

## Original Investigations

## ДЕЙСТВИЕ АНТИОКСИДАНТА SKQ1 НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МОЗГА В ПОСТРЕАНИМАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ

М. Л. Ловат<sup>2,3</sup>, М. Ш. Аврущенко<sup>1</sup>, О. А. Аверина<sup>2</sup>, В. В. Павшинцев<sup>2</sup>,  
И. В. Острова<sup>1</sup>, Ю. В. Заржецкий<sup>1</sup>, В. В. Мороз<sup>1</sup>, М. В. Егоров<sup>2</sup>

<sup>1</sup> НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского,  
Россия, 107031, Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

<sup>2</sup> ООО «НИИ Митоинженерии МГУ»,

Россия, 119192, Москва, ул. Ленинские Горы, д.1, стр. 73

<sup>3</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
Россия, 119992, Москва, ул. Ленинские Горы, д. 1, стр. 12

### Effect of SkQ1 Antioxidant on Structural and Functional Conditions of The Brain in Post-Resuscitation Period

M. L. Lovat<sup>2,3</sup>, M. Sh. Avrushchenko<sup>1</sup>, O. A. Averina<sup>2</sup>, V. V. Pavshintsev<sup>2</sup>,  
I. V. Ostrova<sup>1</sup>, Y. V. Zarzhetsky<sup>1</sup>, V. V. Moroz<sup>1</sup>, M. V. Egorov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> V. A. Negovsky Institute of General Reanimatology,  
25, Petrovka Str., Build. 2, Moscow 107031, Russia

<sup>2</sup> «Research Institute of Mitoengineering of M. V. Lomonosov Moscow State University» Ltd.,  
1, Leninskie Gory Str., Build. 73, Moscow 119192, Russia

<sup>3</sup> M.V. Lomonosov Moscow State University,  
1, Leninskie Gory Str., Build. 12, Moscow 119991, Russia

**Цель работы** — оценка эффективности митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1 для предупреждения постреанимационных нарушений структурно-функционального состояния мозга.

**Материалы и методы.** У 19 половозрелых самцов крыс Вистар вызывали остановку сердца на 7 минут с последующей реанимацией. Часть животных ( $n=9$ ) получала SkQ1 перорально в дозе 500 нмоль/кг с водой в течение 2-х недель (1 неделю до и 1 неделю после реанимации). Контролем служили ложнооперированные животные ( $n=10$ ). На 4–6-е сутки после реанимации у крыс оценивали двигательную активность и тревожность (тест «приподнятый крестообразный лабиринт»), а также сенсомоторную функцию конечностей (тест «сужающаяся дорожка»). Через 7 суток после реанимации на препаратах, окрашенных по Нисслию, определяли плотность нейронов на 1 мм длины их слоя в высокочувствительных к гипоксии нейрональных популяциях (пирамидные нейроны полей CA1 и CA4 гиппокампа, клетки Пуркинье мозжечка). Для выявления возможных механизмов действия SkQ1 проводили иммуногистохимическое исследование экспрессии глиального нейротрофического фактора (GDNF) непрямым пероксидазно-антипероксидазным методом с использованием первичных поликлональных антител против GDNF.

**Результаты.** Обнаружено, что ишемия-реперфузия приводит к гибели нейронов во всех исследованных отделах мозга, что сопровождается снижением двигательной активности и развитием сенсомоторного дефицита. Применение SkQ1 предупреждает развитие постреанимационных двигательных и сенсомоторных нарушений, существенно уменьшает гибель клеток Пуркинье мозжечка, предотвращает гибель пирамидных нейронов в поле CA4 гиппокампа, но не в поле CA1. Показано, что в популяции клеток Пуркинье мозжечка применение SkQ1 сопровождается увеличением числа GDNF-положительных нейронов, более устойчивых к ишемии (переход части GDNF-отрицательных клеток в категорию активно экспрессирующих этот фактор нейронов), что способствует их выживанию в постреанимационном периоде.

**Заключение.** Полученные в работе данные свидетельствуют о положительном воздействии SkQ1 на структурно-функциональное состояние мозга в постреанимационном периоде, что обуславливает

Адрес для корреспонденции:

Мария Аврущенко  
E-mail: maria\_avr@mail.ru

Correspondence to:

Mrs. Maria Avrushchenko  
E-mail: maria\_avr@mail.ru

перспективность применения этого препарата для предотвращения и коррекции постгипоксических энцефалопатий.

**Ключевые слова:** *SkQ1; остановка сердца; реанимация; двигательная активность; сенсорные нарушения; гибель нейронов; GDNF*

The aim was to assess the efficacy of mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 in prevention of structural and functional abnormalities of brain postresuscitation after cardiac arrest.

**Materials and methods.** Adult male Wistar rats ( $n=19$ ) underwent cardiac arrest for 7 minutes followed by resuscitation. Nine rats were administered with 500 nmol/kg SkQ1 per os with water for 2 weeks (1 week before and 1 week after resuscitation). A control group consisted of sham-operated animals ( $n=10$ ). At days 4–6 post operation locomotor activity and anxiety («elevated plus maze» test) and sensorimotor function of limbs («beam-walking» test) were examined. Total numbers of neurons per 1 mm of their layer length in vulnerable neuronal populations (cerebellar Purkinje cells and pyramidal neurons of hippocampus fields CA1 and CA4) were estimated by histological analysis of the specimens stained with cresyl violet on day 7 postresuscitation. To identify possible mechanisms of SkQ1 action, the immunohistochemical study of a glial-derived neurotrophic factor (GDNF) expression in pyramidal neurons of hippocampus was performed by indirect peroxidase-antiperoxidase method and anti-GDNF primary polyclonal antibodies.

**Results.** Ischemia-reperfusion resulted in neuronal loss in all studied brain areas followed by reduction in locomotor activity and development of sensorimotor deficit. SkQ1 prevented development of postresuscitative locomotor and sensorimotor irregularities, significantly reduced Purkinje cells loss, prevented death of pyramidal neurons in hippocampal field CA4, but not in CA1. Data demonstrated, that in Purkinje cells from resuscitated rats treated with SkQ1 there was a significant increase in number of GDNF-positive neurons, which were more resistant to ischemia (transition of GDNF-negative cells toward the category of cells actively expressing this factor) that promoted their survival postresuscitation.

**Conclusion.** Data confirm the positive effects of SkQ1 on structural and functional status of the brain postresuscitation and suggest possible use of SkQ1 for the prevention or correction of post-hypoxic encephalopathies.

**Key words:** *SkQ1; cardiac arrest; resuscitation; locomotor activity; sensorimotoric disorders; neuronal loss; GDNF*

DOI:10.15360/1813-9779-2016-2-6-19

## Введение

SkQ1 (пластохинонилдецилтрифенилфосфония бромид) — физиологически активное вещество, катионное производное пластохинона, проявляющее антиоксидантную активность *in vitro* и *in vivo*. В экспериментах на животных показана эффективность SkQ1 при коррекции большого числа патологических состояний — заболеваний глаз, аритмий, инфаркта, инсульта, а также при старении [1–6]. Так, введение SkQ1 крысам улучшало выживаемость изолированных сердец при ишемии-реперфузии [7], а также уменьшало гибель животных при ишемии-реперфузии почек [8]. На модели переживающих срезов гиппокампа показана способность SkQ1 предотвращать развитие блокады долговременной потенциации, вызванной  $\beta$ -амилоидом [9]. Хроническое потребление SkQ1 замедляло темпы развития моторных дисфункций в модели бокового амиотрофического склероза у мышей, а также снижало тревожность у крыс и вызывало увеличение их двигательной и исследовательской активности [3]. У быстро стареющих крыс линии Oxys SkQ1 предотвращал развитие нарушений пространственного обучения в водном тесте Морриса [10]. Представленные данные свидетельствуют о за-

## Introduction

SkQ1 (10-(6'-plastoquinonyl) decyltriphenylphosphonium) — physiologically active agent, a cationic derivative of plastoquinone, exhibiting antioxidant activity *in vitro* and *in vivo*. Animal experiments have demonstrated the efficacy of SkQ1 for correction of a number of pathological conditions including eye diseases, arrhythmias, heart attack, stroke, and aging [1–6]. SkQ1 improved survival of isolated hearts in ischemia-reperfusion injury [7] and reduced animal lethality during kidneys ischemia-reperfusion [8]. Histological studies of rat hippocampal slices demonstrated the ability of SkQ1 to prevent the development of a long-term potentiation blockade induced by  $\beta$ -amyloid [9]. Chronic SkQ1 consumption slowed down the pace of development of motor dysfunction in a model of amyotrophic lateral sclerosis in mice and reduced anxiety in rats causing an increase in their motor and exploratory activity [3]. In rapidly aging rats SkQ1 prevented the development of spatial learning disorders in Morris water test [10]. However, an influence of SkQ1 on the processes of neuronal death has not been clarified so far. An efficacy of SkQ1 to improve the recovery of brain function in postresuscitative peri-

щитных эффектах SkQ1 при различных патологических воздействиях. Однако, вопрос о влиянии SkQ1 на процессы, приводящие к гибели нейронов, остается открытым. Не исследована и эффективность применения SkQ1 для улучшения восстановления функции мозга в постреанимационном периоде. Недостаточно изучены и механизмы нейропротективного действия SkQ1.

Ранее, при исследовании постреанимационных изменений клеток Пуркинье, нами было показано, что одним из факторов, влияющих на устойчивость этих нейронов к ишемии-реперфузии, является уровень экспрессии глиального нейротрофического фактора GDNF [11]. Известно, что GDNF обладает нейропротективными свойствами при болезни Паркинсона [12-14] и болезни Альцгеймера [15], повреждении спинного мозга и периферических нервов [16], а также при психических заболеваниях [17]. Выявлено увеличение экспрессии мРНК GDNF и продукции этого белка в некоторых отделах мозга после очаговой ишемии у взрослых и новорожденных крыс [18, 19]. Показано, что GDNF способствует увеличению уровня антиоксидантных ферментов в ганглиозных клетках кишечника, что предохраняет их от гибели при старении [20, 21]. В связи с этим для выявления возможных механизмов нейропротективного действия SkQ1 представляло интерес исследовать его влияние на постреанимационный уровень экспрессии GDNF в популяции клеток Пуркинье мозжечка.

Цель работы — оценить эффективность SkQ1 для предотвращения нарушений структурно-функционального состояния мозга в постреанимационном периоде после остановки сердца у крыс.

## Материал и методы

Исследование проведено на крысах-самцах Вистар категории SPF массой 200–250 г. Источник — НПП ФИБХ Питомник лабораторных животных «Пушино». Животные содержались в условиях свободного доступа к воде и пище, при световом режиме 12/12, в помещениях с кратностью воздухообмена не менее 12 объемов в час, с температурой воздуха 20–24°C (суточный перепад — не более 2°C), влажностью воздуха 30–70%.

Эксперименты проводились согласно рекомендациям этического комитета ФГБНУ «НИИОР» в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ МЗ РФ №708 от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики (GLP)»), а также внутренними стандартными операционными процедурами (СОП).

У 19 животных, наркотизированных золетилом (доза 25 мг/кг, объем 0,5–0,7 мл/кг), вызывали остановку системного кровообращения на 7 минут путем внутриторакального пережатия сосудистого пучка сердца [22]. Реанимацию проводили с помощью искусственной вентиляции легких воздухом в режиме гипервентиляции аппаратом «KRT-5» (Hugo Sachs Elektronik — Harvard

as well as the mechanisms of neuroprotective effect of SkQ1 have not been studied enough.

