УДК 616-092

Аврущенко М.Ш.[1], Острова И.В.[1], Заржецкий Ю.В.[1],
Мороз В.В.[1], Гудашева Т.А.[2], Середенин С.Б.[2]

Влияние миметика фактора роста нервов ГК-2 на постреанимационную экспрессию нейротрофических факторов

[1] — ФГБНУ НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского РАН, 107031, Москва, ул. Петровка, д.25, стр. 2
[2] — ФГБНУ НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

Цель работы — *оценка влияния миметика фактора роста нервов ГК-2 на уровень экспрессии нейротрофических факторов и процесс гибели нейронов в постреанимационном периоде после остановки сердца у крыс.* **Методика.** *У половозрелых белых крыс-самцов вызывали остановку сердца на 12 минут с последующей реанимацией. 10 крысам вводили ГК-2 (1мг/кг в/б) через 30 мин и 48 ч после оживления. 10 нелеченых животных в те же сроки получали эквивалентные дозы физиологического раствора. Контролем служили ложноперированные крысы (n = 10). На 7-е сутки постреанимационного периода методом морфометрического анализа определяли плотность высокочувствительной к гипоксии популяции клеток Пуркинье мозжечка. Иммуногистохимическое исследование экспрессии белков FGFb, NT4, BDNF проводили непрямым пероксидазно-антипероксидазным методом с использованием первичных поликлональных антител. Определяли число нейронов с разным уровнем экспрессии изучаемых нейротрофических факторов.* **Результаты и обсуждение.** *В постреанимационном периоде у нелеченых животных была выявлена гибель нейронов, которой подвергались NT4-негативные, FGFb-негативные и BDNF-негативные клетки. ГК-2 не влиял на уровень экспрессии FGFb и NT4, однако способствовал увеличению уровня экспрессии BDNF. Инициируя экспрессию BDNF в клетках, ранее не вырабатывающих этот фактор, ГК-2 предупреждал развитие постреанимационной гибели нейронов. Полученные в работе факты позволяют заключить, что одним из механизмов нейропротективного действия миметика фактора роста нервов ГК-2 является его способность активизировать экспрессию BDNF в нервных клетках.*

Ключевые слова: *миметик фактора роста нервов ГК-2; постреанимационный период; гибель нейронов; NT4; BDNF; FGFb; клетки Пуркинье мозжечка*

Avrushchenko M.Sh.[1], Ostrova I.V.[1], Zarzhetsky Yu.V.[1],
Moroz V.V.[1], Gudasheva T.A.[2], Seredenin S.B.[2]

Effect of the nerve growth factor mimetic GK-2 on post-resuscitation expression of neurotrophic factors

[1] — V.A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, 107031 Moscow, Petrovka str., 25, bld.2
[2] — V.V. Zakusov Research Institute of Pharmacology, 125315 Moscow, Baltiyskaya str., 8.

The objective: *to elucidate an influence of nerve growth factor mimetic GK-2 on the expression of neurotrophic factors and the process of neuronal death after ischemia-reperfusion.* **Materials and methods.** *Adult white male rats underwent cardiac arrest for 12 minutes, followed by resuscitation. 10 rats were injected GK-2 (1mg/kg i/p) at 30 minutes and 48 hours after resuscitation. 10 untreated animals received equivalent doses of saline. The control group consisted of sham-operated animals (n = 10). On the 7th postoperative day the total density of hypoxia-sensitive cerebellar Purkinje cells was determined by morphometric analysis. Immunohistochemical study of proteins FGFb, NT4, BDNF was performed by indirect peroxidase-antiperoxidase method using primary polyclonal antibodies. The number of neurons with different expression levels of the neurotrophic factors was determined.* **Results.** *In the post-resuscitation period the neuronal loss was detected in untreated animals. Namely NT4-negative, FGFb-negative and BDNF-negative cells died. GK-2 had no effect on the expression level of FGFb and NT4, however, promoted an increase in the expression level of BDNF. Initiating the expression of BDNF in neurons that were not previously producing this factor, GK-2 prevents the development of post-resuscitation neuronal death. Obtained facts lead to the conclusion that one of the mechanisms of neuroprotective action of nerve growth factor mimetic GK-2 is its ability to activate the expression of BDNF in nerve cells.*

Key words: *nerve growth factor mimetic GK-2; post-resuscitation period; neuronal loss; NT4; BDNF; FGFb; Purkinje cells of the cerebellum*

Для корреспонденции: *Аврущенко Мария Шапсаевна*, д.биол.н., вед. науч. сотр. лаб. патологии клетки при критических состояниях ФГБНУ «НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского», e-mail: maria_avr@mail.ru

