

ЗНАЧЕНИЕ ОСНОВНОГО ФАКТОРА РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ (bFGF) В РАЗВИТИИ ПОСТРЕАНИМАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПОПУЛЯЦИИ КЛЕТОК ПУРКИНЬЕ МОЗЖЕЧКА

М. Ш. Аврущенко, И. В. Острова

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

Significance of Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) in The Development of Postresuscitation Changes in Population of Cerebellar Purkinje Cells

M. Sh. Avrushchenko, I. V. Ostrova

V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Moscow
25, Petrovka St., Build. 2, Moscow 107031, Russia

Цель: исследовать взаимосвязь постреанимационных сдвигов уровня экспрессии bFGF с развитием морфологических изменений нейронов в высокочувствительной к гипоксии популяции клеток Пуркинье мозжечка.

Материалы и методы. У белых половозрелых крыс-самцов вызывали 10-минутную остановку системного кровообращения путем пережатия сосудистого пучка сердца. На разных сроках постреанимационного периода исследовали состояние популяции клеток Пуркинье мозжечка. При гистологическом анализе на препаратах, окрашенных кризоловым фиолетовым по Ниссию, определяли общее число клеток Пуркинье на 1 мм длины их слоя, а также число нормальных и морфологически измененных нейронов. При иммуногистохимическом анализе определяли число bFGF-положительных (слабо- и сильноокрашенных) и bFGF-отрицательных клеток Пуркинье на 1 мм длины их слоя.

Результаты. Определена динамика развития процесса гибели нейронов и выявлены изменения уровня экспрессии bFGF в популяции клеток Пуркинье мозжечка в постреанимационном периоде. Через 1 сутки после реанимации уровень экспрессии bFGF в исследованной нейрональной популяции значительно возрос. На этом этапе гибели нейронов не происходило. В дальнейшем (4 сутки) уровень экспрессии bFGF снижился. При этом уменьшалась общая плотность популяции, что свидетельствовало о гибели нейронов. Анализ данных иммуногистохимического исследования позволил установить, что гибели подвергались bFGF-отрицательные клетки. На более поздних этапах постреанимационного процесса (7-е и 14-е сутки) уровень экспрессии bFGF снова возрастал. При этом углубления и/или усиления патологических изменений в исследованной нейрональной популяции не происходило.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что ишемия-реперфузия существенно влияет на уровень экспрессии bFGF, вызывая его активацию в популяции клеток Пуркинье. Первоначальный подъем уровня экспрессии белка bFGF в нейрональной популяции позволяет предупредить развитие процесса гибели нервных клеток. Последующее уменьшение экспрессии bFGF сопровождается выпадением (гибелью) нейронов. Способность к выработке bFGF является важным фактором, влияющим на устойчивость нейронов к гибели в постреанимационном периоде. Использование bFGF представляется весьма перспективным для разработки альтернативных терапевтических стратегий при профилактике и лечении постгипоксических энцефалопатий.

Ключевые слова: bFGF; постреанимационный период; гибель нейронов; клетки Пуркинье мозжечка; иммуногистохимия; морфометрический анализ

Objective: to evaluate the relationship of postresuscitation changes in the level of bFGF protein expression and morphological patterns of the cerebellar Purkinje cells.

Адрес для корреспонденции:

Ирина Острова
E-mail: irinaostrova@mail.ru

Correspondence to:

Irina Ostrova
E-mail: irinaostrova@mail.ru

Materials and methods. Albino adult male rats were subjected to 10 minutes of systemic circulatory arrest caused by cardiac vascular fascicle ligation. The status of a hypoxia-sensitive neuronal population of cerebellar Purkinje cells were investigated in different postresuscitation periods. Total numbers of Purkinje cells per mm of their layer length were estimated by a histological analysis of the specimens stained with cresyl violet after the Nissl procedure. An immunocytochemical analysis was performed to determine the number of bFGF-positive (weakly and strongly stained) and GDNF-negative neurons per mm of their layer length and the total population density.

Results. Dynamics of the process of neuronal death and changes of bFGF expression level in the population of the Purkinje cells were determined postresuscitation. Next day after the resuscitation the level of expression of bFGF in the neuronal population significantly increased. At the same time point, the neuronal death did not occur. However, on day 4 the level of bFGF expression decreased and overall density of the population declined. Immunohistochemical study revealed that bFGF-negative cells undergone death. In the later stages of the process postresuscitation (days 7 and 14) the bFGF expression level increased again. At the same time deepening and/or enhancing of the pathological changes in the neuronal population were not observed.

Conclusion. The data indicate that ischemia-reperfusion significantly affect the expression of bFGF protein, inducing its elevation within the Purkinje cell population of resuscitated animals. The initial rise in the level of bFGF protein within the neuronal population might prevent the development of a nerve cell death process. The subsequent reduction in the bFGF level is accompanied by the neuronal loss. Therefore, the ability to produce bFGF is an important factor affecting the resistance of neurons to postresuscitation damage. Moreover, the bFGF is considered as promising candidate molecule for developing alternative therapeutic strategies to prevent and/or treatment posthypoxic encephalopathies.

Key words: *bFGF; postresuscitation period; neuronal death; cerebellar Purkinje cells; immunohistochemistry; morphometric analysis*

DOI:10.15360/1813-9779-2016-1-6-15

Введение

Установлена тесная взаимосвязь между восстановлением функции мозга в постреанимационном периоде и выраженностью изменений, происходящих на уровне нейрональных популяций [1, 2]. Исследование этих процессов имеет важное значение для выявления причин и механизмов развития постгипоксических энцефалопатий, а также для разработки новых подходов к их профилактике и коррекции.

Существенную роль в выживании нейронов при различных патологических воздействиях играет основной фактор роста фибробластов (bFGF или FGF2). Этот полипептид является одним из наиболее изученных факторов роста и характеризуется широким спектром действия на клетки разных типов, в т. ч. нейроны, астроциты, фибробласты, эндотелиоциты, клетки мышц и эндокринных органов. bFGF экспрессируется в разных структурах головного мозга [3]. Он участвует в обеспечении дифференцировки нейронов в период онтогенеза и в поддержании их пластичности во взрослом организме [3, 4], а также в процессах обучения и памяти [5]. На различных моделях изолированной ишемии мозга был выявлен нейропротективный эффект применения bFGF [6, 7]. Установлена способность bFGF к защите нейронов и ускорению неврологического восстановления при его использовании в экспериментальных моделях болезни Альцгеймера [6, 8, 9], болезни Паркинсона [10], а также при повреждении спинного мозга и периферических нервов [11–13]. Увеличение экспрессии мРНК bFGF и продук-

Introduction

There is a close relationship between the restoration of brain functions in the postoperative period and severity of changes at the neuronal populations level [1, 2]. Investigation of these processes is essential for clarification of mechanisms of posthypoxic encephalopathies and developing new approaches to their prevention and correction.

An essential role in the neuronal survival in various pathological effects belongs to basic fibroblast growth factor (bFGF or FGF2). This protein is one of the most studied growth factors and differentially affects different cell types, including neurons, astrocytes, fibroblasts, endothelial cells, muscle cells, and the endocrine organs ones. bFGF is expressed in different brain regions [3]. It provides neuronal differentiation during ontogeny and plasticity of neurons in adults [3, 4], and is involved in the processes of learning and memory [5]. bFGF exhibited strong neuroprotective effect in different models of cerebral ischemia [6, 7]. bFGF was demonstrated to protect neurons and accelerate the neurological recovery in Alzheimer's disease [6, 8, 9], Parkinson's disease [10], spinal cord injury and peripheral nerve injury [11–13]. After the focal ischemia in rats, the increased expressions of bFGF mRNA and protein were observed in some areas of the brain [14–16]. It is known that clinical death (as a total ischemia of the body) differs from cerebral ischemia in its consequences for the whole organism and effects on the brain [17]. However, there is no data on changes in the expression of bFGF protein in neuronal brain populations during recovery period after clinical death.