Previously, the studies of postresuscitative alterations of Purkinje cells have shown that one of the factors affecting the resistance of these neurons to ischemia-reperfusion damage is the level of glial-derived neurotrophic factor GDNF [11]. GDNF possesses neuroprotective properties in Parkinson's disease [12-14], Alzheimer's disease [15], spinal cord injury and peripheral nerve injury [16] as well as in psychiatric disorders [17]. After focal ischemia in neonatal and adult rats the increased expressions of GDNF mRNA and protein were observed in some regions of the brain [18, 19]. GDNF was shown to promote increasing the level of antioxidant enzymes in the intestinal ganglion cells, which protects them from destruction during aging [20, 21]. In this regard, to identify possible mechanisms of neuroprotective action of SkQ1 it is of interest to investigate its effect on the level of GDNF expression in neuronal populations.

The aim of the study was to evaluate the effectiveness of SkQ1 to prevent structural and functional brain disorders after cardiac arrest in rats.

## Materials and Methods

Wistar male rats (200–250 g, SPF category) were obtained from Nursery for laboratory animals «Pushchino». The animals were kept under following conditions: free access to water and food, 12/12 light cycle, no less than 12 ACH, 20–24°C (daily difference no more than 2°C), 30–70% humidity.

The experiments were performed according to the recommendations of the Ethics Committee of V. A. Negovsky Research Institute for General Reanimatology in accordance with the «Rules of the work using experimental animals» (Order of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, №708 from 23.08.2010 «On approval of rules for good laboratory practice (GLP)»), as well as the internal standard operating procedures (SOPs).

19 animals under zoletil anesthesia (25 mg/kg, 0.5–0.7 ml/kg) underwent cardiac arrest for 7 minutes by intrathoracic clamping supracardiac bundle of vessels with a special hook [22]. Resuscitation was performed using mechanical ventilation mode in the air hyperventilation apparatus «KRT-5» (Hugo Sachs Elektronik-Harvard Apparatus GMBH, Germany) and external heart massage with intratracheal administration of epinephrine (0.1 mg/kg). A group of resuscitated animals ( $n=9$ ) were administered with SkQ1 at a dose of 500 nmol/kg orally with a water 1 week before and 1 week after resuscitation. SkQ1 concentration was calculated that way that rats consumed the dose daily. Dose and schedule were based on SkQ1 efficiency tests with doses from 50 to 1250 nmol/kg in models of acute renal, heart and brain ischemia [7–9]. The control group included sham-operated animals ( $n=10$ ).

To assess the motor activity and anxiety, video tracking of behavior in the test «Elevated Plus Maze» («Open Science», Russia) was performed on day 4 postresuscita-

Apparatus, Germany) и наружного массажа сердца с внутритрахеальным введением адреналина (0,1 мг/кг). Часть реанимированных животных ( $n=9$ ) получала SkQ1 (перорально, 500 нмоль/кг в поилке с водой) в течение 1 недели до и 1 недели после реанимации. Концентрация SkQ1 была подобрана таким образом, чтобы крысы потребляли дозу SkQ1 500 нмоль/кг ежедневно. Дозировка, а также режим введения были выбраны на основании исследований эффективности SkQ1, применявшегося в дозах от 50 до 1250 нмоль/кг, в моделях острой ишемии почек, сердца и мозга [7–9]. Контролем служили ложнооперированные животные ( $n=10$ ).

Для оценки двигательной активности и тревожности на 4-е сутки после реанимации проводили видеотрекинг поведения в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» (НПК «Открытая наука», Россия) [23]. Установка представляет собой крестообразную платформу, состоящую из двух закрытых и двух открытых рукавов длиной 50 см, поднятую над полом на высоту 55 см. В течение 5 минут программой Noldus Ethovision 8.5 автоматически регистрировались следующие параметры: количество посещений каждого из рукавов, общая пройденная дистанция, время подвижности, замиранья, средняя и максимальная скорость, количество эпизодов подвижности и замиранья. Визуально оценивалось число стоек, актов груминга, поведение риска (число свешиваний и стоек на открытых рукавах).

С целью оценки сенсомоторной функции конечностей на 5-е сутки после реанимации был проведен тест «Сужающаяся дорожка» (НПК «Открытая наука», Россия) [24]. Оценивалась доля промахов передними и задними лапами при беге в укрытие по сужающейся дорожке по формуле:  $100 \times (\text{количество промахов} + 1/2 \text{ количества соскальзываний}) / \text{количество шагов}$ .

Через 1 неделю после реанимации животных депитировали под наркозом (золетил). Гистологический анализ проводили на парафиновых срезах толщиной 5–6 мкм, окрашенных кризоловым фиолетовым по Нислю. Для оценки выраженности процесса гибели нейронов в высокочувствительных к гипоксии областях мозга (пирамидные нейроны полей CA1 и CA4 гиппокампа, клетки Пуркинье латеральной области полушария мозжечка) определяли общую плотность нейрональных популяций (число нейронов на 1 мм длины их слоя). Исследовано по 2–3 среза каждой области (по 300–400 нейронов в каждом срезе).

Иммунореактивность клеток Пуркинье мозжечка к GDNF выявляли непрямым пероксидазно-антипероксидазным методом с помощью поликлональных антител к GDNF (разведение 1:100; Santa Cruz, США) и визуализирующей системы EnVision™ Kit (DAKO, Дания). Срезы докрашивали гематоксилином (Shandon, США) и заключали в водорастворимую среду ImmuMount (Shandon, США). Иммуногистохимическая реакция контролировалась инкубацией срезов со всеми реагентами кроме первичных антител. При иммуногистохимическом исследовании визуально выделяли GDNF-негативные (GDNF<sup>-</sup>) и GDNF-позитивные нейроны с различным уровнем экспрессии GDNF: слабым (GDNF<sup>+</sup>) и интенсивным (GDNF<sup>++</sup>) (рис. 1) и рассчитывали их число на 1 мм длины клеточного слоя. При морфометрических исследованиях использовали систему анализа изображений (компьютер, микроскоп Olympus BX-41, программы Image Scope M, MS Excel 2007).

tion [23]. The test is a cross-shaped platform with two open and two enclosed arms 55 cm long and elevated 55 cm from ground. Within 5 minutes, the program Noldus Ethovision 8.5 automatically registered the following parameters: number of visits of each arm, total distance, time of activity, freezing behavior, average and maximum speed, number of active and passive episodes. Numbers of times of standing, acts of grooming, and risk behavior (e.g. overhanging and standing in the open arms) were quantitatively evaluated visually.

To evaluate sensorimotor function of limbs, a «Beam Walking» test («Open Science», Russia) [24] was carried out on day 5 postresuscitation. Number of misses of fore and hind feet during running to a cover on a walking beam was calculated by the following formula:  $100 \times (\text{number of misses} + 1/2 \times \text{number of slips}) / \text{number of steps}$ .

One week after resuscitation the animals under zoletil anesthesia were sacrificed and brain tissues were harvested for histology and immunohistochemistry. Histological analysis was performed on paraffin-embedded sections, 5–6  $\mu\text{m}$  thick, stained with cresyl violet by Nissl procedure. To evaluate the neuronal cell death intensity in hypoxia-sensitive areas of the brain (CA1 and CA4 fields of the hippocampus, Purkinje cells in the lateral area of the cerebellar hemispheres), we determined the overall density of neuronal populations (number of cells per 1 mm of the layer length). Two-three sections of each region were analyzed (300–400 neurons in each section).

Immunoreactive GDNF protein in Purkinje cells was identified by indirect peroxidase-antiperoxidase method using polyclonal antibody against GDNF at a 1:100 dilution (Santa Cruz, USA) and visualisation system EnVision™ Kit (DAKO, Denmark). Sections were stained with hematoxylin (Shandon, USA) and were embedded in water-soluble medium Shandon™ Immu-Mount™ (Thermo Scientific, USA). Immunohistochemical reaction was monitored by incubating sections with all reagents except the primary antibody. The numbers of neurons with different levels of GDNF (negative, GDNF<sup>-</sup>; weak, GDNF<sup>+</sup>; intensive, GDNF<sup>++</sup>) (Fig. 1) per 1 mm of the layer length, as well as the total population density were determined. We used image analysis system that included microscope Olympus BX-41 (Japan), Olympus 500UZ camera (Japan), Image Scope M program (SMA, Russia) and MS Excel. The data were statistically processed by Student's *t*-test or Mann-Whitney *U*-test.

## Results and Discussion

The study of brain functions. In the test «Elevated plus-maze» rats from resuscitated group showed a significant decrease in general movement and exploratory activity in comparison with the control. Resuscitated animals had significantly less total distance, number of entrances into the center zone, increased time of freezing (Fig. 2). The resuscitated rats had decreased time of the first leaving the center of the labyrinth as well as spent less time on the open arms, which may indicate increased anxiety. SkQ1 administration prevented the development of these disorders: there were no significant differences between the experimental and control animals in any



Статистическая обработка данных была выполнена с помощью *t*-теста Стьюдента и *U*-критерия Манна-Уитни.

## Результаты и обсуждение

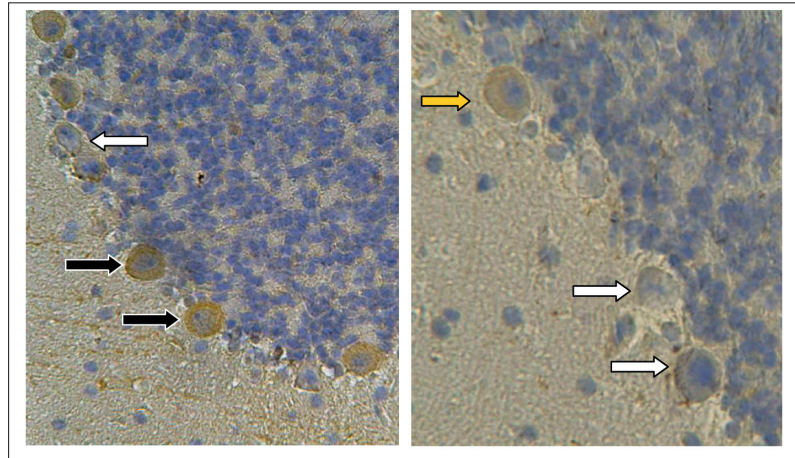
**Исследование функции мозга.** В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» у реанимированных крыс было выявлено значительное снижение общей двигательной и исследовательской активности в сравнении с контролем (ложнооперированные животные). Так, значимо меньше была общая пройденная дистанция, число выходов в центр, увеличено время замирания (рис. 2). У крыс уменьшался латентный период ухода из центра лабиринта при посадке, снижалось время нахождения на открытых рукавах, что может свидетельствовать о повышении тревожности. Применение SkQ1 предупреждало развитие этих нарушений: в данной группе не было обнаружено значимых отличий от контроля (ложнооперированные животные) по всем показателям, кроме времени нахождения в открытых рукавах (рис. 2).

