

Постреанимационные изменения экспрессии мозгового нейротрофического фактора (BDNF): взаимосвязь с процессом гибели нейронов

М. Ш. Аврущенко, И. В. Острова

НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского, ФНКЦ реаниматологии и реабилитологии,
Россия, 10703, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

Postresuscitative Changes of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Protein Expression: Association With Neuronal Death

Maria Sh. Avrushchenko, Irina V. Ostrova

V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology,
Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation,
25 Petrovka Str., Build. 2, Moscow 107031, Russia

Цель: выявить взаимосвязь между уровнем экспрессии BDNF и развитием постреанимационной гибели нейронов в высокочувствительных к гипоксии отделах мозга.

Материалы и методы. На разных сроках постреанимационного периода (1-, 4-, 7-, 14-е сутки) исследовали состояние высокочувствительных к гипоксии нейрональных популяций (пирамидные нейроны гиппокампа и клетки Пуркинье мозжечка) у белых половозрелых крыс-самцов, перенесших 10-минутную остановку системного кровообращения (пережатие сосудистого пучка сердца). Контролем служили ложнопериоперированные животные. Проводили иммуногистохимическое выявление BDNF-иммунореактивных нейронов с последующим определением оптической плотности, числа клеток с разным уровнем экспрессии BDNF и общего числа нейронов на 1 мм длины их слоя. Использовали системы анализа изображений (компьютер Intel, микроскоп Olympus BX-41, программы ImadageScopeM, ImageJ 1,48v, Excel 2007). Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 7.0. с использованием критериев λ Колмогорова-Смирнова, U-критерия Манна-Уитни и t-критерия Стьюдента.

Результаты. Установили динамику постреанимационных сдвигов BDNF-иммунореактивности нейрональных популяций пирамидных клеток гиппокампа и клеток Пуркинье мозжечка. Показали, что в обеих нейрональных популяциях происходит снижение уровня экспрессии BDNF, что сопровождается гибелью нейронов. Установили, что процесс выпадения (гибели) клеток Пуркинье мозжечка происходит к 4-м суткам после реанимации, а пирамидных нейронов гиппокампа — только к 7-м. Существенно, что в обеих нейрональных популяциях гибели подвергаются BDNF- негативные и слабопозитивные нервные клетки.

Заключение. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о наличии взаимосвязи между сдвигами экспрессии BDNF и постреанимационной гибелью нейронов. Показано, что в высокочувствительных к гипоксии нейрональных популяциях гибели подвергаются только неэкспрессирующие и слабоэкспрессирующие BDNF клетки. Полученные результаты дают основание заключить, что уровень экспрессии BDNF в нейронах является одним из факторов, оказывающих существенное влияние на их устойчивость к ишемии-реперфузии. Обсуждается возможность активации уровня экспрессии эндогенного BDNF для предотвращения гибели нейронов.

Ключевые слова: мозговой нейротрофический фактор (BDNF), постреанимационный период; гибель нейронов; пирамидные клетки гиппокампа; клетки Пуркинье мозжечка; иммуногистохимия; оптическая плотность; морфометрический анализ

Aim of the study: to evaluate expression level of BDNF and its association with the postresuscitative neuronal death in highly hypoxia-sensitive brain regions.

Materials and methods. Cardiac arrest in adult albino male rats was evoked by intrathoracic clamping of supracardiac bundle of vessels for 10 min. Pyramidal neurons of the hippocampus and Purkinje cells of the cerebellum were analyzed at various time points after resuscitation (days 1, 4, 7, 14). Sham-operated rats served as controls. The expression of BDNF protein was immunohistochemically determined. The BDNF expression level was determined by evaluation on the base of the average optical density. The number of neurons with different BDNF expression levels and the total number of neurons per 1 mm of the layer length were computed. Image analysis systems (Intel personal computer, Olympus BX-41 microscope, ImageScopeM, ImageJ 1,48v and MS Excel 2007 software packages) were used in the study. Data statistical processing was performed with the aid of Statistica 7.0 program and Kolmogorov-Smirnov λ -test, Mann-Whitney U-test and Student's t-test.

Адрес для корреспонденции:

Мария Аврущенко
E-mail: maria_avr@mail.ru

Correspondence to:

Maria Avrushchenko
E-mail: maria_avr@mail.ru

Results. The dynamics of postresuscitative shifts of BDNF immunoreactivity in neuronal populations of hippocampal pyramidal cells and cerebellar Purkinje cells was established. It was shown that the level of BDNF expression within the two neuronal populations decreased, that was accompanied by neuronal death. In the Purkinje cell population the neuronal death occurred by the 4th day after resuscitation, while in the hippocampus, it occurs only by the 7th day. Notably, only BDNF-negative neurons or neurons with low level of BDNF expression died in both neuronal populations.

Conclusion. The results of the study indicate the existence of an interrelation between the shifts in BDNF expression and the postresuscitative neuronal death. It was shown that only the cells with none or poor BDNF expression underwent death in highly hypoxia-sensitive neuronal populations. The results suggest that the level of BDNF expression is one of factors that have a significant effect on neuronal resistance to ischemia-reperfusion. A possibility of induction of the endogenous BDNF expression in order to prevent neuronal death is discussed.

Key words. *brain derived neurotrophic factor (BDNF); postresuscitative period; neuronal death; pyramidal cells of the hippocampus; Purkinje cells of the cerebellum; immunohistochemistry; mean optical density; morphometric analysis*

DOI:10.15360/1813-9779-2017-4-6-21

Введение

Для разработки патогенетически обоснованных подходов к профилактике и коррекции постгипоксических энцефалопатий необходимо исследовать закономерности процесса повреждения нейронов, а также выявлять факторы, способствующие поддержанию их устойчивости после ишемии-реперфузии. Это обусловлено наличием тесной взаимосвязи между восстановлением функции мозга в постреанимационном периоде и выраженностью изменений, происходящих на уровне нейрональных популяций [1–3]. Важную роль в защите мозга после ишемии-реперфузии играют эндогенные нейропротективные факторы. Ранее нами было показано значение уровня экспрессии ряда таких факторов (белки теплового шока семейства HSP70, глюкозо-регулируемый белок GRP78, глиальный нейротрофический фактор GDNF, основной фактор роста фибробластов bFGF) в предупреждении постреанимационной гибели нейронов [4–7]. Мозговой нейротрофический фактор (BDNF) называют одним из ключевых медиаторов выживания и восстановления нейронов [8, 9]. Он вовлечен в регуляцию нейронального развития, синаптическую пластичность, формирование процессов обучения и памяти [10–13]. Важная роль BDNF в нейропротекции и восстановлении функции мозга при различных патологических процессах широко обсуждается [14–18, 11, 8, 9].

Существенно, что BDNF характеризуется нейротрофическим действием для самых разных нейрональных популяций (холинергические и дофаминергические нейроны, мотонейроны, сенсорные нейроны), что обуславливает его потенциальные эффекты при многочисленных неврологических заболеваниях [19]. Именно поэтому применение BDNF стало основой для экспериментальной разработки подходов к защите мозга при болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона,

Introduction

The development of pathogenetically substantiated approaches to the prevention and correction of posthypoxic encephalopathies requires thoroughly studying the regularities of the process of neuronal damage and identifying the factors that contribute to the neuron resistance to ischemia-reperfusion. The reasons for these approaches are based on close relationship between the postresuscitative brain function recovery and the severity of changes in neuronal populations [1–3]. Endogenous neuroprotective factors play an important role in the brain recovery after ischemia-reperfusion. Earlier, we showed the significance of the expression level of a number of such factors (heat shock proteins of the HSP70 family, glucose-regulated protein GRP78, glial neurotrophic factor GDNF, basic fibroblast growth factor bFGF) in the prevention of postresuscitative neuronal death [4–7]. Brain derived neurotrophic factor (BDNF) is currently considering as the key mediators of neuronal survival and recovery [8, 9]. This factor is involved in the regulation of neuronal development, synaptic plasticity, learning and memory processes [10–13]. The important role of BDNF in neuroprotection and brain function recovery from various pathological conditions has been discussed [14–18, 11, 8, 9].

It is important that BDNF is characterized by a neurotrophic effect for a wide variety of neuronal populations (cholinergic and dopaminergic neurons, motoneurons, sensory neurons), which causes its potential effects in various neurological diseases [19]. For this reason the use of BDNF has become a basis for the experimental development of approaches to brain protection in Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's chorea, as well as stroke, brain trauma, depression, drug addiction, schizophrenia and multiple sclerosis [20–28, 9, 13].

Numerous experimental studies indicate that the use of exogenous BDNF after ischemia reduces the size of the cerebral infarction and improves functional

хорее Гентингтона, а также при инсульте, травме мозга, депрессии, наркомании, шизофрении и рассеянном склерозе [20–28, 9, 13].

Многочисленные экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что применение экзогенного BDNF после ишемии уменьшает размеры инфаркта мозга и улучшает функциональное восстановление [29–36, 8, 14]. Вместе с тем, имеющиеся в литературе данные о постишемических изменениях экспрессии BDNF неоднозначны и различаются по направлению, локализации и динамике выявленных сдвигов [37–40]. В связи с вышесказанным целью исследования стало выявление взаимосвязи между уровнем экспрессии BDNF и развитием постреанимационной гибели нейронов в высокочувствительных к гипоксии отделах мозга.

Материал и методы

Исследовали мозг 25-и белых нелинейных половозрелых крыс-самцов массой 190–250 г, перенесших 10-минутную остановку сердца (внутриторакальное пережатие сосудистого пучка сердца) [41]. Через 1, 4, 7, 14 дней после реанимации (непрямой массаж сердца в сочетании с искусственной вентиляцией легких воздухом в режиме гипервентиляции аппаратом «Animal Respirator» фирмы «SMT Geratehandel» с внутритрахеальным введением раствора адреналина в дозе 0,1 мг/кг) животных выводили из эксперимента декапитацией под наркозом (по 5–7 животных на каждый срок постреанимационного периода). Контролем служили ложнооперированные крысы ($n=10$). Эксперименты проводили согласно рекомендациям Этического комитета ФГБНУ НИИ общей реаниматологии имени В. А. Неговского в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ Минздрава СССР №755 от 12.08.1977).

Исследовали постреанимационные изменения высокочувствительных к гипоксии нейрональных популяций клеток Пуркинью коры мозжечка и пирамидных нейронов гиппокампа (сектор CA4). Выявление мозгового нейротрофического фактора (BDNF) проводили с помощью иммуногистохимических исследований прямым пероксидазно-антипероксидазным методом с использованием поликлональных антител к BDNF (разведение 1:50) (Santa Cruz Biotechnology Inc., USA) и визуализирующей системы LSAB Kit (DAKO, Glostrup, Denmark). Иммуногистохимическую реакцию контролировали инкубацией срезов со всеми реагентами кроме первичных антител.

Интенсивность экспрессии BDNF в цитоплазме нейронов оценивали с помощью программы анализа изображений ImageJ 1.48v. Исследовали изображения, полученные после иммуногистохимического выявления BDNF без дополнительной окраски гематоксилином (рис. 1, а). Определяли «среднее значение серого» (Mean Gray Value) и рассчитывали оптическую плотность (в условных единицах — у. е.) по формуле: $OD = \log_{10} (255/\text{Mean Gray Value})$. Для визуальной оценки интенсивности окраски срезы докрашивали гематоксилином (рис. 1, б). На основании анализа гистограмм

recovery [29–36, 8, 14]. At the same time, the published data on postischemic changes in BDNF expression are ambiguous and differ in the direction, location and dynamics of the shifts observed [37–40]. In view of the above, the aim of the study was to evaluate expression level of BDNF and its association with the postresuscitative neuronal death in highly hypoxia-sensitive brain regions.

Materials and Methods

Male albino rats weighting 190–250 g ($n=25$) underwent a 10 minute long cardiac arrest (intrathoracic clamping of the vascular bundle of the heart [41]). Animals were resuscitated with the aid of chest compressions combined with mechanical air ventilation by 'Animal Respirator' (SMT Geratehandel) followed by intratracheal administration of 0.1 mg/kg adrenaline solution. On the 1, 4, 7 and 14th day after resuscitation the animals were decapitated under anesthesia (5–7 rats at each time point). Sham-operated animals served as the controls ($n=10$). Experiments were carried out according to the recommendations of V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology Local Ethics Committee in accordance to the 'Laboratory Animal Use Guide' (Order #755 of the Ministry of Public Health (USSR), 12.08.1977).

Postresuscitative changes in the highly sensitive neuronal populations of Purkinje cells of the cerebellar cortex and pyramidal neurons of the hippocampus (CA4 region) were studied. The detection of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) was performed immunohistochemically with indirect peroxidase-antiperoxidase method using polyclonal antibodies to BDNF (dilution 1:50), (Santa Cruz Biotechnology Inc., USA) and LSAB TM +Kit visualizing system (DAKO, Glostrup, Denmark). The immunocytochemical reaction was monitored by the incubation of the slices with all the reagents except for the primary antibodies.