ции белка выявлено в некоторых отделах мозга после очаговой ишемии у крыс [14–16]. Известно, что тотальная ишемия организма — клиническая смерть — существенно отличается от изолированной ишемии мозга как по своим последствиям для организма в целом, так и для мозга [17]. Однако, постреанимационные изменения уровня экспрессии эндогенного bFGF в нервных клетках остаются не изученными.

Для анализа закономерностей и механизмов постреанимационных изменений нервных клеток представляется существенным исследовать взаимосвязь уровня экспрессии bFGF в высокочувствительной к гипоксии нейрональной популяции клеток Пуркинью мозжечка с развитием процессов дистрофического изменения и гибели нейронов.

Материал и методы

У 20 самцов белых половозрелых крыс массой 190–250 г под эфирным наркозом вызывали остановку сердца на 10 мин путем внутриторакального пережатия сосудистого пучка сердца [18]. Оживление проводили непрямым массажем 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. Через 1, 4, 7, 14 дней после реанимации животных выводили из эксперимента декапитацией под эфирным наркозом (по 5–7 животных на каждый срок постреанимационного периода). Контролем служили ложнопериоперированные животные ($n=10$). 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 состояния популяции клеток Пуркинью коры мозжечка. Гистологический анализ проводили на парафиновых срезах толщиной 5–6 мкм, окрашенных кризильным фиолетовым по Нисслю. Определяли общую плотность нейрональной популяции (число клеток Пуркинью на 1 мм длины их слоя). При анализе выделяли нормальные и морфологически измененные нейроны. В группу «морфологически измененных» включали клетки с различными видами патологии (перипеллюлярный отек, ишемические изменения, набухание, тигролиз, гидрочические изменения, сморщивание), согласно общепринятой классификации изменений нервных клеток [19, 20].

Иммуноцитохимические исследования проводили непрямым пероксидазно-антипероксидазным методом с использованием поликлональных антител к bFGF (разведение 1:200) (Santa Cruz, USA) и визуализирующей системы EnVision™+Kit (DAKO, Glostrup, Denmark). Иммуноцитохимическая реакция контролировалась инкубацией срезов со всеми реагентами кроме первичных антител. При анализе выделяли bFGF-негативные (bFGF⁻) и bFGF-позитивные нейроны с различным уровнем экспрессии bFGF — слабым (bFGF⁺)

Investigating the expression of bFGF protein in hypoxia-sensitive neuronal population of the cerebellar Purkinje cells and determining its relations to developing degenerative processes and the neuronal death seem crucial for clarification of mechanisms of postresuscitative brain injury.

Materials and Methods

Male and female albino adult rats (190–250 g body mass) were anesthetized with an ether, and cardiac arrest was evoked for 10 min by intrathoracic clamping of the supracardiac bundle of vessels with a special hook [18]. Animals were resuscitated with the aid of chest compressions in conjunction with mechanical air ventilation during hyperventilation by «Animal Respirator» (SMT Geratehandel) accompanied by intratracheal administration solution of adrenaline at a dose of 0.1 mg/kg. Animals were sacrificed by decapitation under ether anesthesia on days 1, 4, 7 and 14 after resuscitation (5–7 rats, each time point). Sham-operated animals served as controls ($n=10$). Experiments were performed according to the recommendations of the Ethics Committee of V. A. Negovsky Institute for General Reanimatology in accordance to the «Rules of the work using experimental animals» (Order № 755 of the Ministry of Public Health (USSR), 12.08.1977).

The postresuscitation changes in the population of Purkinje cells of the cerebellar cortex were investigated. Histological analysis was performed on paraffin-embedded brain tissue sections, 5–6 μ m thick, stained with cresyl violet by Nissl procedure. The total density of neuronal population (number of Purkinje cells per 1 mm of the layer length) was assessed. Visually, the groups of neurons were discriminated as two groups, normal neurons and «altered» neurons. In contrast to normal neurons, the group of «altered» neurons included cells with different pathological patterns (pericellular edema, ischemic changes, swelling, tigrolysis, hydropic change, shrinkage), according to the general classification of the nerve cell changes [19, 20].

Expression of bFGF protein was determined by indirect peroxidase-antiperoxidase method using polyclonal antibodies against bFGF (dilution 1: 200) (Santa Cruz, USA) and visualization system EnVision™+Kit (DAKO, Glostrup, Denmark). Immunocytochemical control reaction was monitored by incubating the sections with all reagents except the primary antibody. Numbers of neurons with different levels of bFGF (negative — bFGF⁻, weak — bFGF⁺ and intense — bFGF⁺⁺) (Fig. 1) per 1 mm of the layer length, as well as the total population density were determined.

Images were analyzed with the use of light microscope Olympus BX-41 (Japan), program Image Scope M (Russia) and Excel software. Statistical processing of the data was performed using the Student's *t*-test and Mann-Whitney *U*-test.

Results and Discussion

According to histological data, on the first postoperative day the total density of Purkinje cells was the same as in the control group indicating no

и интенсивным (bFGF⁺⁺) (рис. 1). Определяли число нейронов с разным уровнем экспрессии на 1 мм длины их слоя, а также общую плотность популяции.

В исследованиях использовали систему анализа изображений (компьютер Intel, микроскоп Olympus BX-41, программы ImageScoreM, MS Excel 2007).

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 7.0 с использованием *t*-критерия Стьюдента и *U*-критерия Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

Согласно результатам гистологического исследования, через 1 сутки после реанимации общая плотность популяции клеток Пуркинье соответствовала контрольному уровню (рис. 2), что свидетельствует об отсутствии гибели нейронов. Однако при этом число нормальных клеток уменьшалось (на 24,6%), а число морфологически измененных клеток возрастало (на 53,1%) (рис. 2). Следовательно, на этом этапе постреанимационного процесса при отсутствии гибели нейронов формируются дистрофические изменения клеток («переход» части нормальных нейронов в категорию «морфологически измененных»).

Процесс выпадения (гибели) клеток Пуркинье развивался к 4-м суткам постреанимационного периода, о чем свидетельствует существенное снижение общей плотности популяции в сравнении с контролем (на 16,6%) (рис. 2). При этом число нормальных клеток было уменьшено (на 27,8%), а число морфологически измененных клеток не отличалось от контроля. Учитывая, что на предыдущем этапе число морфологически изме-

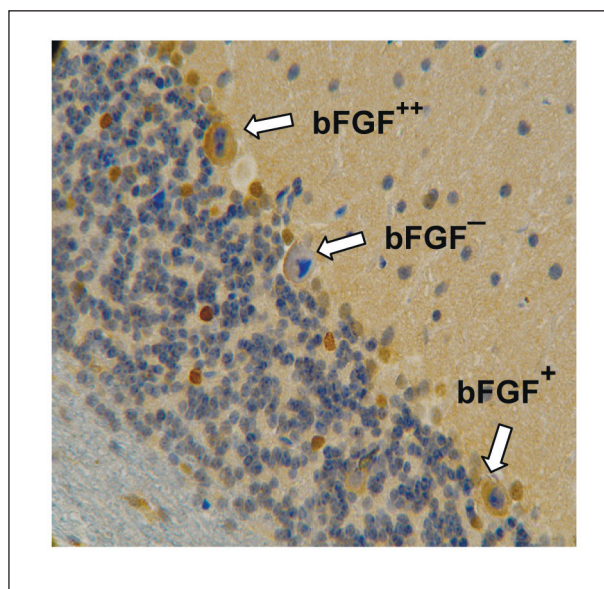


Рис. 1. Клетки Пуркинье с разным уровнем экспрессии основного фактора роста фибробластов bFGF.

