

# BDNF-ОПОСРЕДОВАННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МИТОХОНДРИЙ КЛЕТОК ГОЛОВНОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ

DOI: 10.17691/stm2018.10.3.10

УДК 616.831:612.014.464

Поступила 03.05.2018 г.



**Т.А. Астраханова**, младший научный сотрудник лаборатории по разработке методов нейропротекции Центра трансляционных технологий<sup>1</sup>;

**М.Д. Уразов**, младший научный сотрудник лаборатории по разработке методов нейропротекции Центра трансляционных технологий<sup>1</sup>;

**А.В. Усенко**, магистр кафедры нейротехнологий Института биологии и биомедицины<sup>1</sup>; лаборант лаборатории по разработке методов нейропротекции Центра трансляционных технологий<sup>1</sup>;

**Е.В. Митрошина**, к.б.н., доцент кафедры нейротехнологий Института биологии и биомедицины<sup>1</sup>; старший научный сотрудник лаборатории по разработке методов нейропротекции

Цentra трансляционных технологий<sup>1</sup>; старший научный сотрудник отдела молекулярно-клеточных технологий ЦНИЛ<sup>2</sup>;

**Т.А. Мищенко**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории по разработке методов нейропротекции Центра трансляционных технологий<sup>1</sup>; старший научный сотрудник отдела молекулярно-клеточных технологий ЦНИЛ<sup>2</sup>;

**Н.А. Щелчкова**, к.б.н., доцент кафедры нейротехнологий Института биологии и биомедицины<sup>1</sup>; зав. отделом молекулярно-клеточных технологий ЦНИЛ<sup>2</sup>;

**М.В. Ведунова**, д.б.н., ведущий научный сотрудник Института биологии и биомедицины<sup>1</sup>; директор Института биологии и биомедицины<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Н. Новгород, 603950, проспект Гагарина, 23;

<sup>2</sup>Приволжский исследовательский медицинский университет, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1

**Цель исследования** — изучить влияние TrkB-опосредованного действия нейротрофического фактора головного мозга (BDNF) на выживаемость животных и активность дыхательной цепи митохондрий при моделировании острой гипобарической гипоксии *in vivo*.

**Материалы и методы.** Эксперименты *in vivo* выполнены на мышах линии CBA массой 20–25 г. Для моделирования острой гипобарической гипоксии животных помещали в барокамеру, в которой создавали давление 220–240 мм рт. ст., что соответствует высоте 10 000 м над уровнем моря. Оценивали скорость потребления кислорода митохондриями клеток головного мозга при действии гипоксии с помощью респирометра высокого разрешения OROBOROS Oxygraph-2k (OROBOROS Instruments, Австрия).

**Результаты.** Установлено, что превентивное применение BDNF увеличивает выживаемость животных линии CBA после моделирования острой гипобарической гипоксии, а также оказывает положительное влияние на работу I комплекса дыхательной цепи митохондрий.

**Заключение.** Нейротрофический фактор BDNF повышает устойчивость животных к действию острой гипобарической гипоксии и оказывает влияние на работу дыхательной цепи митохондрий посредством TrkB-сигналикации. Антигипоксический эффект BDNF реализуется за счет сохранения активности NADH-зависимого пути окисления субстратов и синтеза АТФ.

**Ключевые слова:** нейротрофический фактор головного мозга; BDNF; TrkB-сигналикация; острая гипобарическая гипоксия; окислительное фосфорилирование; нейропротекция.

**Как цитировать:** Astrakhanova T.A., Urazov M.D., Usenko A.V., Mitroshina E.V., Mishchenko T.A., Schelchkova N.A., Vedunova M.V. BDNF-mediated regulation of the brain mitochondria functional state in hypoxia. *Sovremennyye tehnologii v medicine* 2018; 10(3): 88–94, <https://doi.org/10.17691/stm2018.10.3.10>

Для контактов: Митрошина Елена Владимировна, e-mail: [helenmitroshina@gmail.com](mailto:helenmitroshina@gmail.com)

English

## BDNF-Mediated Regulation of the Brain Mitochondria Functional State in Hypoxia

**T.A. Astrakhanova**, Junior Researcher, Laboratory for Neuroprotection Methods Development, Center for Translational Technologies<sup>1</sup>;

**M.D. Urazov**, Junior Researcher, Laboratory for Neuroprotection Methods Development, Center for Translational Technologies<sup>1</sup>;

