

Гендерные особенности постреанимационных изменений экспрессии мозгового нейротрофического фактора (BDNF)

М. Ш. Аврущенко, И. В. Острова, А. В. Гречко

НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ реаниматологии и реабилитологии,
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

Gender Peculiarities of Postresuscitation in the Expression of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF)

Maria Sh. Avrushchenko, Irina V. Ostrova, Andrey V. Grechko

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 половые особенности постреанимационных сдвигов экспрессии BDNF и сопряженных с ними процессов гибели нейронов.

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 самок крыс, 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. В работе использованы 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. Установлена динамика постреанимационных сдвигов BDNF-иммунореактивности высокочувствительных к гипоксии нейрональных популяций. Показано, что в популяции клеток Пуркинье у самок происходят изменения уровня экспрессии BDNF, что сопровождается гибелью нейронов. Выявлено, что эти сдвиги развиваются позднее, чем у самцов — к 7-м суткам постреанимационного периода. Существенно, что гибели подвергаются только BDNF-негативные и слабопозитивные нервные клетки. В популяции пирамидных клеток гиппокампа у самок, в отличие от самцов, не происходило изменений BDNF-иммунореактивности, и процесс гибели нейронов не развивался.

Заключение. Выявлены гендерные особенности развития постреанимационных сдвигов уровня экспрессии BDNF и сопряженных с ними процессов гибели нейронов. Показано, что после остановки сердца одинаковой длительности у самок постреанимационные сдвиги уровня экспрессии BDNF и процессы гибели нейронов выражены меньше, чем у самцов. В то же время, у животных обоего пола проявляются общие закономерности постреанимационных изменений мозга, свидетельствующие о взаимосвязи уровня экспрессии BDNF в нейронах с их устойчивостью к ишемии-реперфузии. Обсуждаются гендерные особенности повреждения мозга и их значение для понимания механизмов развития постгипоксических энцефалопатий.

Ключевые слова: мозговой нейротрофический фактор (BDNF); гендерные особенности; постреанимационный период; гибель нейронов; пирамидные клетки; гиппокамп; клетки Пуркинье; мозжечок; иммуногистохимия; оптическая плотность; морфометрический анализ

Purpose: to identify gender peculiarities of postresuscitation shifts in BDNF expression and neuronal death.

Materials and Methods. At different points of the postresuscitation period (days 1-, 4-, 7-, and 14), the condition of highly sensitive to hypoxia neuronal populations (pyramidal neurons of hippocampus and Purkinje cells of cerebellum) were studied in white mature female rats exposed to a 10-minute stop of systemic blood circulation (compression of vascular fascicle of the heart). Sham operated animals were used as the control. Immunohistochemical detection of BDNF-immunoreactive neurons followed with determination of optical density, number of cells with different levels of BDNF expression, and total count of neurons per 1 mm of the length of their layer was carried out. The work was done using the image analysis system (computer Intel, microscope Olympus BX-41, software ImadageScopeM, ImageJ 1,48v, Excel 2007). Statistic processing of data

Адрес для корреспонденции:

Мария Аврущенко
E-mail: maria_avr@mail.ru

Correspondence to:

Maria Avrushchenko
E-mail: maria_avr@mail.ru

was performed with the aid of Statistica 7.0 using Kolmogorov-Smirnov λ test, Mann-Whitney U test, and Student's t-test.

Results. The dynamics of postresuscitation shifts in BDNF-immunoreactivity of neuronal populations highly sensitive to hypoxia was studied in rats. Purkinje cells population in tissue slides from brain specimens harvested from female rats the alterations in BDNF expression became evident. This pattern was accompanied by the death of neurons. Those shifts in female animals were found to develop later than in male rats — by day 7 of the postresuscitation. Only BDNF-negative and BDNF-weakly positive neurons not survived postresuscitation. In the population of pyramidal cells of hippocampus in females, in contrast to males, there were no quantitative changes in BDNF molecules as revealed by immunohistochemistry and neuronal death process did not develop.

Conclusion. Gender peculiarities in the development of postresuscitation shifts in BDNF expression and associated therewith death of neurons were revealed. It was shown that after cardiac arrest of the same duration, the postresuscitation shifts in BDNF expression and neuronal death manifested mostly in males compared to females. At the same time, animals of both genders demonstrate common postresuscitation brain alterations evidencing connection between the level of BDNF expression in neurons and their resistance to ischemia-reperfusion. Gender-specific patterns of brain damage and their importance for understanding the mechanisms of post-hypoxic encephalopathies are discussed.

Keywords: brain-derived neurotrophic factor (BDNF); gender peculiarities; postresuscitation period; neuronal death; pyramidal cells; hippocampus; Purkinje cells; cerebellum; immunohistochemistry; optic density; morphometric study

DOI:10.15360/1813-9779-2017-5-44-57

Введение

Проблема полового диморфизма развития, течения и исхода критических состояний вызывает у исследователей большой интерес. Этот феномен связывают обычно с действием женских половых гормонов — эстрогена и прогестерона [1–5]. Действительно, клинические наблюдения свидетельствуют о том, что женщины более устойчивы к ишемии, чем мужчины. Однако существуют факты, указывающие, что наличие полового диморфизма ишемического повреждения мозга обусловлено не только половыми гормонами. Так, гендерные различия устойчивости к ишемии проявляются и в период менопаузы, а также в раннем онтогенезе [2, 4, 6–8]. Механизмы полового диморфизма ишемического повреждения мозга пока изучены недостаточно. Однако уже ясно, что имеются как гормонозависимые, так и гормононезависимые факторы, обуславливающие этот феномен. Исследование молекулярных и клеточных механизмов, лежащих в основе полового диморфизма ишемического повреждения мозга, — необходимый этап для разработки эффективной терапии постгипоксических энцефалопатий [1, 2, 5–7, 9].

Мозговой нейротрофический фактор (BDNF) играет важную роль в нейропротекции и восстановлении функции мозга при различных патологических состояниях [10–17]. Ранее нами было проведено исследование постреанимационных изменений уровня экспрессии BDNF в высоко чувствительных к гипоксии нейрональных популяциях у самцов [18]. При этом выявлена взаимосвязь между сдвигами экспрессии BDNF и постреанимационной гибелью нейронов. Учитывая проблему полового диморфизма ишемического повреждения мозга, целесообразно исследовать

Introduction

The problem of sexual dimorphism of development, course and outcome of critical illness arouses much interest among researchers. This phenomenon is commonly linked to the effects of sex hormones, estrogen and progesterone [1–5]. Indeed, clinical observations evidence that women are more resistant to ischemia than men are. However, there are facts indicating that existence of sexual dimorphism of ischemic brain damage is caused not only by sex hormones. For instance, gender differences of resistance to ischemia manifest also during menopause and early ontogenesis [2, 4, 6–8]. The mechanisms of sexual dimorphism of ischemic brain damage have not been thoroughly clarified. However, it has become evident that there are both hormone-dependent and hormone-independent factors explaining this phenomenon. Investigation of molecular and cellular mechanisms underlying sexual dimorphism of ischemic brain damage is a necessary step to developing an effective therapy for post-hypoxic encephalopathies [1, 2, 5–7, 9].

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) impacts the neuroprotection and brain function recovery during various pathological conditions [10–17]. Earlier we studied postresuscitation changes of BDNF expression in highly sensitive to hypoxia neuronal populations in males [18]. That study revealed relation between BDNF expression shifts and postresuscitation death of neurons. Considering the problem of sexual dimorphism of ischemic brain damage, it would be useful to study the dynamics of postresuscitation BDNF expression shifts in the same neuronal populations in females after cardiac arrest of the same duration. This study would determine whether the neuroprotective action of BDNF depends on a gender.

довать динамику постреанимационных сдвигов экспрессии BDNF в этих же нейрональных популяциях у самок, перенесших остановку сердца такой же длительности. Это даст возможность оценить, как реализуются нейропротективные свойства BDNF в зависимости от половой принадлежности организма.

Материал и методы

Исследовали мозг 25 белых нелинейных самок крыс массой 190–250 г, перенесших 10-минутную остановку сердца (внутриторакальное пережатие сосудистого пучка сердца) [19]. Через 1, 4, 7 и 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 того же пола ($n=10$). 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).

Исследовались постреанимационные изменения высокочувствительных к гипоксии нейрональных популяций — клеток Пуркинье коры мозжечка и пирамидных нейронов гиппокампа (сектор СА4). BDNF выявляли иммуногистохимически непрямым пероксидазно-антипероксидазным методом с использованием поликлональных антител к BDNF (разведение 1:50) (Santa Cruz, 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. 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). На основании анализа гистограмм распределения нейронов по их оптической плотности и визуальной оценки выделяли соответствующие ранги для BDNF-негативных (BDNF⁻), слабо — и сильнопозитивных (BDNF⁺ и BDNF⁺⁺) нейронов, в соответствии с тем, как было описано ранее [18].