Фактор роста нервов (nerve growth factor — NGF) является представителем семейства нейротрофинов — белков, принимающих участие в регуляции процессов пролиферации и дифференцировки нейронов, в поддержании их биохимического и морфологического фенотипа, а также в процессах распознавания и формирования памяти [1, 2]. Известно, что NGF участвует в защите мозга при ишемии [3—6]. Вместе с тем, NGF обладает слабой способностью проникать через гематоэнцефалический барьер, а также серьезными побочными эффектами, основные из которых гипералгезия и катастрофическая потеря веса. Это обусловило необходимость разработки системно-активных низкомолекулярных миметиков NGF, которые воспроизводили бы его терапевтические эффекты, не обладая побочным действием. В НИИ фармакологии им. В.В. Закусова был синтезирован димерный дипептидный миметик 4-й петли NGF, получивший шифр ГК-2 [7]. ГК-2 малотоксичен и лишен основных побочных эффектов NGF [8, 9]. Показана способность ГК-2 *in vitro* защищать нейроны при окислительном стрессе, воздействии глутамата и нейротоксинов [10], а также *in vivo* при моделировании болезни Паркинсона [11]. Выявлены положительные эффекты применения ГК-2 и при очаговой ишемии мозга [12, 13]. Установлено, что нейропротективная активность ГК-2 связана с активацией TrkA рецепторов и Akt-сигнального пути [8]. Ранее нами были получены прямые доказательства нейропротективного действия ГК-2 в постреанимационном периоде после временной остановки сердца [14, 15]. Установлено, что применение ГК-2 существенно снижало выраженность процессов дистрофического изменения и гибели нейронов даже в высокочувствительных к гипоксии нейрональных популяциях (пирамидные нейроны секторов CA1 и CA4 гиппокампа, клетки Пуркинье мозжечка). Существенно, что улучшение состояния нейрональных популяций с помощью ГК-2 сопровождалось ускорением восстановления неврологического статуса реанимированных животных. Полученные результаты свидетельствуют о положительном воздействии ГК-2 на структурно-функциональное состояние мозга при ишемии-реперфузии, однако механизмы его нейропротективного действия изучены недостаточно.

Известно, что нейротрофины способны влиять на экспрессию других нейротрофинов, участвуя в ее регуляции [16, 17]. Это дало основание предположить, что позитивные эффекты ГК-2 могут быть связаны с его влиянием на экспрессию других представителей семейства нейротрофинов — мозгового нейротрофического фактора (BDNF) и нейротрофина-4 (NT4), характеризующихся нейропротективными свойствами. Представляло также интерес оценить влияние ГК-2 на уровень основного фактора роста фибробластов (FGFb) , экспрессию которого NGF может активировать [18]. Ключевые функции FGFb в нервной системе сходны с нейротрофинами [19, 20]. Установлено, что применение экзогенного bFGF защищает нейроны при очаговой ишемии мозга [21—23].

Целью настоящей работы было оценить, какое влияние оказывает ГК-2 на уровень экспрессии FGFb, NT4, BDNF и процесс гибели нейронов в постреанимационном периоде после временной остановки сердца у крыс.

Методика

У 20 белых беспородных крыс самцов массой 190—250 г под эфирным наркозом вызывали остановку сердца на 12 мин путем внутриторакального пережатия сосудистого пучка сердца [24]. Оживление проводили непрямым массажем сердца в сочетании с искусственной вентиляцией легких воздухом при внутритрахеальном введении раствора адреналина в дозе 0,1 мг/кг. 10 крысам вводили ГК-2 (1 мг/кг в/б) через 30 мин и 48 ч после оживления. 10 нелеченых животных в те же сроки получали эквивалентные дозы физиологического раствора. Контролем служили ложноперированные крысы (n = 10). Через 7 дней после реанимации животных выводили из эксперимента декапитацией под эфирным наркозом. Эксперименты проводились согласно рекомендациям Этического комитета ФГБНУ НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ Минздрава СССР №755 от 12.08.1977).

С помощью гистологических и иммуногистохимических исследований оценивали постреанимационные изменения состояния высокочувствительной к гипоксии популяции клеток Пуркинье (КП) коры мозжечка. Гистологический анализ проводили на парафиновых срезах толщиной 5—6 мкм, окрашенных крезиловым фиолетовым по Нисслю. Определяли общую плотность нейрональной популяции (общее число КП на 1 мм длины их слоя). Иммуноцитохимические исследования проводили непрямым пероксидазно-антипероксидазным методом с использованием поликлональных антител к FGFb (разведение 1:200), к NT4 (разведение 1:100) и к BDNF (разведение 1:50) (Santa Cruz, USA) с использованием визуализирующих систем EnVision^{TM+}Kit и LSAB (DAKO, Glostrup, Denmark). Иммуноцитохимическая реакция контролировалась инкубацией срезов со всеми реагентами кроме первичных антител. При иммуногистохимическом исследовании для каждого фактора выделяли негативные (FGFb-,

NT4-, BDNF-) и позитивные нейроны с различным уровнем экспрессии — слабым ($FGFb^{+}$, $NT4^{+}$, $BDNF^{+}$) и интенсивным ($FGFb^{++}$, $NT4^{++}$, $BDNF^{++}$). Определяли число нейронов с разным уровнем экспрессии изучаемых нейротрофических факторов на 1 мм длины их слоя. При морфометрических исследованиях использовали систему анализа изображений (компьютер Intel, микроскоп Olympus BX-500, программы Image Scope M, Excel 2007). Статистическую обработку данных проводили с использованием U-критерия Манна—Уитни.

Результаты и обсуждение

При гистологическом исследовании установлено, что у нелеченых реанимированных животных в сравнении с контролем общее число КП снижено на 13,2% (рис. 1), что свидетельствует о гибели нейронов. У реанимированных животных, леченных ГК-2, общее число КП не имело достоверных отличий от контроля. При этом у леченых животных в сравнении с нелеченными общее число КП было больше (рис. 1).

Следовательно, применение ГК-2 позволило предупредить гибель КП в постреанимационном периоде. Эти данные согласуются с полученными нами ранее результатами, свидетельствующими о нейропротективных свойствах ГК-2 [14, 15].