Тест «Сужающаяся дорожка» мало зависит от эмоционального статуса животного, что позволяет оценивать как состояние сенсомоторной системы в целом, так и для каждой конечности отдельно. Установлено, у реанимированных крыс увеличивалась доля ошибок, совершаемых левыми конечностями (рис. 3); правая сторона тела от контроля не отличалась. Латерализация функций у крыс хорошо известна: хотя большая часть крыс предпочитают пользоваться правой лапой при выполнении моторных тестов [25], левое полушарие менее устойчиво к гипоксии мозга, чем правое [26]. У реанимированных крыс, получавших SkQ1, число ошибок, совершенных левыми конечностями, не отличалось от контроля и было значимо меньше, чем у реанимированных животных (рис. 3).

Полученные нами данные позволяют заключить, что у реанимированных крыс, перенесших

measured parameters except for the time spent in the open arms (Fig. 2).

The «Beam walking» test depends little on the emotional status of the animal that allows measuring the level of the sensorimotor system as a whole animal and for each limb separately. It was found that the rats from all three groups showed significant

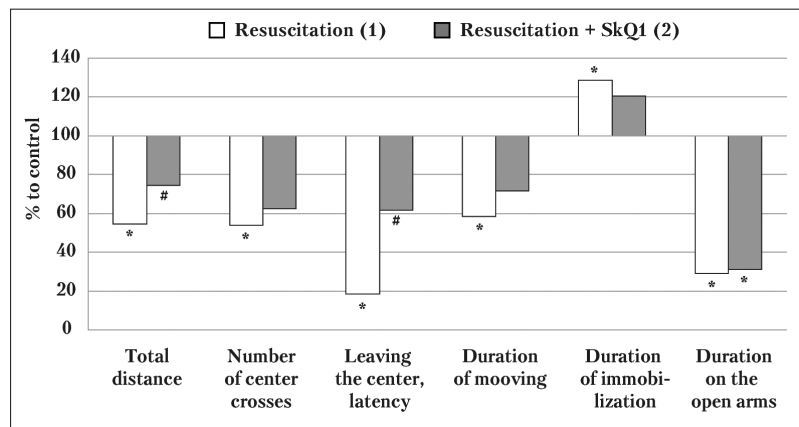


**Рис. 1.** Клетки Пуркинье с разным уровнем экспрессии глиального нейротрофического фактора GDNF.

**Fig. 1.** Purkinje cells with different levels of glial-derived neurotrophic factor GDNF.

**Note:** For Fig. 1, 5: GDNF<sup>-</sup> (white arrows) – GDNF-negative neurons; GDNF<sup>+</sup> (yellow arrows) – GDNF-positive neurons with weak expression of GDNF; GDNF<sup>++</sup> (black arrows) – GDNF-positive neurons with intensive expression of GDNF. Peroxidase-antiperoxidase method, hematoxylin staining. ×400.

**Примечание:** Для рис. 1, 5: GDNF<sup>-</sup> (белая стрелка) – GDNF-отрицательные нейроны; GDNF<sup>+</sup> (желтая стрелка) – GDNF-положительные нейроны со слабой экспрессией GDNF; GDNF<sup>++</sup> (черная стрелка) – GDNF-положительные нейроны с интенсивной экспрессией GDNF. Пероксидазно-антипероксидазный метод, докраска гематоксилином. ×400.



**Рис. 2.** Параметры поведения крыс в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» на 4-е сутки после реанимации.

**Fig. 2.** The parameters of behavior of rats in the test «elevated plus maze» on the 4<sup>th</sup> day after resuscitation.

**Note:** (1) – resuscitated rats; (2) – resuscitated rats treated with SkQ1. Data are the % of animals of control. \* –  $P_u < 0.05$  compared to control; # –  $P_u = 0.07$  vs. resuscitation.

**Примечание:** Total distance – общая пройденная дистанция; Number of center crosses – количество выходов в центр; Leaving the center, latency – латентный период ухода из центра; Duration of moving – время подвижности; Duration of immobilization – время замирания; Duration on the open arms – время на открытых рукавах. Для рис. 1–5: Control – контроль; Resuscitation: (1) – реанимированные крысы; (2) – реанимированные крысы, получавшие SkQ1. Данные представлены в % к контролю. \* –  $p_u < 0,05$  в сравнении с контролем; # –  $p_u = 0,07$  в сравнении с реанимированными крысами.

7-минутную остановку сердца, применение SkQ1 предупреждает развитие нарушений двигательной активности и сенсомоторных функций и/или способствует их восстановлению.

**Гистологическое исследование.** В поле СА4 гиппокампа у реанимированных крыс общая плотность популяции нейронов в сравнении с контролем снижалась на 21,2% (рис. 4, а). У реанимированных крыс, получавших SkQ1, общая плотность нейронов не имела достоверных отличий от контроля и была существенно больше (на 23,4%), чем у реанимированных крыс без SkQ1 (рис. 4, а). Полученные данные свидетельствуют о том, что у крыс к 7-м суткам постреанимационного периода происходит выпадение (гибель) части пирамидных нейронов поля СА4 гиппокампа. Применение SkQ1 способствует предупреждению гибели нейронов в этой нейрональной популяции.

В поле СА1 гиппокампа реанимированных крыс, не получавших SkQ1, общая плотность пирамидных нейронов была снижена в сравнении с контролем на 39,7% (рис. 4, а). У реанимированных крыс, получавших SkQ1, общая плотность исследуемой нейрональной популяции также была ниже контрольного уровня (на 41,8%) и не отличалась от общей плотности популяции у реанимированных крыс, не получавших этот препарат (рис. 4, а). Следовательно, применение SkQ1 не предупреждало развития постреанимационной гибели нейронов в поле СА1 гиппокампа.

В мозжечке у реанимированных нелеченых крыс общая плотность популяции клеток Пуркинье уменьшалась по сравнению с контролем на 21,9% (рис. 4, б). У получавших SkQ1 реанимированных крыс общая плотность клеток Пуркинье была снижена только на 6,5% относительно контроля и превышала таковую у реанимированных животных без SkQ1 (на 19,8%) (рис. 4, б). Полученные данные свидетельствуют о том, что применение SkQ1 позволяет существенно снизить выраженность процесса гибели нейронов в популяции клеток Пуркинье мозжечка.

**Иммуногистохимическое исследование** уровня экспрессии GDNF в популяции клеток Пуркинье показало, что у реанимированных крыс число GDNF<sup>-</sup>-нейронов резко уменьшалось (на 52,7%), в то время как число GDNF<sup>+</sup>- и GDNF<sup>++</sup>-нейронов не имело значимых отличий

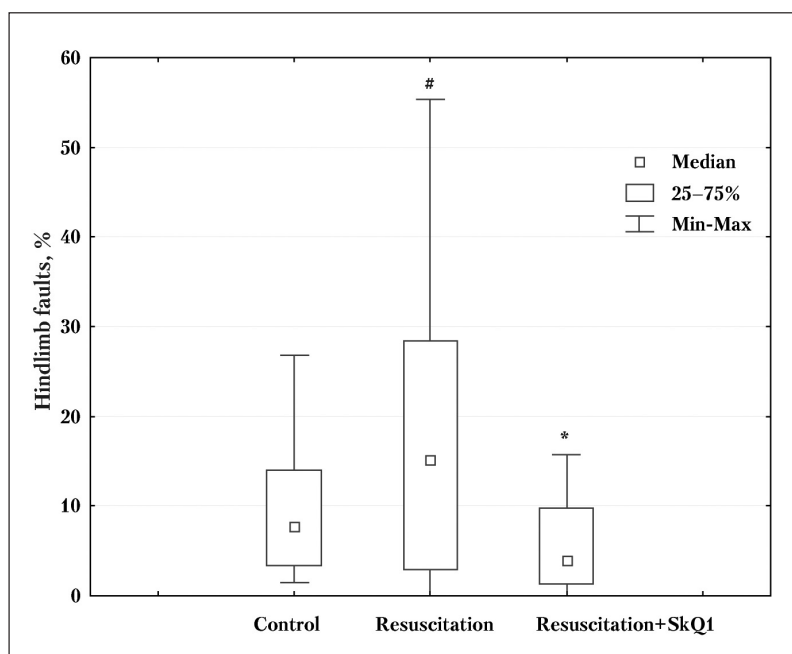


Рис. 3. Доля ошибок в тесте «Сужающаяся дорожка» при движении левых конечностей на 5-е сутки после реанимации.

Fig. 3. Hindlimb faulting on the «Beam Walking Test» in rats on the 5<sup>th</sup> day post-resuscitation.

Note: The values are shown in percent of number of steps. \* –  $P_u=0.02$  vs. resuscitation; # –  $P_u=0.08$  vs. control.

Примечание: Hindlimb faults – доля ошибок; Median – медиана. Данные представлены в % к числу шагов. \* –  $p_u=0,02$  – в сравнении с реанимированными крысами; # –  $p_u=0,08$  – в сравнении с контролем.

differences of sensorimotor functions between right and left limbs: they made more errors (up to 5 times) with the right limbs compared to the left limbs ( $P<0.05$ ; data not shown). Resuscitated rats demonstrated the increased numbers of mistakes made by the left limbs (Fig. 3); the right side of the body did not differ from the control. Lateralization of functions in rats is well known: although most of the rats prefer to use the right paw when performing motor tests [25], the left hemisphere is less resistant to hypoxia of the brain than the right one [26]. The number of left paw errors performed by the resuscitated animals treated with SkQ1 did not significantly differ from the control group and was significantly lower than in the group of resuscitated rats without treatment (Fig. 3).

Data demonstrate that oral administration of SkQ1 at a dose of 500 nmol/kg to rats, which underwent 7-minute cardiac arrest, prevents development of disorders in movement activity and sensorimotor functions.

**Histology.** In the hippocampal field CA4 of resuscitated rats the total number of neurons decreased by 21.2% compared to control (Fig. 4, a). In resuscitated rats treated with SkQ1, the overall density of the neuronal population did not differ from the control, however, was significantly increased (23.4%) than in a group of untreated resuscitated rats (Fig. 4, a). The findings show that pyramidal neurons

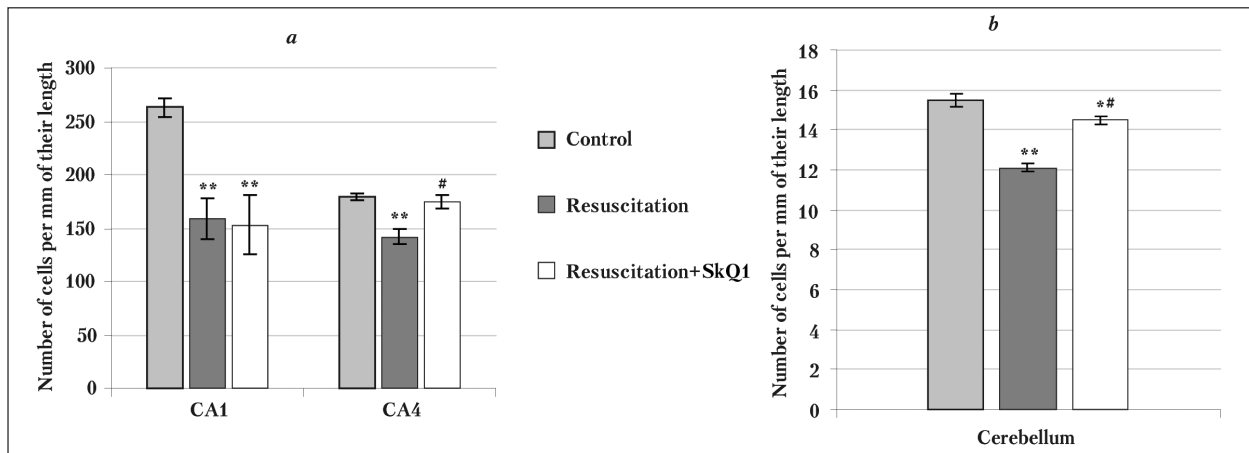


Рис. 4. Общая плотность популяции пирамидных клеток.