**A.V. Usenko**, Master, Department of Neurotechnologies, Institute of Biology and Biomedicine<sup>1</sup>; Laboratory Assistant, Laboratory for Neuroprotection Methods Development, Center for Translational Technologies<sup>1</sup>;

**E.V. Mitroshina**, PhD, Associate Professor, Department of Neurotechnologies, Institute of Biology and Biomedicine<sup>1</sup>; Senior Researcher, Laboratory for Neuroprotection Methods Development, Center for Translational Technologies<sup>1</sup>; Senior Researcher, Molecular and Cell Technologies Department, Central Scientific Research Laboratory<sup>2</sup>;

**T.A. Mishchenko**, PhD, Senior Researcher, Laboratory for Neuroprotection Methods Development, Center for Translational Technologies<sup>1</sup>; Senior Researcher, Molecular and Cell Technologies Department, Central Scientific Research Laboratory<sup>2</sup>;

**N.A. Schelchkova**, PhD, Associate Professor, Department of Neurotechnologies, Institute of Biology and Biomedicine<sup>1</sup>; Head of Molecular and Cell Technologies Department, Central Scientific Research Laboratory<sup>2</sup>;

**M.V. Vedunova**, DSc, Leading Researcher, Institute of Biology and Biomedicine<sup>1</sup>; Director of the Institute of Biology and Biomedicine<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 23 Prospekt Gagarina, Nizhny Novgorod, 603950, Russia;

<sup>2</sup>Privolzhsky Research Medical University, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russia

**The aim of the study** was to study the effect of TrkB-mediated action of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) on animal survival and mitochondrial respiratory chain activity in acute hypobaric hypoxia model *in vivo*.

**Materials and Methods.** *In vivo* experiments were performed on mature male CBA mice weighing 20–25 g. In order to modulate acute hypobaric hypoxia, the animals were placed in the hypobaric chamber (220–240 mm Hg) which simulates conditions corresponding to the altitude of 10 000 m above sea level. The oxygen consumption rate by the brain mitochondria under the hypoxic influence was evaluated using a high-resolution OROBOROS Oxygraph-2k respirometer (OROBOROS Instruments, Austria).

**Results.** Preventive BDNF application has been established to increase the survival of the CBA-line animals after acute hypobaric hypoxia modeling and to influence favorably the work of mitochondrial respiratory chain complex I.

**Conclusion.** BDNF increases animal resistance to acute hypobaric hypoxia and influences the work of mitochondrial respiratory chain through TrkB-signaling mechanisms. Antihypoxic effect of BDNF is realized by maintaining the activity of NADH-dependent pathway of substrate oxidation and ATP synthesis.

**Key words:** brain-derived neurotrophic factor; BDNF; TrkB-signaling; acute hypobaric hypoxia; oxidative phosphorylation; neuroprotection.

### Введение

Гипоксия является одним из ведущих факторов повреждения клеток головного мозга, сопровождающих травматические и ишемические процессы. Повышенная чувствительность ткани мозга к дефициту кислорода обусловлена большим расходом энергии на осуществление его функций. Мишенью для гипоксии/ишемии служат митохондрии. Снижение концентрации кислорода вызывает нарушения электрон-транспортной функции их дыхательной цепи и является фазным процессом (рис. 1). Причем повреждения неспецифичны, так как всегда начинаются в

области митохондриального ферментного комплекса I (NAD-зависимый участок дыхательной цепи) и затем распространяются на область цитохромов B, C и цитохромоксидазу [1–8].

Вопросы фармакологической коррекции гипоксии головного мозга в настоящее время относятся к числу приоритетных биолого-медицинских проблем. При разнообразии препаратов — антигипоксантов — существуют различные ограничения в их применении при патологиях головного мозга, обусловленные наличием большого количества побочных эффектов и сложностью прохождения через гематоэнцефалический барьер. Отметим, что большой научный интерес сегодня