Иммуногистохимическое исследование уровня экспрессии FGFb показало, что у нелеченых реанимированных крыс в сравнении с контролем число $FGFb^{-}$ КП снижено на 68,8% (рис. 1). Общее число FGFb-позитивных клеток не отличалось от контрольного уровня, однако число $FGFb^{+}$ КП было уменьшено (на 26,0%), а число $FGFb^{++}$ КП увеличено (на 40,7%) (рис. 1). У леченных ГК-2 реанимированных крыс число $FGFb^{-}$ КП соответствовало контрольному

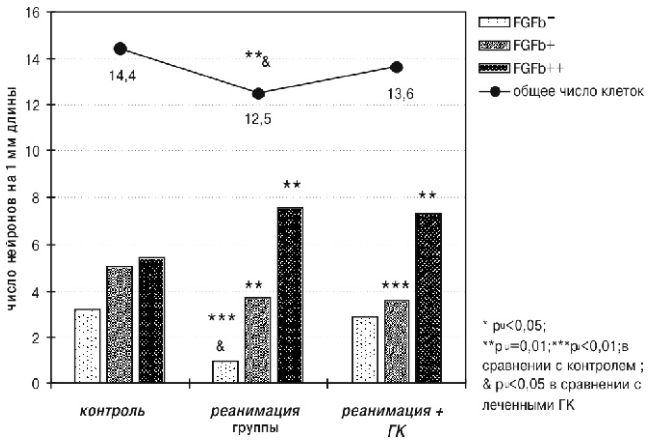

Рис. 1. Общая плотность популяции клеток Пуркинье и число нейронов с разным уровнем экспрессии FGFb у животных различных экспериментальных групп.

уровню. Общее число FGFb-позитивных клеток не отличалось от контроля, однако число $FGFb^{+}$ КП было уменьшено (на 28,0%), а число $FGFb^{++}$ КП — увеличено (на 35,2%) (рис. 1). Полученные данные свидетельствуют о том, что как у леченых, так и у нелеченых животных в постреанимационном периоде происходит резкое увеличение числа $FGFb^{++}$ нейронов. Учитывая, что при этом общее число FGFb-позитивных нейронов не изменялось, можно заключить, что в обеих исследованных группах реанимированных животных происходит «переход» слабо экспрессирующих $FGFb^{+}$ клеток в категорию сильно экспрессирующих ($FGFb^{++}$), вследствие чего уровень экспрессии у FGFb в популяции КП возрастал. Существенно, что у нелеченых животных число $FGFb^{-}$ КП было на 65,5% меньше, чем у леченых, в то время как по числу FGFb-позитивных клеток, как слабо-, так и сильноокрашенных, различий между леченными и нелеченными животными не обнаружено. Эти данные позволяют заключить, что у нелеченых реанимированных животных при выпадении КП в постреанимационном периоде гибели подвергаются FGFb-негативные, т.е. не экспрессирующие этот фактор нейроны. Следовательно, способность нейронов к экспрессии FGFb является важным фактором их устойчивости при ишемии-реперфузии. На это указывают и сведения о том, что после временной ишемии переднего мозга снижение экспрессии FGFb в пирамидных нейронах сектора CA1 гиппокампа приводило к их гибели [23]. Показано также, что экзогенное введение FGFb улучшает структурно-функциональное состояние мозга после ишемии [25, 26, 22]. Позитивные эффекты FGFb связывают с его способностью ингибировать активность провоспалительных факторов [27], а также усиливать нейрогенез стволовых клеток после ишемии [25, 28]. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что ишемия-реперфузия существенно влияет на уровень экспрессии FGFb, вызывая его активацию в популяции КП у реанимированных животных обеих экспериментальных групп. Развивающаяся в постреанимационном периоде гибель клеток, выявленная при гистологическом анализе у нелеченых животных, связана с потерей FGFb-негативных нейронов. Применение ГК предупреждало развитие процесса постреанимационной гибели FGFb-негативных КП, однако не влияло на уровень экспрессии FGFb.

Иммуногистохимическое исследование уровня экспрессии NT4 показало, что у нелеченых реанимированных крыс в сравнении с контролем число $NT4^{-}$ КП снижено на 37,5%, а число $NT4^{+}$ и $NT4^{++}$ КП соответствовало контрольному уровню (рис. 2). У леченных ГК-2 реанимированных крыс число $NT4^{-}$, $NT4^{+}$ и $NT4^{++}$ КП не отличалось от контроля (рис. 2). При этом у леченых животных в сравнении

с нелеченными число NT4-негативных КП было больше, а по числу $NT4^+$ и $NT4^{++}$ КП группы реанимированных животных не различались (рис. 2).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что развивающаяся после ишемии-реперфузии гибель клеток, выявленная при гистологическом анализе у нелеченых животных, связана с потерей NT4-негативных нейронов. Применение ГК-2 позволило предупредить развитие процесса постреанимационной гибели NT4-негативных КП, однако не влияло на уровень экспрессии NT4. В отношении постишемических изменений уровня экспрессии NT4 сведений крайне мало. При этом отмечается, что BDNF — близкий к NT4 и также действующий через тирозинкиназные рецепторы TrkB — характеризуется значительно более мощными нейропротективными свойствами [29, 30].