Fig. 1. Purkinje cells with different levels of bFGF expression. **Note:** Here and in Fig. 3, 4: bFGF⁻—bFGF-negative neurons; bFGF⁺—bFGF-positive neurons with weak expression of bFGF; bFGF⁺⁺—bFGF-positive neurons with intensive expression of bFGF. Peroxidase-antiperoxidase method, hematoxylin staining. ×400.

Примечание: Здесь и на Рис. 3, 4: bFGF⁻—bFGF-отрицательные нейроны; bFGF⁺—bFGF-положительные нейроны со слабой экспрессией bFGF; bFGF⁺⁺—bFGF-положительные нейроны с интенсивной экспрессией bFGF. Пероксидазно-антипероксидазный метод, окраска гематоксилином. ×400.

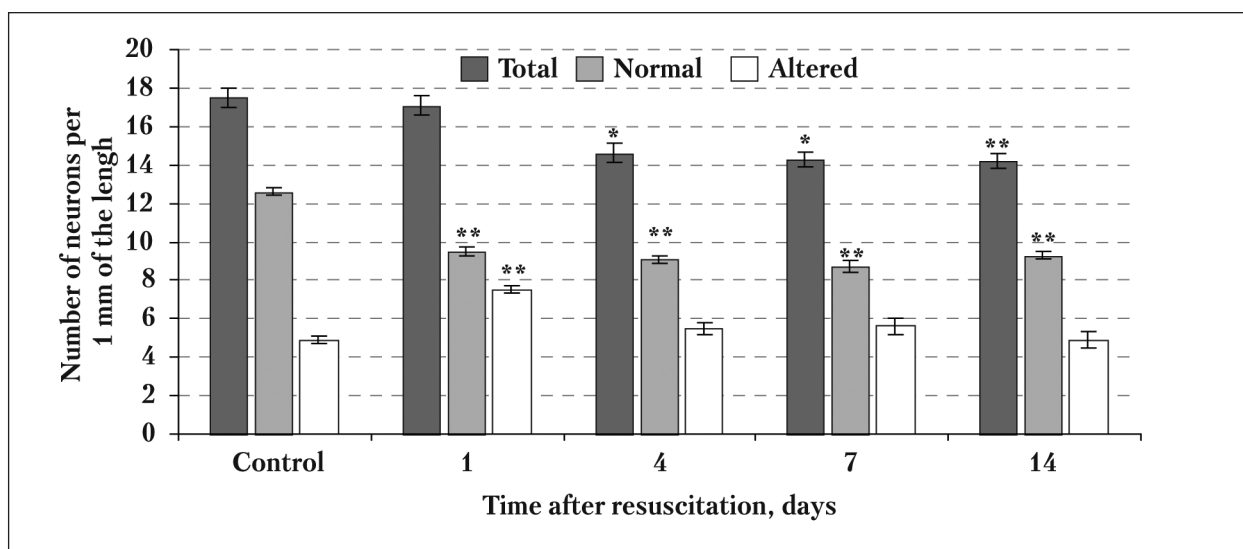


Рис. 2. Общая плотность и состав популяции клеток Пуркинье в динамике постреанимационного периода.

Fig. 2. Dynamic of total density and composition of the Purkinje cells population in post-resuscitation period.

Note: Data are presented as mean ± standard error of mean (S.E.M). * — $P_t < 0,005$; ** — $P_t < 0,001$ in comparison with control.

Примечание: Здесь и на рис. 3, 4: Number of neurons per 1 mm of the length — число нейронов на 1 мм длины; Time after resuscitation — постреанимационный период; Control — контроль; Day — сутки; Total — всего клеток; Normal — нормальные клетки; Altered — измененные клетки. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего значения. * — $p_t < 0,005$; ** — $p_t < 0,001$ в сравнении с контролем.

ненных клеток было увеличено, можно предположить, что между 1-ми и 4-ми сутками постреанимационного периода гибели подвергались морфологически измененные нейроны.

На 7-е сутки после реанимации общая плотность популяции в сравнении с контролем была снижена на 18,3% (рис. 2) и не изменялась в сравнении с 4-ми сутками. При этом число нормальных нейронов было уменьшено (на 31,0%), а число морфологически измененных клеток соответствовало контролю (рис. 2). Аналогичная ситуация сохранялась и на 14-е сутки постреанимационного периода: в сравнении с контролем общая плотность популяции снижена (на 18,9%) за счет уменьшенного числа нормальных клеток (на 26,2%) (рис. 2).

Итак, данные гистологического анализа свидетельствуют о том, что хотя дистрофические изменения нервных клеток выявляются уже в раннем постреанимационном периоде (1-е сутки), процесс гибели нейронов развивается только к 4-м суткам после реанимации. В дальнейшем (7-, 14-е сутки) усиления процессов дистрофического изменения и/или гибели клеток Пуркинье не происходит, т. е. патологический процесс не прогрессирует.

Иммуногистохимическое исследование показало, что через 1 сутки после реанимации в сравнении с контролем число bFGF⁺⁺-нейронов увеличивается на 80,0%, а число bFGF⁻-нейронов уменьшается на 29,5%. При этом число bFGF⁺-нейронов соответствует контрольному уровню (рис. 3). Полученные данные свидетельствуют о том, что на данном этапе постреанимационного процесса уровень экспрессии bFGF в исследуемой нейрональной популяции возрастает за счет увеличения числа клеток, активно экспрессирующих этот фактор.

К 4-м суткам постреанимационного периода число bFGF-негативных нейронов снижено в сравнении с контролем на 72,1% (рис. 3). При этом число bFGF⁺⁺-нейронов уменьшается, опускаясь до контрольных значений, т.е. уровень экспрессии bFGF в нейрональной популяции снижается. Существенно, что между 1-ми и 4-ми сутками — т.е. на этапе выпадения (гибели) нейронов — число bFGF-негативных нейронов уменьшается на 60,4%. Следовательно, можно полагать, что гибели подвергаются именно bFGF-негативные клетки (только их число резко снижено в сравнении с контролем). При этом число bFGF⁺-клеток возрастает на 30,2% (рис. 3). Увеличение числа bFGF⁺-клеток может происходить, очевидно, за счет уменьшения числа bFGF⁺⁺-нейронов и их «перехода» в категорию слабоэкспрессирующих клеток.

На 7-е сутки постреанимационного периода число bFGF⁻-нейронов остается сниженным (на 80,3%). Число bFGF⁺⁺-нейронов снова резко возрастает (увеличение в сравнении с контролем на

neuronal loss (Fig. 2). However, the number of normal cells was reduced by 24.6% and the number of altered cells increased by 53.1% (Fig. 2). Therefore, at this stage of post-resuscitation the degenerative alterations in neural cells have been initiated.

The neuronal death was developed by day 4 postresuscitation, as evidenced by the significant (by 16.6%) decreasing the overall population density compared to the control (Fig. 2). The number of normal cells was reduced (by 27.8%) whereas the number of altered cells did not differ from the control. Given that in the previous stage, the numbers of altered cells were increased, it could be assumed that between day 1 and day 4 postresuscitation the altered neurons were dying.

At the seventh day after resuscitation the total population density was reduced by 18.3% vs. control (Fig. 2) and did not change in comparison to day 4. This reduction was due to normal neurons (reduced by 31.0%), whereas the number of altered cells corresponded to the control (Fig. 2). This condition continued up to day 14 postresuscitation: compared to control, the overall population density was decreased by 18.9% due to reduced (by 26.2%) number of normal cells (Fig. 2).

Therefore, the histological data demonstrate that although dystrophic changes of neurons were identified early postresuscitation (day 1), the process of neuronal cell death occurred only on day 4 after resuscitation. Later (days 7 and 14) the degenerative alterations and/or Purkinje cells death were not revealed, i.e. pathological processes were not progressing.

