

## Физиологические исследования

УДК 577.1+615.074

*Е.С. Заколюкина, К.А. Тукмачева, В.Г. Сергеев*

### ДОЗАЗАВИСИМЫЙ ЭФФЕКТ ЛПС-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭКСПРЕССИИ BDNF В ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ МОЗГА КРЫС<sup>1</sup>

При помощи иммуногистохимического метода исследовали интенсивность экспрессии нейротрофического ростового фактора полученного из головного мозга (BDNF) в глиальных клетках черной субстанции мозга крыс при моделировании нейровоспаления различной интенсивности. Нейровоспаление вызывали посредством стереотаксического унилатерального введения в область черной субстанции крыс липополисахарида (ЛПС) в малой или большой концентрации. Через 8 недель после введения эндотоксина подсчитывали количество GFAP и CD11b позитивных клеток (маркеры, соответственно астро- и микроглии), измеряли интенсивность свечения иммунореактивного BDNF, а также методом двойной иммуногистохимии идентифицировали типы глиальных клеток, синтезирующих BDNF. Введение малой дозы ЛПС вызывало достоверное увеличение количества астро- и микроглиоцитов, а также значительное увеличение экспрессии BDNF в телах и отростках астроцитов. Большая доза ЛПС вызывала значительное снижение содержания иммунореактивного BDNF по сравнению с уровнем, наблюдаемым после введения малой дозы, и появление в области введения эндотоксина «деструктивных» форм микроглиоцитов. Полученные данные свидетельствуют о том, что нейровоспалительная реакция, индуцированная низким уровнем антигенной стимуляции, имеет выраженный протективный характер, поскольку характеризуется высоким уровнем продукции BDNF астроцитами, в то время как высокая доза эндотоксина снимает этот протективный эффект.

*Ключевые слова:* микроглия, астроглия, нейровоспаление, нейродегенерация, BDNF.

Нейродегенеративные патологии, например болезнь Альцгеймера или болезнь Паркинсона, развиваются на фоне хронического нейровоспаления [1; 2], которое характеризуется усилением пролиферации микроглиальных и астроглиальных клеток [2; 3]. Соотношение синтезируемых ими при этом про- и противовоспалительных факторов [4] определяет выраженность репаративных или деструктивных эффектов воспаления. Одним из таких факторов является нейротрофический фактор, полученный из головного мозга (Brain-Derived Neurotrophic Factor, BDNF). Он, как полагают, обеспечивает защиту и усиление нейронального восстановления в патологических условиях [5-7].

Важно отметить, что в черной субстанции пациентов с болезнью Паркинсона, где локализируются гибнущие дофаминергические нейроны, снижены транскрипция гена, кодирующего BDNF, и продукция самого белка [8], а в эксперименте на крысах с функциональным выключением синтеза BDNF в области черной субстанции, воспроизводятся основные проявления классической модели паркинсонподобной нейродегенерации [9]. На основании этих экспериментов был сделан вывод о том, что сниженная продукция BDNF в области черной субстанции играет существенную роль в развитии нейродегенеративного процесса, ведущего к манифестации болезни Паркинсона [10].

Основными продуцентами BDNF в нервной ткани являются активированные микроглиоциты [11; 12] и астроциты [13-15]. BDNF экспрессируется в астроцитах в условиях необходимости трофической поддержки поврежденных или активированных клеток микроокружения [16-18]. BDNF, секретируемый стимулированными микроглиальными клетками, кроме того, ответственен за пролиферацию микроглиоцитов, проявляя свой эффект через посредство аутокринного и паракринного воздействия [19].

Сопоставление представленных выше данных выявляет противоречие: с одной стороны, усиление синтеза и секреции BDNF, стимулированной микроглией, вызывает микроглиоз [19], то есть прогрессирование нейровоспаления (которое при длительном персистировании может инициировать гибель нейронов), с другой – экспериментальное снижение синтеза BDNF также облегчает гибель нейронов и развитие паркинсонподобного состояния [10].