Иммуногистохимическое исследование уровня экспрессии BDNF показало, что у нелеченых реанимированных крыс в сравнении с контролем число $BDNF^-$ КП было снижено на 55,2%, а число $BDNF^+$ и $BDNF^{++}$ КП не имело отличий от контроля (рис. 3). У леченных ГК-2 реанимированных крыс в сравнении с контролем число $BDNF^-$ КП также было снижено на 52,6%. Однако при этом общее число BDNF-позитивных нейронов возрастало (на 14,3%, $\rho_u < 0,05$) за счет увеличения числа $BDNF^{++}$ КП (на 21,6%) (рис. 3). Существенно, что у леченых крыс в сравнении с нелеченными было увеличено и общее число BDNF-позитивных КП (на 15,6%), и число $BDNF^{++}$ КП (на 18,4%) (рис. 3).

Полученные данные свидетельствуют о том, что уменьшение общей плотности популяции КП, выявленное при гистологическом анализе у нелеченых реанимированных крыс, происходит вследствие потери $BDNF^-$ нейронов. В противоположность этому, у леченых ГК-2 реанимированных крыс снижение числа BDNF-негативных КП было связано не с их гибелью, а с переходом в категорию BDNF-позитивных, причем активно экспрессирующих BDNF ($BDNF^{++}$) нейронов. Следовательно, применение ГК-2 способствовало предупреждению постреанимационной гибели нейронов, «запуская» экспрессию BDNF в клетках, ранее не вырабатывающих этот фактор. Нейропротективные свойства BDNF показаны на различных экспериментальных моделях ишемии [31, 32]. Защитное действие BDNF связывают с его антиапоптотическими, противовоспалительными, а также антицитотоксическими свойствами [31, 33—35]. Интересно, что эффективность различных воздействий, способствующих уменьшению повреждения мозга при ишемии (гипотермия, гипербарическая оксигенация, ишемическое прекондиционирование, трансплантация микроглии, введение прогестерона, двигательная активность) связывают с активацией экспрессии BDNF [3, 36—41].

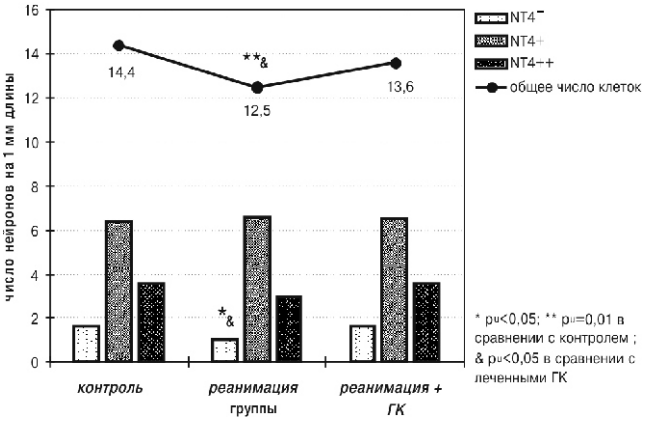

Рис. 2. Общая плотность популяции клеток Пуркинье и число нейронов с разным уровнем экспрессии NT4 у животных различных экспериментальных групп.

Заключение

В целом, результаты настоящей работы свидетельствуют о том, что в постреанимационном периоде у нелеченых животных происходит гибель нейронов, которой подвергаются NT4-негативные, FGFb-негативные и BDNF-негативные клетки. Применение ГК-2 не влияло на уровень экспрессии FGFb и NT4, однако способствовало увеличению уровня экспрессии BDNF. Инициируя экспрессию BDNF в клетках, ранее не вырабатывающих этот фактор, ГК-2 предупреждал развитие постреанимационной гибели нейронов. Полученные в работе факты позволяют заключить, что, по крайней мере, одним из механизмов нейропротективного действия миметика фактора роста нервов ГК-2 является его способность активизировать экспрессию BDNF в нервных клетках.

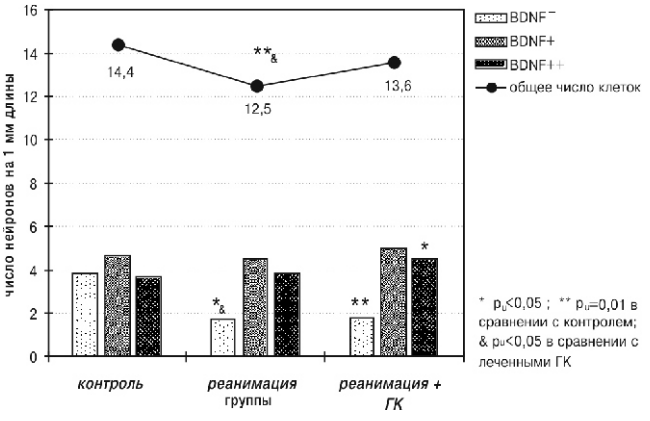

Рис. 3. Общая плотность популяции клеток Пуркинье и число нейронов с разным уровнем экспрессии BDNF у животных различных экспериментальных групп.

Список литературы

1. Bothwell M. NGF, BDNF, NT3, and NT4. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2014; 220: 3-15.

2. Callaghan C.K., Kelly A.M. Neurotrophins play differential roles in short and long-term recognition memory. *Neurobiol. Learn. Mem.* 2013; 104: 39-48.