Immunohistochemical study demonstrated that on the first postoperative day the number of bFGF⁺⁺ neurons increased by 80.0% whereas the number of bFGF⁻-neurons reduced by 29.5% compared to the control. The number of bFGF⁺ neurons corresponded to the control level (Fig. 3). The data indicate that at this stage of the postresuscitation bFGF expression increased in the neuronal population due to enhanced number of cells with high bFGF expression.

By day 4 postresuscitation, the number of bFGF⁻-neurons decreased by 72.1% vs. control (Fig. 3). The number of bFGF⁺⁺-neurons was reduced to control values, i.e., bFGF expression level in the neuronal population was decreasing. Interestingly, on days 1 and 4, i.e. at the stage of neuronal loss, the number of bFGF⁻-neurons decreased by 60.4%. Therefore, we can assume that bFGF-negative cells subjected to death (only their numbers are reduced). The number of bFGF⁺-cells appeared to increase by 30.2% (Fig. 3) most probably due to reduction of bFGF⁺⁺-neurons and their «transition» toward the category of cells with «weak expression level».

On day 7 postresuscitation the number of bFGF⁻-neurons was reduced (by 80,3%) and the

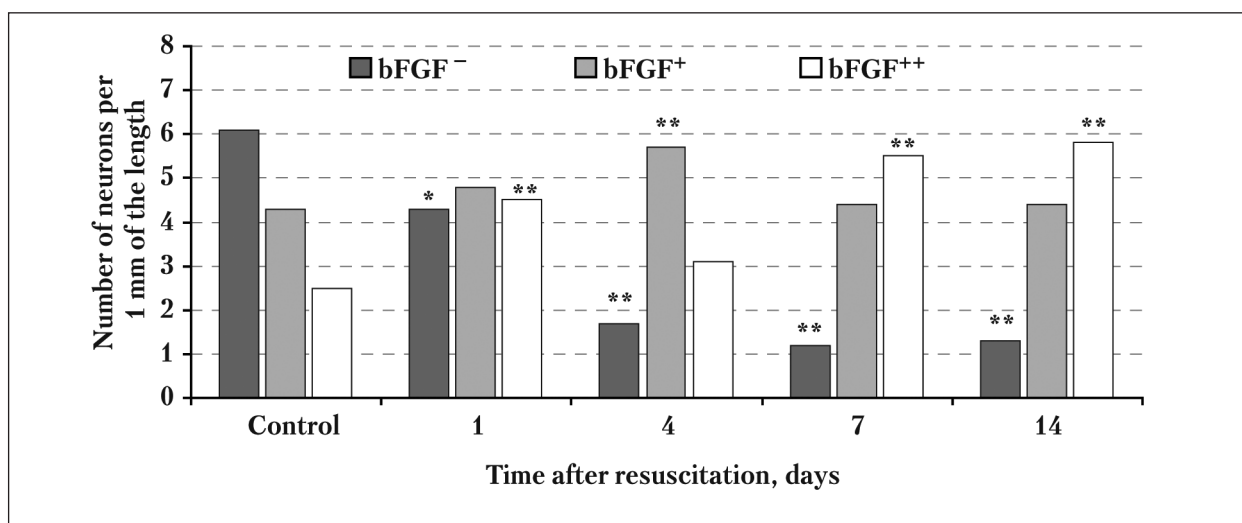


Рис. 3. Постреанимационные изменения уровня экспрессии bFGF в популяции клеток Пуркинье мозжечка.

Fig. 3. Changes in bFGF expression level in the Purkinje cell population in postresuscitation period.

Note: Data are presented as the mean. ** – $P_u < 0,01$; * – $P_u < 0,05$ in comparison with control.

Примечание: Данные представлены в виде средних значений. ** – $p_u < 0,01$; * – $p_u < 0,05$ в сравнении с контролем.

120,0%) а число bFGF⁺-нейронов соответствует контрольному уровню (рис. 3). Следовательно, на этом этапе постреанимационного процесса уровень экспрессии bFGF в популяции клеток Пуркинье увеличивается. Учитывая, что на более раннем этапе (4-е сутки) число bFGF⁺-нейронов было увеличено в сравнении с контролем, можно заключить, что между 4-ми и 7-ми сутками, по-видимому, происходит «переход» части bFGF⁺-нейронов в категорию bFGF⁺⁺-нейронов. В результате число bFGF⁺-нейронов возвращается к контрольному уровню, а число bFGF⁺⁺-нейронов возрастает.

К 14-м суткам уровень экспрессии bFGF остается повышенным: в сравнении с контролем число bFGF⁺⁺-нейронов увеличено на 132,0%, а число bFGF⁺-нейронов соответствует контрольному уровню. При этом число bFGF⁻-нейронов уменьшено на 78,0% (рис. 3).

Комплексный анализ результатов гистологического и иммуноцитохимического исследований позволил выявить взаимосвязь постреанимационных изменений уровня экспрессии bFGF с развитием процесса гибели нейронов. Следует отметить, что изменения уровня экспрессии bFGF в популяции клеток Пуркинье мозжечка в постреанимационном периоде носят фазный характер. Установлено, что уровень экспрессии bFGF возрастает уже в раннем постреанимационном периоде за счет увеличения в нейрональной популяции числа элементов, ранее неэкспрессирующих этот нейротрофический фактор. Существенно, что на этом этапе гибели нейронов не происходит. В дальнейшем уровень экспрессии bFGF снижается. При этом уменьшается общая плотность популяции, что свидетельствует о гибели нейронов. Иммуногисто-

number of bFGF⁺⁺-neurons was sharply increased (by 120.0% versus control) whereas the number of bFGF⁺-neurons corresponded to the control (Fig. 3). Therefore, at this stage of postresuscitation the bFGF expression in a population of Purkinje cells was increasing. Since earlier (day 4) the number of bFGF⁺-neurons was increased compared to the control, we could assume that at least some bFGF⁺-neurons between 4th and 7th days became the bFGF⁺⁺-neurons. As a result, the number of bFGF⁺-neurons returned to the control level, and the number of bFGF⁺⁺-neurons increased.

By the 14th day the bFGF expression remained high: the number of bFGF⁺⁺-neurons was increased by 132.0% compared to the control, and the number of bFGF⁺-neurons corresponded to the control level. The number of bFGF⁻-neurons was reduced by 78.0% (Fig. 3).

A complex analysis of histological and immunohistochemical studies has revealed the association between postresuscitative changes in the protein level of bFGF and the development of the process of neuronal death. It should be noted that the changes of bFGF expression in the population had phase character. It was found that the numbers of cells with high expression level of bFGF increased early postresuscitation. During this period the neuronal death did not occur. Subsequently, the expression level of bFGF was reduced. Since the overall density of the population was reduced that indicated the death of neurons. Immunohistochemical studies revealed that bFGF-negative, i.e. non-expressing this factor, cells were dyeing. On days 7 and 14 postresuscitation the expression level of bFGF increased dramatically and remained elevated during the later stages of the postresuscitative process (Fig. 4).