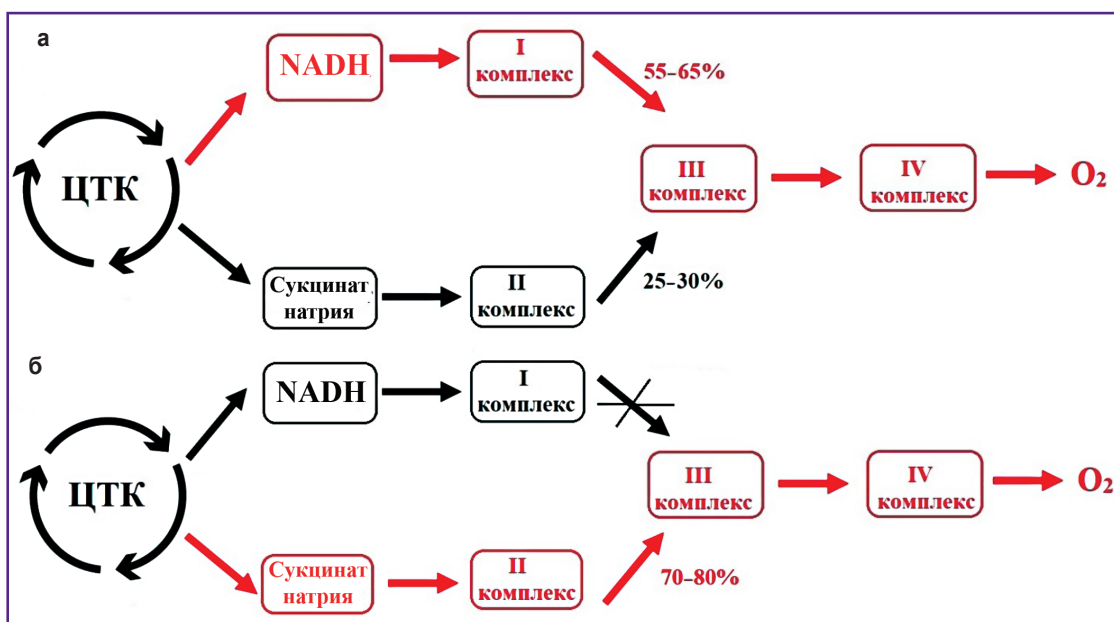


Рис. 1. Схема работы митохондриальной дыхательной цепи:  
а — в условиях нормоксии; б — в условиях гипоксии; ЦТК — цикл трикарбоновых кислот

представляют молекулы эндогенного происхождения, способные реализовать внутриклеточные молекулярные каскады с участием генетического аппарата клетки и не только запустить клеточные адаптационные механизмы, но и подкрепить их перестройкой энергетического обмена. Такое свойство позволяет потенциальным молекулам-антигипоксантами активировать необходимые процессы, например нейропротекции или нейропластичности.

Ряд исследований [9, 10] показал, что среди химических веществ, потенциально способных контролировать уровень метаболизма клетки в условиях сниженного содержания кислорода, выделяется нейротрофический фактор головного мозга (BDNF — brain-derived neurotrophic factor). В частности, установлено, что BDNF оказывает влияние на показатель дыхательного контроля митохондрий клеток головного мозга (увеличивается скорость окислительного фосфорилирования). Этот эффект опосредуется работой магистрального пути TrkB-сигналикации (сигнальный каскад, работающий при связывании BDNF с TrkB через митоген-активированную протеинкиназу — MAP) [9]. Также показано [10], что превентивное введение нейротрофического фактора повышает устойчивость животных к действию острой гипобарической гипоксии посредством увеличения времени жизни на высоте и предотвращает нарушение пространственной памяти в постгипоксический период.

В данной работе сделан акцент на изучение возможности BDNF модулировать эффекты гипоксии при регуляции функционального состояния митохондрий посредством связи BDNF — TrkB.

**Цель исследования** — изучить влияние TrkB-

опосредованного действия BDNF на выживаемость животных и работу I, II комплексов дыхательной цепи митохондрий клеток головного мозга при моделировании острой гипобарической гипоксии *in vivo*.

## Материалы и методы

Эксперименты *in vivo* были выполнены на мышах (половозрелых самцах) линии СВА массой 20–25 г. Содержание животных в сертифицированном виварии Национального исследовательского Нижегородского государственного университета и исследовательская работа проводилась в соответствии с требованиями приказов №1179 МЗ СССР от 11.10.1983 и №267 МЗ РФ от 19.06.2003, а также в соответствии с международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals», отвечали требованиям Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 2006) и были согласованы с биоэтической комиссией Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

Все животные были разделены на следующие группы: 1-я — интактные; 2-я — контрольные животные, подвергшиеся острой гипобарической гипоксии без введения изучаемых веществ; 3-я — животные с острой гипобарической гипоксией и превентивным введением (внутрибрюшинно) селективного блокатора TrkB-рецепторов ANA-12 в концентрации 0,5 мг/кг; 4-я — животные с острой гипобарической гипоксией и превентивным введением (интраназально) BDNF в концентрации 4 мкг/кг; 5-я — группа сравнения, жи-

вотные с острой гипобарической гипоксией и превентивным введением 1% диметилсульфоксида (ДМСО) в комбинации с Tween 20 для исключения влияния растворителей ANA-12 на исследуемые параметры. Выбор дозы используемых веществ был основан на результатах предшествующих исследований [10, 11]. Введение препаратов осуществляли за 45 мин до моделирования острой гипобарической гипоксии.