В популяции клеток Пуркинье мозжечка ранги оптической плотности составили: для BDNF-негативных $OD < 0,25$ у.е.; для слабопозитивных $0,25 < OD \leq 0,31$ у.е. и для сильнопозитивных нейронов $OD > 0,31$ у.е. В популяции пирамидных клеток гиппокампа (сектор СА4): ранги оптической плотности составили: для BDNF-негативных $OD < 0,24$ у.е.; для слабопозитивных $0,24 \leq OD < 0,28$ у.е. и для сильнопозитивных нейронов $OD \geq 0,28$ у.е. Определяли общую плотность нейрональной популяции, а также число клеток с разным

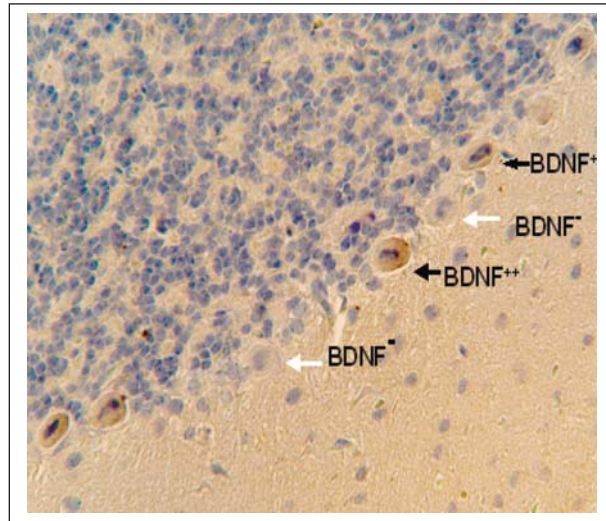


Рис. 1. Клетки Пуркинье с разным уровнем экспрессии BDNF.

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

Note. Indirect peroxidase-antiperoxidase method, hematoxylin staining, $\times 400$.

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

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

Materials and Methods

Twenty five outbred white female rats weighting 190–250 g were subjected to 10-minute cardiac arrest (intrathoracic compression of vascular fascicle of the heart) according to described protocol [19]. Resuscitation measures were provided by closed-chest cardiac massage combined with artificial lung ventilation with air in the hyper-ventilation mode using Animal Respirator apparatus SMT Geratehandel accompanied by intratracheal administration of adrenalin solution at a dose of 0.1mg/kg. In 1, 4, 7, and 14 days after the procedures, the animals were removed from the experiment by decapitation under anesthesia (5–7 animals per each end point of the postresuscitation period). Sham operated animals were used as the control ($n=10$). The experiments were carried out according to the recommendations of the Ethics and Animal Care and Use Committee of V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Reanimatology and Rehabilitology, based on the «Rules of Performing Work Using Experimental Animals» (Order of the USSR Health Ministry No.755 dated 12.08.1977) and internationally approved documents.

Postresuscitation changes of highly sensitive to hypoxia neuronal populations — Purkinje cells of the cerebellum cortex and pyramidal neurons of hippocampus (sector CA4) were studied. BDNF was detected by the immunohistochemical technique using the indirect peroxidase-antiperoxidase method with utilization of polyclonal antibodies to BDNF (dilution 1:50) (Santa Cruz, USA) and visualization system LSAB Kit (DAKO, Glostrup, Denmark). The immunohistochemical response was checked by incu-

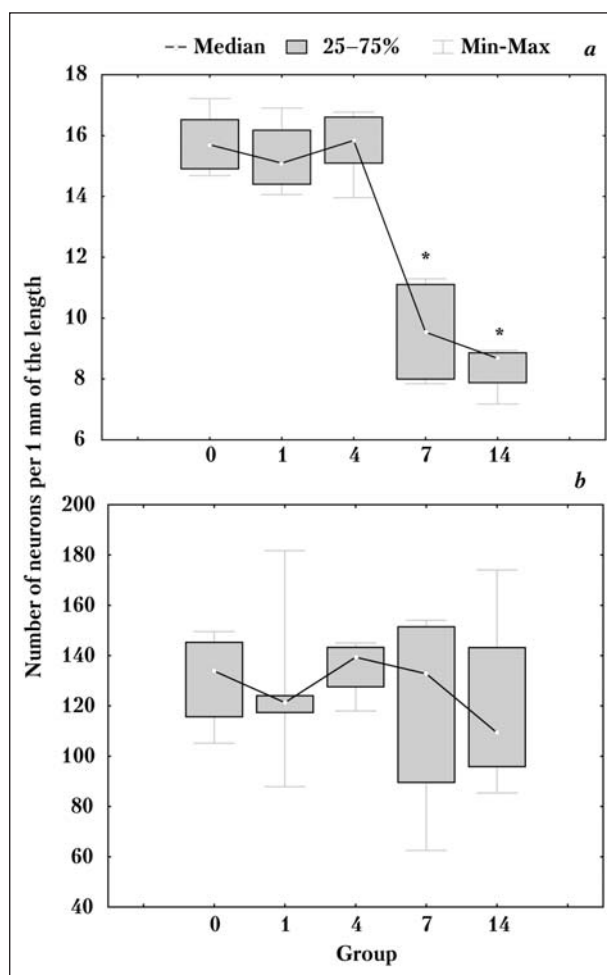


Рис. 2. Динамика изменения общей плотности популяции клеток Пуркинье (а) и пирамидных клеток гиппокампа (б) самок в постреанимационном периоде после остановки системного кровообращения.

Fig. 2. Dynamics of changes in the total density of the Purkinje cells (a) and pyramidal cells of hippocampus (b) of females in postresuscitative period after cardiac arrest.

Note. a: * — $P_u < 0.025$ versus control (Group 0).

Примечание. Для рис. 2–4: Number of neurons per 1 mm the length — число нейронов на 1 мм длины. а: * — $p_u < 0,025$ по сравнению с контролем (группа 0).

уровнем экспрессии BDNF на 1 мм длины их слоя. В работе использовали системы анализа изображений (компьютер Intel, микроскоп Olympus BX-41, программы ImageScopeM и ImageJ 1,48v. 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

Исследование клеток Пуркинье мозжечка показало, что на 1-е и 4-е сутки постреанимационного периода общая плотность этой нейрональной популяции соответствует контрольному уровню (рис. 2, а), т.е. гибели нейронов не происходит. Выпадение нейронов развивается к 7-м

бation of slices with all reagents except for primary antibodies. The intensity of BDNF expression in neurons' cytoplasm was evaluated with the help of image analysis software ImageJ 1,48v. The Mean Gray Value was determined and optic density was calculated (in conventional units — c.u.) according to formula: $OD = \log_{10} (255 / \text{Mean Gray Value})$. For visual assessment of color intensity, slices were stained with hematoxylin (Fig. 1). Based on the analysis of histograms of neurons distribution by their optic density and visual assessment, respective ranks were established for BDNF-negative (BDNF⁻), weakly — and strongly positive (BDNF⁺ and BDNF⁺⁺) neurons, as described earlier [18].

In the population of Purkinje cells of cerebellum, the optic density (OD) means were as follows: $OD < 0.25$ c.u. (BDNF-negative cells); $0.25 < OD \leq 0.31$ c.u., (weakly positive cells); $OD > 0.31$ c.u. (strongly positive cells). In the population of pyramidal cells of hippocampus (sector CA4) the optic density means for BDNF-negative cells was $OD < 0.24$ c.u.; for weakly positive cells — $0.24 \leq OD < 0.28$ c.u., and for strongly positive neurons — $OD \geq 0.28$ c.u. The total density of the neuronal population was determined as well as the number of cells with different level of BDNF expression per 1 mm of the length of the cell layer. The work was performed using the image analysis system (microscope Olympus BX-41, software ImageScopeM and ImageJ 1,48v.). Statistic processing of data was performed by Statistica 7.0. software using Kolmogorov-Smirnov λ test, Mann-Whitney U test, and Student's t-test.

Results and Discussion

The investigation of Purkinje cells of cerebellum has shown that on days 1 and 4 of the postresuscitation period, the total density of this neuronal population corresponds to the control level (Fig. 2, a), i.e. death of neurons does not take place. Significant drop in neuron count occurred by day 7 after resuscitation, as evidenced by a considerable decrease of the total density of the population compared to control (by 39.2%) (Fig. 2, a). Later on, the cell dropout process does not progress.

It has been established that on day 1 and 4 postresuscitation, the number of BDNF-negative neurons as well as the number of weakly and strongly positive cells did not change. However, by day 7 the number of BDNF⁻ and BDNF⁺ neurons decreased compared to control (Fig. 3, a). Importantly, the number of strongly positive (BDNF⁺⁺) cells corresponded to the control level (Fig. 3, a). Later on day 14 of the postresuscitation period the detected changes persisted. The data demonstrate that at the stage of neuronal death (day 7 after resuscitation) only numbers of BDNF-negative and BDNF-weakly positive cells were decreased. Hence, it can be assumed that neurons with low expression of BDNF express increased propensity to die.

In a sector CA4 of hippocampus of female rats, at all endpoints of the postresuscitation period studied, the total density of pyramidal cells population

суткам после реанимации. Об этом свидетельствует существенное снижение общей плотности популяции в сравнении с контролем (на 39,2%) (рис. 2, *a*). В дальнейшем процесс выпадения клеток не прогрессирует.

Установлено, что на 1-е и 4-е сутки постреанимационного периода число BDNF-негативных нейронов, а также число слабо- и сильнопозитивных клеток не изменялось. Однако к 7-м суткам происходило снижение числа BDNF⁻ и BDNF⁺ нейронов в сравнении с контролем (рис. 3, *a*). Существенно, что при этом число сильнопозитивных (BDNF⁺⁺) клеток соответствовало контрольному уровню (рис. 3, *a*). В дальнейшем (14-е сутки постреанимационного периода) выявленные изменения сохранялись. Полученные данные свидетельствуют о том, что на этапе гибели нейронов (7-е сутки после реанимации) происходит снижение числа только BDNF-негативных и слабопозитивных клеток. Следовательно, можно полагать, что именно эти нейроны подвергаются гибели.

В секторе CA4 гиппокампа у самок на всех исследованных сроках постреанимационного периода общая плотность популяции пирамидных клеток соответствовала контролю (рис. 2, *b*), что свидетельствует об отсутствии гибели нейронов. Число нейронов с разным уровнем экспрессии BDNF также не изменялось (рис. 3, *b*).