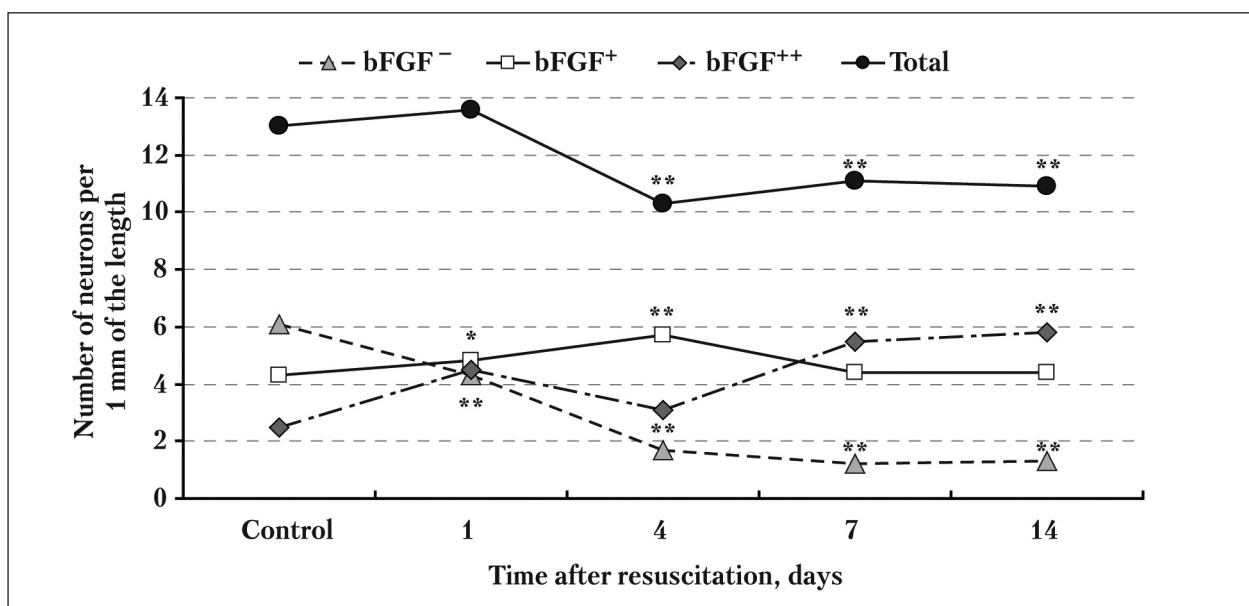


Fig. 4. Relationship of bFGF expression level with neuronal loss.

Note: ** – $P < 0,01$; * – $P < 0,05$ vs. control.

Примечание: ** – $p < 0,01$; * – $p < 0,05$ в сравнении с контролем.

химические исследования позволили установить, что гибели подвергаются, очевидно, bFGF-отрицательные, т.е. неэкспрессирующие этот фактор клетки. Однако, в дальнейшем (7-е сутки) уровень экспрессии bFGF снова резко возрастает и остается повышенным на более поздних этапах постреанимационного процесса (14-е сутки). При этом углубления и/или усиления патологических изменений нейронов не происходит (рис. 4).

В целом полученные результаты свидетельствуют о том, что уровень экспрессии белка bFGF оказывает существенное влияние на устойчивость нейронов к гибели в постреанимационном периоде. Подъем уровня экспрессии bFGF в популяции клеток Пуркинье, по-видимому, способствует предупреждению гибели нейронов. Уменьшение экспрессии bFGF сопровождается выпадением нейронов. При этом гибели подвергаются bFGF-отрицательные (т.е. неэкспрессирующие bFGF) клетки. Следовательно, bFGF в постреанимационном периоде проявляет нейропротективные свойства.

Очевидно, что способность нейронов к экспрессии bFGF является важным фактором их устойчивости к патологическому действию ишемии-реперфузии. В пользу этого положения свидетельствуют и данные других авторов. Так, при ишемии головного мозга у мышей с нулевой мутацией гена bFGF смертность выше, а размеры области инфаркта больше, чем у мышей дикого типа [21]. Установлено, что снижение экспрессии bFGF после временной ишемии переднего мозга приводит к гибели пирамидных нейронов сектора CA1 гиппокампа [22]. Показано также, что экзогенное введение bFGF ускоряет функ-

In general, the results demonstrate that the expression level of bFGF protein has a significant impact on resistance of neurons to cell death postresuscitation. The initial rise of the bFGF expression in the Purkinje cell population apparently helps to prevent neuronal loss. The subsequent decrease in the bFGF expression is accompanied by the death of neurons. Interestingly, only bFGF⁻-cells numbers were significantly reduced demonstrating the selective death of neurons not expressing bFGF. Therefore, bFGF exhibits neuroprotective properties postresuscitation.

Obviously, the ability of neurons to bFGF expression is an important factor of their resistance to pathological alterations by ischemia-reperfusion. Other data support this opinion. For example, mice with null mutation of the bFGF gene had higher mortality and greater infarct size than that of wild-type mice in cerebral ischemia [21]. It was found that the decrease in the expression of bFGF after a temporary forebrain ischemia led to the death of pyramidal neurons in the hippocampal CA1 sector [22]. It was also shown that exogenous administration of bFGF accelerates functional recovery and improves the structural condition of the brain at various damaging effects [23–26].

Positive effects of bFGF are bound to its ability to inhibit the activity of proinflammatory factors [27], as well as the endoplasmic reticulum stress proteins [28]. In addition, bFGF inhibits the expression of NMDA receptor, decreases excessive accumulation of intracellular calcium and free radicals [29–31], increases the expression of antiapoptotic gene Bcl-2 [31].

циональное восстановление и улучшает структурное состояние мозга при различных повреждающих воздействиях [23–26].

Позитивные эффекты bFGF связывают с его способностью ингибировать активность провоспалительных факторов [27], а также белков стресса эндоплазматического ретикулума [28]. Кроме того, bFGF подавляет экспрессию рецепторов NMDA, уменьшает избыточное накопление внутриклеточного кальция и свободных радикалов [29–31], повышает экспрессию антиапоптотических генов Bcl-2 [31].

Полагают, что в нейропротективное действие bFGF может быть опосредовано другими нейротрофическими факторами, среди которых, в частности, глиальный нейротрофический фактор (GDNF), мозговой нейротрофический фактор (BDNF) и его рецептор TrkB [21, 31].

В этом плане представляются интересными полученные нами ранее данные о том, что подъем уровня экспрессии одного из этих нейротрофических факторов, по-видимому, защищает от гибели нейроны, при отсутствии экспрессии других факторов. Так, установлено [32], что у этих же животных в популяции клеток Пуркинье к 4-м суткам после реанимации уровень GDNF снижается, что сопровождается гибелью GDNF-отрицательных нейронов. В отдаленном постреанимационном периоде (7-, 14-е сутки) уровень экспрессии GDNF не увеличивался. Однако, согласно полученным в настоящей работе данным, в это время происходит существенный подъем уровня экспрессии bFGF, и при этом дальнейшего развития процесса гибели нейронов не происходит. Следовательно, можно полагать, что активация экспрессии bFGF, по-видимому, защищает от гибели GDNF-отрицательные нейроны. В другой работе было показано [33], что в постреанимационном периоде гибели подвергаются bFGF⁻, BDNF⁻ и NT4⁻-клетки Пуркинье. Интересно, что применение миметика фактора роста нервов GK2, способствовало увеличению уровня экспрессии BDNF, хотя и не влияло на уровень экспрессии FGf и NT4. Существенно, что при этом GK2 предупреждал постреанимационную гибель не только BDNF⁻, но и bFGF⁻ и NT4⁻-нейронов. Приведенные факты свидетельствуют в пользу представлений о комплексном действии этих нейропротективных факторов в постреанимационном периоде.

Заключение

Выявлена взаимосвязь между постреанимационными изменениями уровня экспрессии bFGF и развитием процесса гибели нейронов. Первоначальный подъем уровня экспрессии белка bFGF в нейрональной популяции позволяет предупредить

Интересно, что другие нейротрофические факторы могут служить медиаторами bFGF нейропротективного действия, среди которых, в частности, глиальный нейротрофический фактор (GDNF), мозговой нейротрофический фактор (BDNF) и его рецептор TrkB [21, 31].