Fig. 4. The overall population density of pyramidal cells.

Note: The hippocampal sectors CA1 and CA4 (a) and cerebellar Purkinje cells (b). Data are the mean  $\pm$  S.E.M. \*\* –  $P_t < 0,001$ ; \* –  $P_t < 0,05$  vs. control; # –  $P_t < 0,001$  – vs. resuscitation.

Примечание: Number of cells per mm of their length – число клеток на мм длины (то же для рис. 5); Cerebellum – мозжечок. Сектора CA1 и CA4 гиппокампа (a) и клетки Пуркинье мозжечка (b). Данные представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартная ошибка среднего. \*\* –  $p_t < 0,001$ ; \* –  $p_t < 0,05$  – в сравнении с контролем; # –  $p_t < 0,001$  – в сравнении с реанимированными крысами.

от контрольного уровня (рис. 5). В совокупности с данными гистологического анализа эти результаты свидетельствуют о том, что выявленное у реанимированных животных снижение общей плотности популяции клеток Пуркинье происходит, вероятно, за счет выпадения (гибели) GDNF<sup>-</sup>-нейронов, т.е. клеток, неэкспрессирующих этот нейротрофический фактор. Иные результаты получены у крыс, получавших SkQ1: уменьшение числа GDNF<sup>-</sup>-клеток (на 52,7%) сопровождалось резким увеличением числа GDNF<sup>+</sup>-нейронов (на 45,7%) (рис. 5). При этом число GDNF<sup>+</sup>-клеток не изменялось (рис. 5). Следовательно, в данном случае уменьшение числа GDNF-негативных клеток преимущественно было связано не с их гибелью, которая была выражена слабо, а с «переходом» в категорию GDNF-позитивных, причем активно экспрессирующих данный фактор GDNF<sup>+</sup>-нейронов.

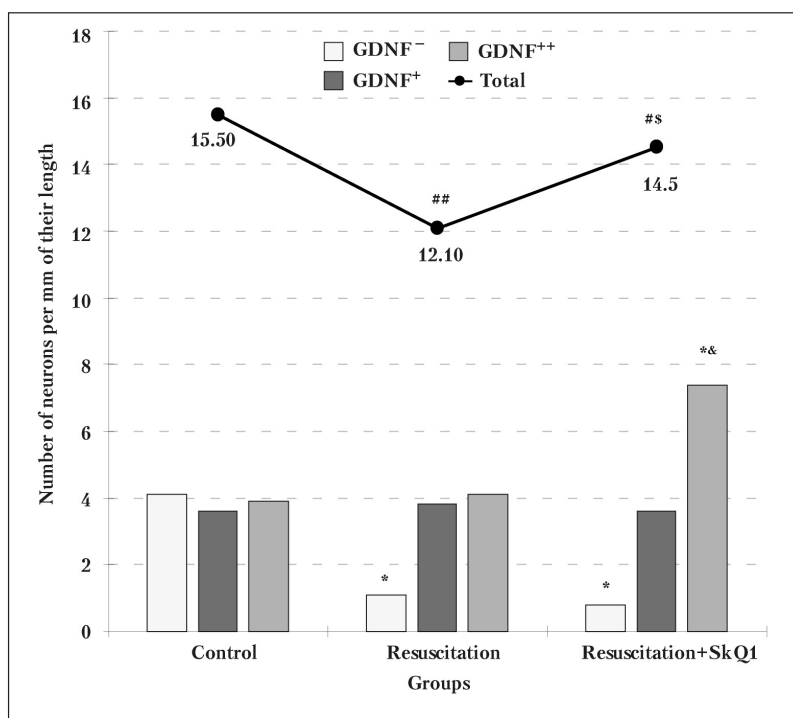
Результаты настоящей работы свидетельствуют о том, что у крыс, перенесших остановку сердца, в постреанимационном периоде происходит гибель нейронов в высокочувствительных к гипоксии областях мозга, и этот процесс сопровождается развитием нарушений двигательной активности и сенсомоторных функций. Это согласуется с полученными нами ранее данными о возникновении постреанимационных нарушений структуры и функции мозга [27–29]. Установлено, что пероральное применение антиоксиданта SkQ1 в дозе 500 нмоль/кг за 7 дней до реанимации и в течение 7 дней постреанимационного периода предупреждает развитие нарушений сенсомоторных функций и/или способствует их восстановлению. Показано также, что SkQ1 способствует предупреждению гибели нейронов в

in the hippocampal field CA4 of resuscitated rats died. SkQ1 seems to prevent the neuronal loss.

The total number of neurons in the hippocampal field CA1 of resuscitated rats was reduced by 39.7% compared to control (Fig. 4, a). In resuscitated rats receiving SkQ1 the overall density of the neuronal population was also lower than the control level (by 41.8%) and did not differ from the same one in untreated rats (Fig. 4, a). Thus, SkQ1 did not affect the neuronal cell death development in the hippocampal field CA1 postresuscitation.

Total density of the cerebellar Purkinje cells population in resuscitated rats was reduced by 21.9% compared to control (Fig. 4, b). In resuscitated rats treated with SkQ1 the total number of Purkinje cells decreased in a lesser extent (by 6.5% vs. control) and was significantly greater than in untreated animals (19.8%) (Fig. 4, b). The data indicate that SkQ1 might reduce the neuronal death intensity in the Purkinje cells population.

Immunohistochemical study of GDNF expression in the Purkinje cells population showed that in resuscitated rats the number GDNF<sup>-</sup>-neurons drastically decreased (52,7%), while the number of GDNF<sup>+</sup>- and GDNF<sup>++</sup>-neurons had no significant difference from the control (Fig. 5). In conjunction with histological data, these results indicate that the lower total density of this neuronal population observed in resuscitated animals without SkQ1 administration is probably due to the death of GDNF<sup>-</sup>-neurons, i.e. cells not expressing this neurotrophic factor. Different results were obtained in rats treated with SkQ1: GDNF<sup>-</sup>: there was a reduction in the number of cells (52,7%) accompanied by a large increase in the number of GDNF<sup>++</sup>-neurons (45,7%) (Fig. 5). The number of GDNF<sup>+</sup>-cells was not



**Рис. 5.** Число клеток Пуркинье мозжечка с различным уровнем экспрессии GDNF и общая плотность нейрональной популяции.  
**Fig. 5.** Number of cerebellar Purkinje cells with different expression level of GDNF and total density of neuronal population.

**Note:** Total – the overall population density. Results of histological analysis are the means. # –  $P_t < 0.05$ ; ## –  $P_t < 0.001$  vs. control; \$ –  $P_t < 0.05$  vs. resuscitation. Results of immunohistochemical analysis are the medians. \* –  $P_u < 0.05$  vs. control; & –  $P_u < 0.05$  vs. resuscitation.

**Примечание:** Groups – группы. Total – общая плотность популяции. Данные гистологического анализа представлены в виде средних значений. # –  $p_t < 0.05$ ; ## –  $p_t < 0.001$  – в сравнении с контролем; \$ –  $p_t < 0.05$  – в сравнении с реанимированными крысами. Данные иммуногистохимического анализа представлены в виде медиан. \* –  $p_u < 0.05$  – в сравнении с контролем; & –  $p_u < 0.05$  – в сравнении с реанимированными крысами.

секторе СА4 гиппокампа и существенно уменьшает ее выраженность в популяции клеток Пуркинье мозжечка. Вместе с тем, согласно полученным нами данным, применение препарата не влияло на процесс постреанимационной гибели нейронов в секторе СА1 гиппокампа, что, возможно, обусловлено селективной чувствительностью этих клеток к ишемии-реперфузии. Селективная чувствительность пирамидных нейронов сектора СА1 гиппокампа к ишемии – хорошо известный феномен, показанный в экспериментах как у взрослых животных, так и в раннем перинатальном периоде [30–33]. Кроме того, имеются существенные отличия нейрональных популяций, и в частности, пирамидных нейронов СА1 и клеток Пуркинье, как по механизмам повреждения при ишемии-реперфузии, так и по эффективности различных лечебных воздействий [34, 35], в том числе, и в постреанимационном периоде [28, 29].

Проведенные ранее исследования свидетельствуют о тесной взаимосвязи восстановле-

changed (Fig. 5). Therefore, reduced number of GDNF-negative cells is mainly due not to their death but their «transition» toward the cells actively expressing GDNF protein.

The results indicate that the neuronal death occurs in the hypoxia-sensitive areas of the brain postresuscitation that is accompanied by the development of disturbances of motor activity and sensorimotor functions. This is consistent with our earlier data on the occurrence of postresuscitative alterations of structure and function of the brain [27–29]. It was found that the oral administration of SkQ1 in dose of 500 nmol/kg for 7 days before and after cardiac arrest prevented sensorimotor functional disorders and/or accelerated their recovery. It was also shown that SkQ1 helped to prevent the neuronal loss in the hippocampal field CA4 and significantly reduced its intensity in the population of cerebellar Purkinje cells. However, according to our data, the use of the drug did not influence the death of pyramidal neurons of the hippocampal field CA1 that might be due to the selective vulnerability of these cells in ischemia-reperfusion. The selective susceptibility of CA1 pyramidal neurons to ischemia is a well-known phenomenon shown in

adult animals and in early perinatal period [30–33]. Lack of efficacy of SkQ1 to prevent postresuscitative death of hippocampal CA1 neurons may also be associated with significant differences between neuronal populations, particularly, CA1 pyramidal neurons and Purkinje cells, in mechanisms of their damage during ischemia-reperfusion, and in effectiveness of various therapeutic interventions [34, 35] as well as in cardiac arrest [28, 29].

Previous studies suggest a close relationship between the functional recovery and structural condition of brain postresuscitation. There is a possibility to influence the neuronal populations, thus contributing not only to prevention and/or mitigation of postresuscitative neuronal damage, but also to acceleration of neurologic recovery and correction of behavior [28, 29]. The results of the present study confirm this suggestion. Indeed, SkQ1 prevented the neuronal loss in the ischemia-sensitive brain areas that was accompanied by improvement in the recovery of brain functions.



ния функции мозга в постреанимационном периоде с изменениями состояния нейрональных популяций. Так, установлена возможность влиять на состояние нейрональных популяций, способствуя при этом не только предупреждению и/или смягчению постреанимационных повреждений нейронов, но и ускорению неврологического восстановления, коррекции нарушений поведения [28, 29]. Полученные в настоящей работе данные подтверждают это положение. Действительно, SkQ1 предупреждал гибель нейронов в высокочувствительных к ишемии областях мозга, что сопровождалось улучшением восстановления функций мозга.