Результаты настоящей работы свидетельствуют о том, что в популяции клеток Пуркинье у реанимированных самок к 7-м суткам постреанимационного периода развивается процесс гибели нейронов. Существенно, что на этапе уменьшения общей плотности популяции снижается число только BDNF⁻ и BDNF⁺ клеток (рис. 4, *a*). Следовательно, можно полагать, что гибели подвергаются только неэкспрессирующие или слабоэкспрессирующие BDNF нейроны.

Согласно полученным нами ранее данным, у самцов, перенесших остановку сердца такой же длительности, в популяции клеток Пуркинье происходят аналогичные постреанимационные сдвиги [18]. Однако они возникают раньше, чем у самок — уже к 4-м суткам после реанимации. Интересно, что изменения экспрессии и других эндогенных нейропротективных факторов — глиального нейротрофического фактора GDNF и глюкозрегулируемого белка GRP78 — также развивались у реанимированных самцов раньше, чем у самок, и сопровождалась гибелью нейронов [20–22].

Следует отметить, что выявленные в популяции клеток Пуркинье у животных разного пола постреанимационные изменения носили односторонний характер, хотя и отличались по динамике. При этом и у самцов, и у самок гибели подвергались только неэкспрессирующие и слабоэкспрессирующие BDNF нейроны. Это согласуется с развиваемым нами положением о значе-

corresponded to control (Fig. 2, *b*). Data demonstrate the absence of death of neurons within this region of the brain. The number of neurons with different level of BDNF expression did not change either (Fig. 3, *b*).

The results show that in the population of Purkinje cells in resuscitated female rats, by day 7 of the postresuscitation period, the neuron death process develops. Importantly, at the stage of decrease of the total density of population, only the number of BDNF⁻ and BDNF⁺ cells decreases (Fig. 4, *a*). Hence, it can be assumed, that only non-expressing or weakly expressing BDNF neurons suffer death.

According to our data obtained earlier, in male rats subjected to cardiac arrest of the same duration, similar post-resuscitation shifts take place in the population of Purkinje cells [18]. However, they occur earlier than in female rats specifically, by day 4 after resuscitation. Interestingly, changes in the expression and other endogenous neuroprotective factors — glial cells derived neurotrophic factor GDNF and glucose-regulated protein GRP78 — developed also in resuscitated male rats earlier than in female rats and was accompanied by the death of neurons [20–22].

It should be noted that in the population of Purkinje cells in animals of different gender, the postresuscitation changes exhibited an unidirectional nature, though their dynamics was different. Both in male and in female rats, only non-expressing or weakly expressing BDNF neurons suffered to death. This is consistent with our concept on role of the BDNF level in the developing stability of neurons following ischemia-reperfusion [23, 18].

Interrelation between BDNF level shifts and the process of postresuscitation death of neurons is supported by current study of the population of pyramidal cells of hippocampus located within the sector CA4. According to the present results, in female rats within this neuronal population, no reliable shifts in numbers of neurons with different BDNF-specific immunoreactivity at any stage of the postresuscitation period were found. In this instance, death of neurons does not take place (Fig. 4, *b*).

Other changes were found by us earlier in the population of pyramidal cells of hippocampus sector CA4 in male rats subjected to cardiac arrest of the same duration [18]. In that case, postresuscitation shifts in BDNF expression and the neuronal death process developed. As early as day 4 after resuscitation, with the total density of the population being retained, its BDNF-specific immunoreactivity decreased (some strongly positive cells 'moved' into the category of weakly positive). Later, by day 7 of the postresuscitation period, the process of neuronal death developed (the

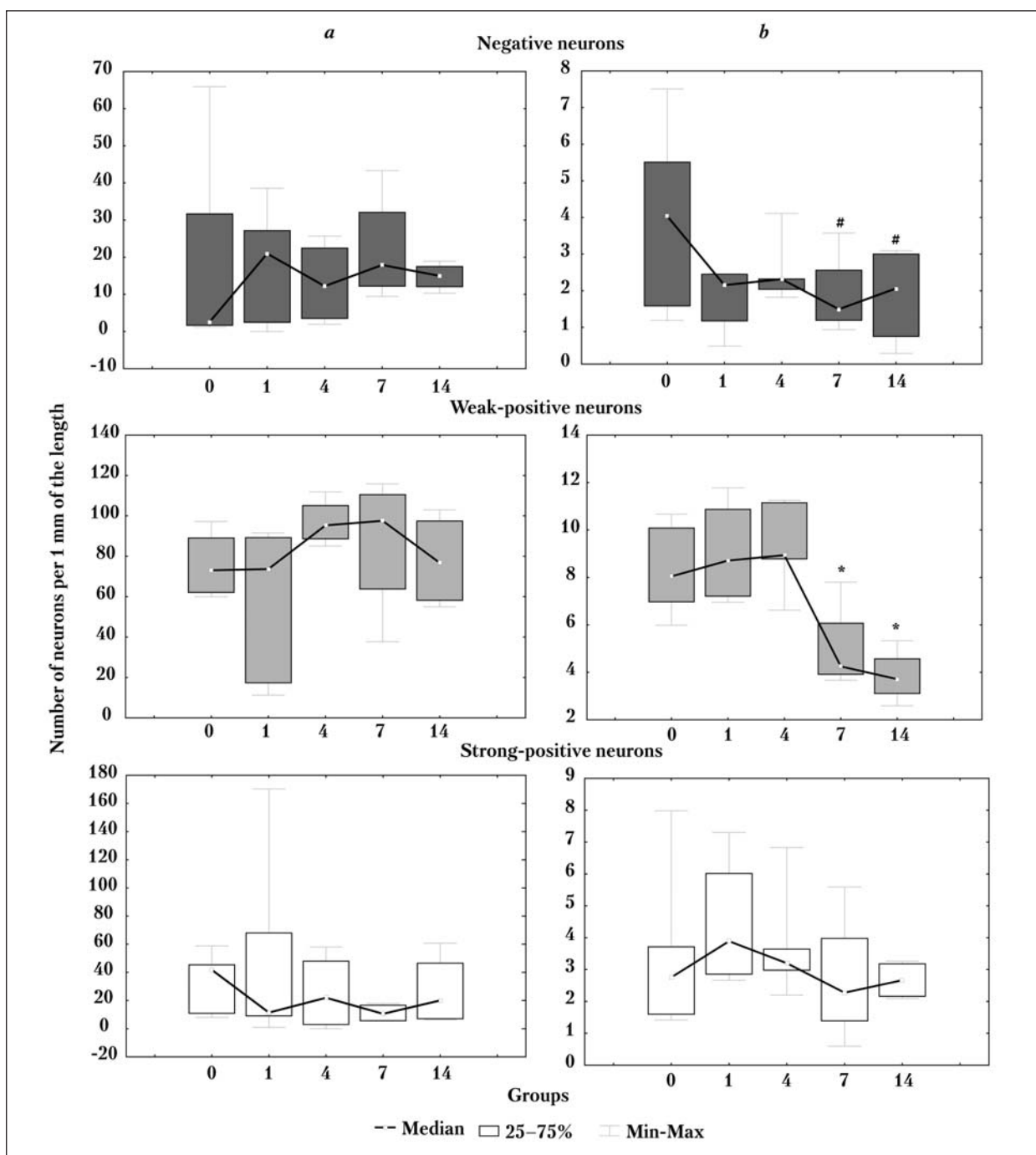


Рис. 3. Число нейронов с разным уровнем экспрессии BDNF в популяции клеток Пуркинье (a) и пирамидных клеток гиппокампа (b) на разных сроках постреанимационного периода.

Fig. 3. The number of neurons with different levels of BDNF expression in Purkinje cell population (a) and the pyramidal cells of the hippocampus (b) in postresuscitative period.

Note. a: * — $P_u < 0.05$; # — $P_u < 0.1$ versus control (Group 0).

Примечание. а: * — $p_u < 0,05$; # — $p_u < 0,1$ в сравнении с контролем (группа 0).

нии уровня BDNF в формировании устойчивости нейронов после ишемии-реперфузии [23, 18].

Взаимосвязь сдвигов уровня BDNF с процессом постреанимационной гибели нейронов подтверждается и при исследовании популяции пирамидных клеток сектора СА4 гиппокампа. Согласно результатам настоящей работы, у самок в этой

total density of the population decreased by 38.5%). Significantly, at that stage, only the number of BDNF-negative and weakly positive cells decreased.