Для моделирования острой гипобарической гипоксии мышей помещали в барокамеру, в которой создавали давление 220–240 мм рт. ст., что соответствует высоте 10 000 м над уровнем моря [12].

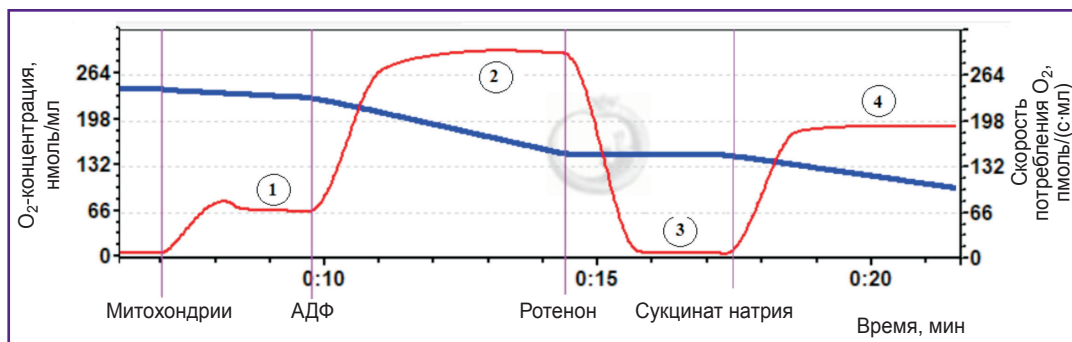
Определение функциональной активности митохондрий проводили через 24 ч после моделирования острой гипобарической гипоксии. Выделение митохондрий осуществляли стандартным дифференциальным центрифугированием [13]. Все манипуляции выполняли на льду. Оборудование и среды выделения были охлаждены. После декапитации животных быстро вскрывали черепную коробку, иссекали головной мозг (не более 20 с), помещали его в предварительно охлажденную фарфоровую ступку и промывали ледяной средой выделения следующего состава: 70 мМ сахараза, 210 мМ маннитол, 30 мМ HEPES, 0,1 мМ ЭДТА (рН=7,4), после чего удаляли мозжечок. Большие полушария и стволую часть мозга подвергали гомогенизации в среде выделения в стеклянной гомогенизаторной пробирке, помещенной в лед. Тефлоновый пестик гомогенизатора с клиренсом, исключавшим разрушение митохондрий, приводили в движение электромотором. Соотношение массы ткани и среды выделения — 1:7. Полученный гомогенат мозга подвергали предварительному центрифугированию при 2700 об./мин (температурный интервал от

–3 до 0°C, 10 мин). Супернатант сливали в пробирку и подвергали центрифугированию в течение 15 мин при 8500 g. Осажденные митохондрии промывали холодной (+4°C) средой выделения и ресуспендировали в среде, содержащей 210 мМ маннитола, 70 мМ сахаразы, 0,1 мМ ЭГТА, 10 мМ HEPES (рН=7,4), и вновь центрифугировали в течение 15 мин при 8500 g. Полученную суспензию митохондрий хранили на льду, не допуская замораживания. Определение содержания белка в изолированных митохондриях проводили по методу Брэдфорда.

Потребление кислорода изолированными митохондриями регистрировали полярографически при помощи респирометра высокого разрешения OROBOROS Oxygraph-2k (OROBOROS Instruments, Австрия) в 2 мл среды инкубации (маннит — 210 мМ, сахараза — 70 мМ, ЭГТА — 0,1 мМ, HEPES — 10 мМ, рН=7,4) при постоянном перемешивании. Скорость потребления кислорода выражали в пикомолях за 1 с в расчете на 1 мг белка митохондрий.

Потребление кислорода в камере фиксировали с использованием программного обеспечения DatLab5 (OROBOROS Instruments, Австрия).