The level of BDNF expression in the neuron's cytoplasm was assessed using image analysis software ImageJ 1.48v. The images obtained via BDNF immunocytochemical visualizing without hematoxylin after-stain were analyzed (Fig. 1, a). The Mean Gray Value was determined and the optical density (in arbitrary units — a.u.) was calculated by the following formula: $OD = \log_{10} (255/\text{Mean Gray Value})$. To assess visually the staining intensity, the slices were after-stained with hematoxylin (Fig. 1, b). Based on the analysis of histograms of neurons distribution by optical density (Fig. 2) and on the visual assessment, the following rank estimates were assigned to the neurons: BDNF-negative (BDNF^-), weak- and strong-positive (BDNF^+ and BDNF^{++}) neurons. In the pool of cerebellar Purkinje cells, the rank limits of optical density include as follows: $OD < 0.25$ for BDNF-negative; $0.25 < OD \leq 0.31$ for weak-positive and $OD > 0.31$ for strong-positive neurons. In the pool of hippocampal pyramidal cells (CA4 field), the rank limits of optical density were: $OD < 0.24$ for BDNF-negative; $0.24 \leq OD < 0.28$ for weak-positive and $OD \geq 0.28$ for strong-positive neurons. The total density of the neuronal population was determined, as well as the number of cells with certain levels of BDNF expression per 1 mm of the layer length.

Image analysis systems (Intel computer, Olympus BX-41 microscope, ImageScopeM, ImageJ 1.48v and MS

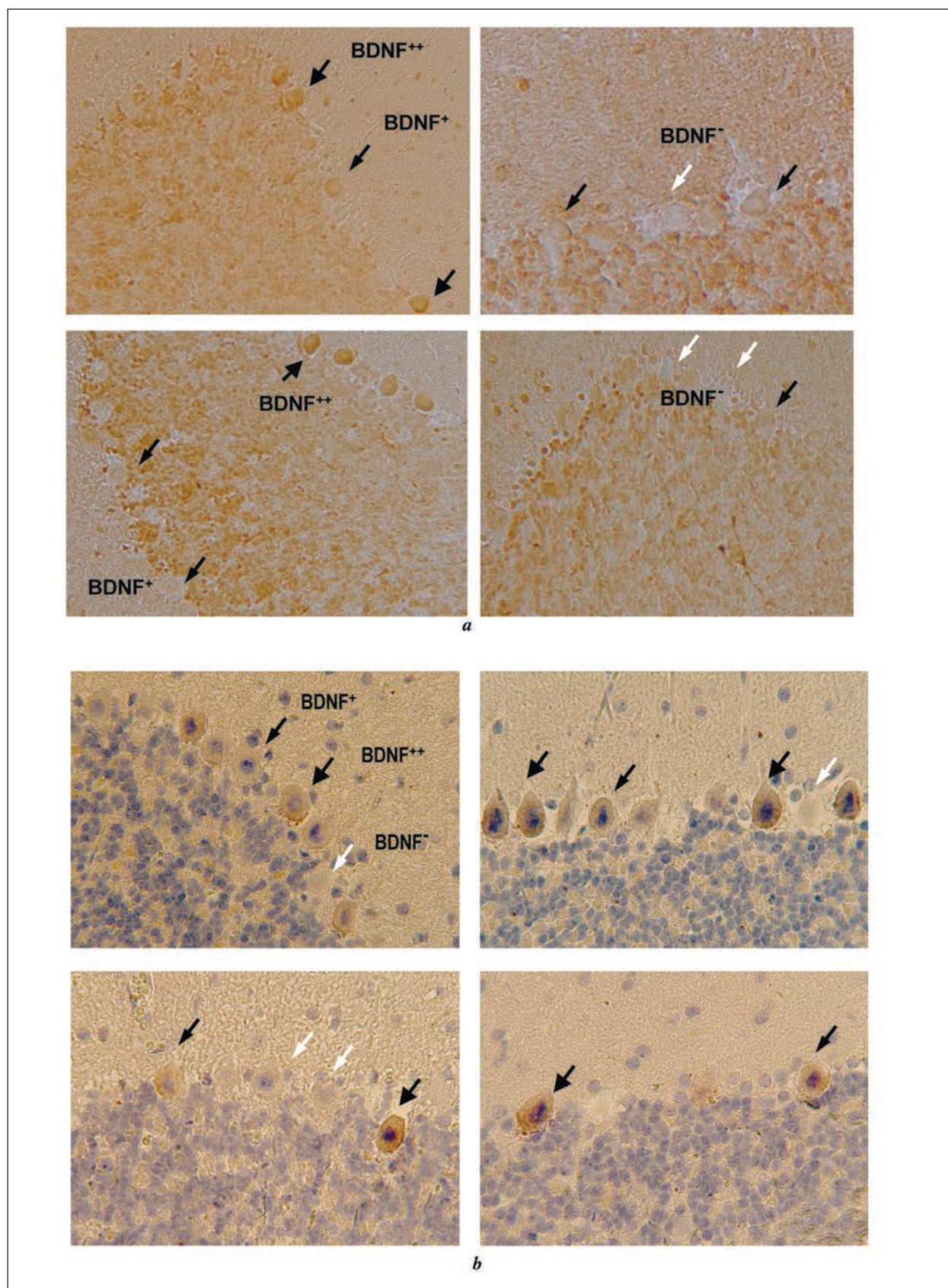


Рис. 1. Клетки Пуркинье с разным уровнем экспрессии BDNF.

Fig. 1. Purkinje cells with different levels of BDNF expression.

Note. Indirect peroxidase-antiperoxidase method. *a* – $\times 200$; *b* – hematoxylin staining, $\times 400$.

White arrow – BDNF⁻ neurons; black thin arrow – BDNF⁺ neurons; black thick arrow – BDNF⁺⁺ neurons.

Примечание. Непрямой пероксидазно-антипероксидазный метод. *a* – $\times 200$; *b* – докраска гематоксилином, $\times 400$. Белая стрелка – BDNF⁻ нейроны; черная тонкая стрелка – BDNF⁺ нейроны; черная толстая стрелка – BDNF⁺⁺ нейроны.

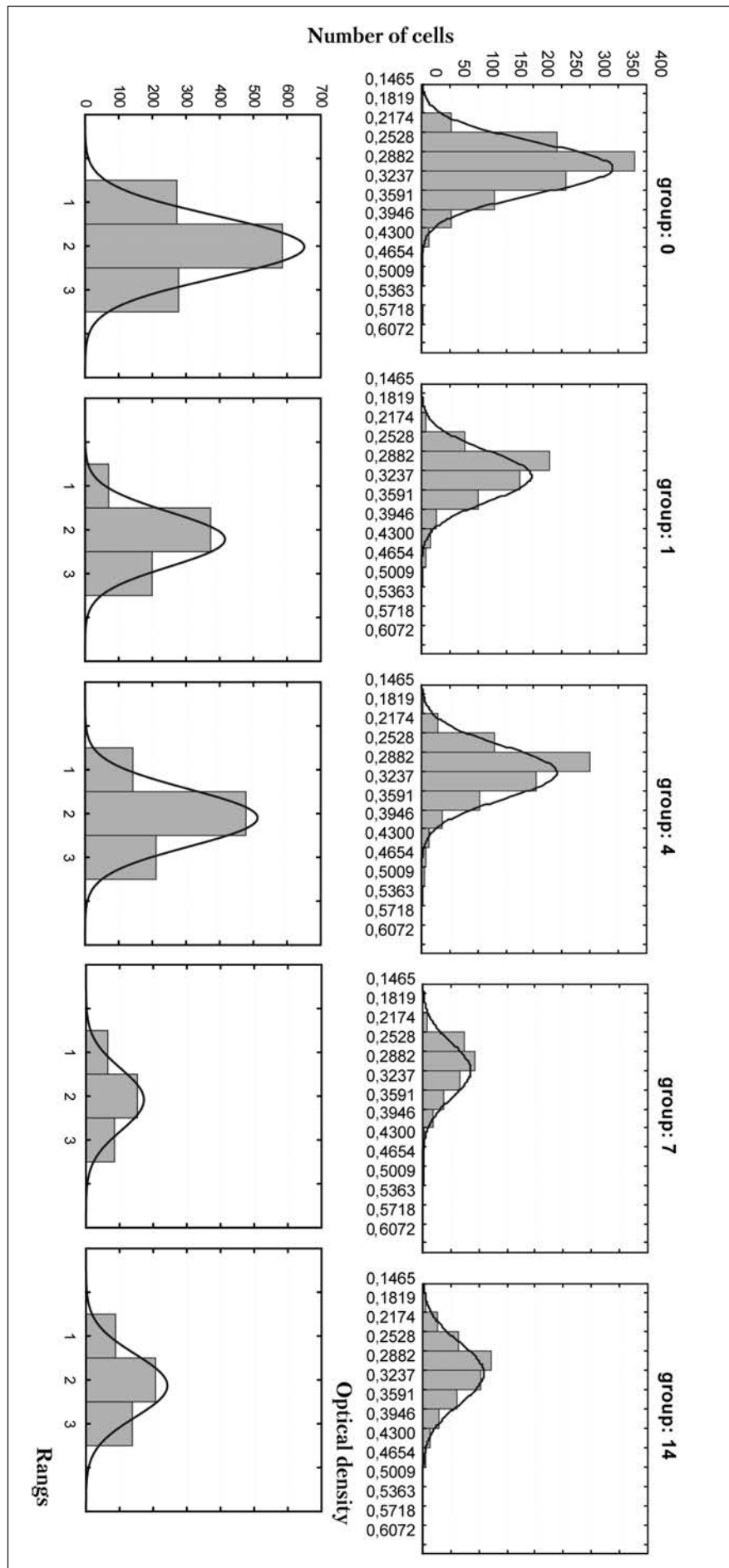


Рис. 2. Гистограммы распределения клеток Пуркинье по средней оптической плотности и по рангам.
Fig. 2. Variations in distribution of Purkinje cells as determined by the mean optical density and at rangs.

Note. For Fig. 2–5: 0 – control; 1, 4, 7, 14 – days after resuscitation.
Примечание. Для рис. 2–5: 0 – группа; 0 – контроль; 1, 4, 7, 14 – дни после реанимации. Optical density – оптическая плотность; Rangs – ранги; Number of cells – число клеток.

распределения нейронов по их оптической плотности (рис. 2, *a*) и визуальной оценки выделяли соответствующие ранги (рис. 2, *b*) для BDNF-негативных (BDNF⁻), слабо- и сильнопозитивных (BDNF⁺ и BDNF⁺⁺) нейронов. В популяции клеток Пуркинье мозжечка ранги оптической плотности составили: для BDNF-негативных OD<0,25 у.е.; для слабопозитивных 0,25<OD≤0,31 у.е. и для сильнопозитивных нейронов OD>0,31 у.е. В популяции пирамидных клеток гиппокампа (сектор CA4): ранги оптической плотности составили: для BDNF-негативных OD<0,24 у.е.; для слабопозитивных 0,24≤OD<0,28 у.е. и для сильнопозитивных нейронов OD≥0,28 у.е. Определяли общую плотность нейрональной популяции, а также число клеток с разным уровнем экспрессии BDNF на 1 мм длины их слоя.

В работе использовали системы анализа изображений (компьютер Intel, микроскоп Olympus BX-41, программы ImageScoreM и MS Excel 2007). Статистическую обработку данных проводили с помощью критерия λ Колмогорова-Смирнова, U-критерия Манна-Уитни и t-критерия Стьюдента в программе Statistica 7.0.

Результаты и обсуждение

Установили, что в гиппокампе на 1-е и на 4-е сутки постреанимационного периода общая плотность популяции пирамидных нейронов соответствовала контролю (рис. 3, *a*). Однако спустя 7 дней после реанимации происходило резкое снижение общей плотности популяции (рис. 3, *a*). К 14-м суткам выявленные сдвиги не усиливались. Полученные данные свидетельствуют о том, что в этой нейрональной популяции гибель клеток развивается к 7-м суткам постреанимационного периода и далее не прогрессирует.

Выявили, что через 1 сутки после реанимации число BDNF⁻, а также число BDNF⁺ и BDNF⁺⁺ клеток соответствовало контрольному уровню (рис. 4, *a*). К 4-м суткам постреанимаци-

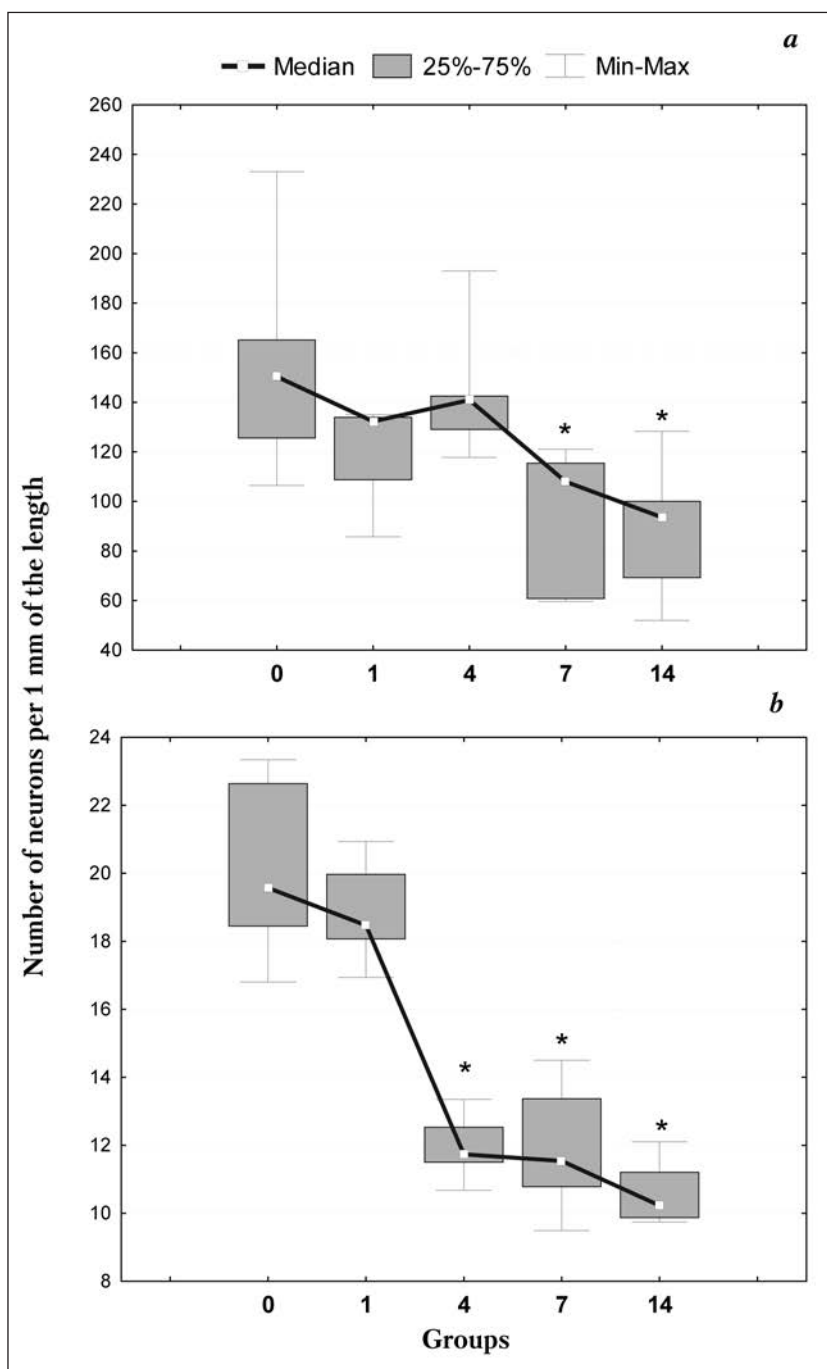


Рис. 3. Динамика изменения общей плотности популяции пирамидных клеток гиппокампа (*a*) и клеток Пуркинье (*b*) в постреанимационном периоде после остановки системного кровообращения.