3. Lee T., Yang J., Ko J., Kato H., Itouama Y., Kogure K. Influence of ischemic preconditioning on levels of nerve growth factor, Brain -derived neurotrophic factor and their high-affinity receptors in hippocampus following forebrain ischemia. *Brain res.* 2008; 2 (1187): 1-11.

4. Matsuda F., Sakakima H., Yoshida Y. The effects of early exercise on brain damage and recovery after focal cerebral infarction in rats. *Acta Physiol. (Oxf.).* 2011; 201(2): 275-287.

5. Yang J.P., Liu H.J., Yang H., Feng P.Y. Therapeutic time window for the neuroprotective effects of NGF when administered after focal cerebral ischemia. *Neurol. Sci.* 2011; 32(3): 433-41.

6. Yin X., Meng F., Wei W., Li A., Wang Y., Chai Y. et al. Role of mouse nerve growth factor in neural recovery following hypoxic-ischemic brain damage. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2013; 6(10): 951-5.

7. Гудашева Т.А., Антипова Т.А., Середенин С.Б. Новые низкомолекулярные миметики фактора роста нервов. *Доклады Академии наук.* 2010; 434(4): 549-52.

8. Гудашева Т. А., Антипова Т. А., Константинопольский М. А., Поварнина П.Ю., Середенин С.Б. Оригинальный дипептидный миметик фактора роста нервов ГК-2 избирательно активирует пострецепторные пути TrkA, не вызывая побочных действий полноразмерного нейротрофина. *Доклады Академии наук.* 2014; 456(2): 231-5.

9. Поварнина П.Ю., Озерова И.В., Островская Р.У., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Антидиабетическая активность оригинального дипептидного миметика фактора роста нервов. *Докл. Академии наук.* 2013; 449(3): 364-6.

10. Антипова Т.А., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Исследование in vitro нейропротективных свойств нового оригинального миметика фактора роста нервов ГК-2. *Бюлл экспер. биол. и мед.* 2010; 150(11): 537-40.

11. Поварнина П.Ю., Гудашева Т.А., Воронцова О.Н., Бондаренко Н.А., Середенин С.Б. Антипаркинсонические свойства дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 в экспериментах in vivo. *Бюлл. экспер. биол. и мед.* 2011; 151(6): 634-7.

12. Середенин С.Б., Романова Г.А., Гудашева Т.А., Шакова Ф.М., Барсков И.В., Стельмашук Е.В. и др. Нейропротективное и антиамнестическое действие дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 при экспериментальном ишемическом инфаркте коры головного мозга. *Бюлл. экспер. биол. и мед.* 2010; 150(10): 406-9.

13. Середенин С.Б., Силачев Д.Н., Гудашева Т.А., Пирогов Ю.А., Исаев Н.К. Исследование нейропротекторного действия дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 при индуцированной экспериментальной фокальной ишемии в бассейне средней мозговой артерии. *Бюлл. экспер. биол. и мед.* 2011; 151(5): 518-21.

14. Аврущенко М.Ш., Заржецкий Ю.В., Мороз В.В., Острова И.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Влияние миметика фактора роста нервов ГК-2 на структурно-функциональное состояние мозга в раннем постреанимационном периоде. *Общая реаниматология.* 2012; 8(5): 19-23.

15. Заржецкий Ю.В., Аврущенко М.Ш., Мороз В.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Эффективность миметика фактора роста нервов ГК-2 для предупреждения постреанимационных изменений мозга. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2015; 159(4): 442-5.

16. Patz S., Wahle P. Neurotrophins induce short-term and long-term changes of cortical neurotrophin expression. *Eur. J. Neurosci.* 2004; 20(3): 701-8.

17. Kuo L.T., Groves M.J., Scaravilli F., Sugden D., An S.F. Neurotrophin-3 administration alters neurotrophin, neurotrophin receptor and nestin mRNA expression in rat dorsal root ganglia following axotomy. *Neuroscience.* 2007; 147(2): 491-507.

18. Lee Y.W., Stachowiak E.K., Birkaya B., Terranova C., Capacchietti M., Claus P. et al. NGF-induced cell differentiation and gene activation is mediated by integrative nuclear FGFR1 signaling (INFS). *PLoS One.* 2013; 8(7): e68931.

19. Rose K., Kriha D., Pallast S., Junker V, Klumpp S, Krieglstein J. Basic fibroblast growth factor: lysine 134 is essential for its neuroprotective activity. *Neurochem. Int.* 2007; 51(1): 25-31.

20. Zechel S., Werner S., Unsicker K., von Bohlen und Halbach O. Expression and functions of fibroblast growth factor 2 (FGF-2) in hippocampal formation. *Neuroscientist.* 2010; 16(4): 357-73.

21. Martinez G., Di Giacomo C., Sorrenti V., Carnazza M.L., Ragusa N., Barcellona M.L., Vanella A. Fibroblast growth factor-2 and transforming growth factor-beta1 immunostaining in rat brain after cerebral postischemic reperfusion. *J. Neurosci. Res.* 2001; 63(2): 136-42.

22. Ye J., Lin H., Mu J., Cui X., Ying H., Lin M. et al. Effect of basic fibroblast growth factor on hippocampal cholinergic neurons in a rodent model of ischaemic encephalopathy. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2010; 107(6): 931-9.

23. Okada T., Kataoka Y., Takeshita A., Mino M., Morioka H., Kusakabe K.T. et al. Effects of transient forebrain ischemia on the hippocampus of the Mongolian gerbil (Meriones unguiculatus): an immunohistochemical study. *Zoolog. Sci.* 2013; 30(6): 484-9.