Состояние дыхательной цепи митохондрий оценивали, используя следующие параметры: скорость потребления кислорода митохондриями при высоком содержании в среде инкубации субстратов — 5 мМ глутамата и 5 мМ малата (субстраты I комплекса) (рис. 2, состояние 1); скорость окислительного фосфорилирования дыхательной цепи в присутствии 5 мМ аденозиндифосфата (АДФ) (рис. 2, состояние 2); ингибирование работы I комплекса 0,5 мкМ ротеноном (рис. 2, состояние 3) и интенсивность работы II комплекса дыхательной цепи при его стимулирова-



**Рис. 2. Характерный пример регистрации скорости потребления кислорода митохондриями**

Показано последовательное внесение компонентов дыхательной цепи к суспензии митохондрий, находящихся в среде инкубации: 1 — скорость потребления кислорода митохондриями при высоком содержании в среде инкубации субстратов I комплекса — 5 мМ глутамата и 5 мМ малата (переход электронов от атомов водорода NADH на ферменты дыхательной цепи); 2 — стимулирование окислительного фосфорилирования дыхательной цепи митохондрий внесением в среду инкубации митохондрий экзогенного 5 мМ АДФ (процесс окисления восстановленных эквивалентов NADH ферментами дыхательной цепи, сопровождающийся синтезом АТФ); 3 — ингибирование работы I комплекса 0,5 мкМ раствором ротенона (блокирование передачи электронов в I комплексе с железосерных кластеров на окисленный убихинон); 4 — сукцинатзависимый путь окисления субстратов (внесение в среду инкубации субстрата II комплекса дыхательной цепи сукцината)

нии 10 мМ сукцинатом натрия (рис. 2, состояние 4).

Полученные результаты представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего (SEM). Достоверность различий между экспериментальными группами определяли при помощи критерия Манна–Уитни в программе SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc., США). Различия считались статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

### Результаты

На первом этапе исследования проводили оценку нейропротективного эффекта BDNF при моделировании острой гипобарической гипоксии и выявление роли TrkB-рецепторов в его реализации.

Установлено, что выживаемость животных при моделировании гипоксии составила 27%; в группе мышей, которым вводили ANA-12, — 13%, что в 2 раза ниже контрольных значений; а в группе животных с применением BDNF — в среднем 40%, что в 1,4 раза выше, чем в группе контроля (рис. 3). Процент выживших мышей в группе с введением ДМСО не отличался от значений контрольной группы и также составил 27%.

Следующим этапом исследования явилась оценка скорости потребления кислорода митохондриями в норме и при моделировании острой гипобарической гипоксии. Результаты показали, что базальная скорость потребления кислорода при окислении субстратов глутамата и малата в контрольной группе достоверно снижается по сравнению с интактными значениями на 25,5% и составляет  $2096,99 \pm 200,90$  пмоль/(с·мл) на 1 мг белка (рис. 4). Применение блокатора TrkB-рецепторов ANA-12 в условиях острой гипобарической гипоксии сохраняет показатели NADH-окисления в пределах контрольных значений. Превентивное введение BDNF оказывает положительное влияние на процесс окисления NADH при гипоксии. Не выявлено достоверных отличий между значениями интактной группы

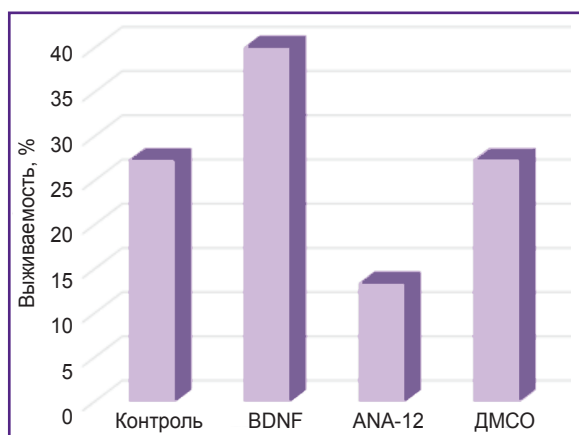


Рис. 3. Выживаемость мышей линии СВА после моделирования острой гипобарической гипоксии