Fig. 3. Dynamics of changes in the total density of pyramidal cells of the hippocampus (*a*) and Purkinje cells (*b*) in postresuscitation period after cardiac arrest.

Note. *a*: * – $P_u < 0.05$ versus control; *b* – $P_u < 0.025$ versus control.

Примечание. Для рис. 3–5: Number of neurons per 1 mm the length – число нейронов на 1 мм длины. *a*: * – $p_u < 0,05$ по сравнению с контролем; *b* – $p_u < 0,025$ по сравнению с контролем.

Excel 2007 software packages) were applied in the study. Statistical data processing was performed using Statistica 7.0. The significance of differences was assessed by Student's t-test, Mann-Whitney test, Kolmogorov-Smirnov test.

онного периода в сравнении с контролем число BDNF⁻ нейронов не изменялось, число BDNF⁺ нейронов в сравнении с контролем возрастало, а число BDNF⁺⁺ нейронов уменьшалось (рис. 4, *a*). Поскольку, как было отмечено выше, на этом этапе не происходит гибели нейронов (общая плотность популяции соответствует контролю), полученные данные свидетельствуют о «переходе» сильно-позитивных клеток в категорию слабопозитивных. В результате BDNF-иммунореактивность нейрональной популяции снижается.

На 7-е сутки постреанимационного периода число BDNF⁺⁺ нейронов не изменялось в сравнении с 4-ми сутками, оставаясь ниже нормы (рис. 4, *a*). Число BDNF⁺ нейронов уменьшалось в сравнении с 4-ми сутками, опускаясь до контрольного уровня. При этом число BDNF-негативных клеток резко снижалось, как в сравнении с контролем, так и в сравнении с 4-ми сутками (рис. 4, *a*). Между 7-ми и 14-ми сутками постреанимационного периода дальнейших изменений числа нейронов с различной BDNF-иммунореактивностью не выявлено (рис. 5). Как было отмечено выше, именно к 7-м суткам развивается процесс гибели нейронов (снижение общей плотности нейрональной популяции). Существенно, что на этом этапе постреанимационного процесса происходит уменьшение числа только BDNF⁻ и BDNF⁺ клеток. Следовательно, можно полагать, что гибели подвергаются именно BDNF-негативные и слабопозитивные нейроны.

Исследование клеток Пуркинье мозжечка показало, что на 1-е сутки постреанимационного периода общая плотность этой нейрональной популяции соответствует контрольному уровню (рис. 3, *b*), т. е. гибели нейронов не происходило. Выпадение нейронов развивалось к 4-м суткам после реанимации. Об этом свидетельствует резкое снижение общей плотности популяции в сравнении с контролем (рис. 3, *b*). В дальнейшем процесс выпадения клеток не прогрессировал (рис. 3, *b*).

Установлено, что на 1-е сутки постреанимационного периода число BDNF-негативных нейронов, а также число слабо- и сильнопозитивных клеток не изменялось. Однако к 4-м суткам происходило резкое снижение в сравнении с контролем числа BDNF⁻ и BDNF⁺ нейронов (рис. 4, *b*). Существенно, что при этом число сильнопозитивных (BDNF⁺⁺) клеток соответствовало контрольному уровню (рис. 4, *b*). В дальнейшем (на 7-е и 14-е сутки постреанимационного периода) выявленные изменения сохранялись (рис. 4, *b*). Полученные данные свидетельствуют о том, что на этапе гибели нейронов (4-е сутки после реанимации) происходит снижение числа только BDNF-негативных и слабопозитивных клеток. Следовательно, можно полагать, что только BDNF-негатив-

Results and Discussion

It was established that the total density of pyramidal neurons corresponded to the control value in the hippocampus on the 1st and 4th days of the postresuscitative period (Fig. 3, *a*). However, a sharp decrease in the overall density of the neuronal pool occurred by the 7th day after resuscitation (Fig. 3, *a*). By day 14, the revealed shifts did not increase. The obtained data suggest that in this neuronal population, cell death develops by the 7th postresuscitative day and does not progress further.

It was revealed that the numbers of BDNF⁻, BDNF⁺, and BDNF⁺⁺ cells corresponded to the control levels on the 1st day after resuscitation (Fig. 4, *a*). By day 4, the number of BDNF⁻ neurons did not change in comparison with the control, the number of BDNF⁺ neurons increased, while the number of BDNF⁺⁺ neurons decreased (Fig. 4, *a*). Since, no neuronal death was determined (the total population density corresponded to the control one), the obtained data suggested a «transition» of the strong-positive cells to the category of weak-positive cells. As a result, the BDNF immunoreactivity of the neuronal pool was reduced.

On the 7th day of postoperative period the number of BDNF⁺⁺ neurons did not change in comparison with the 4th days and remained below the baseline (Fig. 4, *a*). The number of BDNF⁺ neurons decreased in comparison with 4th day, dropping down to the control value. The number of BDNF⁻ negative cells decreased sharply, both versus the baseline and compared to day 4 (Fig. 4, *a*). Between postresuscitation days 7 and 14, no further changes in the number of neurons with different BDNF immunoreactivity were detected (Fig. 5). As noted above, the peak of neuronal death (a maximum decrease in the overall density of the neuronal population) was developed by the 7th day. Importantly, at this stage of the postresuscitative process there is a decrease in the numbers of BDNF⁻ and BDNF⁺ cells only. Therefore, it can be assumed that only BDNF⁻ negative and weak-positive neurons undergo death, in contrast to strong-positive cells.

The examination of the cerebellar Purkinje cells showed that on the 1st post-operation day the total density of the neurons corresponded to the control level (Fig. 3, *b*), i.e. neuronal death did not occur. The neuronal loss developed by day 4 after resuscitation. This is evidenced by a sharp decrease in the overall density of the population in comparison to the control (Fig. 3, *b*). Later, the process of neuronal loss did not progress (Fig. 3, *b*).

It was found that on the 1st postresuscitation day, the number of BDNF⁻ negative neurons, as well as the numbers of weak- and strong-positive cells did not change. However, a sharp decline of the number of BDNF⁻ and BDNF⁺ neurons was observed by the

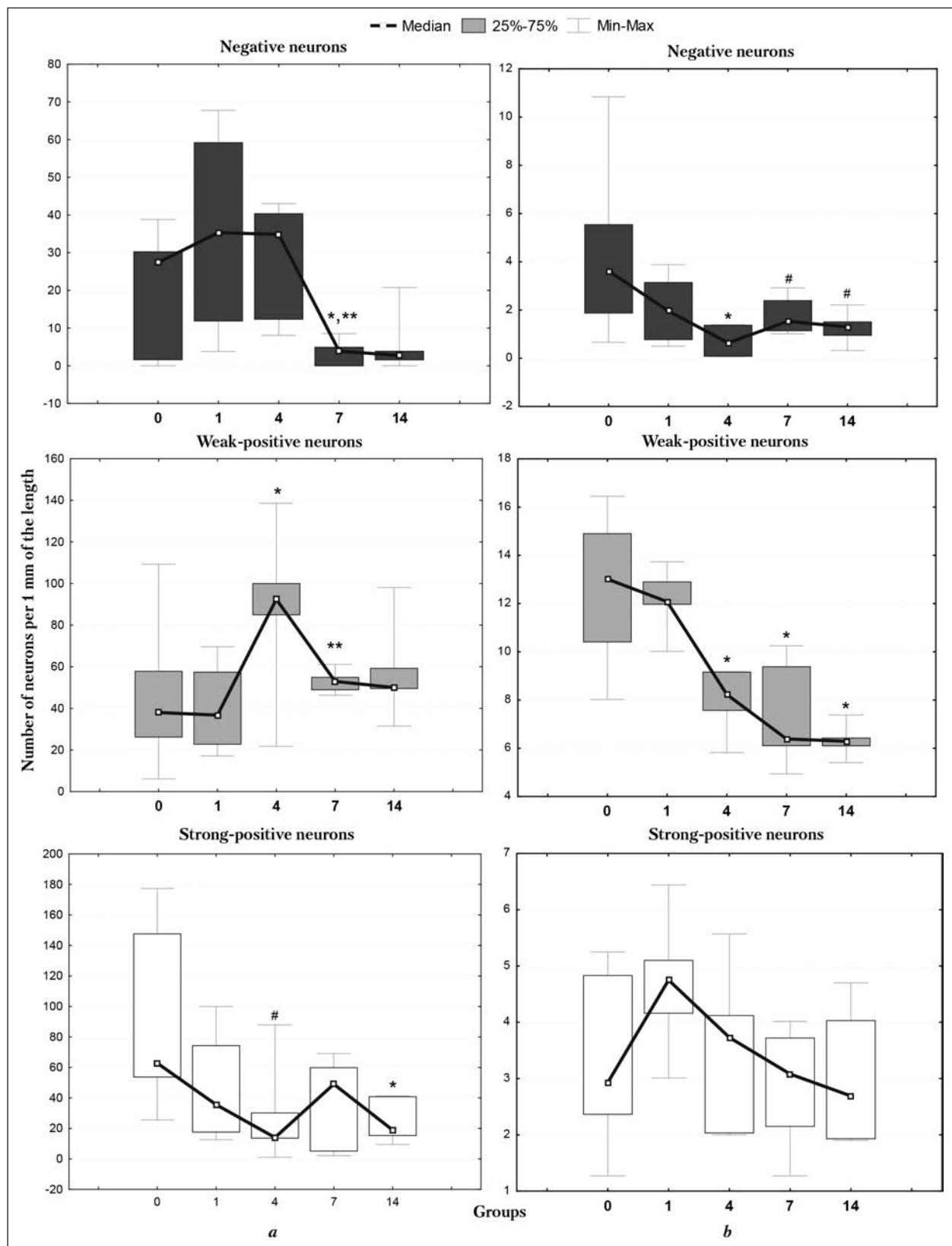


Рис. 4. Изменение числа нейронов с разным уровнем экспрессии BDNF

в популяции пирамидных клеток гиппокампа (a) и клеток Пуркинью (b) на разных сроках постреанимационного периода.

Fig. 4. The change in the number of neurons with different levels of BDNF expression in the pyramidal cells of the hippocampus (a) and Purkinje cell population (b) in postresuscitative period.

Note. a: * – $P_u < 0.05$; # – $P_u \leq 0.1$ versus control; ** – $P_u < 0.05$ in comparison with 4th day of postresuscitation period. b: * – $P_u < 0.025$; # – $P_u < 0.1$ versus control.

Примечание. a: * – $p_u < 0.05$; # – $p_u \leq 0.1$ в сравнении с контролем; ** – $p_u < 0.05$ в сравнении с 4-и сутками постреанимационного периода. b: * – $p_u < 0.025$; # – $p_u < 0.1$ в сравнении с контролем.