It would be interesting to compare the BDNF expression shifts we have found in the population of pyramidal cells of hippocampus sector CA4 versus

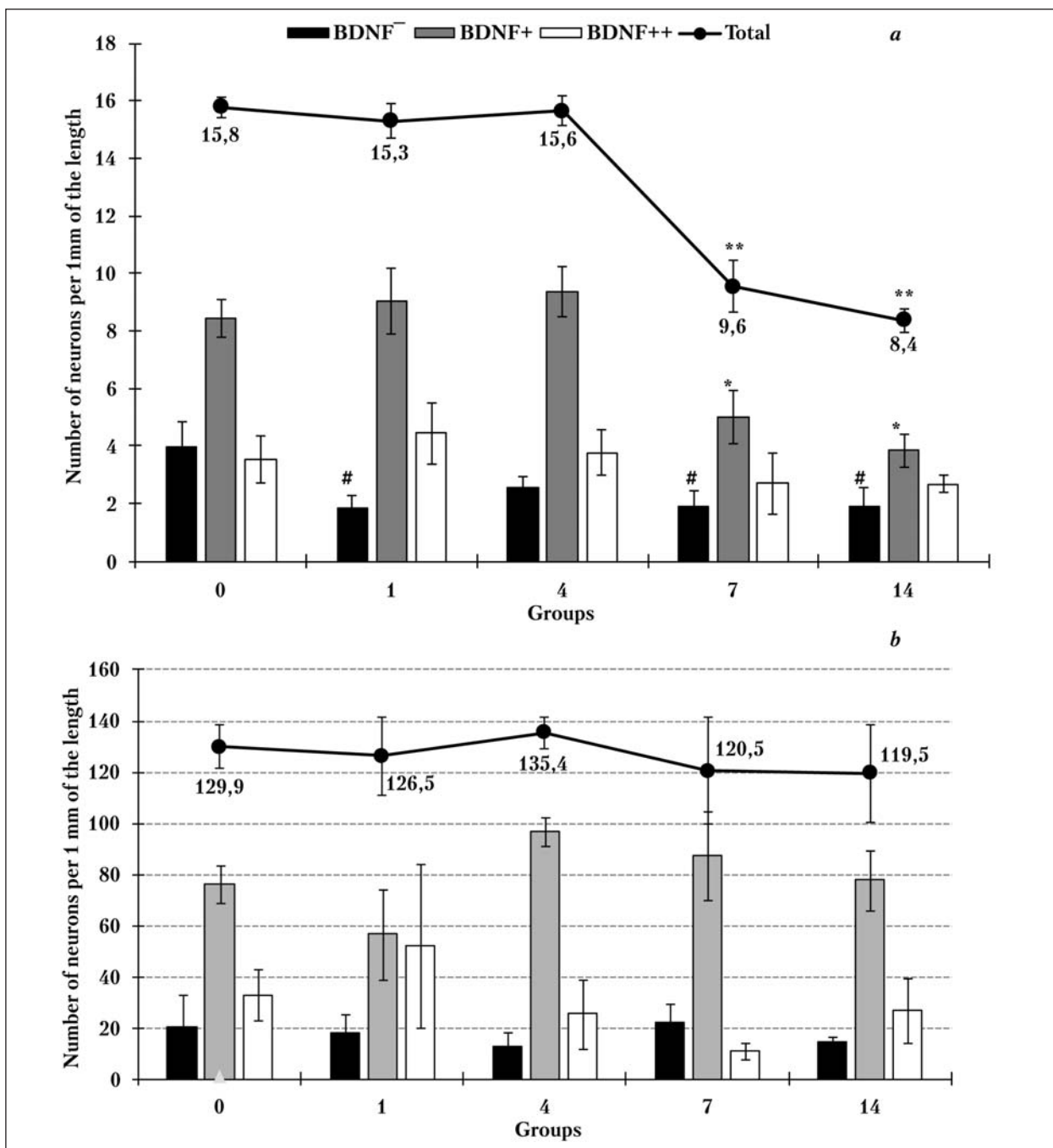


Рис. 4. Взаимосвязь постреанимационных изменений уровня экспрессии BDNF с процессом гибели нейронов в популяции клеток Пуркинье (a) и пирамидных клеток гиппокампа (b).

Fig. 4. The relationship of postresuscitative changes in the expression level of BDNF with the process of neuronal death in the population of Purkinje cells (a) and pyramidal cells of the hippocampus (b).

Note. * – $P_t < 0.05$; ** – $P_t < 0.01$; # – $P_t < 0.1$ versus control.

Примечание. * – $p_t < 0.05$; ** – $p_t < 0.01$; # – $p_t < 0.1$ в сравнении с контролем.

нейрональной популяции не выявлено достоверных сдвигов числа нейронов с различной BDNF-иммунореактивностью на всех исследованных этапах постреанимационного периода. При этом гибели нейронов не происходит (рис. 4, b).

Иные изменения были выявлены нами ранее в популяции пирамидных клеток сектора СА4 гиппокампа у самцов, перенесших остановку

shifts in expression of another neuroprotective factor – protein GRP78, which is increasingly expressed in the postresuscitation period in the same animals [22]. It has been established, that in male rats, the level of GRP78 expression decreased similarly to what was demonstrated for BDNF. In female rats, GRP78 expression drastically increased while the level of BDNF expression did not change. At

сердца такой же длительности [18]. В этом случае развивались постреанимационные сдвиги уровня экспрессии BDNF и процесс гибели нейронов. Так, уже на 4-е сутки после реанимации при сохранении общей плотности популяции ее BDNF-иммунореактивность снижалась («переход» части сильнопозитивных клеток в категорию слабопозитивных). Позднее — к 7-м суткам постреанимационного периода — развивался процесс гибели нейронов (снижение общей плотности популяции на 38,5%). Существенно, что на этом этапе уменьшалось число только BDNF-негативных и слабопозитивных клеток.

Выявленные нами сдвиги экспрессии BDNF в популяции пирамидных клеток сектора CA4 гиппокампа интересно сопоставить со сдвигами экспрессии другого нейропротективного фактора — белка GRP78, развивающимися в постреанимационном периоде у этих же животных [22]. Установлено, что у самцов уровень экспрессии GRP78 снижался, аналогично тому, как это показано для BDNF. У самок — экспрессия GRP78 резко возрастала, в то время как уровень экспрессии BDNF не изменялся. При этом, как было отмечено выше, в секторе CA4 гиппокампа у самок не обнаружено гибели нейронов. Приведенные факты дают основание полагать, что в данном случае одним из факторов защиты нейронов от гибели может быть активация экспрессии GRP78. В пользу этого предположения свидетельствуют и данные о взаимодействии BDNF и GRP78, и, в частности, при вызванном ишемией стрессе эндоплазматического ретикула [24–26].

Возможность защиты нейронов при активации экспрессии одного из нейропротективных факторов в отсутствие изменений других была показана нами ранее. Так, оказалось, что усиление экспрессии BDNF (применение миметика фактора роста нервов ГК2) способствовала предотвращению постреанимационной гибели нейронов, хотя при этом уровень других нейропротекторов — нейротрофина NT4 и основного фактора роста FGFb — не увеличивался [27].

Результаты настоящей работы свидетельствуют о наличии гендерных различий постреанимационных сдвигов уровня экспрессии BDNF и сопряженных с ними процессов гибели нейронов. Половые отличия в выраженности и топографии постреанимационных повреждений мозга были также показаны нами ранее [1, 28–31, 22]. Существенно, что самки в сравнении с самцами характеризовались более быстрым восстановлением неврологического статуса. Так, после 12-минутной остановки сердца восстановление неврологического статуса у самок было более быстрым, и к 5-м суткам постреанимационного периода реализовалось в 77,8% случаев против 27,2% — у самцов [28]. При этом у самок повреждения мозга развивались

that, as noted above, death of neurons was not found in sector CA4 of hippocampus in female rats. The data provide an evidence that activation of GRP78 expression may be one of the factors protecting neurons from death. Data about interrelation of BDNF and GRP78, and, in particular, during ischemia-caused stress of endoplasmatic reticulum [24–26] evidence in favor of this hypothesis.

The possibility of neurons protection during activation of expression of one of neuroprotective factors in the absence of changes in others was shown by us earlier. It turned out that intensification of BDNF expression (use of nerve growth factor mimetic GK-2) assisted prevention of postresuscitation death of neurons, though the level of other neuroprotectors — neutrophin NT4 and basic growth factor FGFb — did not increase [27].

The present results demonstrate the gender difference in post-resuscitation shifts in the level of BDNF expression and neuronal death. Gender differences in the expression and topography of postresuscitation brain damages were also shown by us earlier [1, 28–31, 22]. Significantly, compared to male animals, female animals were characterized by faster neurological status recovery. For instance, after a 12-minute cardiac arrest, neurological status recovery in female animals was faster and by day 5 of the postresuscitation period it resolved in 77.8% of cases versus 27.2% in male animals [28]. At that, in female animals, brain damages developed later and were less manifested than in male animals. Gender differences in orientation behavior and anxiety existing before resuscitation and persistent during the postresuscitation period were also detected [28].

Gender differences in ischemic brain damage were also found in rats after occlusion of medial cerebral artery. It turned out that in male rats and sprayed female rats the sizes of brain infarction in cortex and caudoputamen region were larger than in intact female rats [32]. Higher sensitivity of male brain to ischemia was shown using lines of rats with diabetes and spontaneous hypertension as well as in different ischemia models. The reasons for this phenomenon stem from hormone-independent mechanisms of ischemic cell damage and factors related to gender [2]. Interestingly, gender peculiarities of nervous cell death mechanisms were found on cultures bare of sex hormones. For instance, cultured dopaminergic neurons from 14-day female embryos were tolerant to exposure by toxic concentration of dopamine, and their surviving was doubled than in males [33]. Male cells were more sensitive to glutamate and peroxynitrite; however, the action of oxidants, such as H_2O_2 , did not depend on gender of animals [34]. Data show that the brain of male and female animals is not equally sensitive to ischemia. At the same time, these differences manifest already

позднее и были выражены меньше, чем у самцов. Выявлены также половые различия ориентировочно-исследовательского поведения и тревожности, существующие до реанимации и сохраняющиеся в постреанимационном периоде [28].