---

<sup>1</sup> Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 10-04-00246-а в рамках выполнения государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации № 2617.

Следует отметить, что значительная часть сообщений о способности глиальных клеток продуцировать BDNF в тех или иных условиях получены в экспериментах *in vitro*, на культурах отдельных клеточных линий. Такие эксперименты не учитывают всего спектра клеточных участников, сложное взаимодействие между которыми *in vivo* формирует функциональную систему, обеспечивающую до определенного времени эффективную защиту нейронов. Однако при длительном или интенсивном действии провоспалительных стимулов эта же клеточная система, переключая спектр синтезируемых медиаторов и перестраивая систему внутренних взаимосвязей, формирует самоподдерживающийся патофизиологический механизм нейрональной гибели [20]. Логично полагать, что на разных этапах нейровоспаления, которые мы обозначаем как «репаративная» и «деструктивная» стадии, интенсивность экспрессии BDNF, как одного из ключевых факторов нейропротекции, может значительно меняться. При этом интенсивность продуцирования BDNF различными типами глиоцитов, а значит и вклад в защитную функцию может быть различной.

Для проверки данного предположения нами был проведен эксперимент, в котором исследовали выраженность экспрессии BDNF глиальными клетками при нейровоспалении различной интенсивности, которое моделировали стереотаксическим введением в область черной субстанции крыс липополисахарида (ЛПС) различной концентрации. При помощи иммуногистохимического метода описывали изменение количества микро- и астроглиоцитов, а также интенсивности свечения иммунореактивного BDNF.

### Материалы и методика исследования

Исследование выполнено на 28 самцах крыс линии Вистар массой 250-300 г, содержащихся в стандартных условиях (12-часовой световой день, свободный доступ к пище и воде) с соблюдением правил проведения работ с использованием экспериментальных животных, утвержденных приказом МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. Животным двух экспериментальных групп (в каждой по 10 крыс) вводили при помощи стереотаксической установки 2 мкл раствора липополисахарида (Sigma-Aldrich, USA) в концентрации 0,01 мкл/мл (малая доза) и 0,1 мкл/мл (большая доза) в область черной субстанции правой стороны мозга по следующим координатам: 5,2 мм каудальной брегмы, 2,0 мм латеральной осевой шва, на глубину 7,2 мм относительно твердой мозговой оболочки. Крысам контрольной группы аналогичным способом вводили 2 мкл стерильного физиологического раствора.

Через 8 недель животным контрольной и экспериментальных групп проводили транскардиальную перфузию 4 %-м параформальдегидом, извлекали мозг для иммуногистохимического исследования и выдерживали в 20 %-м растворе сахарозы. Криостатные срезы мозга толщиной 14 мкм окрашивали с использованием антител к BDNF (мышинные IgG, 1:1000; Chemicon, CA), GFAP (кроличьи IgG, 1:1000; Santa Cruse, USA) и CD11b (кроличьи IgG, 1:1000; Santa Cruse, USA). Для двойного иммунофлуоресцентного окрашивания использовали смесь вторых антител, конъюгированных с FITC (антикроличьи IgG 1:1000; Sigma-Aldrich, USA) и TRITC (антимышинные IgG 1:1000; Sigma-Aldrich, USA).

Подсчет количества глиальных клеток в черной субстанции и измерение интенсивности свечения иммунореактивного продукта на срезах производили при помощи компьютерной программы ImagePro Insight 7.0 (Media cybernetics, USA). Обсчитывался каждый восьмой срез черной субстанции на всем ее протяжении как на стороне введения исследуемых веществ, так и на контрлатеральной (контрольной) стороне с применением приема «суммирования фокальных плоскостей». Результат подсчета представляли в процентном выражении относительно контроля, количество исследуемых клеток в котором принималось за 100 %.