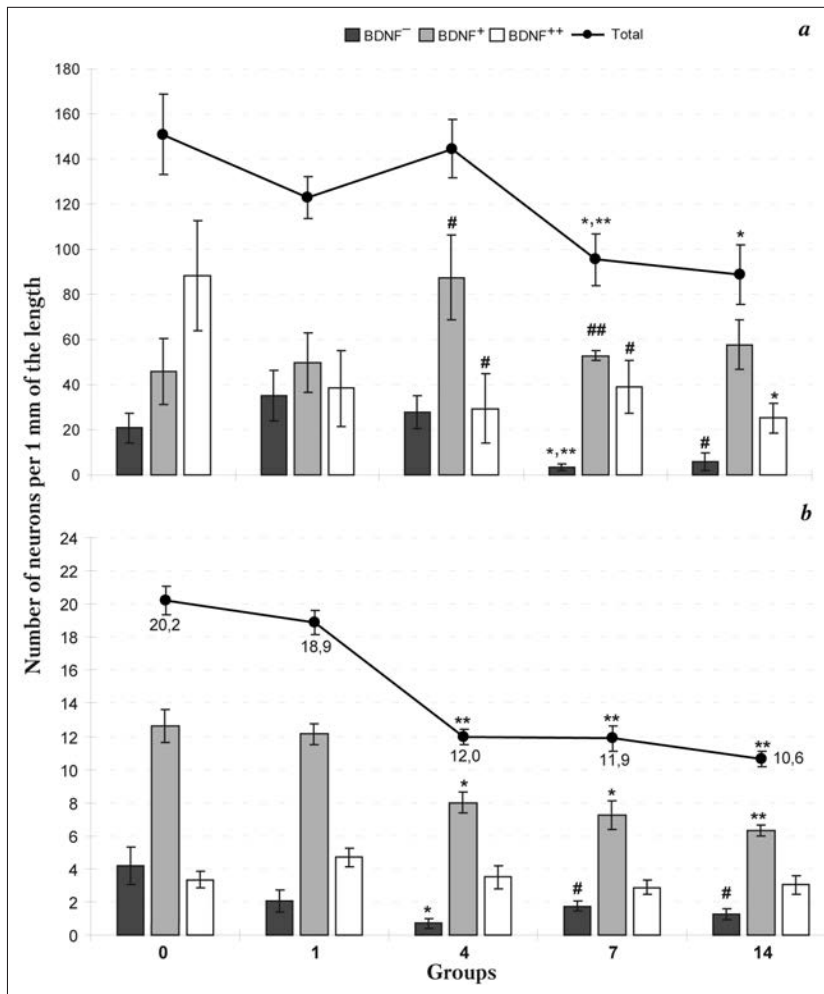


Рис. 5. Взаимосвязь постреанимационных изменений уровня экспрессии BDNF с процессом гибели нейронов в популяции пирамидных клеток гиппокампа (a) и клеток Пуркинье (b).

Fig. 5. The relationship of postresuscitative changes in the expression level of BDNF with the process of neuronal death in the population of pyramidal cells of the hippocampus (a) and Purkinje cells (b).

Note. a: * – $P_t < 0.05$; # – $P_t \leq 0.1$ versus control; ** – $P_t < 0.05$; ## – $P_t < 0.1$ in comparison with the 4th day postresuscitation. b: * – $P_t < 0.05$; ** – $P_t < 0.01$; # – $P_t \leq 0.1$ versus control.

Примечание. a: * – $p_t < 0.05$; # – $p_t \leq 0.1$ в сравнении с контролем; ** – $p_t < 0.05$; ## – $p_t < 0.1$ в сравнении с 4-и сутками постреанимационного периода. b: * – $p_t < 0.05$; ** – $p_t < 0.01$; # – $p_t \leq 0.1$ в сравнении с контролем.

ные и слабопозитивные нейроны подвергаются гибели.

Результаты настоящей работы позволили выявить взаимосвязь между постреанимационными сдвигами уровня экспрессии BDNF и процессом гибели нервных клеток. В обеих исследованных нейрональных популяциях происходили однонаправленные постреанимационные сдвиги: снижение уровня экспрессии BDNF, сопровождавшееся гибелью нейронов. Сопоставление динамики изменений общей плотности нейрональных популяций и числа нейронов с различным уровнем экспрессии BDNF (рис. 5) дает основание полагать, что в обеих исследованных нейрональных популяциях гибели подвергаются толь-

4th day (Fig. 4, b). It is important that in this case the number of strong-positive (BDNF⁺⁺) cells corresponded to the control level (Fig. 4, b). Later (on postresuscitation days 7 and 14), the revealed changes were preserved (Fig. 4, b). The obtained data suggest that at the stage of neuronal death (the 4th day after resuscitation), there is a decrease in the number of BDNF-negative and weak-positive cells only. Hence, it can be assumed that these neurons are dying, unlike strong-positive ones.

The results of this study have revealed the relationship between post-operative shifts in the BDNF expression level and the process of nerve cells death. In both neuronal populations studied, similar unidirectional postresuscitative shifts occurred: a decrease in the BDNF expression level, accompanied by neuronal death. A comparison of the dynamics of changes in the total density of neuronal populations and the number of neurons with different levels of BDNF expression (Fig. 5) suggests that in both neuronal populations studied, only BDNF-negative and weak-positive cells died. It should be noted that the death of Purkinje cells occurs earlier than that of the hippocampal pyramidal neurons. This fact agrees with the earlier obtained data on the high vulnerability of Purkinje cells in the postresuscitative period [42, 1].

According to the results obtained in this study, the level of BDNF expression in the studied neuronal populations decreased in the early postresuscitative period and did not restored later. Although there is evidence of an increase in BDNF⁻ immunoreactivity in the brain after ischemia [37, 38], most studies indicate a decrease in BDNF expression within the postischemic period. Thus, a decrease in the expression of BDNF and its receptor TrkB was detected in the CA1 region of the hippocampus four hours after the induction of isolated cerebral ischemia in gerbils [43], as well as in the cerebral cortex and hippocampus one day after occlusion of the middle cerebral artery in mice [40]. A decrease in the level of BDNF mRNA expression in the frontal cortex, hippocampus

ко BDNF-негативные и слабопозитивные клетки. При этом следует отметить, что процесс гибели клеток Пуркинье происходит раньше, чем пирамидных нейронов гиппокампа. Это согласуется с полученными нами ранее данными о высокой ранимости клеток Пуркинье в постреанимационном периоде [42, 1].

Согласно полученным в настоящей работе результатам, уровень экспрессии BDNF в исследованных нейрональных популяциях снижался уже в раннем постреанимационном периоде и позднее не восстанавливался. Хотя имеются сведения об увеличении BDNF-иммунореактивности в мозге после ишемии [37, 38], большинство исследований свидетельствует о снижении уровня его экспрессии в постишемическом периоде. Так, уменьшение экспрессии BDNF и его рецептора TrkB выявлено в поле СА1 гиппокампа через 4 часа — 1 сутки после изолированной ишемии мозга у песчанок [43], а также в коре мозга и гиппокампе через 1 день после окклюзии средней мозговой артерии у мышей [40]. Обнаружено снижение уровня экспрессии мРНК во фронтальной коре, гиппокампе и мозжечке после билатеральной окклюзии общей сонной артерии [39]. Показано также, что временная окклюзия средней мозговой артерии у крыс вызывает снижение уровня мРНК и белка BDNF, что сопровождается развитием нарушений обучения и памяти [44]. Интересно, что положительное воздействие трийодтиронина, приводящее к восстановлению вызванных ишемией нарушений обучения и памяти, авторы связывают с резким увеличением уровня мРНК и белка BDNF. Уменьшение уровня экспрессии BDNF показано и в экспериментах по моделированию травмы мозга [45].

Результаты проведенной нами работы позволили выявить сопряженность снижения уровня экспрессии BDNF с процессом гибели нейронов. Оказалось, что в постреанимационном периоде гибели подвергались только неэкспрессирующие или слабо экспрессирующие BDNF клетки. Следовательно, способность к активной экспрессии BDNF является одним из важных факторов, обуславливающих устойчивость нейронов к гибели после ишемии — реперфузии. Значение BDNF для защиты мозга при ишемии активно обсуждается [46, 47]. Показано, что внутрижелудочковая инфузия BDNF предотвращает гибель нейронов поля СА1 гиппокампа после глобальной ишемии мозга, вызванной 4-х сосудистой окклюзией у крыс [48]. Выявлено, что введение BDNF в остром постишемическом периоде после окклюзии средней мозговой артерии у крыс способствует уменьшению зоны инфаркта и снижению неврологического дефицита [29, 49]. Установлено, что интраназальное применение BDNF приводит к увеличению его уровня в ткани

and cerebellum was observed after bilateral occlusion of the common carotid artery [39]. It has been also shown that the temporary occlusion of the middle cerebral artery in rats causes a decrease in the levels of BDNF mRNA and protein followed by the development of learning and memory disruptions [44]. Interestingly, the authors associate the positive effect of triiodothyronine, which leads to the restoration of ischemia-induced learning and memory disruptions, with a sharp increase in the levels of BDNF mRNA and protein. A decline of the BDNF expression level was also shown in the experiments that employed brain injury models [45].

Our findings allowed us to establish a fact of association of the reduced BDNF expression with the process of neuronal death. Only non-expressing or weakly-expressing cells appeared to be exposed to post-ischemic death. Consequently, the ability to actively express BDNF is one of the important factors that determine the neuron's resistance to death after ischemia-reperfusion. The importance of BDNF for brain protection in ischemia is actively discussed [46, 47]. An intraventricular infusion of BDNF was shown to prevent the loss of CA1 hippocampal neurons after a global cerebral ischemia caused by the four-vessels occlusion in rats [48]. It was found that an administration of BDNF in the acute post-ischemic period after occlusion of the middle cerebral artery in rats helped to diminish the infarct area and to reduce the neurological deficit [29, 49]. An intranasal administration of BDNF was found to increase the BDNF level in brain tissue, which was accompanied by a decrease in the number of damaged neurons [35].

Interestingly, the effectiveness of a number of influences that protect the brain in ischemia, such as hypothermia [50], hyperbaric oxygenation [51], and progesterone administration [52, 53], is usually explained by an increase in the level of BDNF. It is also believed that the positive effect of drugs on the structural and functional state of the brain in the models of Alzheimer's disease is due to an increase in the BDNF content [54, 55]. It has also been established that physical activity increases the level of BDNF expression in the brain and improves structural and functional state of the brain after ischemia [56–58].

The neuroprotective effect of BDNF is caused by its anti-apoptotic, anti-inflammatory, and anti-cytotoxic properties [59–64, 46, 35, 55]. It has been also shown that BDNF promotes DNA repair under oxidative stress [24].

Unfortunately, the use of BDNF in the case of exogenous administration is substantially limited by weak penetration through the blood-brain barrier, short half-life in blood plasma, and side effects [65, 66, 14]. Creating various transport pathways to deliver BDNF into the brain would solve these problems partially [67–69]. In addition, low molecular

мозга, что сопровождается снижением числа поврежденных нейронов [35].

Интересно, что эффективность ряда воздействий, защищающих мозг при ишемии — гипотермия [50], гипербарическая оксигенация [51], действие прогестерона [52, 53] — связывают с увеличением уровня BDNF. Полагают, что и при моделировании болезни Альцгеймера положительное влияние препаратов на структурно-функциональное состояние мозга обусловлено увеличением содержания BDNF [54, 55]. Установлено также, что физическая нагрузка повышает уровень экспрессии BDNF в мозге и улучшает его структурно-функциональное состояние после ишемии [56–58].

Нейропротективное действие BDNF обусловлено его антиапоптотическими, противовоспалительными, а также антицитотоксическими свойствами [59–64, 46, 35, 55]. Показано также, что BDNF способствует усилению репарации ДНК при окислительном стрессе [24].

К сожалению, использование BDNF при его экзогенном введении существенно ограничивается слабым проникновением через гематоэнцефалический барьер, коротким временем полураспада в плазме крови, а также наличием побочных эффектов [65, 66, 14]. Частично решить эти проблемы позволяет создание различных транспортных систем для доставки BDNF в мозг [67–69]. Кроме того, разрабатываются низкомолекулярные миметики BDNF, обладающие его эффективностью, но лишённые побочных эффектов [70, 71]. В частности показано, что применение миметиков BDNF (дипептиды GSB-106 и GSB-214) способствует уменьшению размеров инфаркта и коррекции нарушений поведения крыс, перенесших временную очаговую ишемию мозга (окклюзия средней мозговой артерии) [72].

Одним из наиболее перспективных направлений при разработке подходов к защите мозга является поиск возможностей стимуляции эндогенных нейропротективных факторов и их рецепторов [8, 73]. Такая стратегия защиты мозга оценивается как чрезвычайно актуальная [74, 75]. Обсуждается потенциал фармакологических средств и миметиков для активации эндогенной выработки BDNF [14]. Показана возможность активации экспрессии BDNF *in vitro* и при использовании новых BDNF-модулирующих пептидов (Neuropep-1, Neuropep-4) [76]. Установлено также, что активировать эндогенный BDNF можно путем снижения активности фактора транскрипции EGR1 [77].

Известно также, что нейротрофины могут влиять на экспрессию других нейротрофинов, участвуя в ее регуляции [78, 79]. Показано, в частности, что применение миметика цилиарного нейротрофического фактора (CNTF) при моделировании болезни Альцгеймера активирует экс-

weight mimetics of BDNF are developed. They have the same efficacy, but have no side effects [70, 71]. For example, it has been shown that the use of BDNF mimetics (dipeptides GSB-106 and GSB-214) contributes to a decrease in the infarct area and helps to correct the behavior disturbances in rats, which underwent temporary focal cerebral ischemia (a model of middle cerebral artery occlusion) [72].

One of the most promising directions in the development of approaches to brain protection is a search for possibilities of induction of the endogenous neuroprotective factors and their receptors [8, 73]. This strategy of brain protection is assessed as extremely topical [75, 76]. The potential of pharmacological agents and mimetics for activation of endogenous production of BDNF is discussed [14]. The possibility of launching the BDNF expression *in vitro* has been also shown after the use of new BDNF-modulating peptides (Neuropep-1, Neuropep-4) [76]. It has also been established that an activation of endogenous BDNF synthesis can be achieved by reducing the activity of EGR1 transcription factor [77].