В этом отношении наши данные интересны. Мы обнаружили, что подъем уровня экспрессии одного из этих нейротрофических факторов, по-видимому, защищает от гибели нейронов в отсутствие экспрессии других факторов. Было установлено [32], что в популяции клеток Пуркинье на 4-е сутки постреанимации уровень GDNF снижался, что сопровождалось потерей GDNF-отрицательных нейронов. Позже (7 и 14 суток постреанимации) уровень экспрессии GDNF не увеличился. Однако, согласно данным настоящей работы, в это время происходит существенный подъем уровня экспрессии bFGF, и при этом дальнейшего развития процесса гибели нейронов не происходит. Следовательно, можно полагать, что активация экспрессии bFGF, по-видимому, защищает от гибели GDNF-отрицательные нейроны. В другой работе было показано [33], что в постреанимационном периоде гибели подвергаются bFGF⁻, BDNF⁻ и NT4⁻-клетки Пуркинье. Интересно, что применение миметика фактора роста нервов GK2, способствовало увеличению уровня экспрессии BDNF, хотя и не влияло на уровень экспрессии FGf и NT4. Существенно, что при этом GK2 предупреждал постреанимационную гибель не только BDNF⁻, но и bFGF⁻ и NT4⁻-нейронов. Приведенные факты свидетельствуют в пользу представлений о комплексном действии этих нейропротективных факторов в постреанимационном периоде.

Conclusion

The association of postresuscitation changes in the expression level of bFGF and neuronal loss was determined in a postresuscitation rat model of ischemia-reperfusion. The initial rise of the bFGF protein expression in neuronal populations can prevent the nerve cells death. The subsequent reduction of the bFGF expression is accompanied by neuronal loss. Thus/ the neuronal cells non-expressing bFGF dies.

In general, the results indicate that the expression level of bFGF protein is an important factor affecting the resistance of neurons to postresuscitation brain injury. These findings are important for discovering multiple mechanisms of hypoxic encephalopathies, as well as for developing approaches to their prevention and correction.

развитие процесса гибели нервных клеток. Последующее уменьшение экспрессии bFGF сопровождается выпадением нейронов. При этом гибели подвергаются неэкспрессирующие bFGF клетки.

В целом полученные результаты свидетельствуют о том, что уровень экспрессии белка bFGF является важным фактором, влияющим на устойчивость нейронов к постреанимационным повреждениям. Выявленные факты представл-

ются существенными для анализа механизмов развития постгипоксических энцефалопатий, а также для разработки подходов к их профилактики и коррекции.

Литература

1. Аврущенко М.Ш., Острова И.В., Волков А.В., Зарзешский Ю.В. Постреанимационные изменения морфофункционального состояния нервных клеток: значение в патогенезе энцефалопатий. *Общая реаниматология*. 2006; 2 (5–6): 85–97. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2006-6-85-96>
2. 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. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-69>
3. Gómez-Pinilla F., Lee J.W., Cotman C.W. Basic FGF in adult rat brain: cellular distribution and response to entorhinal lesion and fimbria-fornix transection. *J. Neurosci.* 1992; 12 (1): 345–355. PMID: 1309575
4. Wolf W.A., Martin J.L., Kartje G.L., Farrer R.G. Evidence for fibroblast growth factor-2 as a mediator of amphetamine-enhanced motor improvement following stroke. *PLoS One*. 2014; 9 (9): e108031. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0108031>. PMID: 25229819
5. Zechel S., Werner S., Unsicker K., von Bohlen und Halbach O. Expression and functions of fibroblast growth factor 2 (FGF-2) in hippocampal formation. *Neuroscientist*. 2010; 16 (4): 357–373. <http://dx.doi.org/10.1177/1073858410371513>. PMID: 20581332
6. Feng C., Zhang C., Shao X., Liu Q., Qian Y., Feng L., Chen J., Zha Y., Zhang Q., Jiang X. Enhancement of nose-to-brain delivery of basic fibroblast growth factor for improving rat memory impairments induced by co-injection of β -amyloid and ibotenic acid into the bilateral hippocampus. *Int. J. Pharm.* 2012; 423 (2): 226–234. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.12.008>. PMID: 22193058
7. Ma J., Qiu J., Hirt L., Dalkara T., Moskowitz M.A. Synergistic protective effect of caspase inhibitors and bFGF against brain injury induced by transient focal ischaemia. *Br. J. Pharmacol.* 2001; 133 (3): 345–350. PMID: 11375250
8. Katsouri L., Ashraf A., Birch A.M., Lee K.K., Mirzaei N., Sastre M. Systemic administration of fibroblast growth factor-2 (FGF2) reduces BACE1 expression and amyloid pathology in APP23 mice. *Neurobiol. Aging*. 2015; 36 (2): 821–831. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.10.004>. PMID: 25457554
9. Noshita N., Lewén A., Sugawara T., Chan P.H. Evidence of phosphorylation of Akt and neuronal survival after transient focal cerebral ischemia in mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2001; 21 (12): 1442–1450. <http://dx.doi.org/10.1097/00004647-200112000-00009>. PMID: 11740206
10. Grothe C., Timmer M. The physiological and pharmacological role of basic fibroblast growth factor in the dopaminergic nigrostriatal system. *Brain Res. Rev.* 2007; 54 (1): 80–91. PMID: 17229467
11. Goldshmit Y., Frisca F., Pinto A.R., Pébay A., Tang J.K., Siegel A.L., Kaslin J., Currie P.D. Fgf2 improves functional recovery-decreasing gliosis and increasing radial glia and neural progenitor cells after spinal cord injury. *Brain Behav.* 2014; 4 (2): 187–200. <http://dx.doi.org/10.1002/brb3.172>. PMID: 24683512
12. Comeau W.L., Hastings E., Kolb B. Pre- and postnatal FGF-2 both facilitate recovery and alter cortical morphology following early medial prefrontal cortical injury. *Behav. Brain Res.* 2007; 180 (1): 18–27. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2007.02.026>. PMID: 17408762
13. Nemati F., Kolb B. FGF-2 induces behavioral recovery after early adolescent injury to the motor cortex of rats. *Behav. Brain Res.* 2011; 225 (1): 184–191. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2011.07.023>. PMID: 21801753
14. Speliotes E.K., Caday C.G., Do T., Weise J., Kowall N.W., Finklestein S.P. Increased expression of basic fibroblast growth factor (bFGF) following focal cerebral infarction in the rat. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1996; 39 (1–2): 31–42. [http://dx.doi.org/10.1016/0169-328X\(95\)00351-R](http://dx.doi.org/10.1016/0169-328X(95)00351-R). PMID: 8804711
15. Lin T.N., Te J., Lee M., Sun G.Y., Hsu C.Y. Induction of basic fibroblast growth factor (bFGF) expression following focal cerebral ischemia. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1997; 49 (1–2): 255–265. PMID: 9387885
16. Wei O.Y., Huang Y.L., Da C.D., Cheng J.S. Alteration of basic fibroblast growth factor expression in rat during cerebral ischemia. *Acta Pharmacol. Sin.* 2000; 21 (4): 296–300. PMID: 11324453
17. Незовский В.А., Гурвич А.М., Золотокрылина Е.С. Постреанимационная болезнь. М.: Медицина; 1987: 480.
18. 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