Разработка подходов к нейропротекции при ишемии-реперфузии основана на поиске способов защиты нейрона от конкретных патологических воздействий или их комплекса [36, 37]. Известно, что ишемия-реперфузия вызывает активацию патологических каскадов, приводящих к гибели нейронов, среди которых, наряду с нарушениями ионного гомеостаза, эксцитотоксическими воздействиями, активацией воспалительных процессов, падением уровня синтеза белка, важную роль играют нарушения энергетического метаболизма и действие свободных радикалов. Как было отмечено выше, SkQ1 — митохондриально-направленный антиоксидант, способствующий поддержанию энергетического метаболизма. Так, инкубация клеток HeLa в растворе с SkQ1 предотвращала разрушение митохондриального ретикулума, вызываемое перекисью водорода [2]. Показано также, что SkQ1 способствует коррекции повреждений, вызванных ишемией-реперфузией изолированной печени при долговременном хранении перед трансплантацией (24 часа при 4°C) [38]. При этом выявлена способность SkQ1 уменьшать образование активных форм кислорода и активность перекисного окисления липидов в печени, а также повышать дыхательный индекс митохондрий и увеличивать уровень АТФ, т. е. улучшать энергетические функции печени. Кроме того, SkQ1 продемонстрировал положительное влияние на морфологию печени, что проявлялось в частичном восстановлении архитектоники органа и улучшении состояния печеночных синусов и гепатоцитов. При гепатите, индуцированном галактозамином, SkQ1 значительно снижал уровень дистрофии печени и маркеров воспаления, и, кроме того, замедлял темп развития моторных дисфункций у трансгенных мышей в модели бокового амиотрофического склероза [3].

Приведенные выше данные свидетельствуют о том, что положительное действие SkQ1 на структурно-функциональное состояние мозга может быть опосредовано его влиянием на энергетический метаболизм и процессы перекисного окисления липидов.

Development of approaches to neuroprotection in ischemia-reperfusion injury is based on searching the ways to protect neurons against specific damaging influences [36, 37]. It is known that ischemia-reperfusion induces activation of the pathological cascade that leads to neuronal death. This cascade includes impaired ion homeostasis, excitotoxic effects, activation of inflammatory processes and decreased protein synthesis. An important role belongs to disorders of energy metabolism and effects of reactive oxygen species (ROS). As noted above, the mitochondrial-directed antioxidant SkQ1 helps to keep the energy metabolism. Thus, incubation of HeLa cells with SkQ1 prevented mitochondrial reticulum disruption caused by hydrogen peroxide [2]. SkQ1 was shown to promote correction of injuries caused by ischemia-reperfusion of isolated liver during long-term storage (24 hours at 4°C) prior to transplantation [38]. At the same time the ability of SkQ1 to reduce the formation of ROS and lipid peroxidation in the liver, as well as to improve mitochondrial respiratory index and increase the ATP level, i.e. improve the energy function of the liver, were revealed. SkQ1 had demonstrated also a positive effect on the liver morphology, which was manifested by partial restoration of organ architectonics and improved conditions of the liver sinuses and hepatocytes. In hepatitis induced by galactosamine, SkQ1 significantly reduced the level of degeneration of the liver and inflammatory markers, and also slowed the pace of development of motor dysfunction in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis [3].

The above data suggest that the beneficial effect of SkQ1 on structural and functional state of the brain may be mediated by its actions on energy metabolism and lipid peroxidation.

Data presented in our study, suggest the existence of another mechanism of SkQ1 neuroprotection. Previously, we have shown the influence of a number of neurotrophic factors on neuronal resistance after resuscitation: heat shock protein (HSP) family HSP70 (HSP72 and HSP73) [39, 40], GRP78 [41], and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) [42, 43]. It should be emphasized that the expression of the proteins depends not only on the nature and severity of ischemia, but also on the type of neuronal populations. Thus, the observations of sensorimotor cortex and hippocampus (fields CA1 and CA4) area revealed the significance of high initial level of the constitutive form of HSP73, and postresuscitative changes in the level of its inducible form (HSP72) for resistance of neurons to ischemia-reperfusion injury [40]. However, in the Purkinje cells population the content of HSP70-positive cells in intact animals was very low, and postresuscitative changes of HSP70 expression were identified. These data argue for the existence of other mechanisms of

Полученные в настоящей работе результаты позволяют предположить наличие еще одного механизма нейропротективного действия SkQ1. Ранее нами было показано влияние ряда нейротрофических факторов на устойчивость нейронов к постреанимационным изменениям: белков теплового шока семейства HSP70 (HSP72 и HSP73) [39, 40], GRP78 [41], а также мозгового нейротрофического фактора (BDNF) [42, 43]. Следует подчеркнуть, что экспрессия индуцируемых ишемией белков зависит не только от специфики и тяжести воздействия, но также и от типа нейрональной популяции. Так, в сенсомоторной коре и гиппокампе (секторы CA1 и CA4) нами было показано существенное значение высокого исходного уровня конститутивной формы белка теплового шока (HSP73), а также постреанимационных изменений уровня его индуцибельной формы (HSP72) для устойчивости нейронов к ишемии-реперфузии [40]. Однако, в популяции клеток Пуркинье содержание HSP70-положительных клеток у интактных животных было очень низким, а в постреанимационном периоде изменения экспрессии HSP70 не были выявлены. Это свидетельствует о существовании иных механизмов защиты этих нейронов [39], что подтверждается и другими авторами [44, 45]. В то же время оказалось, что для клеток Пуркинье важным фактором, влияющим на их устойчивость к гибели в постреанимационном периоде, является уровень экспрессии GDNF. При гистологическом и иммуногистохимическом исследовании популяции клеток Пуркинье в динамике постреанимационного периода было установлено, что существует взаимосвязь между изменениями уровня экспрессии белка GDNF и развитием процесса гибели нейронов [11]. Первоначальный подъем уровня экспрессии GDNF в популяции клеток Пуркинье позволял предупредить гибель этих нейронов, а последующее уменьшение уровня экспрессии GDNF сопровождалось гибелью клеток, а именно — GDNF-отрицательных нейронов. Нейропротективное действие GDNF связывают с его способностью увеличивать экспрессию генов, ингибирующих апоптоз — Bcl-2 и Bcl-w и снижать экспрессию проапоптотических генов Bax и Bad [12, 14], а также влиять на транспорт глутамата [46].

Таким образом, полученные в настоящей работе данные подтверждают развиваемое нами положение о значимости уровня экспрессии GDNF в устойчивости нейронов к постреанимационной гибели. Действительно, как было показано выше, у нелеченых реанимированных животных гибели подвергались GDNF<sup>-</sup>-нейроны. Применение SkQ1 способствовало увеличению экспрессии этого нейротрофического фактора: GDNF-отрицательные, т.е., ранее неэкспрессирующие GDNF клетки, «переходили» в катего-

neuronal protection in cerebellum [39] that is in agreement with the data by other authors [44, 45]. It was found that the level of GDNF expression is an important factor of Purkinje cells resistance to postresuscitative injury. Histological and immunohistochemical studies of Purkinje cells populations in dynamics of postresuscitative period have revealed a relationship between changes in GDNF protein levels and the processes of neuronal death [11]. The initial rise in the level of GDNF expression in populations of Purkinje cells was capable to prevent the death of these neurons, and the subsequent reduction in the level of GDNF expression was accompanied by neuronal loss, specifically GDNF-negative neurons. GDNF neuroprotection is associated with its ability to increase expression of genes inhibiting apoptosis — Bcl-2 and Bcl-w, reduce expression of pro-apoptotic Bax and Bad genes [12, 14] and decrease glutamate transport [46].

Thereby, the data obtained in this study confirm our previous suggestion on the significance of expression level of GDNF in resistance of neurons to postresuscitative death. Indeed, as indicated above, in untreated resuscitated animals the GDNF<sup>-</sup>-neurons died. SkQ1 contributes to an increase in the expression of neurotrophic factor: GDNF-negative, i.e., previously non-expressing GDNF cells, are «switching» toward the category of neurons actively producing this factor (GDNF<sup>++</sup>) and suchwise are not subjected to death. Thence we assume that at least one of the mechanisms of SkQ1 neuroprotection includes its ability to activate the expression of GDNF in nerve cells. At the same time, SkQ1, maintaining the energy metabolism of neurons, may provide a more efficient production of various proteins including GDNF. It is possible also that both mechanisms are existed. Thus, in the experimental model of Parkinson's disease it was shown that physical exercise increased both the expression level of GDNF and improved mitochondrial function that contributed to preservation of dopaminergic neurons [47]. Similar data were obtained in the experimental study of the efficacy of exercises for correction of behavior [48].

Overall, the data suggest the positive impact SkQ1 on the structural and functional status of the brain postresuscitation. These data provide rationale for using this drug for the prevention and correction of posthypoxic encephalopathies.

рию активно вырабатывающих этот фактор нейронов (GDNF<sup>++</sup>) и не подвергались гибели. Следовательно, можно полагать, что, по крайней мере, одним из механизмов нейропротективного действия SkQ1 является его способность активировать экспрессию GDNF в нервных клетках. В то же время, SkQ1, поддерживая энергетичес-

кий метаболизм нейронов, возможно, обеспечивает более эффективную продукцию различных белков, в том числе и GDNF. Не исключено также, что могут реализоваться оба этих механизма. Так, на экспериментальной модели болезни Паркинсона было показано, что физические упражнения повышают уровень экспрессии GDNF и улучшают функцию митохондрий, что способствует сохранению дофаминергических нейронов [47]. Аналогичные данные получены и при экс-

периментальном исследовании эффективности физической нагрузки для коррекции нарушений поведения [48].

В целом, полученные в работе данные свидетельствуют о положительном воздействии SkQ1 на структурно-функциональное состояние мозга в постреанимационном периоде. Это обуславливает перспективность применения этого препарата для предотвращения и коррекции постгипоксических энцефалопатий.