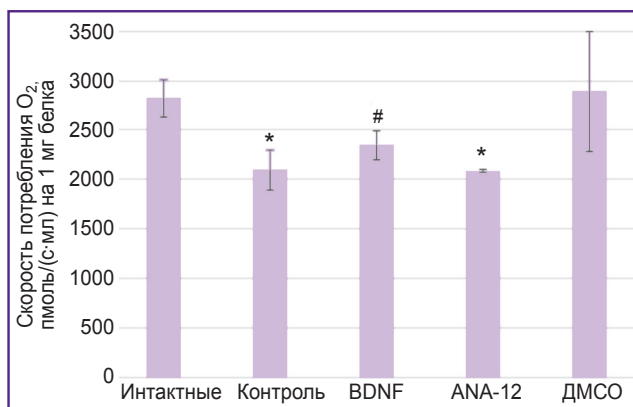


Рис. 4. Базальная скорость потребления кислорода митохондриями на фоне избытка субстратов глутамата и малата

\* — статистически значимая разница значений с интактной группой,  $p \leq 0,05$ ; # — с контрольной группой,  $p \leq 0,05$ ; критерий Манна–Уитни

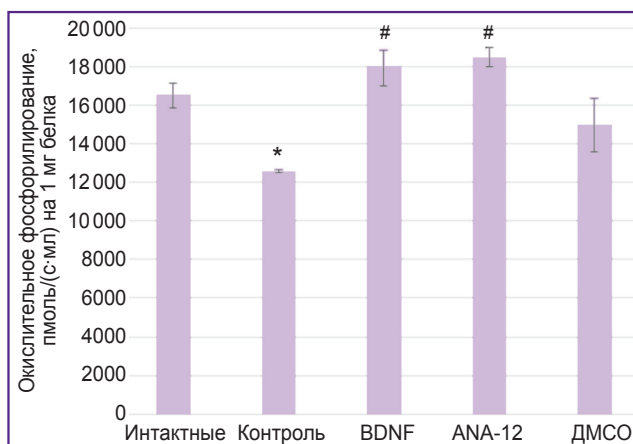


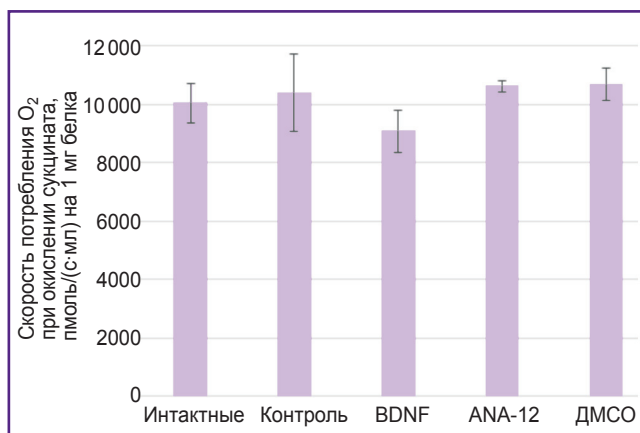
Рис. 5. Окислительное фосфорилирование дыхательной цепи митохондрий

\* — статистически значимая разница значений с интактной группой,  $p \leq 0,05$ ; # — с контрольной группой,  $p \leq 0,05$ ; критерий Манна–Уитни

( $2814,74 \pm 188,20$  пмоль/(с·мл) на 1 мг белка) и группы с применением BDNF ( $2340,92 \pm 147,50$  пмоль/(с·мл) на 1 мг белка).

Скорость окислительного фосфорилирования дыхательной цепи митохондрий контрольной группы после моделирования гипоксии статистически значимо снижается на 24% относительно интактных значений и составляет  $12\,565,1 \pm 80,4$  пмоль/(с·мл) на 1 мг белка (рис. 5). Однако отмечено увеличение скорости субстратного фосфорилирования АДФ в группах с применением ANA-12 и BDNF: эта скорость составила  $18\,466,8 \pm 474,9$  и  $17\,909,5 \pm 954,6$  пмоль/(с·мл) на 1 мг белка соответственно, что на 47 и 43% выше контрольных значений.

Интересно отметить, что нами не обнаружено достоверных отличий между показателями активности



**Рис 6. Сукцинатзависимый путь окисления субстратов (активная работа II комплекса дыхательной цепи митохондрий при окислении сукцината)**

II комплекса дыхательной цепи митохондрий (рис. 6). Интенсивность дыхания митохондрий клеток головного мозга при окислении сукцината в группах статистически значимо не отличалась от соответствующих контрольных значений (10 409,4±1329,1 пмоль/(с·мл) на 1 мг белка).