Гендерные различия в ишемическом повреждении мозга выявлены также после окклюзии средней мозговой артерии у крыс. Оказалось, что у самцов и у овариоэктомированных самок размеры инфаркта мозга в коре и каудопутамене были больше, чем у интактных самок [32]. Более высокая чувствительность мозга самцов к ишемии показана на линиях крыс с диабетом и спонтанной гипертензией, а также на разных моделях ишемии. Причины этого феномена обсуждаются как с точки зрения гормонезависимых механизмов ишемического повреждения клеток, так и с учетом факторов, связанных с половой принадлежностью организма [2]. Интересно, что гендерные особенности механизмов гибели нервных клеток выявлены на культурах, лишенных половых гормонов. Так, культивируемые дофаминергические нейроны от 14-дневных эмбрионов женского пола были толерантны к экспозиции токсической концентрации дофамина, и их выживаемость была вдвое больше, чем мужских [33]. Мужские клетки были более чувствительны к глутамату и пероксинитриту, однако воздействие оксидантов, таких как H_2O_2 не зависело от пола [34]. Приведенные факты свидетельствуют о том, что мозг самцов и самок неодинаково чувствителен к ишемии. В то же время, эти различия проявляются уже в раннем онтогенезе, т.е. еще до проявления влияния половых гормонов. Кроме того, гендерные различия ишемического повреждения выявляются не только в областях мозга, связанных с репродуктивной функцией, но и в других его отделах [35]. Следовательно, половой диморфизм ишемического повреждения мозга обусловлен не только половыми гормонами, но связан также с различиями молекулярных механизмов повреждения клеток. Так, известно, что NO-синтаза играет важную роль в инициации ишемической гибели клеток. Однако, отсутствие ее активности у нокаутных самок или при фармакологическом подавлении приводит к парадоксальному увеличению размеров инфаркта после окклюзии средней мозговой артерии [36]. Показаны также гендерные различия реакции на активацию фермента поли(АДФ-рибоза) полимеразы (PARP). У самцов после эксайтотоксического или ишемического воздействия PARP гиперактивируется и усиливает гибель клеток. Однако у самок отсутствие активности этого фермента (нокаутные самки или подавление PARP) приводит к значимому увеличению ишемического повреждения мозга после окклюзии средней мозговой артерии в отличие от перенесших аналогичное воздействие самцов [36].

during early ontogenesis, i.e. before the effects of sex hormones appears. Besides, gender differences in sensitivity to ischemic brain damage were found not only in brain regions contributed to the reproductive function, but in other regions as well [35]. Hence, sexual dimorphism of ischemic brain damage is determined not only by sex hormones, but is also related to differences in the molecular mechanisms of cell damage. For instance, NO-synthase is known to play an important role in the initiation of ischemic cell death. However, absence of its activity in knockout female animals or in case of pharmacological suppression leads to paradoxical increase of the size of infarction after occlusion of median cerebral artery [36]. Gender differences of response to activation of enzyme poly(ADP-Ribose) Polymerase (PARP) were also shown. In male animals after excitotoxic or ischemic effect, PARP becomes hyperactivated and intensifies death of cells. However, in female animals, absence of the enzyme's activity (knockout female animals or suppressed PARP) results in a considerable increase of the ischemic brain damage after occlusion of medial cerebral artery in contrast to male animals exposed to the same effect [36].

Apoptosis development differences may also be one of hormone-independent mechanisms of gender peculiarities of ischemic cell damage. It was shown [8], that during the early postnatal period, in neurons of median preoptic nuclei (MPNc) and anteroventral periventricular nuclei (AVPV) of hypothalamus, the level of Bcl-2 and Bad in female animals is smaller than in male animals whereas the level of Bax is larger. Gender differences were also identified in the number of caspase-3-positive cells: in AVPV, their quantity was smaller in female animals than in male animals whereas in MPNc it was greater.

Existence of gender peculiarities in specific mechanisms of ischemic brain damage demonstrate that the effectiveness of neuroprotective therapy may differ in animals of different sex, too. Indeed, during subarachnoid hemorrhage, application of antioxidant tirilazad (non-hormone 21-amino steroid) was more effective in males than in females [37]. Similarly thereto, post-trauma hypothermia reduced brain damage and subsequent dropout of neurons in males, but not in females [38]. It was also established [39], that brain damage caused by neonatal hypoxia was less manifested in females. However, use of selective inhibitor of necroptosis (drug Neurostatin-1) prevented development of damages in males only. Earlier, we have also established gender differences in efficacy of experimental therapy after cardiac arrest of equal duration in rats. Treatment with hormonal drug Gynodian Depot (estradiol with dehydroepiandrosterone) prevented death of neuronal cells only in male ani-

Одним из гормонально независимых механизмов гендерных особенностей ишемического повреждения клеток могут быть также отличия в развитии апоптоза. Так, показано [8], что в раннем постнатальном периоде в нейронах медиального преоптического (MPNc) и антеровентрального перивентрикулярного (AVPV) ядер гипоталамуса уровень Bcl-2 и Bad у самок меньше, чем у самцов, а уровень Bax — больше. Половые различия выявлены также и в числе каспаза-3-позитивных клеток: в AVPV их у самок было меньше, чем у самцов, а в MPNc — больше.

Наличие гендерных особенностей в специфических механизмах ишемического повреждения мозга свидетельствует о том, что у животных разного пола может различаться и эффективность нейропротективной терапии. Действительно, при субарахноидальном кровоизлиянии применение антиоксиданта тирилазада (негормональный 21-амино-стероид) было более эффективным у мужчин, чем у женщин [37]. Аналогично этому, посттравматическая гипотермия уменьшала повреждение мозга и последующее выпадение нейронов у самцов, но не у самок [38]. Установлено также [39], что вызванное неонатальной гипоксией повреждение мозга было менее выраженным у самок. Однако, применение селективного ингибитора некроптоза (препарат нейростатин-1) предупреждало развитие повреждений только у самцов. Ранее нами также были выявлены половые различия в эффективности терапии после остановки сердца одинаковой длительности. Так, применение гормонального препарата «Гинодеан Дено» (эстрадиол с дегидроэпиандростероном) предотвращало гибель нервных клеток только у самцов и не влияло на самок [30]. Половые различия были обнаружены и в эффективности использования у реанимированных животных иммуномодулятора панавира [31].

Приведенные факты свидетельствуют о половых различиях не только в механизмах повреждения мозга, но также и его защиты. Ранее нами выявлены гендерные особенности в реализации нейропротективных свойств ряда эндогенных нейротрофических факторов — глиального нейротрофического фактора GDNF [20,21], глюкозрегулируемого белка GRP78 [22], а также белков теплового шока семейства HSP70 [40]. Результаты настоящей работы свидетельствуют о наличии половых особенностей постишемической экспрессии BDNF. Гендерные различия экспрессии BDNF и их механизмы привлекают в последнее время большое внимание. Так, недавно были выявлены различия между мужчинами и женщинами даже в циркадных ритмах уровня BDNF [41]. Установлены также половые особенности экспрессии BDNF и его рецептора TrkB в медиальном преоптическом ядре гипоталамуса — области мозга, характеризующейся у хомяков половым ди-

mals and had no effect in female animals [30]. Gender differences were also discovered in the effectiveness of using immunomodulator Panavir in resuscitated animals [31].

The stated facts evidence gender differences not only in the brain damage mechanisms, but in the mechanisms of its protection, too. Earlier, we have found gender peculiarities in neuroprotection by a number of endogenous neurotrophic factors — Glial Cells Derived Neurotrophic Factor (GDNF) [20, 21], Glucose Regulated Protein GRP78 [22], and heat-shock proteins of HSP70 family [40]. The present results display the existence of gender differences at the level of the post-ischemic expression of BDNF. Gender differences of BDNF expression and their mechanisms had attracted much attention lately. Recently, differences between men and women were found even in circadian rhythms of BDNF level [41]. Gender differences were also shown in the expression of BDNF and its receptor TrkB in median preoptic nucleus of hypothalamus — the brain region characterized in hamsters by sexual dimorphism and control of sexual behavior in male animals [42]. It was shown that in male rats brain tissue, BDNF expression was higher than in female rats. Gender differences in the BDNF gene expression and its regulation by estrogen in different sectors of hippocampus in newborn rats were established [43]. It turned out that in sector CA1 of hippocampus and dentate gyrus, the level of BDNF expression in male animals was higher than in female animals. Exogenous administration of estradiol resulted in opposite shifts of BDNF expression in these sectors: in CA1, increase was observed, and in dentate gyrus — decrease.

The above factors show an existence of gender differences in BDNF expression both in norm and under different influences. Sex hormones are important for the regulation of BDNF expression in brain. Effect of androgens on the structural and functional condition of hippocampus was discovered. It was shown that following castration by orchietomy, the absence of androgens in male animals is compensated by BDNF modulation of mossy fibers, whereas testosterone annuls this effect [44]. Regulation of BDNF expression by estrogens and estradiol interaction with BDNF and its receptors are intensively discussed [45, 46]. It is pointed out that hormonal disorders during the fetus development period might lead to abnormal shifts of BDNF expression. Interestingly, the brain regions studied by us in this paper — cerebellum and hippocampus — are among most influenced by estrogens during development [47, 48]. The issue of gender peculiarities of BDNF expression becomes especially because of the role of the BDNF in neurological and mental illnesses [49, 50]. Sex hormones were shown to modulate

морфизмом и контролирующем у самцов половое поведение [42]. Показано, что в ткани мозга у самцов экспрессия BDNF выше, чем у самок. Выявлены гендерные различия экспрессии гена BDNF и ее регуляции эстрогеном в разных отделах гиппокампа у новорожденных крыс [43]. Оказалось, что в секторе CA1 гиппокампа и в зубчатой фасции уровень экспрессии BDNF у самцов был выше, чем у самок. Экзогенное введение эстрадиола приводило к противоположным сдвигам экспрессии BDNF в этих областях: в CA1 наблюдалось увеличение, а в зубчатой фасции — снижение.