24. Корпачев В.Г., Лысенков С.П., Тель Л.З. Моделирование клинической смерти и постреанимационной болезни у крыс. *Патол. физиол. и экспер. терапия.* 1982; 3: 78-80.

25. Leker R.R., Soldner F., Velasco I., Gavin D.K., Androutsellis-Theotokis A., McKay R.D. Long-lasting regeneration after ischemia in the cerebral cortex. *Stroke.* 2007; 38(1): 153-61.

26. Watanabe T., Okuda Y., Nonoguchi N., Zhao M.Z., Kajimoto Y., Furutama D. et al. Postischemic intraventricular administration of FGF-2 expressing adenoviral vectors improves neurologic outcome and reduces infarct volume after transient focal cerebral ischemia in rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2004; 24(11): 1205-13.

27. Zhang M., Ma Y.F., Gan J.X. Jiang G.Y., Xu S.X., Tao X.L. et al. Basic fibroblast growth factor alleviates brain injury following global ischemia reperfusion in rabbits. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 2005; 6(7): 637-43.

28. Wang Z.L., Cheng S.M., Ma M.M., Ma Y.P., Yang J.P., Xu G.L. et al. Intranasally delivered bFGF enhances neurogenesis in adult rats following cerebral ischemia. *Neurosci. Lett.* 2008; 446(1): 30-5.

29. Chung J.Y., Kim M.W., Bang M.S., Kim M. Increased expression of neurotrophin 4 following focal cerebral ischemia in adult rat brain with treadmill exercise. *PLoS One.* 2013; 8(3): e52461.

30. Endres M., Fan G., Hirt L., Jaenisch R. Stroke damage in mice after knocking the neutrophin-4 gene into the brain-derived neurotrophic factor locus. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2003; 23(2): 150-3.

31. Chen A., Xiong L.-J., Tong Y., Mao M. The neuroprotective roles of BDNF in hypoxic ischemic brain injury (Review). *Biomedical reports.* 2013; 1: 167-76.

32. Geral C., Angelova A, Lesieur S. From Molecular to Nanotechnology Strategies for Delivery of Neurotrophins: Emphasis on Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF). *Pharmaceutics.* 2013; 5: 127-67.

33. Huang L., Applegate P.M., Gatling J.W., Mangus D.B., Zhang J. and Applegate R.L. A systematic review of neuroprotective strategies after cardiac arrest: from bench to bedside (part II-comprehensive protection). *Medical Gas Research.* 2014; 4: 10.

34. Kim D.H., Zhao X., Tu C.H., Casaccia-Bonnefil P., Chao M.V. Prevention of apoptotic but not necrotic cell death following neuronal injury by neurotrophins signaling through the tyrosine kinase receptor. *J. Neurosurg.* 2004; 100 (1): 79-87.

35. Liu Z., Ma D., Feng G., Ma Y. and Hu H. Recombinant AAV-mediated expression of human BDNF protects neurons against cell apoptosis in Abeta-induced neuronal damage model. *J. Huazhong Univ. Sci. Technolog. Med. Sci.* 2007; 27: 233-6.

36. D'Cruz B.J., Fertig K.C., Filiano A.J., Hicks S.D., DeFranco D.B., Callaway C.W. Hypothermic reperfusion after cardiac arrest augments brain-derived neurotrophic factor activation. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2002; 22 (7): 843-51.

37. Ishrat T., Sayeed I., Atif F., Hua F., Stein D.G. Progesterone is neuroprotective against ischemic brain injury through its effects on the PI3K/Akt signaling pathway. *Neuroscience.* 2012; 210: 442-50.

38. Kim G., Kim E. The Effects of antecedent exercise on motor function recovery and brain-derived neurotrophic factor expression after focal cerebral ischemia in rats. *J. Phys. Ther. Sci.* 2013; 25: 553-6.

39. Narantuya D., Nagai A., Sheikh A.M., Masuda J., Kobayashi S., Yamaguchi S. et al. Human microglia transplanted in rat focal ischemia brain induce neuroprotection and behavioral improvement. *PLoS One.* 2010; 5(7): e11746.

40. Ostrowski R.P., Graupner G., Titova E., Zhang J., Dach N., Corleone D. et al. The hyperbaric oxygen preconditioning-induced brain is mediated by a reduction of early apoptosis after transient cerebral ischemia. *Neurobiol. Dis.* 2008: 29(1): 1-13.

41. Singh M., Su C. Progesterone-induced neuroprotection: factors that may predict therapeutic efficacy. *Brain Res.* 2013; 1514: 98-106.

Поступила 18.05.15

References

1. Bothwell M. NGF, BDNF, NT3, and NT4. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2014; 220: 3-15.

2. Callaghan C.K., Kelly A.M. Neurotrophins play differential roles in short and long-term recognition memory. *Neurobiol. Learn. Mem.* 2013; 104: 39-48.

3. Lee T., Yang J., Ko J., Kato H., Itouama Y., Kogure K. Influence of ischemic preconditioning on levels of nerve growth factor, Brain -derived neurotrophic factor and their high-affinity receptors in hippocampus following forebrain ischemia. *Brain res.* 2008; 2 (1187): 1-11.

4. Matsuda F., Sakakima H., Yoshida Y. The effects of early exercise on brain damage and recovery after focal cerebral infarction in rats. *Acta Physiol. (Oxf.).* 2011; 201(2): 275-87.