It is also known that neurotrophins may affect the expression of other neurotrophins by participating in its regulation [78, 79]. For example, the use of a ciliary neurotrophic factor (CNTF) mimetic in an Alzheimer's disease model was shown to activate the BDNF expression thus underpinning the effectiveness of this drug [65]. Recently, the ability of the nerve growth factor isolated from tears has been shown to enhance the BDNF expression [80]. In rats with experimental diabetes, this influence resulted in an increase in the BDNF content in the tissue of the prefrontal cortex and reduced the severity of brain dysfunction.

One of the possibilities for stimulating the level of expression of the endogenous BDNF in postresuscitative period was revealed earlier when using the dipeptide mimetic of the nerve growth factor GK2 [81]. It was found that GK2 launched BDNF expression in those cells which had not previously produced this factor, thus preventing their death. It should be emphasized that the use of GK2 did not affect the level of expression of other neuroprotective factors under study — FGFb and NT4. Therefore, one can assume that the activation of BDNF expression contributed to the prevention of a postresuscitative neuron loss. These facts argue for the association between the level of BDNF expression and the resistance of neurons to death after ischemia-reperfusion.

Conclusion

In general, our findings indicate the existence of an interrelation between the shifts in BDNF expression and the postresuscitative neuronal death.

прессию BDNF, с чем связывают эффективность этого препарата [65]. Недавно была показана способность фактора роста нервов, выделенного из слез, усиливать экспрессию BDNF [80]. У крыс с экспериментальным диабетом это воздействие приводило к увеличению содержания BDNF в ткани префронтальной коры и уменьшало выраженность нарушений функции мозга.

Одна из возможностей стимуляции уровня экспрессии эндогенного BDNF в постреанимационном периоде была выявлена нами ранее при применении дипептидного миметика фактора роста нервов ГК2 [81]. Установлено, что ГК2 инициирует экспрессию BDNF в клетках, ранее не вырабатывающих этот фактор, что позволяет предотвратить их гибель. Следует подчеркнуть, что применение ГК2 не влияло на уровень экспрессии других исследованных нейропротективных факторов — FGFb и NT4. Следовательно, можно полагать, что именно активация экспрессии BDNF способствовала предупреждению постреанимационной гибели нейронов. Эти факты подтверждают наличие взаимосвязи между уровнем экспрессии BDNF и устойчивостью нейронов к гибели после ишемии-реперфузии.

Заключение

В целом результаты настоящей работы свидетельствуют о наличии взаимосвязи между

It was established that only cells expressing weakly or no BDNF were prone to neuronal death. The results suggest that the activation of BDNF expression contributes to preventing the postresuscitation neural loss. These facts confirm linking of BDNF expression and resistance of neurons to death after ischemia-reperfusion.

The authors are grateful to T. N. Vasilieva for carrying out the experiments on animal resuscitation.

сдвигами экспрессии BDNF и постреанимационной гибелью нейронов. Установлено, что гибели подвергаются только неэкспрессирующие и слабо экспрессирующие BDNF клетки. Полученные результаты дают основание полагать, что уровень экспрессии BDNF является одним из важных факторов, оказывающих существенное влияние на устойчивость нейронов к ишемии-реперфузии. Это обуславливает перспективность дальнейшего поиска возможностей активации его экспрессии для патогенетически обоснованной защиты мозга.

Авторы приносят благодарность Т. Н. Васильевой за проведение экспериментов по реанимации животных.

Литература

1. Аврущенко М.Ш., Мороз В.В., Острова И.В. Постреанимационные изменения мозга на уровне нейрональных популяций: закономерности и механизмы. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (4): 69-78. DOI: 10.15360/1813-9779-2012-4-69
2. Аврущенко М.Ш., Острова И.В., Волков А.В., Заржецкий Ю.В. Постреанимационные изменения морфофункционального состояния нервных клеток: значение в патогенезе энцефалопатий. *Общая реаниматология*. 2006; 2 (5-6): 85-97. DOI: 10.15360/1813-9779-2006-6-85-96
3. Острова И.В., Аврущенко М.Ш. Экспрессия мозгового нейротрофического фактора (BDNF) повышает устойчивость нейронов к гибели в постреанимационном периоде. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (3): 45-53. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-3-45-53
4. Острова И.В., Мороз В.В., Аврущенко М.Ш. Значение иммуногистохимических исследований белков теплового шока семейства HSP70 для изучения постреанимационных изменений мозга. *Общая реаниматология*. 2007; 3 (6): 91-96. DOI: 10.15360/1813-9779-2007-6-91-96
5. Острова И.В., Аврущенко М.Ш., Волков А.В. Взаимосвязь уровня экспрессии белка GRP78 с выраженностью постишемического повреждения гиппокампа у крыс разного пола. *Общая реаниматология*. 2011; 7 (6): 28-33. DOI: 10.15360/1813-9779-2011-6-28
6. Аврущенко М.Ш., Острова И.В., Волков А.В. Постреанимационные изменения экспрессии глialного нейротрофического фактора (GDNF): взаимосвязь с повреждением клеток Пуркинье мозжечка (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2014; 10 (5): 59-68. DOI: 10.15360/1813-9779-2014-5-59-68
7. Аврущенко М.Ш., Острова И.В. Значение основного фактора роста фибробластов (bFGF) в развитии постреанимационных изменений популяции клеток Пуркинье мозжечка. *Общая реаниматология*. 2016; 12 (1): 8-15. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-1-8-15
8. Larphaveesarp A., Ferriero D.M., Gonzalez F.F. Growth factors for the treatment of ischemic brain injury (growth factor treatment). *Brain Sci*. 2015; 5 (2): 165-177. DOI: 10.3390/brainsci5020165. PMID: 25942688
9. Kimura A., Namekata K., Guo X., Harada C., Harada T. Neuroprotection, growth factors and BDNF-TrkB signalling in retinal

References

1. Avrushchenko M.Sh., Moroz V.V., Ostrova I.V. Postresuscitation changes in the brain at the level of neuronal populations: patterns and mechanisms. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2012; 8 (4): 69-78. DOI: 10.15360/1813-9779-2012-4-69. [In Russ., In Engl.]
2. Avrushchenko M.Sh., Ostrova I.V., Volkov A.V., Zarzhetsky Yu.V. Postresuscitative changes in the morphofunctional state of nerve cells: implication in the pathogenesis of encephalopathies. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2006; 2 (5-6): 85-97. DOI: 10.15360/1813-9779-2006-6-85-96. [In Russ., In Engl.]
3. Ostrova I.V., Avrushchenko M.S. Expression of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) increases the resistance of neurons to death in the postresuscitation period. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2015; 11 (3): 45-53. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-3-45-53. [In Russ., In Engl.]
4. Ostrova I.V., Moroz V.V., Avrushchenko M.Sh. Significance of immunohistochemical studies of heat shock proteins of the HSP70 family in the investigation of postresuscitative brain changes. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2007; 3 (5-6): 91-96. DOI: 10.15360/1813-9779-2007-6-91-96. [In Russ., In Engl.]
5. Ostrova I.V., Avrushchenko M.Sh., Volkov A.V. Association of GRP78 protein expression with the degree of postischemic hippocampal damage in rats of both sexes. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2011; 7 (6): 28-33. DOI: 10.15360/1813-9779-2011-6-28. [In Russ., In Engl.]
6. Avrushchenko M.Sh., Ostrova I.V., Volkov A.V. Postresuscitation changes in the expression of GlialDerived Neurotrophic Factor (GDNF): association with cerebellar Purkinje cell damage (an experimental study). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2014; 10 (5): 59-68. DOI: 10.15360/1813-9779-2014-5-59-68. [In Russ., In Engl.]
7. Avrushchenko M.Sh., Ostrova I.V. Significance of Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) in the development of postresuscitation changes in population of cerebellar Purkinje cells. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2016; 12 (1): 8-15. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-1-8-15. [In Russ., In Engl.]
8. Larphaveesarp A., Ferriero D.M., Gonzalez F.F. Growth factors for the treatment of ischemic brain injury (growth factor treatment). *Brain*