Приведенные факты свидетельствуют о наличии половых различий в экспрессии BDNF как в норме, так и при различных воздействиях. Половые гормоны имеют большое значение в регуляции экспрессии BDNF в мозге. Выявлено влияние андрогенов на структурно-функциональное состояние гиппокампа. Показано, что при орхидэктомии отсутствие андрогенов у самцов компенсируется модуляцией BDNF в системе моховидных волокон, причем тестостерон отменяет этот эффект [44]. Активно обсуждаются вопросы о регуляции экспрессии BDNF эстрогенами, а также взаимодействие эстрадиола с BDNF и его рецепторами [45, 46]. При этом подчеркивается, что гормональные нарушения в период развития плода могут приводить к аномальным сдвигам экспрессии BDNF. Интересно, что исследованные нами в настоящей работе области мозга — мозжечок и гиппокамп — одни из наиболее подверженных влиянию эстрогенов во время развития [47, 48]. Особое значение вопрос о половых особенностях экспрессии BDNF приобретает в связи с исследованием неврологических и психических заболеваний [49, 50]. Показано, в частности, что половые гормоны модулируют уровень BDNF, в том числе и при стрессе [45]. При этом проявляются как гендерные, так и связанные со спецификой нейрональных популяций особенности. Так, у intactных самок уровень BDNF в поле CA3 гиппокампа был больше, чем у самцов, а в зубчатой фасции — меньше. Стресс приводил к снижению уровня BDNF в CA3 у животных обоего пола, а применение эстрогена и прогестерона повышало уровень BDNF у перенесших стресс животных.

В целом полученные нами в настоящей работе данные свидетельствуют о наличии полового диморфизма не только в ишемическом повреждении мозга, но и в реализации нейропротективных механизмов его защиты. Выявлены гендерные особенности постреанимационных сдвигов экспрессии BDNF и сопряженных с ними процессов гибели нейронов. Исследование половых особенностей организма дает возможность более полного понимания общих закономерностей постишемического повреждения мозга [2]. Действительно, показано, что у живот-

ных обоего пола в высокочувствительных к гипоксии нейрональных популяциях гибели подвергаются только неэкспрессирующие и слабоэкспрессирующие BDNF клетки. Полученные факты подтверждают развиваемое нами положение о существенном значении уровня экспрессии BDNF для обеспечения устойчивости нейронов в постреанимационной периоде.

Overall, the data obtained in our study demonstrate the existence of sexual dimorphism not only in ischemic brain damage, but also at the level of neuroprotective mechanisms. Gender peculiarities of post-resuscitation shifts of BDNF expression and neuronal death processes associated therewith were found. The investigation of gender peculiarities at a neuronal level allows better understanding of general regulates of post-ischemic brain damage [2]. Indeed, it has been shown that in animals of both gender, in neuronal populations, highly sensitive to hypoxia only BDNF non-expressing and BDNF weakly expressing cells suffer to death. These data support our previous hypothesis on significance of the level of BDNF expression for assuring neuronal stability during the postresuscitation period.

Conclusion

Gender peculiarities of the development of post-resuscitation shifts in the level of BDNF expression and neuronal death processes associated therewith have been established. It has been shown that after a cardiac arrest of equal duration, the post-resuscitation shifts in the level of BDNF expression and neuronal death processes are less manifested in female animals than in male animals. At the same time, both males and females demonstrate common regularities of post-resuscitation brain changes indicating a link between the level of BDNF expression in neurons and neuronal resistance to ischemia-reperfusion. The gender-related patterns of neuroprotection might be significant for searching the mechanisms of post-hypoxia encephalopathy and developing approaches to prevent and correct this frequent consequence of critical illness.

The authors are grateful to T. N. Vassilieva for the experiments of resuscitation of animals.

ных обоего пола в высокочувствительных к гипоксии нейрональных популяциях гибели подвергаются только неэкспрессирующие и слабоэкспрессирующие BDNF клетки. Полученные факты подтверждают развиваемое нами положение о существенном значении уровня экспрессии BDNF для обеспечения устойчивости нейронов в постреанимационной периоде.

Заключение

Выявлены гендерные особенности развития постреанимационных сдвигов уровня экспрессии BDNF и сопряженных с ними процессов гибели нейронов. Показано, что после остановки сердца одинаковой длительности у самок постреанимационные сдвиги уровня экспрессии BDNF и процессы гибели нейронов выражены меньше, чем у самцов. В то же время, у животных обоего пола выявляются общие закономерности постреанимационных изменений мозга, свидетельствующие о

взаимосвязи уровня экспрессии BDNF в нейронах с их устойчивостью к ишемии-реперфузии. Полученные результаты представляются существенными для анализа механизмов развития постгипоксических энцефалопатий, а также для разработки подходов к их профилактике и коррекции с учетом половых особенностей организма.

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

Литература

1. Волков А.В., Аврущенко М.Ш., Горенкова Н.А., Заржецкий Ю.В. Значение полового диморфизма и репродуктивных гормонов в патогенезе и исходе постреанимационной болезни. *Общая реаниматология*. 2006; 2 (5-6): 70-78. DOI: 10.15360/1813-9779-2006-6-70-78
2. Liu F., Li Z., Li J., Siegel C., Yuan R., McCullough L.D. Sex differences in caspase activation after stroke. *Stroke*. 2009; 40 (5): 1842–1848. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.538686. PMID: 19265047
3. Vagnerova K., Koerner I.P., Hurn P.D. Gender and the injured brain. *Anesth. Analg.* 2008; 107 (1): 201-214. DOI: 10.1213/ane.0b013e31817326a5. PMID: 18635489
4. Sakuma Y. Gonadal steroid action and brain sex differentiation in the rat. *J. Neuroendocrinol.* 2009; 21 (4): 410-414. DOI: 10.1111/j.1365-2826.2009.01856.x. PMID: 19226349
5. Zuo W., Zhang W., Chen N.H. Sexual dimorphism in cerebral ischemia injury. *Eur. J. Pharmacol.* 2013; 711 (1-3): 73-79. DOI: 10.1016/j.ejphar.2013.04.024. PMID: 23652162
6. Herson P.S., Hurn P.D. Gender and the injured brain. *Prog. Brain Res.* 2010; 186: 177-187. DOI: 10.1016/B978-0-444-53630-3.00012-9. PMID: 21094893
7. Herson P.S., Palmateer J., Hurn P.D. Biological sex and mechanisms of ischemic brain injury. *Transl. Stroke Res.* 2013; 4 (4): 413-419. DOI: 10.1007/s12975-012-0238-x. PMID: 23930140
8. Tsukahara S., Kakeyama M., Toyofuku Y. Sex differences in the level of Bcl-2 family proteins and caspase-3 activation in the sexually dimorphic nuclei of the preoptic area in postnatal rats. *J. Neurobiol.* 2006; 66 (13): 1411-1419. DOI: 10.1002/neu.20276. PMID: 17013925
9. Gibson C.L. Cerebral ischemic stroke: is gender important? *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2013; 33 (9): 1355-1361. DOI: 10.1038/jcbfm.2013.102. PMID: 23756694
10. 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
11. 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 neuroprotective properties-ready for use in the stroke clinic? *Biomed. Res. Int.* 2015; 2015: 519830. DOI:10.1155/2015/519830. PMID: 25789320
12. Budni J., Bellettini-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
13. 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
14. 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
15. 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
16. 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
17. Hempstead B.L. Brain-derived neurotrophic factor: three ligands, many actions. *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.* 2015; 126: 9-19. PMID: 26330656
18. Аврущенко М.Ш., Острова И.В. Постреанимационные изменения экспрессии мозгового нейротрофического фактора (BDNF): взаи-

References

1. Volkov A.V., Avrushchenko M.Sh., Gorenkova N.A., Zarzhetsky Yu.V. Implication of sexual dimorphism and reproductive hormones in the pathogenesis and outcome of postresuscitative disease. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2006; 2 (5-6): 70-78. DOI: 10.15360/1813-9779-2006-6-70-78. [In Russ., In Engl.]
2. Liu F., Li Z., Li J., Siegel C., Yuan R., McCullough L.D. Sex differences in caspase activation after stroke. *Stroke*. 2009; 40 (5): 1842–1848. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.538686. PMID: 19265047
3. Vagnerova K., Koerner I.P., Hurn P.D. Gender and the injured brain. *Anesth. Analg.* 2008; 107 (1): 201-214. DOI: 10.1213/ane.0b013e31817326a5. PMID: 18635489
4. Sakuma Y. Gonadal steroid action and brain sex differentiation in the rat. *J. Neuroendocrinol.* 2009; 21 (4): 410-414. DOI: 10.1111/j.1365-2826.2009.01856.x. PMID: 19226349
5. Zuo W., Zhang W., Chen N.H. Sexual dimorphism in cerebral ischemia injury. *Eur. J. Pharmacol.* 2013; 711 (1-3): 73-79. DOI: 10.1016/j.ejphar.2013.04.024. PMID: 23652162
6. Herson P.S., Hurn P.D. Gender and the injured brain. *Prog. Brain Res.* 2010; 186: 177-187. DOI: 10.1016/B978-0-444-53630-3.00012-9. PMID: 21094893
7. Herson P.S., Palmateer J., Hurn P.D. Biological sex and mechanisms of ischemic brain injury. *Transl. Stroke Res.* 2013; 4 (4): 413-419. DOI: 10.1007/s12975-012-0238-x. PMID: 23930140
8. Tsukahara S., Kakeyama M., Toyofuku Y. Sex differences in the level of Bcl-2 family proteins and caspase-3 activation in the sexually dimorphic nuclei of the preoptic area in postnatal rats. *J. Neurobiol.* 2006; 66 (13): 1411-1419. DOI: 10.1002/neu.20276. PMID: 17013925
9. Gibson C.L. Cerebral ischemic stroke: is gender important? *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2013; 33 (9): 1355-1361. DOI: 10.1038/jcbfm.2013.102. PMID: 23756694
10. 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
11. 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 neuroprotective properties-ready for use in the stroke clinic? *Biomed. Res. Int.* 2015; 2015: 519830. DOI:10.1155/2015/519830. PMID: 25789320
12. Budni J., Bellettini-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
13. 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
14. 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
15. 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
16. 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
17. Hempstead B.L. Brain-derived neurotrophic factor: three ligands, many actions. *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.* 2015; 126: 9-19. PMID: 26330656
18. Avrushchenko M.Sh., Ostrova I.V. Postresuscitative changes of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) protein expression: association