5. Yang J.P., Liu H.J., Yang H., Feng P.Y. Therapeutic time window for the neuroprotective effects of NGF when administered after focal cerebral ischemia. *Neurol. Sci.* 2011; 32(3): 433-41.

6. Yin X., Meng F., Wei W., Li A., Wang Y., Chai Y. et al. Role of mouse nerve growth factor in neural recovery following hypoxic-ischemic brain damage. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2013; 6(10): 951-5.

7. Gudasheva T.A., Antipova T.A., Seredenin S.B. Novel low molecular weight mimetics of nerve growth factor. *Doklady Akademii nauk.* 2010; 434(4): 549-52.

8. Gudasheva T. A., Antipova T. A., Konstantinopol'skij M.A., Povarnina P.Ju., Seredenin S.B. Original nerve growth factor dipeptide mimetic GK-2 selectively activates TrkA postreceptor path without side effects of full-length neurotrophin. *Doklady Akademii nauk.* 2014; 456(2): 231-5.

9. Povarnina P.Ju., Ozerova I.V., Ostrovskaja R.U., GudashevaT.A., Seredenin S.B. Antidiabetic activity of a novel dipeptide mimetic of nerve growth factor. *Dokl. Akademii nauk.* 2013; 449(3): 364-6.

10. Antipova T.A., Gudasheva T.A., Seredenin S.B. In vitro study of neuroprotective properties of GK-2, a new original nerve growth factor mimetic. *Bjull. jeksperim. boil. i med.* 2010; 150(11): 537-40.

11. Povarnina P.Ju., Gudasheva T.A., Voroncova O.N., Bondarenko N.A., Seredenin S.B. Antiparkinsonian properties of a nerve growth factor dipeptide mimetic GK-2 in vivo experiments. *Bjull. jeksperim. biol. i med.* 2011; 151(6): 634-7.

12. Seredenin S.B., Romanova G.A., Gudasheva T.A., Shakova F.M., Barskov I.V., Stel'mashuk E.V. i dr. Neuroprotective and antiamnestic effect of nerve growth factor dipeptide mimetic GK-2 in experimental ischemic infarction of brain cortex. *Bjull. jeksperim. biol. i med.* 2010; 150(10): 406-9.

13. Seredenin S.B., Silachev D.N., Gudasheva T.A., Pirogov Ju.A., Isaev N.K. Neuroprotective effect of GK-2, a dipeptide mimetic of nerve growth factor, during experimental focal ischemia in middle cerebral artery basin. *Bjull. jeksperim. biol. i med.* 2011; 151(5): 518-21.

14. Avrushhenko M.Sh., Zarzheckij Ju.V., Moroz V.V., Ostrova I.V., Gudasheva T.A., Seredenin S.B. Effect of the nerve growth factor mimetic GK-2 on brain structural and functional state in the early postresuscitation period. *Obschaja reanimatologija.* 2012; 8(5): 19-23.

15. Zarzheckij Ju.V., Avrushhenko M.Sh., Moroz V.V., Gudasheva T.A., Seredenin S.B. The efficiency of the nerve growth factor mimetic GK-2 in preventing postresuscitation changes in the brain. *Bjull. jeksperim. biol. i med..* 2015; 159(4): 442-5.

16. Patz S., Wahle P. Neurotrophins induce short-term and long-term changes of cortical neurotrophin expression. *Eur. J. Neurosci.* 2004; 20(3): 701-8.

17. Kuo L.T., Groves M.J., Scaravilli F., Sugden D., An S.F. Neurotrophin-3 administration alters neurotrophin, neurotrophin receptor and nestin mRNA expression in rat dorsal root ganglia following axotomy. *Neuroscience.* 2007; 147(2): 491-507.

18. Lee Y.W., Stachowiak E.K., Birkaya B., Terranova C., Capacchietti M., Claus P. et al. NGF-induced cell differentiation and gene activation is mediated by integrative nuclear FGFR1 signaling (INFS). *PLoS One.* 2013; 8(7): e68931.

19. Rose K., Kriha D., Pallast S., Junker V, Klumpp S, Krieglstein J. Basic fibroblast growth factor: lysine 134 is essential for its neuroprotective activity. *Neurochem. Int.* 2007; 51(1): 25-31.

20. Zechel S., Werner S., Unsicker K., von Bohlen und Halbach O. Expression and functions of fibroblast growth

factor 2 (FGF-2) in hippocampal formation. *Neuroscientist.* 2010; 16(4): 357-73.

21. Martinez G., Di Giacomo C., Sorrenti V., Carnazza M.L., Ragusa N., Barcellona M.L., Vanella A. Fibroblast growth factor-2 and transforming growth factor-beta1 immunostaining in rat brain after cerebral postischemic reperfusion. *J. Neurosci. Res.* 2001; 63(2): 136-42.

22. Ye J., Lin H., Mu J., Cui X., Ying H., Lin M. et al. Effect of basic fibroblast growth factor on hippocampal cholinergic neurons in a rodent model of ischaemic encephalopathy. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2010; 107(6): 931-9.

23. Okada T., Kataoka Y., Takeshita A., Mino M., Morioka H., Kusakabe K.T. et al. Effects of transient forebrain ischemia on the hippocampus of the Mongolian gerbil (Meriones unguiculatus): an immunohistochemical study. *Zoolog. Sci.* 2013; 30(6): 484-9.