#### Литература

1. Skulachev V.P., Anisimov V.N., Antonenko Y.N., Bakeeva L.E., Chernyak B.V., Erichev V.P., Filenko O.F., Kalinina N.I., Kapelko V.I., Kolosova N.G., Kopnin B.P., Korshunova G.A., Lichinitser M.R., Obukhova L.A., Pasyukova E.G., Pisarenko O.I., Roginsky V.A., Ruuge E.K., Senin I.I., Severina I.I., Skulachev M.V., Spivak I.M., Tashlitsky V.N., Tkachuk V.A., Vyssokikh M.Y., Yaguzhinsky L.S., Zorov D.B. An attempt to prevent senescence: a mitochondrial approach. *Biochim. Biophys. Acta.* 2009; 1787 (5): 437–461. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2008.12.008>. PMID: 19159610
2. Skulachev V.P. Mitochondria-targeted antioxidants as promising drugs for treatment of age-related brain diseases. *J. Alzheimers Disease.* 2012; 28 (2): 283–289. <http://dx.doi.org/10.3233/JAD-2011-111391>. PMID: 21987592
3. Lukashov A.N., Skulachev M.V., Ostapenko V., Savchenko A.Y., Pavshintsev V.V., Skulachev V.P. Advances in development of rechargeable mitochondrial antioxidants. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2014; 127: 251–265. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-394625-6.00010-6>. PMID: 25149221
4. Anisimov V.N., Bakeeva L.E., Egormin P.A., Filenko O.F., Isakova E.F., Mansikh V.N., Mikhelson V.M., Panteleeva A.A., Pasyukova E.G., Piliipenko D.I., Piskunova T.S., Popovich I.G., Roshchina N.V., Rybina O.Y., Saprunova V.B., Samoylova T.A., Semenchenko A.V., Skulachev M.V., Spivak I.M., Tsybul'ko E.A., Tyndyk M.L., Vyssokikh M.Y., Yurova M.N., Zabezhinsky M.A., Skulachev V.P. Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. 5. SkQ1 prolongs lifespan and prevents development of traits of senescence. *Biochemistry (Mosc.)*. 2008; 73 (12): 1329–1342. <http://dx.doi.org/10.1134/S0006297908120055>. PMID: 19120018
5. Antonenko Y.N., Avetisyan A.V., Bakeeva L.E., Chernyak B.V., Chertkov V.A., Dominina L.V., Ivanova O.Y., Izumov D.S., Khailova L.S., Klishin S.S., Korshunova G.A., Lyamzaev K.G., Muntyan M.S., Nepryakhina O.K., Pashkovskaya A.A., Pletjushkina O.Y., Pustovidko A.V., Roginsky V.A., Rokitskaya T.I., Ruuge E.K., Saprunova V.B., Severina I.I., Simonyan R.A., Skulachev I.V., Skulachev M.V., Sumbatyan N.V., Sviryayeva I.V., Tashlitsky V.N., Vassiliev J.M., Vyssokikh M.Y., Yaguzhinsky L.S., Zamyatnin A.A.Jr., Skulachev V.P. Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. 1. Cationic plastoquinone derivatives: synthesis and in vitro studies. *Biochemistry (Mosc.)*. 2008; 73 (12): 1273–1287. <http://dx.doi.org/10.1134/S0006297908120018>. PMID: 19120014
6. Bakeeva L.E., Barskov I.V., Egorov M.V., Isaev N.K., Kapelko V.I., Kazachenko A.V., Kirpatovskiy V.I., Kozlovskiy S.V., Lakomkin V.L., Levina S.B., Pisarenko O.I., Plotnikov E.Y., Saprunova V.B., Serebryakova L.I., Skulachev M.V., Stelmashook E.V., Studneva I.M., Tskitishvili O.V., Vasilyeva A.K., Victorov I.V., Zorov D.B., Skulachev V.P. Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. 2. Treatment of some ROS- and age-related diseases (heart arrhythmia, heart infarctions, kidney ischemia, and stroke). *Biochemistry (Mosc.)*. 2008; 73 (12): 1288–1299. <http://dx.doi.org/10.1134/S000629790812002X>. PMID: 19120015
7. Лакомкин В.Л., Капелько В.И. Защитный эффект митохондриального антиоксиданта SkQ1 при ишемии и реперфузии сердца. *Кардиология.* 2009; 49 (10): 55–60. PMID: 19845521
8. Plotnikov E.Y., Chupyrkina A.A., Jankauskas S.S., Pevzner I.B., Silachev D.N., Skulachev V.P., Zorov D.B. Mechanisms of nephroprotective effect of mitochondria-targeted antioxidants under rhabdomyolysis and ischemia/reperfusion. *Biochim. Biophys. Acta.* 2011; 1812 (1): 77–86. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.09.008>. PMID: 20884348
9. Kapay N.A., Popova O.V., Isaev N.K., Stelmashook E.V., Kondratenko R.V., Zorov D.B., Skrebitsky V.G., Skulachev V.P. Mitochondria-targeted plastoquinone antioxidant SkQ1 prevents amyloid- $\beta$ -induced impairment of long-term potentiation in rat hippocampal slices. *J. Alzheimers Dis.* 2013; 36 (2): 377–383. <http://dx.doi.org/10.3233/JAD-122428>. PMID: 23735258
10. Stefanova N.A., Fursova A.Zh., Kolosova N.G. Behavioral effects induced by mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 in Wistar and

#### References

1. Skulachev V.P., Anisimov V.N., Antonenko Y.N., Bakeeva L.E., Chernyak B.V., Erichev V.P., Filenko O.F., Kalinina N.I., Kapelko V.I., Kolosova N.G., Kopnin B.P., Korshunova G.A., Lichinitser M.R., Obukhova L.A., Pasyukova E.G., Pisarenko O.I., Roginsky V.A., Ruuge E.K., Senin I.I., Severina I.I., Skulachev M.V., Spivak I.M., Tashlitsky V.N., Tkachuk V.A., Vyssokikh M.Y., Yaguzhinsky L.S., Zorov D.B. An attempt to prevent senescence: a mitochondrial approach. *Biochim. Biophys. Acta.* 2009; 1787 (5): 437–461. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2008.12.008>. PMID: 19159610
2. Skulachev V.P. Mitochondria-targeted antioxidants as promising drugs for treatment of age-related brain diseases. *J. Alzheimers Disease.* 2012; 28 (2): 283–289. <http://dx.doi.org/10.3233/JAD-2011-111391>. PMID: 21987592
3. Lukashov A.N., Skulachev M.V., Ostapenko V., Savchenko A.Y., Pavshintsev V.V., Skulachev V.P. Advances in development of rechargeable mitochondrial antioxidants. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2014; 127: 251–265. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-394625-6.00010-6>. PMID: 25149221
4. Anisimov V.N., Bakeeva L.E., Egormin P.A., Filenko O.F., Isakova E.F., Mansikh V.N., Mikhelson V.M., Panteleeva A.A., Pasyukova E.G., Piliipenko D.I., Piskunova T.S., Popovich I.G., Roshchina N.V., Rybina O.Y., Saprunova V.B., Samoylova T.A., Semenchenko A.V., Skulachev M.V., Spivak I.M., Tsybul'ko E.A., Tyndyk M.L., Vyssokikh M.Y., Yurova M.N., Zabezhinsky M.A., Skulachev V.P. Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. 5. SkQ1 prolongs lifespan and prevents development of traits of senescence. *Biochemistry (Mosc.)*. 2008; 73 (12): 1329–1342. <http://dx.doi.org/10.1134/S0006297908120055>. PMID: 19120018
5. Antonenko Y.N., Avetisyan A.V., Bakeeva L.E., Chernyak B.V., Chertkov V.A., Dominina L.V., Ivanova O.Y., Izumov D.S., Khailova L.S., Klishin S.S., Korshunova G.A., Lyamzaev K.G., Muntyan M.S., Nepryakhina O.K., Pashkovskaya A.A., Pletjushkina O.Y., Pustovidko A.V., Roginsky V.A., Rokitskaya T.I., Ruuge E.K., Saprunova V.B., Severina I.I., Simonyan R.A., Skulachev I.V., Skulachev M.V., Sumbatyan N.V., Sviryayeva I.V., Tashlitsky V.N., Vassiliev J.M., Vyssokikh M.Y., Yaguzhinsky L.S., Zamyatnin A.A.Jr., Skulachev V.P. Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. 1. Cationic plastoquinone derivatives: synthesis and in vitro studies. *Biochemistry (Mosc.)*. 2008; 73 (12): 1273–1287. <http://dx.doi.org/10.1134/S0006297908120018>. PMID: 19120014
6. Bakeeva L.E., Barskov I.V., Egorov M.V., Isaev N.K., Kapelko V.I., Kazachenko A.V., Kirpatovskiy V.I., Kozlovskiy S.V., Lakomkin V.L., Levina S.B., Pisarenko O.I., Plotnikov E.Y., Saprunova V.B., Serebryakova L.I., Skulachev M.V., Stelmashook E.V., Studneva I.M., Tskitishvili O.V., Vasilyeva A.K., Victorov I.V., Zorov D.B., Skulachev V.P. Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. 2. Treatment of some ROS- and age-related diseases (heart arrhythmia, heart infarctions, kidney ischemia, and stroke). *Biochemistry (Mosc.)*. 2008; 73 (12): 1288–1299. <http://dx.doi.org/10.1134/S000629790812002X>. PMID: 19120015
7. Lakomkin V.L., Kapelko V.I. Zashchitnyy effekt mitokhondrialnogo antioksidanta SkQ1 pri ishemii i reperfuzii serdtsa. [Protective effect of mitochondrial antioxidant SkQ1 at cardiac ischemia and reperfusion]. *Kardiologiya.* 2009; 49 (10): 55–60. PMID: 19845521. [In Russ.]
8. Plotnikov E.Y., Chupyrkina A.A., Jankauskas S.S., Pevzner I.B., Silachev D.N., Skulachev V.P., Zorov D.B. Mechanisms of nephroprotective effect of mitochondria-targeted antioxidants under rhabdomyolysis and ischemia/reperfusion. *Biochim. Biophys. Acta.* 2011; 1812 (1): 77–86. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.09.008>. PMID: 20884348
9. Kapay N.A., Popova O.V., Isaev N.K., Stelmashook E.V., Kondratenko R.V., Zorov D.B., Skrebitsky V.G., Skulachev V.P. Mitochondria-targeted plastoquinone antioxidant SkQ1 prevents amyloid- $\beta$ -induced impairment of long-term potentiation in rat hippocampal slices. *J. Alzheimers Dis.* 2013; 36 (2): 377–383. <http://dx.doi.org/10.3233/JAD-122428>. PMID: 23735258
10. Stefanova N.A., Fursova A.Zh., Kolosova N.G. Behavioral effects induced by mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 in Wistar and