- мосьвяз с процессом гибели нейронов. *Общая реаниматология*. 2017; 13 (4): 6-21. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-4-6-21
19. Корпачев В.Г., Лысенков С.П., Тель Л.З. Моделирование клинической смерти и постреанимационной болезни у крыс. *Патол. физиол. и эксперим. терапия*. 1982; 3: 78-80. PMID: 7122145
 20. Аврущенко М.Ш., Острова И.В., Волков А.В. Постреанимационные изменения экспрессии глияльного 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
 21. Avruschenko M.Sh., Ostrova I.V. Association of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) protein expression with the neuronal death in post-resuscitation period. *Resuscitation*. 2014; 85: S108. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2014.03.268
 22. 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
 23. 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
 24. Chen G., Fan Z., Wang X., Ma C., Bower K.A., Shi X., Ke Z.J., Luo J. Brain-derived neurotrophic factor suppresses tunicamycin-induced upregulation of CHOP in neurons. *J. Neurosci. Res.* 2007; 85 (8): 1674-1684. DOI: 10.1002/jnr.21292. PMID: 17455323
 25. Wei H.J., Xu J.H., Li M.H., Tang J.P., Zou W., Zhang P., Wang L., Wang C.Y., Tang X.Q. Hydrogen sulfide inhibits homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress and neuronal apoptosis in rat hippocampus via upregulation of the BDNF-TrkB pathway. *Acta Pharmacol. Sin.* 2014; 35 (6): 707-715. DOI: 10.1038/aps.2013.197. PMID: 24747165
 26. Kang J.S. Exercise copes with prolonged stress-induced impairment of spatial memory performance by endoplasmic reticulum stress. *J. Exerc. Nutrition Biochem.* 2015; 19 (3): 191-197. DOI: 10.5717/jenb.2015.15080705. PMID: 26527209
 27. Аврущенко М.Ш., Острова И.В., Заржецкий Ю.В., Мороз В.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Влияние миметика фактора роста нервов ГК-2 на постреанимационную экспрессию нейротрофических факторов. *Патол. физиол. и эксперим. терапия*. 2015; 59 (2): 12-18. PMID: 26571801
 28. Волков А.В., Аврущенко М.Ш., Баранник А.П., Зиганшин Р.Х., Горенкова Н.А., Заржецкий Ю.В. Половой диморфизм структурно-функциональных изменений мозга в раннем постреанимационном периоде после остановки сердца. *Общая реаниматология*. 2006; 2 (2): 9-13. DOI: 10.15360/1813-9779-2006-2-9-13
 29. Волков А.В., Аврущенко М.Ш., Горенкова Н.А., Щербаклова Л.Н., Заржецкий Ю.В. Половые различия отсроченных постреанимационных изменений головного мозга (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2007; 3 (5-6): 97-102. DOI: 10.15360/1813-9779-2007-6-97-102
 30. Острова И.В., Аврущенко М.Ш., Волков А.В., Заржецкий Ю.В. Половые различия структурных изменений головного мозга в постреанимационном периоде. *Общая реаниматология*. 2009; 5 (6): 60-65. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-6-60
 31. Острова И.В., Аврущенко М.Ш., Заржецкий Ю.В., Афанасьев А.В., Волков А.В. Гендерные различия в постреанимационном повреждении мозга и в эффективности иммуномодулятора панавира. *Общая реаниматология*. 2010; 6 (6): 25-28. DOI: 10.15360/1813-9779-2010-6-25
 32. Alkayed N.J., Harukuni I., Kimes A.S., London E.D., Traystman R.J., Hurn P.D. Gender-linked brain injury in experimental stroke. *Stroke*. 1998; 29 (1): 159-166. DOI: 10.1161/01.STR.29.1.159. PMID: 9445346
 33. Lieb K., Andrae J., Reiser I., Pilgrim C. Neurotoxicity of dopamine and protective effects of the NMDA receptor antagonist AP-5 differ between male and female dopaminergic neurons. *Exp. Neurol.* 1995; 134 (2): 222-229. DOI: 10.1006/exnr.1995.1052. PMID: 7556542
 34. Du L., Bayir H., Lai Y., Zhang X., Kochanek P.M., Watkins S.C., Graham S.H., Clark R.S. Innate gender-based proclivity in response to cytotoxicity and programmed cell death pathway. *J. Biol. Chem.* 2004; 279 (37): 38563-38570. DOI: 10.1074/jbc.M405461200. PMID: 15234982
 35. Arnold A.P., Rissman E.F., De Vries G.J. Two perspectives on the origin of sex differences in the brain. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003; 1007: 176-188. DOI: 10.1196/annals.1286.018. PMID: 14993052
 36. McCullough L.D., Zeng Z., Blizzard K.K., Debchoudhury I., Hurn P.D. Ischemic nitric oxide and poly (ADPribose) polymerase-1 in cerebral ischemia: male toxicity, female protection. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2005; 25 (4): 502-512. DOI: 10.1038/sj.cbfm.9600059. PMID: 15689952
 37. Kassell N.F., Haley E.C.Jr., Apperson-Hansen C., Alves W.M. Randomized, doubleblind, vehicle-controlled trial of tirilazad mesylate in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a cooperative study in Europe, Australia, and New Zealand. *J. Neurosurg.* 1996; 84 (2): 221-228. DOI: 10.3171/jns.1996.84.2.0221. PMID: 8592224
 - with neuronal death. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2017; 13 (4): 6-21. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-4-6-21. [In Russ., In Engl.]
 19. Korpachev V.G., Lysenkov S.P., Tel L.Z. Modeling clinical death and postresuscitation disease in rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimentalnaya Terapiya*. 1982; 3: 78-80. PMID: 7122145. [In Russ.]
 20. Avruschenko M.Sh., Ostrova I.V., Volkov A.V. Postresuscitation changes in the expression of Glial-Derived 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.]
 21. Avruschenko M.Sh., Ostrova I.V. Association of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) protein expression with the neuronal death in post-resuscitation period. *Resuscitation*. 2014; 85: S108. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2014.03.268
 22. Ostrova I.V., Avruschenko 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.]
 23. Ostrova I.V., Avruschenko M.Sh. 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.]
 24. Chen G., Fan Z., Wang X., Ma C., Bower K.A., Shi X., Ke Z.J., Luo J. Brain-derived neurotrophic factor suppresses tunicamycin-induced upregulation of CHOP in neurons. *J. Neurosci. Res.* 2007; 85 (8): 1674-1684. DOI: 10.1002/jnr.21292. PMID: 17455323
 25. Wei H.J., Xu J.H., Li M.H., Tang J.P., Zou W., Zhang P., Wang L., Wang C.Y., Tang X.Q. Hydrogen sulfide inhibits homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress and neuronal apoptosis in rat hippocampus via upregulation of the BDNF-TrkB pathway. *Acta Pharmacol. Sin.* 2014; 35 (6): 707-715. DOI: 10.1038/aps.2013.197. PMID: 24747165
 26. Kang J.S. Exercise copes with prolonged stress-induced impairment of spatial memory performance by endoplasmic reticulum stress. *J. Exerc. Nutrition Biochem.* 2015; 19 (3): 191-197. DOI: 10.5717/jenb.2015.15080705. PMID: 26527209
 27. Avruschenko M.Sh., Ostrova I.V., Zarzhetsky Yu.V., Moroz V.V., Gudashcheva T.A., Seredenin S.B. 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.]
 28. Volkov A.V., Avruschenko M.Sh., Barannik A.P., Ziganshin R.Kh., Gorenkova N.A., Zarzhetsky Yu.V. Sexual dimorphism of cerebral structural and functional changes in the early postresuscitative period after cardiac arrest. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2006; 2 (2): 9-13. DOI: 10.15360/1813-9779-2006-2-9-13. [In Russ., In Engl.]
 29. Volkov A.V., Avruschenko M.Sh., Gorenkova N.A., Shcherbakova L.N., Zarzhetsky Yu.V. Sexual differences in delayed postresuscitative brain changes (experimental study). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2007; 3 (5-6): 97-102. DOI: 10.15360/1813-9779-2007-6-97-102. [In Russ., In Engl.]
 30. Ostrova I.V., Avruschenko M.Sh., Volkov A.V., Zarzhetsky Yu.V. Gender differences in postresuscitative brain structural changes. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2009; 5 (6): 60-65. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-6-60. [In Russ., In Engl.]
 31. Ostrova I.V., Avruschenko M.Sh., Zarzhetsky Yu.V., Afanasyev A.V., Volkov A.V. Gender differences in postresuscitative brain injury and in the efficacy of the immunomodulator panavir. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2010; 6 (6): 25-28. DOI: 10.15360/1813-9779-2010-6-25. [In Russ., In Engl.]
 32. Alkayed N.J., Harukuni I., Kimes A.S., London E.D., Traystman R.J., Hurn P.D. Gender-linked brain injury in experimental stroke. *Stroke*. 1998; 29 (1): 159-166. DOI: 10.1161/01.STR.29.1.159. PMID: 9445346
 33. Lieb K., Andrae J., Reiser I., Pilgrim C. Neurotoxicity of dopamine and protective effects of the NMDA receptor antagonist AP-5 differ between male and female dopaminergic neurons. *Exp. Neurol.* 1995; 134 (2): 222-229. DOI: 10.1006/exnr.1995.1052. PMID: 7556542
 34. Du L., Bayir H., Lai Y., Zhang X., Kochanek P.M., Watkins S.C., Graham S.H., Clark R.S. Innate gender-based proclivity in response to cytotoxicity and programmed cell death pathway. *J. Biol. Chem.* 2004; 279 (37): 38563-38570. DOI: 10.1074/jbc.M405461200. PMID: 15234982
 35. Arnold A.P., Rissman E.F., De Vries G.J. Two perspectives on the origin of sex differences in the brain. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003; 1007: 176-188. DOI: 10.1196/annals.1286.018. PMID: 14993052
 36. McCullough L.D., Zeng Z., Blizzard K.K., Debchoudhury I., Hurn P.D. Ischemic nitric oxide and poly (ADPribose) polymerase-1 in cerebral ischemia: male toxicity, female protection. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2005; 25 (4): 502-512. DOI: 10.1038/sj.cbfm.9600059. PMID: 15689952

