsova V. V., Zenin V. V., Kaminskaya E. V., Timonina N. A., Krivoi I. I. // *J. Cell. Sci. Ther.* 2012. Vol. 3: 122. doi:10.4172/2157-7013.1000122.
14. The nicotinic acetylcholine receptor and the Na,K-ATPase $\alpha 2$ isoform interact to regulate membrane electrogenesis in skeletal muscle / Heiny J. A., Kravtsova V. V., Mandel F., Radzyukevich T. L., Benziane B., Prokofiev A. V., Pedersen S. E., Chibalin A. V., Krivoi I. I. // *J. Biol. Chem.* 2010. Vol. 285, N 37. P. 28614–28626.
15. Carlson C. G., Roshek D. M. Adult dystrophic (mdx) endplates exhibit reduced quantal size and enhanced quantal variation // *Eur. J. Physiol.* 2001. Vol. 442. P. 369–375.
16. Anderson J. E. Myotube phospholipid synthesis and sarcolemmal ATPase activity in dystrophic (mdx) mouse muscle // *Biochem. Cell Biol.* 1991. Vol. 69. P. 835–841.
17. Dunn J. F., Burton K. A., Dauncey M. J. Ouabain sensitive Na^+/K^+ -ATPase content is elevated in mdx mice: implications for the regulation of ions in dystrophic muscle // *J. Neurol. Sci.* 1995. Vol. 133. P. 11–15.
18. Mechanical and electrophysiological properties of the sarcolemma of muscle fibers in two murine models of muscle dystrophy: Col6a1 $^{-/-}$ and mdx / Canato M., DalMaschio M., Sbrana F., Raiteri R., Reggiani C., Vassanelli S., Megighian A. // *J. Biomed. Biotech.* 2010. doi:10.1155/2010/981945.
19. Криво́й И. И. Токи концевой пластинки и некоторые другие характеристики нервно-мышечного синапса // *Усп. физиол. наук.* 1989. Т. 20, № 4. С. 42–58.
20. Nagel A., Lehmann-Horn F., Engel A. G. Neuromuscular transmission in the mdx mouse // *Muscle Nerve.* 1990. Vol. 13, N 8. P. 742–749.

References

1. Partridge T. A. Models of dystrophinopathy, pathological mechanisms and assessment of therapies. *Dystrophin — a Gene, Protein and Cell Biology*. Eds S. C. Brown, J. A. Lucy. Cambridge, Cambridge University Press, 1997, pp. 310–330.
2. Rafael J. A., Townsend E. R., Squire S. E., Potter A. C., Chamberlain J. S., Davies K. E. Dystrophin and utrophin influence fiber type composition and post-synaptic membrane structure. *Hum. Mol. Genet.*, 2000, vol. 9, no. 9, pp. 1357–1367.
3. Galbiati F., Razani B., Lisanti M. P. Caveolae and caveolin-3 in muscular dystrophy. *Trends Mol. Med.*, 2001, vol. 7, no. 10, pp. 435–441.
4. O'Brien K. F., Kunkel L. M. Dystrophin and muscular dystrophy: past, present, and future. *Mol. Genet. Metab.*, 2001, vol. 74, no. 1–2, pp. 75–88.
5. Lyons P. R., Slater C. R. Structure and function of the neuromuscular junction in young adult mdx mice. *J. Neurocytol.*, 1991, vol. 20, no. 12, pp. 969–981.
6. Ghedin P. C., Viel T. A., Honda L., Avellar M. C., Godinho R. O., Lima-Landman M. T., Lapa A. J., Souccar C. Increased expression of acetylcholine receptors in the diaphragm muscle of MDX mice. *Muscle Nerve*, 2008, vol. 38, no. 6, pp. 1585–1594.
7. Sokolova A. V., Mikhailov V. M. Transplantatsiya stvolovykh kletok kostnogo mozga kak sposob lecheniya miodistrofii myshei mdx [Transplantation of bone marrow stem cells as a way to treat muscular dystrophy mice mdx]. *Tsitologiya [Cytology]*, 2010, vol. 52, no. 6, pp. 506–507. (In Russian)
8. Hirn C., Shapovalov G., Petermann O., Roulet E., Ruegg U. T. $\text{Na}_v1.4$ deregulation in dystrophic skeletal muscle leads to Na^+ overload and enhanced cell death. *J. Gen. Physiol.*, 2008, vol. 132, no. 2, pp. 199–208.
9. Allen D. G., Gervasio O. L., Yeung E. W., Whitehead N. P. Calcium and the damage pathways in muscular dystrophy. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 2010, vol. 88, pp. 83–91.
10. Miles M. T., Cottey E., Cottey A., Stefanski C., Carlson C. G. Reduced resting potentials in dystrophic (mdx) muscle fibers are secondary to NF- κ B-dependent negative modulation of ouabain sensitive Na^+ - K^+ pump activity. *J. Neurosci.*, 2011, vol. 303, no. 1–2, pp. 53–60.
11. Wood S. J., Slater C. R. Safety factor at the neuromuscular junction. *Prog. Neurobiol.*, 2001, vol. 64, no. 4, pp. 393–429.
12. Sokolova A. V., Zenin V. V., Mikhailov V. M. Struktura nejromyshechnykh soedinenij i differencirovka poperechno-polosatykh myshechnykh volokon u myshei mdx posle kletочноj terapii stvolovymi kletkami kostnogo mozga [Structure of neuromuscular junctions and differentiation of striated muscle fibers of mdx mice after bone marrow stem cells therapy]. *Tsitologiya [Cytology]*, 2010, vol. 52, no. 5, pp. 399–406. (In Russian)
13. Mikhailov V. M., Sokolova A. V., Kravtsova V. V., Zenin V. V., Kaminskaya E. V., Timonina N. A., Krivoi I. I. Non-myeloablative bone marrow stem cell transplantation for mdx mice myodystrophy therapy. *J. Cell. Sci. Ther.*, 2012, vol. 3: 122, doi:10.4172/2157-7013.1000122.