24. Korpachev V.G., Lysenkov S.P., Tel' L.Z. Modeling of clinical death and postresuscitative disease in rats. *Patol. fiziol. i jeksperim. terapija.* 1982; 3: 78-80.

25. Leker R.R., Soldner F., Velasco I., Gavin D.K., Androutsellis-Theotokis A., McKay R.D. Long-lasting regeneration after ischemia in the cerebral cortex. *Stroke.* 2007; 38(1): 153-61.

26. Watanabe T., Okuda Y., Nonoguchi N., Zhao M.Z., Kajimoto Y., Furutama D. et al. Postischemic intraventricular administration of FGF-2 expressing adenoviral vectors improves neurologic outcome and reduces infarct volume after transient focal cerebral ischemia in rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2004; 24(11): 1205-13.

27. Zhang M., Ma Y.F., Gan J.X. Jiang G.Y., Xu S.X., Tao X.L. et al. Basic fibroblast growth factor alleviates brain injury following global ischemia reperfusion in rabbits. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 2005; 6(7): 637-43.

28. Wang Z.L., Cheng S.M., Ma M.M., Ma Y.P., Yang J.P., Xu G.L. et al. Intranasally delivered bFGF enhances neurogenesis in adult rats following cerebral ischemia. *Neurosci. Lett.* 2008; 446(1): 30-5.

29. Chung J.Y., Kim M.W., Bang M.S., Kim M. Increased expression of neurotrophin 4 following focal cerebral ischemia in adult rat brain with treadmill exercise. *PLoS One.* 2013; 8(3): e52461.

30. Endres M., Fan G., Hirt L., Jaenisch R. Stroke damage in mice after knocking the neutrophin-4 gene into the brain-derived neurotrophic factor locus. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2003; 23(2): 150-153.

31. Chen A., Xiong L.-J., Tong Y., Mao M. The neuroprotective roles of BDNF in hypoxic ischemic brain injury (Review). *Biomedical reports.* 2013; 1: 167-76.

32. Geral C., Angelova A, Lesieur S. From Molecular to Nanotechnology Strategies for Delivery of Neurotrophins: Emphasis on Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF). *Pharmaceutics.* 2013; 5: 127-67.

33. Huang L., Applegate P.M., Gatling J.W., Mangus D.B., Zhang J. and Applegate R.L. A systematic review of neuroprotective strategies after cardiac arrest: from bench to bedside (part II-comprehensive protection). *Medical Gas Research.* 2014; 4: 10.

34. Kim D.H., Zhao X., Tu C.H., Casaccia-Bonnefil P., Chao M.V. Prevention of apoptotic but not necrotic cell death following neuronal injury by neurotrophins signaling through the tyrosine kinase receptor. *J. Neurosurg.* 2004; 100 (1): 79-87.

35. Liu Z., Ma D., Feng G., Ma Y. and Hu H. Recombinant AAV-mediated expression of human BDNF protects neurons against cell apoptosis in Abeta-induced neuronal damage model. *J. Huazhong Univ. Sci. Technolog. Med. Sci.* 2007; 27: 233-6.

36. D'Cruz B.J., Fertig K.C., Filiano A.J., Hicks S.D., DeFranco D.B., Callaway C.W. Hypothermic reperfusion after cardiac arrest augments brain-derived neurotrophic factor activation. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2002; 22 (7): 843-51.

37. Ishrat T., Sayeed I., Atif F., Hua F., Stein D.G. Progesterone is neuroprotective against ischemic brain injury through its effects on the PI3K/Akt signaling pathway. *Neuroscience.* 2012; 210: 442-50.

38. Kim G., Kim E. The Effects of antecedent exercise on motor function recovery and brain-derived neurotrophic factor expression after focal cerebral ischemia in rats. *J. Phys. Ther. Sci.* 2013; 25: 553-6.

39. Narantuya D., Nagai A., Sheikh A.M., Masuda J., Kobayashi S., Yamaguchi S. et al. Human microglia transplanted in rat focal ischemia brain induce neuroprotection and behavioral improvement. *PLoS One.* 2010; 5(7): e11746.

40. Ostrowski R.P., Graupner G., Titova E., Zhang J., Dach N., Corleone D. et al. The hyperbaric oxygen preconditioning-induced brain is mediated by a reduction of early apoptosis after transient cerebral ischemia. *Neurobiol. Dis.* 2008: 29(1): 1-13.

41. Singh M., Su C. Progesterone-induced neuroprotection: factors that may predict therapeutic efficacy. *Brain Res.* 2013; 1514: 98-106.

Received 18.05.15

Сведения об авторах:

Острова Ирина Васильевна, к.биол.н., ст. науч. сотр. лаб. патологии клетки при критических состояниях ФГБНУ «НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского», e-mail: irinaostrova@mail.ru

Заржецкий Юрий Витальевич, д.биол.н., вед. науч. сотр. лаб. патофизиологии при критических состояниях ФГБНУ «НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского»

Мороз Виктор Васильевич, д.м.н., проф., член-корр. РАН, директор ФГБНУ «НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского»

Гудашева Татьяна Александровна, д.биол.н., проф., член-корр. РАН, руководитель отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», e-mail: tata-sosnovka@mail.ru

Середенин Сергей Борисович, д.м.н., проф., акад. РАН, директор ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», e-mail: zakusovpharm@mail.ru