38. Suzuki T., Bramlett H.M., Dietrich W.D. The importance of gender on the beneficial effects of posttraumatic hypothermia. *Exp. Neurol.* 2003; 184 (2): 1017–1026. DOI: 10.1016/S0014-4886(03)00389-3. PMID: 14769396
39. Chavez-Valdez R., Martin L.J., Razdan S., Gauda E.B., Northington F.J. Sexual dimorphism in BDNF signaling after neonatal hypoxia-ischemia and treatment with necrostatin-1. *Neuroscience.* 2014; 260: 106–119. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2013.12.023. PMID: 24361177
40. Ostrova I.V., Avrushchenko M.Sh., Volkov A.V. Gender differences in post-ischemic brain morphology are associated with expression level of HSP70 protein. Shock Society Fifth Congress of the European Shock Society (ESS) 2013, September 12–14, Vienna, Austria. SHOCK Supplement to the ESS Congress, Austria. 2013; 40 (Suppl 1): 29. DOI: 10.1097/SHK.0b013e3182a5906f
41. Cain S.W., Chang A.M., Vlasac I., Tare A., Anderson C., Czeisler C.A., Saxena R. Circadian rhythms in plasma brain-derived neurotrophic factor differ in men and women. *J. Biol. Rhythms.* 2017; 32 (1): 75–82. DOI: 10.1177/0748730417693124. PMID: 28326910
42. Brague J.C., Swann J.M. Sexual dimorphic expression of TrkB, TrkB-T1, and BDNF in the medial preoptic area of the Syrian hamster. *Brain Res.* 2017; 1669: 122–125. DOI: 10.1016/j.brainres.2017.06.008. PMID: 28606780
43. Kight K.E., McCarthy M.M. Sex differences and estrogen regulation of BDNF gene expression, but not propeptide content, in the developing hippocampus. *J. Neurosci. Res.* 2017; 95 (1–2): 345–354. DOI: 10.1002/jnr.23920. PMID: 27870444
44. Atwi S., McMahon D., Scharfman H., MacLusky N.J. Androgen modulation of hippocampal structure and function. *Neuroscientist.* 2016; 22 (1): 46–60. DOI: 10.1177/1073858414558065. PMID: 25416742
45. Franklin T.B., Perrot-Sinal T.S. Sex and ovarian steroids modulate brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein levels in rat hippocampus under stressful and non-stressful conditions. *Psychoneuroendocrinology.* 2006; 31 (1): 38–48. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2005.05.008. PMID: 15996825
46. Carbone D.L., Handa R.J. Sex and stress hormone influences on the expression and activity of brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience.* 2013; 239: 295–303. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012. 10.073. PMID: 23211562
47. Miñano A., Xifró X., Pérez V., Barneda-Zahonero B., Saura C.A., Rodríguez-Alvarez J. Estradiol facilitates neurite maintenance by a Src/Ras/ERK signalling pathway. *Mol. Cell Neurosci.* 2008; 39 (2): 143–151. DOI: 10.1016/j.mcn.2008.06.001. PMID: 18620059
48. Bender R.A., Zhou L., Wilkars W., Fester L., Lanowski J.S., Paysen D., König A., Rune G.M. Roles of 17 α -estradiol involve regulation of reelin expression and synaptogenesis in the dentate gyrus. *Cereb. Cortex.* 2010; 20 (12): 2985–2995. DOI: 10.1093/cercor/bhq047. PMID: 20421250
49. Chan C.B., Ye K. Sex differences in brain-derived neurotrophic factor signaling and functions. *J. Neurosci. Res.* 2017; 95 (1–2): 328–335. DOI: 10.1002/jnr.23863. PMID: 27870419
50. Wei Y.C., Wang S.R., Xu X.H. Sex differences in brain-derived neurotrophic factor signaling: functions and implications. *J. Neurosci. Res.* 2017; 95 (1–2): 336–344. DOI: 10.1002/jnr.23897. PMID: 27870405
37. Kassell N.F., Haley E.C.Jr., Apperson-Hansen C., Alves W.M. Randomized, double-blind, vehicle-controlled trial of tirilazad mesylate in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a cooperative study in Europe, Australia, and New Zealand. *J. Neurosurg.* 1996; 84 (2): 221–228. DOI: 10.3171/jns.1996.84.2.0221. PMID: 8592224
38. Suzuki T., Bramlett H.M., Dietrich W.D. The importance of gender on the beneficial effects of posttraumatic hypothermia. *Exp. Neurol.* 2003; 184 (2): 1017–1026. DOI: 10.1016/S0014-4886(03)00389-3. PMID: 14769396
39. Chavez-Valdez R., Martin L.J., Razdan S., Gauda E.B., Northington F.J. Sexual dimorphism in BDNF signaling after neonatal hypoxia-ischemia and treatment with necrostatin-1. *Neuroscience.* 2014; 260: 106–119. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2013.12.023. PMID: 24361177
40. Ostrova I.V., Avrushchenko M.Sh., Volkov A.V. Gender differences in post-ischemic brain morphology are associated with expression level of HSP70 protein. Shock Society Fifth Congress of the European Shock Society (ESS) 2013, September 12–14, Vienna, Austria. SHOCK Supplement to the ESS Congress, Austria. 2013; 40 (Suppl 1): 29. DOI: 10.1097/SHK.0b013e3182a5906f
41. Cain S.W., Chang A.M., Vlasac I., Tare A., Anderson C., Czeisler C.A., Saxena R. Circadian rhythms in plasma brain-derived neurotrophic factor differ in men and women. *J. Biol. Rhythms.* 2017; 32 (1): 75–82. DOI: 10.1177/0748730417693124. PMID: 28326910
42. Brague J.C., Swann J.M. Sexual dimorphic expression of TrkB, TrkB-T1, and BDNF in the medial preoptic area of the Syrian hamster. *Brain Res.* 2017; 1669: 122–125. DOI: 10.1016/j.brainres.2017.06.008. PMID: 28606780
43. Kight K.E., McCarthy M.M. Sex differences and estrogen regulation of BDNF gene expression, but not propeptide content, in the developing hippocampus. *J. Neurosci. Res.* 2017; 95 (1–2): 345–354. DOI: 10.1002/jnr.23920. PMID: 27870444
44. Atwi S., McMahon D., Scharfman H., MacLusky N.J. Androgen modulation of hippocampal structure and function. *Neuroscientist.* 2016; 22 (1): 46–60. DOI: 10.1177/1073858414558065. PMID: 25416742
45. Franklin T.B., Perrot-Sinal T.S. Sex and ovarian steroids modulate brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein levels in rat hippocampus under stressful and non-stressful conditions. *Psychoneuroendocrinology.* 2006; 31 (1): 38–48. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2005.05.008. PMID: 15996825
46. Carbone D.L., Handa R.J. Sex and stress hormone influences on the expression and activity of brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience.* 2013; 239: 295–303. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012. 10.073. PMID: 23211562
47. Miñano A., Xifró X., Pérez V., Barneda-Zahonero B., Saura C.A., Rodríguez-Alvarez J. Estradiol facilitates neurite maintenance by a Src/Ras/ERK signalling pathway. *Mol. Cell Neurosci.* 2008; 39 (2): 143–151. DOI: 10.1016/j.mcn.2008.06.001. PMID: 18620059
48. Bender R.A., Zhou L., Wilkars W., Fester L., Lanowski J.S., Paysen D., König A., Rune G.M. Roles of 17 α -estradiol involve regulation of reelin expression and synaptogenesis in the dentate gyrus. *Cereb. Cortex.* 2010; 20 (12): 2985–2995. DOI: 10.1093/cercor/bhq047. PMID: 20421250
49. Chan C.B., Ye K. Sex differences in brain-derived neurotrophic factor signaling and functions. *J. Neurosci. Res.* 2017; 95 (1–2): 328–335. DOI: 10.1002/jnr.23863. PMID: 27870419
50. Wei Y.C., Wang S.R., Xu X.H. Sex differences in brain-derived neurotrophic factor signaling: functions and implications. *J. Neurosci. Res.* 2017; 95 (1–2): 336–344. DOI: 10.1002/jnr.23897. PMID: 27870405

Поступила 04.07.17

Received 04.07.17