- senescence-accelerated OXYS rats. *J. Alzheimers Dis.* 2010; 21 (2): 479–491. <http://dx.doi.org/10.3233/JAD-2010-091675>. PMID: 20555140
11. Аверуцко М.Ш., Острова И.В., Волков А.В. Постреанимационные изменения экспрессии глialного нейротрофического фактора (GDNF): взаимосвязь с повреждением клеток Пуркинье мозжечка (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология.* 2014; 10 (5): 59–68. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-5-59-68>
  12. Cao J., Niu H., Wang H., Huang X., Gao D. NF- $\kappa$ B p65/p52 plays a role in GDNF up-regulating Bcl-2 and Bcl-w expression in 6-OHDA-induced apoptosis of MN9D cell. *J. Neurosci.* 2013; 123 (10): 705–710. <http://dx.doi.org/10.3109/00207454.2013.795149>. PMID: 23590664
  13. Li F., Wang M., Zhu S., Li L., Xiong Y., Gao D. The potential neuroprotection mechanism of GDNF in the 6-OHDA-induced cellular models of Parkinson's Disease. *Cell Mol. Neurobiol.* 2013; 33 (7): 907–919. <http://dx.doi.org/10.1007/s10571-013-9957-0>. PMID: 23846419
  14. Li L., Chen H., Chen F., Li F., Wang M., Wang L., Li Y., Gao D. Effects of glia cell line-derived neurotrophic factor on microRNA expression in a 6-hydroxydopamine-injured dopaminergic cell line. *J. Neural. Transm. (Vienna).* 2013; 120 (11): 1511–1523. <http://dx.doi.org/10.1007/s00702-013-1031-z>. PMID: 23771700
  15. Youdim M. Multi target neuroprotective and neurorestorative anti-Parkinson and anti-Alzheimer drugs ladostigil and m30 derived from rasagiline. *Exp. Neurobiol.* 2013; 22 (1): 1–10. <http://dx.doi.org/10.5607/en.2013.22.1.1>. PMID: 23585716
  16. Xu S., Bi C., Choi R., Zhu K., Miernisha A., Dong T., Tsim K. Flavonoids induce the synthesis and secretion of neurotrophic factors in cultured rat astrocytes: a signaling response mediated by estrogen receptor. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2013; 2013: 127075. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/127075>. PMID: 23878590
  17. Kotyuk E., Nemeth N., Halmi Z., Faludi G., Sasvari-Szekely M., Szekely A. Association between mood characteristics and polymorphisms of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in patients with depression. *Neuropsychopharmacol. Hung.* 2013; 15 (2): 63–72. PMID: 23817357
  18. Myazaki H., Nagashima K., Okuma Y., Nomura Y. Expression of glial cell line-derived neurotrophic factor induced by transient forebrain ischemia in rats. *Brain Res.* 2001; 922 (2): 165–172. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)03013-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993(01)03013-X). PMID: 11743946
  19. Ikeda T., Xia X.Y., Xia Y.X., Ikenoue T., Han B., Choi B.H. Glial cell line-derived neurotrophic factor protects against ischemia/hypoxia-induced brain injury in neonatal rats. *Acta Neuropathol.* 2000; 100 (2): 161–167. <http://dx.doi.org/10.1007/s004019900162>. PMID: 10963363
  20. Korsak K., Dolatshad N.F., Silva A.T., Saffrey M.J. Ageing of enteric neurons: oxidative stress, neurotrophic factors and antioxidant enzymes. *Chem. Cent. J.* 2012; 2 (6): 80. <http://dx.doi.org/10.1186/1752-153X-6-80>. PMID: 22857398
  21. Thrasivoulou C., Soubeyre V., Ridha H., Giuliani D., Giaroni C., Michael G.J., Saffrey M.J., Cowen T. Reactive oxygen species, dietary restriction and neurotrophic factors in age-related loss of myenteric neurons. *Aging Cell.* 2006; 5 (3): 247–257. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1474-9726.2006.00214.x>. PMID: 16842497
  22. 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
  23. Pellow S., Chopin P., File S.E., Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Methods.* 1985; 14 (3): 149–167. [http://dx.doi.org/10.1016/0165-0270\(85\)90031-7](http://dx.doi.org/10.1016/0165-0270(85)90031-7). PMID: 2864480
  24. Schallert T., Cenci M.A., Whishaw I.Q. Animal models of neurological deficits: how relevant is the rat? *Nat. Rev. Neurosci.* 2002; 3 (7): 574–579. PMID: 12094213
  25. Ross D.A., Glick S.D. Lateralized effects of bilateral frontal cortex lesions in rats. *Brain Res.* 1981; 210 (1–2): 379–382. [http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993\(81\)90913-6](http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993(81)90913-6). PMID: 7194718
  26. Sanches E.F., Arteni N.S., Scherer E.B., Kolling J., Nicola F., Willborn S., Wyse A.T., Netto C.A. Are the consequences of neonatal hypoxia-ischemia dependent on animals' sex and brain lateralization? *Brain Res.* 2013; 1507: 105–114. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2013.02.040>. PMID: 23466455
  27. Зарзешский Ю.В., Аверуцко М.Ш., Волков А.В. Нейрофизиологические механизмы постреанимационного повреждения мозга. *Общая реаниматология.* 2006; 2 (5–6): 101–110. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2006-6-101-110>
  28. Аверуцко М.Ш., Волков А.В., Зарзешский Ю.В., Острова И.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>
  29. Аверуцко 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>
  - senescence-accelerated OXYS rats. *J. Alzheimers Dis.* 2010; 21 (2): 479–491. <http://dx.doi.org/10.3233/JAD-2010-091675>. PMID: 20555140
  11. Avrushchenko M.Sh., Ostrova I.V., Volkov A.V. Postreanimatsionnye izmeneniya ekspressii glialnogo neyrotroficheskogo faktora (GDNF): vzaimosvyaz s povrezhdeniem kletok Purkinye mozghechka (eksperimentalnoe issledovanie). *Obshchaya Reanimatologiya.* [Postresuscitacionnye izmeneniya v vyrazhenii 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.]
  12. Cao J., Niu H., Wang H., Huang X., Gao D. NF- $\kappa$ B p65/p52 plays a role in GDNF up-regulating Bcl-2 and Bcl-w expression in 6-OHDA-induced apoptosis of MN9D cell. *J. Neurosci.* 2013; 123 (10): 705–710. <http://dx.doi.org/10.3109/00207454.2013.795149>. PMID: 23590664
  13. Li F., Wang M., Zhu S., Li L., Xiong Y., Gao D. The potential neuroprotection mechanism of GDNF in the 6-OHDA-induced cellular models of Parkinson's Disease. *Cell Mol. Neurobiol.* 2013; 33 (7): 907–919. <http://dx.doi.org/10.1007/s10571-013-9957-0>. PMID: 23846419
  14. Li L., Chen H., Chen F., Li F., Wang M., Wang L., Li Y., Gao D. Effects of glia cell line-derived neurotrophic factor on microRNA expression in a 6-hydroxydopamine-injured dopaminergic cell line. *J. Neural. Transm. (Vienna).* 2013; 120 (11): 1511–1523. <http://dx.doi.org/10.1007/s00702-013-1031-z>. PMID: 23771700
  15. Youdim M. Multi target neuroprotective and neurorestorative anti-Parkinson and anti-Alzheimer drugs ladostigil and m30 derived from rasagiline. *Exp. Neurobiol.* 2013; 22 (1): 1–10. <http://dx.doi.org/10.5607/en.2013.22.1.1>. PMID: 23585716
  16. Xu S., Bi C., Choi R., Zhu K., Miernisha A., Dong T., Tsim K. Flavonoids induce the synthesis and secretion of neurotrophic factors in cultured rat astrocytes: a signaling response mediated by estrogen receptor. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2013; 2013: 127075. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/127075>. PMID: 23878590
  17. Kotyuk E., Nemeth N., Halmi Z., Faludi G., Sasvari-Szekely M., Szekely A. Association between mood characteristics and polymorphisms of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in patients with depression. *Neuropsychopharmacol. Hung.* 2013; 15 (2): 63–72. PMID: 23817357
  18. Myazaki H., Nagashima K., Okuma Y., Nomura Y. Expression of glial cell line-derived neurotrophic factor induced by transient forebrain ischemia in rats. *Brain Res.* 2001; 922 (2): 165–172. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)03013-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993(01)03013-X). PMID: 11743946
  19. Ikeda T., Xia X.Y., Xia Y.X., Ikenoue T., Han B., Choi B.H. Glial cell line-derived neurotrophic factor protects against ischemia/hypoxia-induced brain injury in neonatal rats. *Acta Neuropathol.* 2000; 100 (2): 161–167. <http://dx.doi.org/10.1007/s004019900162>. PMID: 10963363
  20. Korsak K., Dolatshad N.F., Silva A.T., Saffrey M.J. Ageing of enteric neurons: oxidative stress, neurotrophic factors and antioxidant enzymes. *Chem. Cent. J.* 2012; 2 (6): 80. <http://dx.doi.org/10.1186/1752-153X-6-80>. PMID: 22857398
  21. Thrasivoulou C., Soubeyre V., Ridha H., Giuliani D., Giaroni C., Michael G.J., Saffrey M.J., Cowen T. Reactive oxygen species, dietary restriction and neurotrophic factors in age-related loss of myenteric neurons. *Aging Cell.* 2006; 5 (3): 247–257. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1474-9726.2006.00214.x>. PMID: 16842497
  22. Корпачев В.Г., Лысенков С.П., Тель Л.З. Моделирование клинической смерти и постреанимационной болезни у крыс. [Modeling clinical death and postresuscitacion disease in rats]. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimentalnaya Terapiya.* 1982; 3: 78–80. PMID: 7122145. [In Russ.]
  23. Pellow S., Chopin P., File S.E., Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Methods.* 1985; 14 (3): 149–167. [http://dx.doi.org/10.1016/0165-0270\(85\)90031-7](http://dx.doi.org/10.1016/0165-0270(85)90031-7). PMID: 2864480
  24. Schallert T., Cenci M.A., Whishaw I.Q. Animal models of neurological deficits: how relevant is the rat? *Nat. Rev. Neurosci.* 2002; 3 (7): 574–579. PMID: 12094213
  25. Ross D.A., Glick S.D. Lateralized effects of bilateral frontal cortex lesions in rats. *Brain Res.* 1981; 210 (1–2): 379–382. [http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993\(81\)90913-6](http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993(81)90913-6). PMID: 7194718
  26. Sanches E.F., Arteni N.S., Scherer E.B., Kolling J., Nicola F., Willborn S., Wyse A.T., Netto C.A. Are the consequences of neonatal hypoxia-ischemia dependent on animals' sex and brain lateralization? *Brain Res.* 2013; 1507: 105–114. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2013.02.040>. PMID: 23466455
  27. Zarzhetsky Yu.V., Avrushchenko M.Sh., Volkov A.V. Neyrofiziologicheskie mekhanizmy postreanimatsionnogo povrezhdeniya mozga. *Obshchaya Reanimatologiya.* [Neurophysiological mechanisms of postresuscitacion mechanisms of brain pathology. *General Reanimatology.*] 2006; 2 (5–6): 101–110. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2006-6-101-110>. [In Russ.]
  28. Avrushchenko M.Sh., Volkov A.V., Zarzhetsky Yu.V., Ostrova I.V. Postreanimatsionnye izmeneniya morfofunktsionalnogo sostoyaniya nervnykh kletok: znachenie v patogeneze entsefalopatii. *Obshchaya*