14. Heiny J. A., Kravtsova V. V., Mandel F., Radzyukevich T. L., Benziane B., Prokofiev A. V., Pedersen S. E., Chibalin A. V., Krivoi I. I. The nicotinic acetylcholine receptor and the Na,K-ATPase $\alpha 2$ isoform interact to regulate membrane electrogenesis in skeletal muscle. *J. Biol. Chem.*, 2010, vol. 285, no. 37, pp. 28614–28626.
15. Carlson C. G., Roshek D. M. Adult dystrophic (mdx) endplates exhibit reduced quantal size and enhanced quantal variation. *Eur. J. Physiol.*, 2001, vol. 442, pp. 369–375.
16. Anderson J. E. Myotube phospholipid synthesis and sarcolemmal ATPase activity in dystrophic (mdx) mouse muscle. *Biochem. Cell Biol.*, 1991, vol. 69, pp. 835–841.
17. Dunn J. F., Burton K. A., Dauncey M. J. Ouabain sensitive Na^+/K^+ -ATPase content is elevated in mdx mice: implications for the regulation of ions in dystrophic muscle. *J. Neurol. Sci.*, 1995, vol. 133, pp. 11–15.
18. Canato M., DalMaschio M., Sbrana F., Raiteri R., Reggiani C., Vassanelli S., Megighian A. Mechanical and electrophysiological properties of the sarcolemma of muscle fibers in two murine models of muscle dystrophy: Col6a1 $^{-/-}$ and mdx. *J. Biomed. Biotech.*, 2010, doi:10.1155/2010/981945.
19. Krivoi I. I. Toki koncevoj plastinki i nekotorye drugie harakteristiki nervno-myshechnogo sinapsa [End-plate currents and characteristics of the neuromuscular synapse]. *Usp. Fiziol. Nauk [Progress in Physiological Sciences]*, 1989, vol. 20, no. 4, pp. 42–58. (In Russian)
20. Nagel A., Lehmann-Horn F., Engel A. G. Neuromuscular transmission in the mdx mouse. *Muscle Nerve*, 1990, vol. 13, no. 8, pp. 742–749.

Статья поступила в редакцию 2 марта, принята в печать 16 июня 2015 г.

Сведения об авторах:

Тимонина Наталья Александровна — магистр биологии, инженер

Кравцова Виолетта Васильевна — кандидат биологических наук, доцент

Михайлова Елена Викторовна — магистр биологии, младший научный сотрудник

Соколова Анастасия Владимировна — кандидат биологических наук, младший научный сотрудник

Михайлов Вячеслав Михайлович — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник

Кривой Игорь Ильич — доктор биологических наук, профессор

Timonina Natalya A. — Master of Biology

Kravtsova Violetta V. — Ph.D., Associate Professor

Mikhailova Elena V. — Master of Biology, Junior Researcher

Sokolova Anastasia V. — Ph.D., Junior Researcher

Mikhailov Vyacheslav M. — Doctor of Biology, Lead researcher

Krivoi Igor I. — Doctor of Biology, Professor