Experimental Studies

- degeneration. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17 (9): pii: E1584. DOI: 10.3390/ijms17091584. PMID: 27657046
10. Gray J.D., Milner T.A., McEwen B.S. Dynamic plasticity: the role of glucocorticoids, brain-derived neurotrophic factor and other trophic factors. *Neuroscience*. 2013; 239: 214-227. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012.08.034. PMID: 22922121
 11. Hempstead B.L. Brain-derived neurotrophic factor: three ligands, many actions. *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.* 2015; 126: 9-19. PMID: 26330656
 12. Bowling H., Bhattacharya A., Klann E., Chao M.V. Deconstructing brain-derived neurotrophic factor actions in adult brain circuits to bridge an existing informational gap in neuro-cell biology. *Neural Regen. Res.* 2016; 11 (3): 363-367. DOI: 10.4103/1673-5374.179031. PMID: 27127458
 13. Garraway S.M., Huie J.R. Spinal plasticity and behavior: BDNF-induced neuromodulation in uninjured and injured spinal cord. *Neural Plast.* 2016; 2016: 9857201. DOI: 10.1155/2016/9857201. PMID: 27721996
 14. Berretta A., Tzeng Y.C., Clarkson A.N. Post-stroke recovery: the role of activity-dependent release of brain-derived neurotrophic factor. *Expert Rev. Neurother.* 2014; 14 (11): 1335-1344. DOI: 10.1586/14737175.2014.969242. PMID: 25319267
 15. Blondeau N., Lipsky R.H., Bourourou M., Duncan M.W., Gorelick P.B., Marini A.M. Alpha-linolenic acid: an omega-3 fatty acid with neuro-protective properties-ready for use in the stroke clinic? *Biomed. Res. Int.* 2015; 2015: 519830. DOI: 10.1155/2015/519830. PMID: 25789320
 16. Budni J., Belletini-Santos T., Mina F., Garcez M.L., Zugno A.I. The involvement of BDNF, NGF and GDNF in aging and Alzheimer's disease. *Aging Dis.* 2015; 6 (5): 331-341. DOI: 10.14336/AD.2015.0825. PMID: 26425388
 17. Khalin I., Alyautdin R., Kocherga G., Bakar M.A. Targeted delivery of brain-derived neurotrophic factor for the treatment of blindness and deafness. *Int. J. Nanomedicine*. 2015; 10: 3245-3267. DOI: 10.2147/IJN.S77480. PMID: 25995632
 18. Dincheva I., Lynch N.B., Lee F.S. The role of BDNF in the development of fear learning. *Depress. Anxiety*. 2016; 33 (10): 907-916. DOI: 10.1002/da.22497. PMID: 27699937
 19. Liu C., Chan C.B., Ye K. 7,8-dihydroxyflavone, a small molecular TrkB agonist, is useful for treating various BDNF-implicated human disorders. *Transl. Neurodegener.* 2016; 5: 2. DOI: 10.1186/s40035-015-0048-7. PMID: 26740873
 20. Blaha G.R., Raghupathi R., Saatman K.E., McIntosh T.K. Brain-derived neurotrophic factor administration after traumatic brain injury in the rat does not protect against behavioral or histological deficits. *Neuroscience*. 2000; 99 (3): 483-493. DOI: 10.1016/S0306-4522(00)00214-1. PMID: 11029540
 21. Hoshaw B.A., Malberg J.E., Lucki I. Central administration of IGF-I and BDNF leads to long-lasting antidepressant-like effects. *Brain Res.* 2005; 1037 (1-2): 204-208. DOI: 10.1016/j.brainres.2005.01.007. PMID: 15777771
 22. Nagahara A.H., Merrill D.A., Coppola G., Tsukada S., Schroeder B.E., Shaked G.M., Wang L., Blesch A., Kim A., Conner J.M., Rockenstein E., Chao M.V., Koo E.H., Geschwind D., Masliah E., Chiba A.A., Tuszynski M.H. Neuroprotective effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent and primate models of Alzheimer's disease. *Nat. Med.* 2009; 15 (3): 331-337. DOI: 10.1038/nm.1912. PMID: 19198615
 23. Makar T.K., Bever C.T., Singh I.S., Royal W., Sahu S.N., Sura T.P., Sultana S., Sura K.T., Patel N., Dhib-Jalbut S., Trisler D. Brain-derived neurotrophic factor gene delivery in an animal model of multiple sclerosis using bone marrow stem cells as a vehicle. *J. Neuroimmunol.* 2009; 210 (1-2): 40-51. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2009.02.017. PMID: 19361871
 24. Yang J.L., Lin Y.T., Chuang P.C., Bohr V.A., Mattson M.P. BDNF and exercise enhance neuronal DNA repair by stimulating CREB-mediated production of apurinic/aprimidinic endonuclease. *Neuromolecular Med.* 2014; 16 (1): 161-174. DOI: 10.1007/s12017-013-8270-x. PMID: 24114393
 25. Otis J.M., Fitzgerald M.K., Mueller D. Infralimbic BDNF/TrkB enhancement of GluN2B currents facilitates extinction of a cocaine-conditioned place preference. *J. Neurosci.* 2014; 34 (17): 6057-6064. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4980-13.2014. PMID: 24760865
 26. Koeva Y.A., Sivkov S.T., Akabaliev V.H., Ivanova R.Y., Deneva T.I., Grozleikova L.S., Georgieva V. Brain-derived neurotrophic factor and its serum levels in schizophrenic patients. *Folia. Med. (Plovdiv)*. 2014; 56 (1): 20-23. DOI: 10.2478/folmed-2014-0003. PMID: 24812918
 27. Dong E., Dzitojeva S.G., Matriciano F., Tueting P., Grayson D.R., Guidotti A. Brain-derived neurotrophic factor epigenetic modifications associated with schizophrenia-like phenotype induced by prenatal stress in mice. *Biol. Psychiatry*. 2015; 77 (6): 589-596. DOI: 10.1016/j.biopsych.2014.08.012. PMID: 25444166
 28. Deng P., Torrest A., Pollock K., Dahlenburg H., Annett G., Nolte J.A., Fink K.D. Clinical trial perspective for adult and juvenile Huntington's dis-
 - Sci. 2015; 5 (2): 165-177. DOI: 10.3390/brainsci5020165. PMID: 25942688
 9. Kimura A., Namekata K., Guo X., Harada C., Harada T. Neuroprotection, growth factors and BDNF-TrkB signalling in retinal degeneration. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17 (9): pii: E1584. DOI: 10.3390/ijms17091584. PMID: 27657046
 10. Gray J.D., Milner T.A., McEwen B.S. Dynamic plasticity: the role of glucocorticoids, brain-derived neurotrophic factor and other trophic factors. *Neuroscience*. 2013; 239: 214-227. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012.08.034. PMID: 22922121
 11. Hempstead B.L. Brain-derived neurotrophic factor: three ligands, many actions. *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.* 2015; 126: 9-19. PMID: 26330656
 12. Bowling H., Bhattacharya A., Klann E., Chao M.V. Deconstructing brain-derived neurotrophic factor actions in adult brain circuits to bridge an existing informational gap in neuro-cell biology. *Neural Regen. Res.* 2016; 11 (3): 363-367. DOI: 10.4103/1673-5374.179031. PMID: 27127458
 13. Garraway S.M., Huie J.R. Spinal plasticity and behavior: BDNF-induced neuromodulation in uninjured and injured spinal cord. *Neural Plast.* 2016; 2016: 9857201. DOI: 10.1155/2016/9857201. PMID: 27721996
 14. Berretta A., Tzeng Y.C., Clarkson A.N. Post-stroke recovery: the role of activity-dependent release of brain-derived neurotrophic factor. *Expert Rev. Neurother.* 2014; 14 (11): 1335-1344. DOI: 10.1586/14737175.2014.969242. PMID: 25319267
 15. Blondeau N., Lipsky R.H., Bourourou M., Duncan M.W., Gorelick P.B., Marini A.M. Alpha-linolenic acid: an omega-3 fatty acid with neuro-protective properties-ready for use in the stroke clinic? *Biomed. Res. Int.* 2015; 2015: 519830. DOI: 10.1155/2015/519830. PMID: 25789320
 16. Budni J., Belletini-Santos T., Mina F., Garcez M.L., Zugno A.I. The involvement of BDNF, NGF and GDNF in aging and Alzheimer's disease. *Aging Dis.* 2015; 6 (5): 331-341. DOI: 10.14336/AD.2015.0825. PMID: 26425388
 17. Khalin I., Alyautdin R., Kocherga G., Bakar M.A. Targeted delivery of brain-derived neurotrophic factor for the treatment of blindness and deafness. *Int. J. Nanomedicine*. 2015; 10: 3245-3267. DOI: 10.2147/IJN.S77480. PMID: 25995632
 18. Dincheva I., Lynch N.B., Lee F.S. The role of BDNF in the development of fear learning. *Depress. Anxiety*. 2016; 33 (10): 907-916. DOI: 10.1002/da.22497. PMID: 27699937
 19. Liu C., Chan C.B., Ye K. 7,8-dihydroxyflavone, a small molecular TrkB agonist, is useful for treating various BDNF-implicated human disorders. *Transl. Neurodegener.* 2016; 5: 2. DOI: 10.1186/s40035-015-0048-7. PMID: 26740873
 20. Blaha G.R., Raghupathi R., Saatman K.E., McIntosh T.K. Brain-derived neurotrophic factor administration after traumatic brain injury in the rat does not protect against behavioral or histological deficits. *Neuroscience*. 2000; 99 (3): 483-493. DOI: 10.1016/S0306-4522(00)00214-1. PMID: 11029540
 21. Hoshaw B.A., Malberg J.E., Lucki I. Central administration of IGF-I and BDNF leads to long-lasting antidepressant-like effects. *Brain Res.* 2005; 1037 (1-2): 204-208. DOI: 10.1016/j.brainres.2005.01.007. PMID: 15777771
 22. Nagahara A.H., Merrill D.A., Coppola G., Tsukada S., Schroeder B.E., Shaked G.M., Wang L., Blesch A., Kim A., Conner J.M., Rockenstein E., Chao M.V., Koo E.H., Geschwind D., Masliah E., Chiba A.A., Tuszynski M.H. Neuroprotective effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent and primate models of Alzheimer's disease. *Nat. Med.* 2009; 15 (3): 331-337. DOI: 10.1038/nm.1912. PMID: 19198615
 23. Makar T.K., Bever C.T., Singh I.S., Royal W., Sahu S.N., Sura T.P., Sultana S., Sura K.T., Patel N., Dhib-Jalbut S., Trisler D. Brain-derived neurotrophic factor gene delivery in an animal model of multiple sclerosis using bone marrow stem cells as a vehicle. *J. Neuroimmunol.* 2009; 210 (1-2): 40-51. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2009.02.017. PMID: 19361871
 24. Yang J.L., Lin Y.T., Chuang P.C., Bohr V.A., Mattson M.P. BDNF and exercise enhance neuronal DNA repair by stimulating CREB-mediated production of apurinic/aprimidinic endonuclease. *Neuromolecular Med.* 2014; 16 (1): 161-174. DOI: 10.1007/s12017-013-8270-x. PMID: 24114393
 25. Otis J.M., Fitzgerald M.K., Mueller D. Infralimbic BDNF/TrkB enhancement of GluN2B currents facilitates extinction of a cocaine-conditioned place preference. *J. Neurosci.* 2014; 34 (17): 6057-6064. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4980-13.2014. PMID: 24760865
 26. Koeva Y.A., Sivkov S.T., Akabaliev V.H., Ivanova R.Y., Deneva T.I., Grozleikova L.S., Georgieva V. Brain-derived neurotrophic factor and its serum levels in schizophrenic patients. *Folia. Med. (Plovdiv)*. 2014; 56 (1): 20-23. DOI: 10.2478/folmed-2014-0003. PMID: 24812918
 27. Dong E., Dzitojeva S.G., Matriciano F., Tueting P., Grayson D.R., Guidotti A. Brain-derived neurotrophic factor epigenetic modifications associated with schizophrenia-like phenotype induced by prenatal stress in mice. *Biol. Psychiatry*. 2015; 77 (6): 589-596. DOI: 10.1016/j.biopsych.2014.08.012. PMID: 25444166
 28. Deng P., Torrest A., Pollock K., Dahlenburg H., Annett G., Nolte J.A., Fink K.D. Clinical trial perspective for adult and juvenile Huntington's dis-

- ease using genetically-engineered mesenchymal stem cells. *Neural Regen. Res.* 2016; 11(5): 702-705. DOI: 10.4103/1673-5374.182682. PMID: 27335539
29. Schåbitz W.R., Sommer C., Zoder W., Kiessling M., Schwaninger M., Schwab S. Intravenous brain-derived neurotrophic factor reduces infarct size and counterregulates Bax and Bcl-2 expression after temporary focal cerebral ischemia. *Stroke.* 2000; 31 (9): 2212-2217. DOI: 10.1161/01.STR.31.9.2212. PMID: 10978054
 30. Schåbitz W.R., Steigleder T., Cooper-Kuhn C.M., Schwab S., Sommer C., Schneider A., Kuhn H.G. Intravenous brain-derived neurotrophic factor enhances poststroke sensorimotor recovery and stimulates neurogenesis. *Stroke.* 2007; 38 (7): 2165-2172. DOI: 10.1161/STROKEA-HA.106.477331. PMID: 17510456
 31. Ferrer I., Krupinski J., Goutan E., Martí E., Ambrosio S., Arenas E. Brain-derived neurotrophic factor reduces cortical cell death by ischemia after middle cerebral artery occlusion in the rat. *Acta Neuropathol.* 2001; 101 (3): 229-238. PMID: 11307622
 32. Kurozumi K., Nakamura K., Tamiya T., Kawano Y., Kobune M., Hirai S., Uchida H., Sasaki K., Ito Y., Kato K., Honmou O., Houkin K., Date I., Hamada H. BDNF gene-modified mesenchymal stem cells promote functional recovery and reduce infarct size in the rat middle cerebral artery occlusion model. *Mol. Ther.* 2004; 9 (2): 189-197. DOI: 10.1016/j.ymthe.2003.10.012. PMID: 14759803
 33. Zhang Y., Qiu B., Wang J., Yao Y., Wang C., Liu J. Effects of BDNF-transfected BMSCs on neural functional recovery and synaptophysin expression in rats with cerebral infarction. *Mol. Neurobiol.* 2017; 54 (5): 3813-3824. DOI: 10.1007/s12035-016-9946-7. PMID: 27282770
 34. MacLellan C.L., Keough M.B., Granter-Button S., Chernenko G.A., Butt S., Corbett D. Acritical threshold of rehabilitation involving brain-derived neurotrophic factor is required for poststroke recovery. *Neurorehabil. Neural. Repair.* 2011; 25 (8): 740-748. DOI: 10.1177/1545968311407517. PMID: 21705652
 35. Jiang Y., Wei N., Lu T., Zhu J., Xu G., Liu X. Intranasal brain-derived neurotrophic factor protects brain from ischemic insult via modulating local inflammation in rats. *Neuroscience.* 2011; 172: 398-405. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2010.10.054. PMID: 21034794
 36. van Velthoven C.T., Sheldon R.A., Kavelaars A., Derugin N., Vexler Z.S., Willemen H.L., Maas M., Heijnen C.J., Ferriero D.M. Mesenchymal stem cell transplantation attenuates brain injury after neonatal stroke. *Stroke.* 2013; 44 (5): 1426-1432. DOI: 10.1161/STROKEA-HA.111.000326. PMID: 23539530
 37. Miyake K., Yamamoto W., Tadokoro M., Takagi N., Sasakawa K., Nitta A., Furukawa S., Takeo S. Alterations in hippocampal GAP-43, BDNF, and L1 following sustained cerebral ischemia. *Brain Res.* 2002; 935 (1-2): 24-31. DOI: 10.1016/S0006-8993(02)02420-4. PMID: 12062469
 38. Uchida H., Yokoyama H., Kimoto H., Kato H., Araki T. Long-term changes in the ipsilateral substantia nigra after transient focal cerebral ischaemia in rats. *Int. J. Exp. Pathol.* 2010; 91 (3): 256-266. DOI: 10.1111/j.1365-2613.2010.00712.x. PMID: 20353427
 39. Ставчанский В.В., Творогова Т.В., Боцина А.Ю., Скворцова В.И., Лимборская С.А., Масюков Н.Ф., Дергунова Л.В. Семас и его C-концевой фрагмент PGP влияют на экспрессию генов нейротрофинов и их рецепторов в условиях неполной глобальной ишемии мозга крыс. *Молекулярная биология.* 2011; 45 (6): 1026-1035. PMID: 22295573
 40. Shu X., Zhang Y., Xu H., Kang K., Cai D. Brain-derived neurotrophic factor inhibits glucose intolerance after cerebral ischemia. *Neural Regen. Res.* 2013; 8 (25): 2370-2378. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5374.2013.25.008. PMID: 25206547
 41. Корпачев В.Г., Лысенков С.П., Тель Л.З. Моделирование клинической смерти и постреанимационной болезни у крыс. *Патол. физиология и эксперим. терапия.* 1982; 3: 78-80. PMID: 7122145
 42. Аврущенко М.Ш., Саморукова В.В., Мороз В.В., Волков А.В., Назаренко И.В., Горенкова Н.А. Развитие постреанимационных морфологических изменений нейронов гиппокампа и мозжечка: общие закономерности и особенности. *Патол. физиология и эксперим. терапия.* 2003; 2: 27-30. PMID: 12838772
 43. Lee T.H., Yang J.T., Ko Y.S., Kato H., Itoyama 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; 1187: 1-11. DOI: 10.1016/j.brainres.2007.09.078. PMID: 18036511
 44. Mokhtari T., Akbari M., Malek F., Kashani I.R., Rastegar T., Noorbakhsh F., Ghazi-Khansari M., Attari F., Hassanzadeh G. Improvement of memory and learning by intracerebroventricular microinjection of T3 in rat model of ischemic brain stroke mediated by upregulation of BDNF and GDNF in CA1 hippocampal region. *Daru.* 2017; 25 (1): 4. DOI: 10.1186/s40199-017-0169-x. PMID: 28202057
 45. Impellizzeri D., Campolo M., Bruschetta G., Crupi R., Cordaro M., Paterniti I., Cuzzocrea S., Esposito E. Traumatic brain injury leads to development of Parkinson's disease related pathology in mice. *Front. Neurosci.* 2016; 10: 458. DOI: 10.3389/fnins.2016.00458. PMID: 27790086
 - stress in mice. *Biol. Psychiatry.* 2015; 77 (6): 589-596. DOI: 10.1016/j.biopsych.2014.08.012. PMID: 25444166
 28. Deng P., Torrest A., Pollock K., Dahlenburg H., Annett G., Nolte J.A., Fink K.D. Clinical trial perspective for adult and juvenile Huntington's disease using genetically-engineered mesenchymal stem cells. *Neural Regen. Res.* 2016; 11(5): 702-705. DOI: 10.4103/1673-5374.182682. PMID: 27335539
 29. Schåbitz W.R., Sommer C., Zoder W., Kiessling M., Schwaninger M., Schwab S. Intravenous brain-derived neurotrophic factor reduces infarct size and counterregulates Bax and Bcl-2 expression after temporary focal cerebral ischemia. *Stroke.* 2000; 31 (9): 2212-2217. DOI: 10.1161/01.STR.31.9.2212. PMID: 10978054
 30. Schåbitz W.R., Steigleder T., Cooper-Kuhn C.M., Schwab S., Sommer C., Schneider A., Kuhn H.G. Intravenous brain-derived neurotrophic factor enhances poststroke sensorimotor recovery and stimulates neurogenesis. *Stroke.* 2007; 38 (7): 2165-2172. DOI: 10.1161/STROKEA-HA.106.477331. PMID: 17510456
 31. Ferrer I., Krupinski J., Goutan E., Martí E., Ambrosio S., Arenas E. Brain-derived neurotrophic factor reduces cortical cell death by ischemia after middle cerebral artery occlusion in the rat. *Acta Neuropathol.* 2001; 101 (3): 229-238. PMID: 11307622
 32. Kurozumi K., Nakamura K., Tamiya T., Kawano Y., Kobune M., Hirai S., Uchida H., Sasaki K., Ito Y., Kato K., Honmou O., Houkin K., Date I., Hamada H. BDNF gene-modified mesenchymal stem cells promote functional recovery and reduce infarct size in the rat middle cerebral artery occlusion model. *Mol. Ther.* 2004; 9 (2): 189-197. DOI: 10.1016/j.ymthe.2003.10.012. PMID: 14759803
 33. Zhang Y., Qiu B., Wang J., Yao Y., Wang C., Liu J. Effects of BDNF-transfected BMSCs on neural functional recovery and synaptophysin expression in rats with cerebral infarction. *Mol. Neurobiol.* 2017; 54 (5): 3813-3824. DOI: 10.1007/s12035-016-9946-7. PMID: 27282770
 34. MacLellan C.L., Keough M.B., Granter-Button S., Chernenko G.A., Butt S., Corbett D. Acritical threshold of rehabilitation involving brain-derived neurotrophic factor is required for poststroke recovery. *Neurorehabil. Neural. Repair.* 2011; 25 (8): 740-748. DOI: 10.1177/1545968311407517. PMID: 21705652
 35. Jiang Y., Wei N., Lu T., Zhu J., Xu G., Liu X. Intranasal brain-derived neurotrophic factor protects brain from ischemic insult via modulating local inflammation in rats. *Neuroscience.* 2011; 172: 398-405. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2010.10.054. PMID: 21034794
 36. van Velthoven C.T., Sheldon R.A., Kavelaars A., Derugin N., Vexler Z.S., Willemen H.L., Maas M., Heijnen C.J., Ferriero D.M. Mesenchymal stem cell transplantation attenuates brain injury after neonatal stroke. *Stroke.* 2013; 44 (5): 1426-1432. DOI: 10.1161/STROKEA-HA.111.000326. PMID: 23539530
 37. Miyake K., Yamamoto W., Tadokoro M., Takagi N., Sasakawa K., Nitta A., Furukawa S., Takeo S. Alterations in hippocampal GAP-43, BDNF, and L1 following sustained cerebral ischemia. *Brain Res.* 2002; 935 (1-2): 24-31. DOI: 10.1016/S0006-8993(02)02420-4. PMID: 12062469
 38. Uchida H., Yokoyama H., Kimoto H., Kato H., Araki T. Long-term changes in the ipsilateral substantia nigra after transient focal cerebral ischaemia in rats. *Int. J. Exp. Pathol.* 2010; 91 (3): 256-266. DOI: 10.1111/j.1365-2613.2010.00712.x. PMID: 20353427
 39. Ставчанский В.В., Творогова Т.В., Боцина А.Ю., Скворцова В.И., Лимборская С.А., Масюков Н.Ф., Дергунова Л.В. Семас и его C-концевой фрагмент PGP влияют на экспрессию генов нейротрофинов и их рецепторов в условиях неполной глобальной ишемии мозга крыс. *Молекулярная биология.* 2011; 45 (6): 1026-1035. PMID: 22295573
 40. Shu X., Zhang Y., Xu H., Kang K., Cai D. Brain-derived neurotrophic factor inhibits glucose intolerance after cerebral ischemia. *Neural Regen. Res.* 2013; 8 (25): 2370-2378. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5374.2013.25.008. PMID: 25206547
 41. Корпачев В.Г., Лысенков С.П., Тель Л.З. Моделирование клинической смерти и постреанимационной болезни у крыс. *Патол. физиология и эксперим. терапия.* 1982; 3: 78-80. PMID: 7122145
 42. Аврущенко М.Ш., Саморукова В.В., Мороз В.В., Волков А.В., Назаренко И.В., Горенкова Н.А. Развитие постреанимационных морфологических изменений нейронов гиппокампа и мозжечка: общие закономерности и особенности. *Патол. физиология и эксперим. терапия.* 2003; 2: 27-30. PMID: 12838772
 43. Lee T.H., Yang J.T., Ko Y.S., Kato H., Itoyama 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; 1187: 1-11. DOI: 10.1016/j.brainres.2007.09.078. PMID: 18036511
 44. Mokhtari T., Akbari M., Malek F., Kashani I.R., Rastegar T., Noorbakhsh F., Ghazi-Khansari M., Attari F., Hassanzadeh G. Improvement of memory and learning by intracerebroventricular microinjection of T3 in rat model of ischemic brain stroke mediated by upregulation of BDNF and GDNF in CA1 hippocampal region. *Daru.* 2017; 25 (1): 4. DOI: 10.1186/s40199-017-0169-x. PMID: 28202057
 45. Impellizzeri D., Campolo M., Bruschetta G., Crupi R., Cordaro M., Paterniti I., Cuzzocrea S., Esposito E. Traumatic brain injury leads to development of Parkinson's disease related pathology in mice. *Front. Neurosci.* 2016; 10: 458. DOI: 10.3389/fnins.2016.00458. PMID: 27790086