References

1. Avrushchenko M.Sh., Ostrova I.V., Volkov A.V., Zarzhetsky Yu.V. Postreanimatsionnye izmeneniya morfofunktsionalnogo sostoyaniya nervnykh kletok: znachenie v patogeneze entsefalopatii. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Postresuscitative changes in the morphofunctional state of nerve cells: implication in the pathogenesis of encephalopathies. *General Reanimatology*]. 2006; 2 (5–6): 85–96. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2006-6-85-96>. [In Russ.]
2. Avrushchenko M.Sh., Moroz V.V., Ostrova I.V. Postreanimatsionnye izmeneniya mozga na urovne neuronalnykh populyatsii: zakonomernosti i mekhanizmy. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Postresuscitative changes in the brain at the level of neuronal populations: patterns and mechanisms. *General Reanimatology*]. 2012; 8 (4): 69–78. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-69>. [In Russ.]
3. Gómez-Pinilla F., Lee J.W., Cotman C.W. Basic FGF in adult rat brain: cellular distribution and response to entorhinal lesion and fimbria-fornix transection. *J. Neurosci.* 1992; 12 (1): 345–355. PMID: 1309575
4. Wolf W.A., Martin J.L., Kartje G.L., Farrer R.G. Evidence for fibroblast growth factor-2 as a mediator of amphetamine-enhanced motor improvement following stroke. *PLoS One*. 2014; 9 (9): e108031. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0108031>. PMID: 25229819
5. Zechel S., Werner S., Unsicker K., von Bohlen und Halbach O. Expression and functions of fibroblast growth factor 2 (FGF-2) in hippocampal formation. *Neuroscientist*. 2010; 16 (4): 357–373. <http://dx.doi.org/10.1177/1073858410371513>. PMID: 20581332
6. Feng C., Zhang C., Shao X., Liu Q., Qian Y., Feng L., Chen J., Zha Y., Zhang Q., Jiang X. Enhancement of nose-to-brain delivery of basic fibroblast growth factor for improving rat memory impairments induced by co-injection of β -amyloid and ibotenic acid into the bilateral hippocampus. *Int. J. Pharm.* 2012; 423 (2): 226–234. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.12.008>. PMID: 22193058
7. Ma J., Qiu J., Hirt L., Dalkara T., Moskowitz M.A. Synergistic protective effect of caspase inhibitors and bFGF against brain injury induced by transient focal ischaemia. *Br. J. Pharmacol.* 2001; 133 (3): 345–350. PMID: 11375250
8. Katsouri L., Ashraf A., Birch A.M., Lee K.K., Mirzaei N., Sastre M. Systemic administration of fibroblast growth factor-2 (FGF2) reduces BACE1 expression and amyloid pathology in APP23 mice. *Neurobiol. Aging*. 2015; 36 (2): 821–831. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.10.004>. PMID: 25457554
9. Noshita N., Lewén A., Sugawara T., Chan P.H. Evidence of phosphorylation of Akt and neuronal survival after transient focal cerebral ischemia in mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2001; 21 (12): 1442–1450. <http://dx.doi.org/10.1097/00004647-200112000-00009>. PMID: 11740206
10. Grothe C., Timmer M. The physiological and pharmacological role of basic fibroblast growth factor in the dopaminergic nigrostriatal system. *Brain Res. Rev.* 2007; 54 (1): 80–91. PMID: 17229467
11. Goldshmit Y., Frisca F., Pinto A.R., Pébay A., Tang J.K., Siegel A.L., Kaslin J., Currie P.D. Fgf2 improves functional recovery-decreasing gliosis and increasing radial glia and neural progenitor cells after spinal cord injury. *Brain Behav.* 2014; 4 (2): 187–200. <http://dx.doi.org/10.1002/brb3.172>. PMID: 24683512
12. Comeau W.L., Hastings E., Kolb B. Pre- and postnatal FGF-2 both facilitate recovery and alter cortical morphology following early medial prefrontal cortical injury. *Behav. Brain Res.* 2007; 180 (1): 18–27. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2007.02.026>. PMID: 17408762
13. Nemati F., Kolb B. FGF-2 induces behavioral recovery after early adolescent injury to the motor cortex of rats. *Behav. Brain Res.* 2011; 225 (1): 184–191. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2011.07.023>. PMID: 21801753
14. Speliotes E.K., Caday C.G., Do T., Weise J., Kowall N.W., Finklestein S.P. Increased expression of basic fibroblast growth factor (bFGF) following focal cerebral infarction in the rat. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1996; 39 (1–2): 31–42. [http://dx.doi.org/10.1016/0169-328X\(95\)00351-R](http://dx.doi.org/10.1016/0169-328X(95)00351-R). PMID: 8804711
15. Lin T.N., Te J., Lee M., Sun G.Y., Hsu C.Y. Induction of basic fibroblast growth factor (bFGF) expression following focal cerebral ischemia. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1997; 49 (1–2): 255–265. PMID: 9387885
16. Wei O.Y., Huang Y.L., Da C.D., Cheng J.S. Alteration of basic fibroblast growth factor expression in rat during cerebral ischemia. *Acta Pharmacol. Sin.* 2000; 21 (4): 296–300. PMID: 11324453
17. Negovsky V.A., Gurvich A.M., Zolotokrylina E.S. Postreanimatsionnaya bolezni. [Postresuscitative disease]. Moscow: Meditsina Publishers; 1987: 480. [In Russ.]