### Обсуждение

Исследование влияния BDNF на устойчивость мышечной линии CBA к повреждающему действию гипоксии показало, что данный фактор в концентрации 4 мкг/кг повышает выживаемость животных. Однако этот эффект нивелируется при блокаде TrkB-рецепторов. Можно предположить, что защитные механизмы BDNF, обусловленные способностью зрелой молекулы белка связываться с данным рецептором, активируют внутриклеточные сигнальные каскады, повышающие выживаемость нервных клеток в условиях гипоксии. Так, при активации белкового комплекса NF-κB (nuclear factor kappa B) экспрессируются антиапоптотические белки семейств Bcl2 и IAP. Данный эффект наряду с активацией других факторов (например, c-jun, cIAP1) служит основным тормозящим апоптоз агентом [10, 14, 15].

Молекулярные механизмы любой формы гипоксии связаны с подавлением аэробного синтеза энергии, энергозависимых функций и, как следствие, формированием функционально-метаболических нарушений, которые вызывают дисфункцию митохондриального аппарата, выражающуюся в фазных изменениях активности митохондриальных ферментативных комплексов [16].

Нами показано, что в условиях недостатка кислорода снижение окислительной способности NADH-зависимого звена дыхательной цепи митохондрий опосредовано BDNF-TrkB-сигнализацией. Было установлено, что в условиях острой гипобарической гипок-

сии скорость потребления кислорода при окислении глутамата и малата коррелирует с показателями скорости потребления кислорода с применением селективного блокатора TrkB-рецепторов ANA-12. Однако превентивное введение BDNF восстанавливает скорость практически до интактных значений. Схожие данные были получены в работах A. Markham с соавт. [9]. Ученые показали, что BDNF влияет на работу I комплекса дыхательной цепи митохондрий клеток головного мозга при окислении глутамата и малата за счет MAP-киназы (одного из трех сигнальных каскадов при связывании BDNF с TrkB). Они также выявили, что данный эффект специфичен для митохондрий клеток головного мозга (на препаратах печени аналогичные изменения отсутствовали).

Нейротрофический фактор головного мозга также оказывает влияние на окислительное фосфорилирование посредством BDNF-TrkB-сигнализации, которое выражается в увеличении дыхательного контроля. Результаты наших исследований показывают, что в условиях острой гипобарической гипоксии BDNF поддерживает скорость синтеза АТФ в пределах интактных значений, но при этом блокада TrkB-рецепторов не влияет на изменение показателей окислительного фосфорилирования. Можно предположить, что при инактивации TrkB-рецепторов в условиях нехватки кислорода регуляция эндогенного BDNF опосредована за счет рецепторов TrkA и TrkC, которые находятся в активном состоянии.

Отсутствие достоверных изменений в значениях интенсивности дыхания по сукцинатзависимому пути окисления субстратов может быть связано с временным показателем постгипоксического периода. В литературе имеется немало количество экспериментальных подтверждений нарушения электрон-транспортной функции I комплекса дыхательной цепи в условиях гипоксии, которая сохраняется первые 30 мин–2 ч реоксигенации. Нами показано, что через сутки после моделирования острой гипобарической гипоксии нормализуется работа II комплекса дыхательной цепи [1, 17].

Таким образом, способность BDNF положительно влиять на выживаемость и работу дыхательной цепи митохондрий клеток головного мозга демонстрирует его исключительную важность как компонента эндогенной антигипоксической системы защиты.

### Заключение

Нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) повышает устойчивость животных к действию острой гипобарической гипоксии и оказывает влияние на работу дыхательной цепи митохондрий посредством TrkB-сигнализации. Антигипоксический эффект реализуется за счет сохранения активности NADH-зависимого пути окисления субстратов.

**Финансирование исследования.** Исследование

выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект 17-75-10149).