Experimental Studies

46. Chen A.I., Xiong L.J., Tong Y.U., Mao M. The neuroprotective roles of BDNF in hypoxic ischemic brain injury. *Biomed. Rep.* 2013; 1 (2): 167-176. DOI: 10.3892/br.2012.48. PMID: 24648914
47. Ploughman M., Windle V., MacLellan C.L., White N., Doré J.J., Corbett D. Brain-derived neurotrophic factor contributes to recovery of skilled reaching after focal ischemia in rats. *Stroke.* 2009; 40 (4): 1490-1495. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.531806. PMID: 19164786
48. Kiprianova I., Freiman T.M., Desiderato S., Schwab S., Galmbacher R., Gillardon F., Spranger M. Brain-derived neurotrophic factor prevents neuronal death and glial activation after global ischemia in the rat. *J. Neurosci. Res.* 1999; 56 (1): 21-27. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4547(19990401)56:1<21::AID-JNR3>3.0.CO;2-Q. PMID: 10213471
49. Zhang Y., Pardridge W.M. Blood-brain barrier targeting of BDNF improves motor function in rats with middle cerebral artery occlusion. *Brain Res.* 2006; 1111 (1): 227-229. DOI: PMID: 16884698
50. 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): 843-851. DOI: 10.1097/00004647-200207000-00009. PMID: 12142569
51. Ostrowski R.P., Graupner G., Titova E., Zhang J., Chiu J., Dach N., Corleone D., Tang J., Zhang J.H. 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. DOI: 10.1016/j.nbd.2007.07.020. PMID: 17822911
52. Ishrat T., Sayeed I., Atif F., Hua F., Stein D.G. Progesterone is neuro-protective against ischemic brain injury through its effects on the PI3K/Akt signaling pathway. *Neuroscience.* 2012; 210: 442-450. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012.03.008. PMID: 22450229
53. Singh M., Su C. Progesterone-induced neuroprotection: factors that may predict therapeutic efficacy. *Brain Res.* 2013; 1514: 98-106. DOI: 10.1016/j.brainres.2013.01.027. PMID: 23340161
54. Li J., Ding X., Zhang R., Jiang W., Sun X., Xia Z., Wang X., Wu E., Zhang Y., Hu Y. Harpagoside ameliorates the amyloid- β -induced cognitive impairment in rats via up-regulating BDNF expression and MAPK/PI3K pathways. *Neuroscience.* 2015; 303: 103-114. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.06.042. PMID: 26135675
55. Liang C., Tan S., Huang Q., Lin J., Lu Z., Lin X. Pratensein ameliorates β -amyloid-induced cognitive impairment in rats via reducing oxidative damage and restoring synapse and BDNF levels. *Neurosci. Lett.* 2015; 592: 48-53. DOI: 10.1016/j.neulet.2015.03.003. PMID: 25748315
56. Fahimi A., Baktir M.A., Moghadam S., Mojabi F.S., Sumanth K., McNeerney M.W., Ponnusamy R., Salehi A. Physical exercise induces structural alterations in the hippocampal astrocytes: exploring the role of BDNF-TrkB signaling. *Brain Struct. Funct.* 2017; 222 (4): 1797-1808. DOI: 10.1007/s00429-016-1308-8. PMID: 27686571
57. 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 (5): 553-556. DOI: 10.1589/jpts.25.553. PMID: 24259800
58. Shih P.C., Yang Y.R., Wang R.Y. Effects of exercise intensity on spatial memory performance and hippocampal synaptic plasticity in transient brain ischemic rats. *PLoS One.* 2013; 8 (10): e78163. DOI: 10.1371/journal.pone.0078163. PMID: 24205142
59. Leeds P., Leng Y., Chalecka-Franaszek E., Chuang D.M. Neurotrophins protect against cytosine arabinoside-induced apoptosis of immature rat cerebellar neurons. *Neurochem. Int.* 2005; 46 (1): 61-72. DOI: 10.1016/j.neuint.2004.07.001. PMID: 15567516
60. G  ral C., Angelova A., Lesieur S. From molecular to nanotechnology strategies for delivery of neurotrophins: emphasis on brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Pharmaceutics.* 2013; 5 (1): 127-167. DOI: 10.3390/pharmaceutics5010127. PMID: 24300402
61. Huang L., Applegate P.M., Gatling J.W., Mangus D.B., Zhang J., Applegate R.L. 2nd. A systematic review of neuroprotective strategies after cardiac arrest: from bench to bedside (part II-comprehensive protection). *Med. Gas. Res.* 2014; 4: 10. DOI: 10.1186/2045-9912-4-10. PMID: 25671079
62. Kim D.H., Zhao X., Tu C.H., Casaccia-Bonnet 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. DOI: 10.3171/jns.2004.100.1.0079. PMID: 14743916
63. Liu Z., Ma D., Feng G., Ma Y., Hu H. Recombinant AAV-mediated expression of human BDNF protects neurons against cell apoptosis in Abeta-induced neuronal damage model. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci.* 2007; 27 (3): 233-236. DOI: 10.1007/s11596-007-0304-x. PMID: 17641830
64. Takeshima Y., Nakamura M., Miyake H., Tamaki R., Inui T., Horiuchi K., Wajima D., Nakase H. Neuroprotection with intraventricular brain-derived neurotrophic factor in rat venous occlusion model. *Neurosurgery.* 2011; 68 (5): 1334-1341. DOI: 10.1227/NEU.0b013e31820c048e. PMID: 21307800
- of Parkinson's disease related pathology in mice. *Front. Neurosci.* 2016; 10: 458. DOI: 10.3389/fnins.2016.00458. PMID: 27790086
46. Chen A.I., Xiong L.J., Tong Y.U., Mao M. The neuroprotective roles of BDNF in hypoxic ischemic brain injury. *Biomed. Rep.* 2013; 1 (2): 167-176. DOI: 10.3892/br.2012.48. PMID: 24648914
47. Ploughman M., Windle V., MacLellan C.L., White N., Doré J.J., Corbett D. Brain-derived neurotrophic factor contributes to recovery of skilled reaching after focal ischemia in rats. *Stroke.* 2009; 40 (4): 1490-1495. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.531806. PMID: 19164786
48. Kiprianova I., Freiman T.M., Desiderato S., Schwab S., Galmbacher R., Gillardon F., Spranger M. Brain-derived neurotrophic factor prevents neuronal death and glial activation after global ischemia in the rat. *J. Neurosci. Res.* 1999; 56 (1): 21-27. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4547(19990401)56:1<21::AID-JNR3>3.0.CO;2-Q. PMID: 10213471
49. Zhang Y., Pardridge W.M. Blood-brain barrier targeting of BDNF improves motor function in rats with middle cerebral artery occlusion. *Brain Res.* 2006; 1111 (1): 227-229. DOI: PMID: 16884698
50. 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): 843-851. DOI: 10.1097/00004647-200207000-00009. PMID: 12142569
51. Ostrowski R.P., Graupner G., Titova E., Zhang J., Chiu J., Dach N., Corleone D., Tang J., Zhang J.H. 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. DOI: 10.1016/j.nbd.2007.07.020. PMID: 17822911
52. Ishrat T., Sayeed I., Atif F., Hua F., Stein D.G. Progesterone is neuro-protective against ischemic brain injury through its effects on the PI3K/Akt signaling pathway. *Neuroscience.* 2012; 210: 442-450. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012.03.008. PMID: 22450229
53. Singh M., Su C. Progesterone-induced neuroprotection: factors that may predict therapeutic efficacy. *Brain Res.* 2013; 1514: 98-106. DOI: 10.1016/j.brainres.2013.01.027. PMID: 23340161
54. Li J., Ding X., Zhang R., Jiang W., Sun X., Xia Z., Wang X., Wu E., Zhang Y., Hu Y. Harpagoside ameliorates the amyloid- β -induced cognitive impairment in rats via up-regulating BDNF expression and MAPK/PI3K pathways. *Neuroscience.* 2015; 303: 103-114. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.06.042. PMID: 26135675
55. Liang C., Tan S., Huang Q., Lin J., Lu Z., Lin X. Pratensein ameliorates β -amyloid-induced cognitive impairment in rats via reducing oxidative damage and restoring synapse and BDNF levels. *Neurosci. Lett.* 2015; 592: 48-53. DOI: 10.1016/j.neulet.2015.03.003. PMID: 25748315
56. Fahimi A., Baktir M.A., Moghadam S., Mojabi F.S., Sumanth K., McNeerney M.W., Ponnusamy R., Salehi A. Physical exercise induces structural alterations in the hippocampal astrocytes: exploring the role of BDNF-TrkB signaling. *Brain Struct. Funct.* 2017; 222 (4): 1797-1808. DOI: 10.1007/s00429-016-1308-8. PMID: 27686571
57. 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 (5): 553-556. DOI: 10.1589/jpts.25.553. PMID: 24259800
58. Shih P.C., Yang Y.R., Wang R.Y. Effects of exercise intensity on spatial memory performance and hippocampal synaptic plasticity in transient brain ischemic rats. *PLoS One.* 2013; 8 (10): e78163. DOI: 10.1371/journal.pone.0078163. PMID: 24205142
59. Leeds P., Leng Y., Chalecka-Franaszek E., Chuang D.M. Neurotrophins protect against cytosine arabinoside-induced apoptosis of immature rat cerebellar neurons. *Neurochem. Int.* 2005; 46 (1): 61-72. DOI: 10.1016/j.neuint.2004.07.001. PMID: 15567516
60. G  ral C., Angelova A., Lesieur S. From molecular to nanotechnology strategies for delivery of neurotrophins: emphasis on brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Pharmaceutics.* 2013; 5 (1): 127-167. DOI: 10.3390/pharmaceutics5010127. PMID: 24300402
61. Huang L., Applegate P.M., Gatling J.W., Mangus D.B., Zhang J., Applegate R.L. 2nd. A systematic review of neuroprotective strategies after cardiac arrest: from bench to bedside (part II-comprehensive protection). *Med. Gas. Res.* 2014; 4: 10. DOI: 10.1186/2045-9912-4-10. PMID: 25671079
62. Kim D.H., Zhao X., Tu C.H., Casaccia-Bonnet 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. DOI: 10.3171/jns.2004.100.1.0079. PMID: 14743916
63. Liu Z., Ma D., Feng G., Ma Y., Hu H. Recombinant AAV-mediated expression of human BDNF protects neurons against cell apoptosis in Abeta-induced neuronal damage model. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci.* 2007; 27 (3): 233-236. DOI: 10.1007/s11596-007-0304-x. PMID: 17641830
64. Takeshima Y., Nakamura M., Miyake H., Tamaki R., Inui T., Horiuchi K., Wajima D., Nakase H. Neuroprotection with intraventricular brain-