30. Kofler J., Hattori K., Sawada M., DeVries A.C., Martin L.J., Hurn P.D., Traystman R.J. Histopathological and behavioral characterization of a novel model of cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation in mice. *J. Neurosci. Methods*. 2004; 136 (1): 33–44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneumeth.2003.12.024>. PMID: 15126043
31. Kosaka Y., Quillinan N., Bond C., Traystman R., Hurn P., Herson P. GPER1/GPR30 activation improves neuronal survival following global cerebral ischemia induced by cardiac arrest in mice. *Transl. Stroke Res.* 2012; 3 (4): 500–507. <http://dx.doi.org/10.1007/s12975-012-0211-8>. PMID: 23483801
32. Deng G., Yonchek J.C., Quillinan N., Strnad F.A., Exo J., Herson P.S., Traystman R.J. A novel mouse model of pediatric cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation reveals age-dependent neuronal sensitivities to ischemic injury. *J. Neurosci. Methods*. 2014; 222: 34–41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneumeth.2013.10.015>. PMID: 24192226
33. Nikonenko A.G., Radenovic L., Andjus P.R., Skibo G.G. Structural features of ischemic damage in the hippocampus. *Anat. Rec. (Hoboken)*. 2009; 292 (12): 1914–1921. <http://dx.doi.org/10.1002/ar.20969>. PMID: 19943345
34. Quillinan N., Grewal H., Deng G., Shimizu K., Yonchek J.C., Strnad F., Traystman R.J., Herson P.S. Region-specific role for GluN2B-containing NMDA receptors in injury to Purkinje cells and CA1 neurons following global cerebral ischemia. *Neuroscience*. 2015; 284: 555–565. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.10.033>. PMID: 25450957
35. Ishibashi N., Iwata Y., Okamura T., Zurakowski D., Lidov H.G., Jonas R.A. Differential neuronal vulnerability varies according to specific cardiopulmonary bypass insult in a porcine survival model. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2010; 140 (6): 1408–1415. e1-3. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcvs.2010.03.008>. PMID: 20434176
36. Ginsberg M.D. Neuroprotection for ischemic stroke: past, present and future. *Neuropharmacology*. 2008; 55 (3): 363–389. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.12.007>. PMID: 18308347
37. Iadecola C., Anrather J. The immunology of stroke: from mechanisms to translation. *Nat. Med.* 2011; 17 (7): 796–808. <http://dx.doi.org/10.1038/nm.2399>. PMID: 21738161
38. Geocadin R.G., Koenig M.A., Jia X., Stevens R.D., Peberdy M.A. Management of brain injury after resuscitation from cardiac arrest. *Neurol. Clin.* 2008; 26 (2): 487–506. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ncl.2008.03.015>. PMID: 18514823
39. Аврущенко М.Ш., Острова И.В., Заржецкий Ю.В., Волков А.В. Индивидуально-типологические особенности постреанимационных изменений мозга: роль белков теплового шока HSP70. *Общая реаниматология*. 2008; 4 (6): 34–39. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2008-6-34>
40. Острова И.В., Мороз В.В., Аврущенко М.Ш. Значение иммуногистохимических исследований HSP70 в изучении постреанимационных изменений мозга. *Общая реаниматология*. 2007; 3 (5–6): 91–96. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2007-6-91-96>
41. Острова И.В., Аврущенко М.Ш., Волков А.В. Взаимосвязь уровня экспрессии белка GRP78 с выраженностью постischemического повреждения гиппокампа у крыс разного пола. *Общая реаниматология*. 2011; 7 (6): 28–33. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2011-6-28>
42. Аврущенко М.Ш., Острова И.В., Заржецкий Ю.В., Мороз В.В., Гудашева Т.А., Середин С.Б. Влияние миметика фактора роста нервов GK-2 на постреанимационную экспрессию нейротрофических факторов. *Патол. физиол. и эксперим. терапия*. 2015; 59 (2): 13–18. PMID: 26571801
43. 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. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-3-45-53>
44. Yuan H.B., Huang Y., Zheng S., Zuo Z. Hypothermic preconditioning reduces Purkinje cell death possibly by preventing the over-expression of inducible nitric oxide synthase in rat cerebellar slices after an in vitro simulated ischemia. *Neuroscience*. 2006; 142 (2): 381–389. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.06.053>. PMID: 16890370
45. Yuan H.B., Huang Y., Zheng S., Zuo Z. Hypothermic preconditioning increases survival of Purkinje neurons in rat cerebellar slices after an in vitro simulated ischemia. *Anesthesiology*. 2004; 100 (2): 331–337. <http://dx.doi.org/10.1097/0000542-200402000-00023>. PMID: 14739808
46. Wang L., Deng Q., Wu X., Yu J., Yang X., Zhong Y. Upregulation of glutamate-aspartate transporter by glial cell line-derived neurotrophic factor ameliorates cell apoptosis in neural retina in streptozotocin-induced diabetic rats. *CNS Neurosci. Ther.* 2013; 19 (12): 945–953. <http://dx.doi.org/10.1111/cns.12150>. PMID: 23870489
47. Lau Y.S., Patki G., Das-Panja K., Le W.D., Ahmad S.O. Neuroprotective effects and mechanisms of exercise in a chronic mouse model of Parkinson's disease with moderate neurodegeneration. *Eur. J. Neurosci.* 2011; 33 (7): 1264–1274. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07626.x>. PMID: 21375602
48. Reanimatologiya. [Postresuscitative changes in the morphological state of nerve cells: implication in the pathogenesis of encephalopathies. *General Reanimatology*]. 2006; 2 (5–6): 85–97. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2006-6-85-96>. [In Russ.]
49. Avrushchenko M.Sh., Moroz V.V., Ostrova I.V. Postreanimatsionnye izmeneniya mozga na urovne neuronalnykh populatsiy: zakonomernosti i mekhanizmy. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Postresuscitation 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.]
50. Kofler J., Hattori K., Sawada M., DeVries A.C., Martin L.J., Hurn P.D., Traystman R.J. Histopathological and behavioral characterization of a novel model of cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation in mice. *J. Neurosci. Methods*. 2004; 136 (1): 33–44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneumeth.2003.12.024>. PMID: 15126043
51. Kosaka Y., Quillinan N., Bond C., Traystman R., Hurn P., Herson P. GPER1/GPR30 activation improves neuronal survival following global cerebral ischemia induced by cardiac arrest in mice. *Transl. Stroke Res.* 2012; 3 (4): 500–507. <http://dx.doi.org/10.1007/s12975-012-0211-8>. PMID: 23483801
52. Deng G., Yonchek J.C., Quillinan N., Strnad F.A., Exo J., Herson P.S., Traystman R.J. A novel mouse model of pediatric cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation reveals age-dependent neuronal sensitivities to ischemic injury. *J. Neurosci. Methods*. 2014; 222: 34–41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneumeth.2013.10.015>. PMID: 24192226
53. Nikonenko A.G., Radenovic L., Andjus P.R., Skibo G.G. Structural features of ischemic damage in the hippocampus. *Anat. Rec. (Hoboken)*. 2009; 292 (12): 1914–1921. <http://dx.doi.org/10.1002/ar.20969>. PMID: 19943345
54. Quillinan N., Grewal H., Deng G., Shimizu K., Yonchek J.C., Strnad F., Traystman R.J., Herson P.S. Region-specific role for GluN2B-containing NMDA receptors in injury to Purkinje cells and CA1 neurons following global cerebral ischemia. *Neuroscience*. 2015; 284: 555–565. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.10.033>. PMID: 25450957
55. Ishibashi N., Iwata Y., Okamura T., Zurakowski D., Lidov H.G., Jonas R.A. Differential neuronal vulnerability varies according to specific cardiopulmonary bypass insult in a porcine survival model. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2010; 140 (6): 1408–1415. e1-3. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcvs.2010.03.008>. PMID: 20434176
56. Ginsberg M.D. Neuroprotection for ischemic stroke: past, present and future. *Neuropharmacology*. 2008; 55 (3): 363–389. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.12.007>. PMID: 18308347
57. Iadecola C., Anrather J. The immunology of stroke: from mechanisms to translation. *Nat. Med.* 2011; 17 (7): 796–808. <http://dx.doi.org/10.1038/nm.2399>. PMID: 21738161
58. Geocadin R.G., Koenig M.A., Jia X., Stevens R.D., Peberdy M.A. Management of brain injury after resuscitation from cardiac arrest. *Neurol. Clin.* 2008; 26 (2): 487–506. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ncl.2008.03.015>. PMID: 18514823
59. Avrushchenko M.Sh., Ostrova I.V., Zarzhetsky Yu.V., Volkov A.V. Individualno-tipologicheskie osobennosti postreanimatsionnykh izmeneniy mozga: rol belkov teplovogo shoka HSP70. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Individual typological features of postresuscitative cerebral changes: role of heat shock proteins HSP70. *General Reanimatology*]. 2008; 4 (6): 34–39. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2008-6-34>. [In Russ.]
60. Ostrova I.V., Moroz V.V., Avrushchenko M.Sh. Znachenie immunogistokhimicheskikh issledovaniy HSP70 v izucheni postreanimatsionnykh izmeneniy mozga. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Significance of immunohistochemical studies of heat shock proteins of the HSP70 family in the investigation of postresuscitative brain changes. *General Reanimatology*]. 2007; 3 (5–6): 91–96. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2007-6-91-96>. [In Russ.]
61. Ostrova I.V., Avrushchenko M.Sh., Volkov A.V. Vzaimosvyaz urovnya ekspressii belka GRP78 s vyrazhennostyu postischemicheskogo povrezhdeniya gippokampa u krysov raznogo pola. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Association of GRP78 protein expression with the degree of postischemic hippocampal damage in rats of both sexes. *General Reanimatology*]. 2011; 7 (6): 28–33. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2011-6-28>. [In Russ.]
62. Avrushchenko M.Sh., Ostrova I.V., Zarzhetsky Yu.V., Moroz V.V., Gudashева Т.А., Serедин С.Б. Vliyaniye mimetika faktora rosta nervov GK-2 na postreanimatsionnyuyu ekspressiyu neurotroficheskikh faktorov. [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.]
63. Ostrova I.V., Avrushchenko M.Sh. Ekspressiya mozgovogo neurotroficheskogo faktora (BDNF) povyshayet ustoychivost neuronov k gibeli v postreanimatsionnom periode. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Expression of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) increases the resistance of neurons to death in the postresuscitation period.

48. Aguiar A.S.Jr., Stragier E., da Luz Scheffer D., Remor A.P., Oliveira P.A., Prediger R.D., Latini A., Raisman-Vozari R., Mongeau R., Lanfumey L. Effects of exercise on mitochondrial function, neuroplasticity and anxiety-depressive behavior of mice. *Neuroscience*. 2014; 271: 56–63. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.04.027>. PMID: 24780767

Поступила 29.12.15

*General Reanimatology*]. 2015; 11 (3): 45–53. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-3-45-53>. [In Russ.]

44. Yuan H.B., Huang Y., Zheng S., Zuo Z. Hypothermic preconditioning reduces Purkinje cell death possibly by preventing the over-expression of inducible nitric oxide synthase in rat cerebellar slices after an in vitro simulated ischemia. *Neuroscience*. 2006; 142 (2): 381–389. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.06.053>. PMID: 16890370
45. Yuan H.B., Huang Y., Zheng S., Zuo Z. Hypothermic preconditioning increases survival of Purkinje neurons in rat cerebellar slices after an in vitro simulated ischemia. *Anesthesiology*. 2004; 100 (2): 331–337. <http://dx.doi.org/10.1097/00000542-200402000-00023>. PMID: 14739808
46. Wang L., Deng Q., Wu X., Yu J., Yang X., Zhong Y. Upregulation of glutamate-aspartate transporter by glial cell line-derived neurotrophic factor ameliorates cell apoptosis in neural retina in streptozotocin-induced diabetic rats. *CNS Neurosci. Ther.* 2013; 19 (12): 945–953. <http://dx.doi.org/10.1111/cns.12150>. PMID: 23870489
47. Lau Y.S., Patki G., Das-Panja K., Le W.D., Ahmad S.O. Neuroprotective effects and mechanisms of exercise in a chronic mouse model of Parkinson's disease with moderate neurodegeneration. *Eur. J. Neurosci.* 2011; 33 (7): 1264–1274. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07626.x>. PMID: 21375602
48. Aguiar A.S.Jr., Stragier E., da Luz Scheffer D., Remor A.P., Oliveira P.A., Prediger R.D., Latini A., Raisman-Vozari R., Mongeau R., Lanfumey L. Effects of exercise on mitochondrial function, neuroplasticity and anxiety-depressive behavior of mice. *Neuroscience*. 2014; 271: 56–63. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.04.027>. PMID: 24780767

Submitted 29.12.15

## КАЛЕНДАРЬ МЕРОПРИЯТИЙ – 2016

ФГБНУ «НИИ общая реаниматология им. В. А. Неговского»  
г. Москва, ул. Петровка, 25/2, +7 (495) 650-25-17  
[www.niiorramn.ru](http://www.niiorramn.ru) • [niiorramn@niiorramn.ru](mailto:niiorramn@niiorramn.ru)

XII ежегодная Всероссийская конференция с международным участием  
«Проблема инфекции при критических состояниях»  
02–03 июня

Сертификационный цикл повышения квалификации врачей  
по специальности «Анестезиология-реаниматология»  
07 ноября – 02 декабря

Всероссийская конференция молодых ученых  
«Современные методы диагностики и лечения в реаниматологии»  
16 ноября

XVIII Всероссийская конференция с международным участием  
«Жизнеобеспечение при критических состояниях»  
17–18 ноября