**Конфликт интересов.** У авторов нет конфликта интересов.

## Литература/References

1. Лукьянова Л.Д., Кирова Ю.И., Сукоян Г.В. Сигнальные механизмы адаптации к гипоксии и их роль в системной регуляции. *Биологические мембраны* 2012; 29(4): 238–252. Lukyanova L.D., Kirova Yu.I., Sukoyan G.V. Signaling mechanisms of adaptation to hypoxia and its role in systemic regulation. *Biologicheskie membrany* 2012; 29(4): 238–252.
2. Duchon M. Mitochondria in health and disease: perspectives on a new mitochondrial biology. *Mol Aspects Med* 2004; 25(4): 365–451, <https://doi.org/10.1016/j.mam.2004.03.001>.
3. Wheaton W.W., Chandel N.S. Hypoxia. 2. Hypoxia regulates cellular metabolism. *Am J Physiol Cell Physiol* 2011; 300(3): 385–393, <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00485.2010>.
4. Hernansanz-Agustín P., Ramos E., Navarro E., Parada E., Sánchez-López N., Peláez-Aguado L., Cabrera-García J.D., Tello D., Buendía I., Marina A., Egea J., López M.G., Bogdanova A., Martínez-Ruiz A. Mitochondrial complex I deactivation is related to superoxide production in acute hypoxia. *Redox Biol* 2017; 12: 1040–1051, <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.04.025>.
5. Görlach A., Dimova E.Y., Petry A., Martínez-Ruiz A., Hernansanz-Agustín P., Rolo A.P., Palmeira C.M., Kietzmann T. Reactive oxygen species, nutrition, hypoxia and diseases: problems solved? *Redox Biol* 2015; 6: 372–385, <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.08.016>.
6. Olmez I., Ozyurt H. Reactive oxygen species and ischemic cerebrovascular disease. *Neurochem Int* 2012; 60(2): 208–212, from: <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2011.11.009>.
7. Chaturvedi R.K., Flint Beal M. Mitochondrial diseases of the brain. *Free Radic Biol Med* 2013; 63: 1–29, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.03.018>.
8. Galkin A., Abramov A.Y., Frakich N., Duchon M.R., Moncada S. Lack of oxygen deactivates mitochondrial complex I: implications for ischemic injury? *J Biol Chem* 2009; 284(52): 36055–36061, <https://doi.org/10.1074/jbc.m109.054346>.
9. Markham A., Cameron I., Franklin P., Spedding M. BDNF increases rat brain mitochondrial respiratory coupling at complex I, but not complex II. *Eur J Neurosci* 2004; 20(5): 1189–1196, <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03578.x>.
10. Vedunova M.V., Sakharnova T.A., Mitroshina E.V., Shishkina T.V., Astrakhanova T.A., Mukhina I.V. Antihypoxic and neuroprotective properties of BDNF and GDNF in vitro and in vivo under hypoxic conditions. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2014; 6(4): 38–47.
11. Stragier E., Massart R., Sallery M., Hamon M., Geny D., Martin V., Boulle F., Lanfumey L. Ethanol-induced epigenetic regulations at the Bdnf gene in C57BL/6J mice. *Mol Psychiatry* 2015; 20(3): 405–412, <https://doi.org/10.1038/mp.2014.38>.
12. Методические рекомендации по экспериментальному изучению препаратов, предлагаемых для клинического изучения в качестве антигипоксических средств. Под ред. Лукьяновой Л.Д. М; 1990. *Metodicheskie rekomendatsii po eksperimental'nomu izucheniyu preparatov, predlagayemykh dlya klinicheskogo izucheniya v kachestve antigipoksicheskikh sredstv* [Guidelines on experimental study of drugs offered for clinical study as antihypoxic agents]. Pod red. Lukyanovoy L.D. [Lukyanova L.D. (editor)]. Moscow; 1990.
13. Егорова М.В., Афанасьев С.А. Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: современные методические приемы. *Сибирский медицинский журнал* 2011; 26(1–1): 22–28. Egorova M.V., Afanasyev S.A. Isolation of mitochondria from cells and tissues of animals and human: modern methodical approaches. *Sibirskij medicinskij zurnal* 2011; 26(1–1): 22–28.
14. Vedunova M.V., Mishchenko T.A., Mitroshina E.V., Mukhina I.V. TrkB-mediated neuroprotective and antihypoxic properties of brain-derived neurotrophic factor. *Oxid Med Cell Longev* 2015; 2015: 453901, <https://doi.org/10.1155/2015/453901>.
15. Skaper S.D. Neurotrophic factors: an overview. *Methods Mol Biol* 2018; 1727: 1–17, [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7571-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7571-6_1).
16. Kristián T. Metabolic stages, mitochondria and calcium in hypoxic/ischemic brain damage. *Cell Calcium* 2004; 36(3–4): 221–233, <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2004.02.016>.
17. Лукьянова Л.Д. Сигнальная роль митохондрий при адаптации к гипоксии. *Фізіологічний журнал* 2013; 59(6): 141–154. Lukyanova L.D. Signal role of mitochondria in adaptation to hypoxia. *Fiziologichnyi zhurnal* 2013; 59(6): 141–154.