65. Kazim S.F., Iqbal K. Neurotrophic factor small-molecule mimetics mediated neuroregeneration and synaptic repair: emerging therapeutic modality for Alzheimer's disease. *Mol. Neurodegener.* 2016; 11 (1): 50. DOI: 10.1186/s13024-016-0119-y. PMID: 27400746
66. Khalin I., Alyautdin R., Kocherga G., Bakar M.A. Targeted delivery of brain-derived neurotrophic factor for the treatment of blindness and deafness. *Int. J. Nanomedicine.* 2015; 10: 3245-3267. DOI: 10.2147/IJN.S77480. PMID: 25995632
67. Pardridge W.M. Drug transport across the blood-brain barrier. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2012; 32 (11): 1959-1972. DOI: 10.1038/jcbfm.2012.126. PMID: 22929442
68. Alyautdin R., Khalin I., Nafeeza M.I., Haron M.H., Kuznetsov D. Nanoscale drug delivery systems and the blood-brain barrier. *Int. J. Nanomedicine.* 2014; 9: 795-811. DOI: 10.2147/IJN.S52236. PMID: 24550672
69. Shi Q., Zhang P., Zhang J., Chen X., Lu H., Tian Y., Parker T.L., Liu Y. Adenovirus-mediated brain-derived neurotrophic factor expression regulated by hypoxia response element protects brain from injury of transient middle cerebral artery occlusion in mice. *Neurosci. Lett.* 2009; 465 (3): 220-225. DOI: 10.1016/j.neulet.2009.08.049. PMID: 19703519
70. Liu X., Zhu Z., Kalyani M., Janik J.M., Shi H. Effects of energy status and diet on Bdnf expression in the ventromedial hypothalamus of male and female rats. *Physiol. Behav.* 2014; 130: 99-107. DOI: 10.1016/j.physbeh.2014.03.028. PMID: 24709620
71. Гудашева Т.А., Поварнина П.Ю., Середенин С.Б. Дипептидный миметик мозгового нейротрофического фактора предотвращает нарушение нейрогенеза у стрессированных мышей. *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* 2016; 162 (10): 448-451.
72. Gudasheva T.A., Povarnina P.Y., Logvinov I.O., Antipova T.A., Seredenin S.B. Mimetics of brain-derived neurotrophic factor loops 1 and 4 are active in a model of ischemic stroke in rats. *Drug Des. Devel. Ther.* 2016; 10: 3545-3553. DOI: 10.2147/DDDT.S118768. PMID: 27843294
73. Chen X., Wang K. The fate of medications evaluated for ischemic stroke pharmacotherapy over the period 1995-2015. *Acta Pharm. Sin. B.* 2016; 6 (6): 522-530. DOI: 10.1016/j.apsb.2016.06.013. PMID: 27818918
74. Zhao H., Alam A., San C.Y., Eguchi S., Chen Q., Lian Q., Ma D. Molecular mechanisms of brain-derived neurotrophic factor in neuroprotection: recent developments. *Brain Res.* 2017; 1665: 1-21. DOI: 10.1016/j.brainres.2017.03.029. PMID: 28396009
75. Wang J., Zhang S., Ma H., Yang S., Liu Z., Wu X., Wang S., Zhang Y., Liu Y. Chronic intermittent hypobaric hypoxia pretreatment ameliorates ischemia-induced cognitive dysfunction through activation of ERK1/2-CREB-BDNF pathway in anesthetized mice. *Neurochem. Res.* 2017; 42 (2): 501-512. DOI: 10.1007/s11064-016-2097-4. PMID: 27822668
76. Shin M.K., Kim H.G., Kim K.L. A novel brain-derived neurotrophic factor-modulating peptide attenuates Ab1-42-induced neurotoxicity *in vitro*. *Neurosci. Lett.* 2015; 595: 63-68. DOI: 10.1016/j.neulet.2015.03.070. PMID: 25849526
77. Yang L., Jiang Y., Wen Z., Xu X., Xu X., Zhu J., Xie X., Xu L., Xie Y., Liu X., Xu G. Over-expressed EGR1 may exaggerate ischemic injury after experimental stroke by decreasing BDNF expression. *Neuroscience.* 2015; 290: 509-517. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.01.020. PMID: 25637490
78. Patz S., Wahle P. Neurotrophins induce short-term and long-term changes of cortical neurotrophin expression. *Eur. J. Neurosci.* 2004; 20 (3): 701-708. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2004.03519.x. PMID: 15255980
79. 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. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2007.04.023. PMID: 17532148
80. Rosso P., De Nicolò S., Carito V., Fiore M., Iannitelli A., Moreno S., Tirassa P. Ocular nerve growth factor administration modulates brain-derived neurotrophic factor signaling in prefrontal cortex of healthy and diabetic rats. *CNS Neurosci. Ther.* 2017; 23 (3): 198-208. DOI: 10.1111/cns.12661. PMID: 28044424
81. Аверущенко М.Ш., Острова И.В., Зарзешский Ю.В., Мороз В.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Влияние миметика фактора роста нервов ГК-2 на постреанимационную экспрессию нейротрофических факторов. *Патол. физиология и эксперим. терапия.* 2015; 59 (2): 12-18. PMID: 26571801
- derived neurotrophic factor in rat venous occlusion model. *Neurosurgery.* 2011; 68 (5): 1334-1341. DOI: 10.1227/NEU.0b013e31820c048e. PMID: 21307800
65. Kazim S.F., Iqbal K. Neurotrophic factor small-molecule mimetics mediated neuroregeneration and synaptic repair: emerging therapeutic modality for Alzheimer's disease. *Mol. Neurodegener.* 2016; 11 (1): 50. DOI: 10.1186/s13024-016-0119-y. PMID: 27400746
66. Khalin I., Alyautdin R., Kocherga G., Bakar M.A. Targeted delivery of brain-derived neurotrophic factor for the treatment of blindness and deafness. *Int. J. Nanomedicine.* 2015; 10: 3245-3267. DOI: 10.2147/IJN.S77480. PMID: 25995632
67. Pardridge W.M. Drug transport across the blood-brain barrier. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2012; 32 (11): 1959-1972. DOI: 10.1038/jcbfm.2012.126. PMID: 22929442
68. Alyautdin R., Khalin I., Nafeeza M.I., Haron M.H., Kuznetsov D. Nanoscale drug delivery systems and the blood-brain barrier. *Int. J. Nanomedicine.* 2014; 9: 795-811. DOI: 10.2147/IJN.S52236. PMID: 24550672
69. Shi Q., Zhang P., Zhang J., Chen X., Lu H., Tian Y., Parker T.L., Liu Y. Adenovirus-mediated brain-derived neurotrophic factor expression regulated by hypoxia response element protects brain from injury of transient middle cerebral artery occlusion in mice. *Neurosci. Lett.* 2009; 465 (3): 220-225. DOI: 10.1016/j.neulet.2009.08.049. PMID: 19703519
70. Liu X., Zhu Z., Kalyani M., Janik J.M., Shi H. Effects of energy status and diet on Bdnf expression in the ventromedial hypothalamus of male and female rats. *Physiol. Behav.* 2014; 130: 99-107. DOI: 10.1016/j.physbeh.2014.03.028. PMID: 24709620
71. Gudasheva T.A., Povarnina P.Y., Seredenin S.B. Dipeptide mimetic of the brain-derived neurotrophic factor prevents impairments of neurogenesis in stressed mice. *Byulleten Experimentalnoi Biologii i Meditsiny.* 2017; 162 (4): 454-457. DOI: 10.1007/s10517-017-3638-9. PMID: 28243910
72. Gudasheva T.A., Povarnina P.Y., Logvinov I.O., Antipova T.A., Seredenin S.B. Mimetics of brain-derived neurotrophic factor loops 1 and 4 are active in a model of ischemic stroke in rats. *Drug Des. Devel. Ther.* 2016; 10: 3545-3553. DOI: 10.2147/DDDT.S118768. PMID: 27843294
73. Chen X., Wang K. The fate of medications evaluated for ischemic stroke pharmacotherapy over the period 1995-2015. *Acta Pharm. Sin. B.* 2016; 6 (6): 522-530. DOI: 10.1016/j.apsb.2016.06.013. PMID: 27818918
74. Zhao H., Alam A., San C.Y., Eguchi S., Chen Q., Lian Q., Ma D. Molecular mechanisms of brain-derived neurotrophic factor in neuroprotection: recent developments. *Brain Res.* 2017; 1665: 1-21. DOI: 10.1016/j.brainres.2017.03.029. PMID: 28396009
75. Wang J., Zhang S., Ma H., Yang S., Liu Z., Wu X., Wang S., Zhang Y., Liu Y. Chronic intermittent hypobaric hypoxia pretreatment ameliorates ischemia-induced cognitive dysfunction through activation of ERK1/2-CREB-BDNF pathway in anesthetized mice. *Neurochem. Res.* 2017; 42 (2): 501-512. DOI: 10.1007/s11064-016-2097-4. PMID: 27822668
76. Shin M.K., Kim H.G., Kim K.L. A novel brain-derived neurotrophic factor-modulating peptide attenuates Ab1-42-induced neurotoxicity *in vitro*. *Neurosci. Lett.* 2015; 595: 63-68. DOI: 10.1016/j.neulet.2015.03.070. PMID: 25849526
77. Yang L., Jiang Y., Wen Z., Xu X., Xu X., Zhu J., Xie X., Xu L., Xie Y., Liu X., Xu G. Over-expressed EGR1 may exaggerate ischemic injury after experimental stroke by decreasing BDNF expression. *Neuroscience.* 2015; 290: 509-517. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.01.020. PMID: 25637490
78. Patz S., Wahle P. Neurotrophins induce short-term and long-term changes of cortical neurotrophin expression. *Eur. J. Neurosci.* 2004; 20 (3): 701-708. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2004.03519.x. PMID: 15255980
79. 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. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2007.04.023. PMID: 17532148
80. Rosso P., De Nicolò S., Carito V., Fiore M., Iannitelli A., Moreno S., Tirassa P. Ocular nerve growth factor administration modulates brain-derived neurotrophic factor signaling in prefrontal cortex of healthy and diabetic rats. *CNS Neurosci. Ther.* 2017; 23 (3): 198-208. DOI: 10.1111/cns.12661. PMID: 28044424
81. Аверущенко М.Ш., Острова И.В., Зарзешский Ю.В., Мороз В.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Effect of the nerve growth factor mimetic GK-2 on post-resuscitation expression of neurotrophic factors. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimentalnaya Terapiya.* 2015; 59 (2): 12-18. PMID: 26571801. [In Russ.]

Поступила 09.06.17

Received 09.06.17