19. Ярыгин Н.Е., Ярыгин В.Н. Патологические и приспособительные изменения нейрона. М.: Медицина; 1973: 189.
20. Попова Э.Н., Лапин С.К., Кривицкая Г.Н. Морфология приспособительных изменений нервных структур. М.: Медицина; 1976.
21. Kiprianova I., Schindowski K., von Bohlen und Halbach O., Krause S., Dono R., Schwaneinger M., Unsicker K. Enlarged infarct volume and loss of BDNF mRNA induction following brain ischemia in mice lacking FGF-2. *Exp. Neurol.* 2004; 189 (2): 252–260. <http://dx.doi.org/10.1016/j.expneurol.2004.06.004>. PMID: 15380477
22. Okada T., Kataoka Y., Takeshita A., Mino M., Morioka H., Kusakabe K.T., Kondo T. Effects of transient forebrain ischemia on the hippocampus of the Mongolian gerbil (*Merionesunguiculatus*): an immunohistochemical study. *Zoolog. Sci.* 2013; 30 (6): 484–489. <http://dx.doi.org/10.2108/zsj.30.484>. PMID: 23725314
23. Leker R.R., Soldner F., Velasco I., Gavin D.K., Androutsellis-Theotokis A., McKay R.D. Long-lasting regeneration after ischemia in the cerebral cortex. *Stroke.* 2007; 38 (1): 153–161. PMID: 17122419
24. Watanabe T., Okuda Y., Nonoguchi N., Zhao M.Z., Kajimoto Y., Furutama D., Yukawa H., Shibata M.A., Otsuki Y., Kuroiwa T., Miyatake S. Postschismic intraventricular administration of FGF-2 expressing adenoviral vectors improves neurologic outcome and reduces infarct volume after transient focal cerebral ischemia in rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2004; 24 (11): 1205–1213. <http://dx.doi.org/10.1097/01.WCB.0000136525.75839.41>. PMID: 15545913
25. Ye J., Lin H., Mu J., Cui X., Ying H., Lin M., Wu L., Weng J., Lin X. Effect of basic fibroblast growth factor on hippocampal cholinergic neurons in a rodent model of ischaemic encephalopathy. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2010; 107 (6): 931–939. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-7843.2010.00603.x>. PMID: 20618306
26. Srivastava N., Seth K., Srivastava N., Khanna V.K., Agrawal A.K. Functional restoration using basic fibroblast growth factor (bFGF) infusion in Kainic acid induced cognitive dysfunction in rat: neurobehavioural and neurochemical studies. *Neurochem. Res.* 2008; 33 (7): 1169–1177. <http://dx.doi.org/10.1007/s11064-007-9478-7>. PMID: 17955369
27. Zhang M., Ma Y.F., Gan J.X., Jiang G.Y., Xu S.X., Tao X.L., Hong A., Li J.K. Basic fibroblast growth factor alleviates brain injury following global ischemia reperfusion in rabbits. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 2005; 6 (7): 637–643. <http://dx.doi.org/10.1631/jzus.2005.B0637>. PMID: 15973765
28. Wang Z.L., Cheng S.M., Ma M.M., Ma Y.P., Yang J.P., Xu G.L., Liu X.F. Intranasally delivered bFGF enhances neurogenesis in adult rats following cerebral ischemia. *Neurosci. Lett.* 2008; 446 (1): 30–35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2008.09.030>. PMID: 18822350
29. Chen J., Li Y., Katakowski M., Chen X., Wang L., Lu D., Lu M., Gautam S.C., Chopp M. Intravenous bone marrow stromal cell therapy reduces apoptosis and promotes endogenous cell proliferation after stroke in female rat. *J. Neurosci. Res.* 2003; 73 (6): 778–786. <http://dx.doi.org/10.1002/jnr.10691>. PMID: 12949903
30. Jin-qiao S., Bin S., Wen-hao Z., Yi Y. Basic fibroblast growth factor stimulates the proliferation and differentiation of neural stem cells in neonatal rats after ischemic brain injury. *Brain Dev.* 2009; 31 (5): 331–340. <http://dx.doi.org/10.1016/j.braindev.2008.06.005>. PMID: 18657919
31. Lenhard T., Schober A., Suter-Crazzolara C., Unsicker K. Fibroblast growth factor-2 requires glial-cell-line-derived neurotrophic factor for exerting its neuroprotective actions on glutamate-lesioned hippocampal neurons. *Mol. Cell Neurosci.* 2002; 20 (2): 181–197. <http://dx.doi.org/10.1006/mcne.2002.1134>. PMID: 12093153
32. Аверущенко М.Ш., Острова И.В., Волков А.В. Постреанимационные изменения экспрессии глимального нейротрофического фактора (GDNF): взаимосвязь с повреждением клеток Пуркинье мозжечка (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология.* 2014; 10 (5): 59–68. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-5-59-68>
33. Аверущенко М.Ш., Острова И.В., Зарзешский Ю.В., Мороз В.В., Гудашева Т.А., Серединин С.Б. Влияние миметика фактора роста нервов GK-2 на постреанимационную экспрессию нейротрофических факторов. *Патол. физиология и эксперим. терапия.* 2015; 59 (2): 13–18. PMID: 26571801
18. Korpachev V.G., Lysenkov S.P., Tel L.Z. Modelirovanie klinicheskoi smerti i postreanimatsionnoi boleznii u kryss. [Modeling clinical death and postresuscitation disease in rats]. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimentalnaya Terapiya.* 1982; 3: 78–80. PMID: 7122145. [In Russ.]
19. Yarygin N.E., Yarygin V.N. Patologicheskie i prisposobitelnye izmeneniya neirona. [Pathological and adaptive changes in neurons]. Moscow: Meditsina Publishers; 1973: 189. [In Russ.]
20. Popova E.N., Lapin S.K., Krivitskaya G.N. Morfologiya prisposobitelnykh izmenenii nervnykh struktur. [Morphology of adaptive changes of neuronal structures]. Moscow: Meditsina Publishers; 1976. [In Russ.]
21. Kiprianova I., Schindowski K., von Bohlen und Halbach O., Krause S., Dono R., Schwaneinger M., Unsicker K. Enlarged infarct volume and loss of BDNF mRNA induction following brain ischemia in mice lacking FGF-2. *Exp. Neurol.* 2004; 189 (2): 252–260. <http://dx.doi.org/10.1016/j.expneurol.2004.06.004>. PMID: 15380477
22. Okada T., Kataoka Y., Takeshita A., Mino M., Morioka H., Kusakabe K.T., Kondo T. Effects of transient forebrain ischemia on the hippocampus of the Mongolian gerbil (*Merionesunguiculatus*): an immunohistochemical study. *Zoolog. Sci.* 2013; 30 (6): 484–489. <http://dx.doi.org/10.2108/zsj.30.484>. PMID: 23725314
23. Leker R.R., Soldner F., Velasco I., Gavin D.K., Androutsellis-Theotokis A., McKay R.D. Long-lasting regeneration after ischemia in the cerebral cortex. *Stroke.* 2007; 38 (1): 153–161. PMID: 17122419
24. Watanabe T., Okuda Y., Nonoguchi N., Zhao M.Z., Kajimoto Y., Furutama D., Yukawa H., Shibata M.A., Otsuki Y., Kuroiwa T., Miyatake S. Postschismic intraventricular administration of FGF-2 expressing adenoviral vectors improves neurologic outcome and reduces infarct volume after transient focal cerebral ischemia in rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2004; 24 (11): 1205–1213. <http://dx.doi.org/10.1097/01.WCB.0000136525.75839.41>. PMID: 15545913
25. Ye J., Lin H., Mu J., Cui X., Ying H., Lin M., Wu L., Weng J., Lin X. Effect of basic fibroblast growth factor on hippocampal cholinergic neurons in a rodent model of ischaemic encephalopathy. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2010; 107 (6): 931–939. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-7843.2010.00603.x>. PMID: 20618306
26. Srivastava N., Seth K., Srivastava N., Khanna V.K., Agrawal A.K. Functional restoration using basic fibroblast growth factor (bFGF) infusion in Kainic acid induced cognitive dysfunction in rat: neurobehavioural and neurochemical studies. *Neurochem. Res.* 2008; 33 (7): 1169–1177. <http://dx.doi.org/10.1007/s11064-007-9478-7>. PMID: 17955369
27. Zhang M., Ma Y.F., Gan J.X., Jiang G.Y., Xu S.X., Tao X.L., Hong A., Li J.K. Basic fibroblast growth factor alleviates brain injury following global ischemia reperfusion in rabbits. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 2005; 6 (7): 637–643. <http://dx.doi.org/10.1631/jzus.2005.B0637>. PMID: 15973765
28. Wang Z.L., Cheng S.M., Ma M.M., Ma Y.P., Yang J.P., Xu G.L., Liu X.F. Intranasally delivered bFGF enhances neurogenesis in adult rats following cerebral ischemia. *Neurosci. Lett.* 2008; 446 (1): 30–35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2008.09.030>. PMID: 18822350
29. Chen J., Li Y., Katakowski M., Chen X., Wang L., Lu D., Lu M., Gautam S.C., Chopp M. Intravenous bone marrow stromal cell therapy reduces apoptosis and promotes endogenous cell proliferation after stroke in female rat. *J. Neurosci. Res.* 2003; 73 (6): 778–786. <http://dx.doi.org/10.1002/jnr.10691>. PMID: 12949903
30. Jin-qiao S., Bin S., Wen-hao Z., Yi Y. Basic fibroblast growth factor stimulates the proliferation and differentiation of neural stem cells in neonatal rats after ischemic brain injury. *Brain Dev.* 2009; 31 (5): 331–340. <http://dx.doi.org/10.1016/j.braindev.2008.06.005>. PMID: 18657919
31. Lenhard T., Schober A., Suter-Crazzolara C., Unsicker K. Fibroblast growth factor-2 requires glial-cell-line-derived neurotrophic factor for exerting its neuroprotective actions on glutamate-lesioned hippocampal neurons. *Mol. Cell Neurosci.* 2002; 20 (2): 181–197. <http://dx.doi.org/10.1006/mcne.2002.1134>. PMID: 12093153
32. Аверущенко М.Ш., Острова И.В., Волков А.В. Постреанимационные изменения экспрессии глимального нейротрофического фактора (GDNF): взаимосвязь с повреждением клеток Пуркинье мозжечка (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология.* [Postresuscitation changes in the expression of Glial-Derived Neurotrophic Factor (GDNF): association with cerebellar Purkinje cell damage (an experimental study)]. *General Reanimatology.* 2014; 10 (5): 59–68. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-5-59-68>. [In Russ.]
33. Аверущенко М.Ш., Острова И.В., Зарзешский Ю.В., Мороз В.В., Гудашева Т.А., Серединин С.Б. Влияние миметика фактора роста нервов GK-2 на постреанимационную экспрессию нейротрофических факторов. [Effect of the nerve growth factor mimetic GK-2 on post-resuscitation expression of neurotrophic factors]. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimentalnaya Terapiya.* 2015; 59 (2): 13–18. PMID: 26571801. [In Russ.]

Поступила 17.10.2015

Submitted 17.10.2015