Статистический анализ данных проводили в компьютерной программе «Statistica 10.0». Результаты исследований проверяли на нормальность распределения значений с помощью W-теста Шапиро-Вилкоксона. Различия в количестве клеток и интенсивности экспрессии иммунореактивного сигнала между группами животных анализировали при помощи метода однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Различия считали достоверными при уровне статистической значимости  $P < 0,05$ .

### Результаты и их обсуждение

Через 8 недель после однократной инъекции ЛПС в область черной субстанции наблюдались выраженная глиальная реакция на введение эндотоксина и дозозависимые изменения экспрессии BDNF в этой области. Введение малой дозы ЛПС вызывало достоверное увеличение количества

CD11b позитивных клеток (маркер микроглиоцитов) и GFAP позитивных клеток (маркер астроглии) относительно контроля на  $197,8 \pm 24,6 \%$  и  $165,2, \pm 3 1,2 \%$ , соответственно. Введение большой дозы ЛПС привело к сходному увеличению глиальных клеток ( $+208,6 \pm 34,2 \%$  для микроглиоцитов и  $+191,4 \pm 38,4 \%$  для астроцитов). Как известно, увеличение количества микроглиоцитов (микроглиоз) и астроцитов (астроглиоз) – основной признак нейровоспалительной реакции. Однако, несмотря на схожее увеличение количественного состава глиальных клеток при введении ЛПС разных доз, обнаружались существенные различия в морфологии и интенсивности экспрессии иммунореактивных маркеров активированных клеток (рис. 1).

Так, малая доза ЛПС вызывала умеренное повышение экспрессии GFAP в астроглиальных клетках ( $+165,4 \pm 12,4 \%$ ,  $P < 0,01$  относительно контроля) как локализованных в паренхиме, так и непосредственно контактирующих со стенкой кровеносных сосудов. Большая доза ЛПС индуцировала гораздо более интенсивное свечение иммунореактивного продукта, которое достоверно превышало таковую как по сравнению с контролем ( $+246,4 \pm 24,4 \%$ ,  $P < 0,001$ ), так и при сравнении с введением малой дозы ЛПС ( $+105,6 \pm 11,7 \%$ ,  $P < 0,01$ ). Таким образом, мы наблюдали дозозависимый эффект действия ЛПС на активацию астроглиальных клеток, которая выражалась в нарастании их количества, площади тела и отростков, а также количества экспрессируемого астроцитами иммунореактивного GFAP.

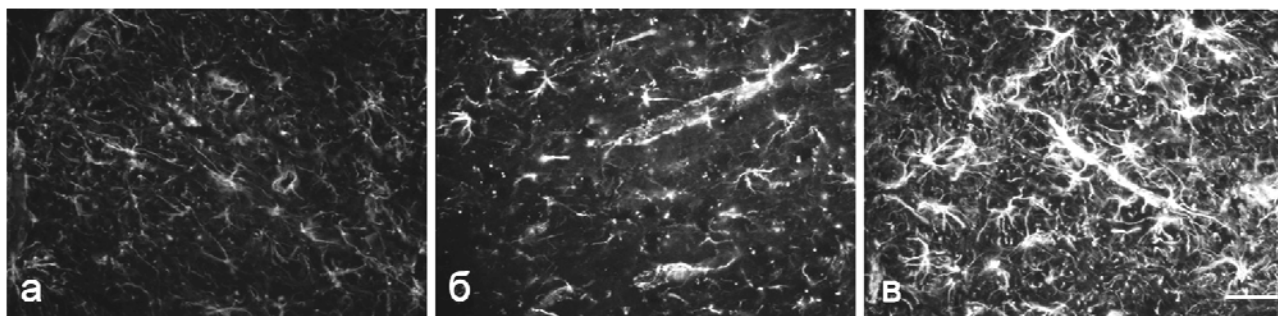


Рис. 1. Экспрессия иммунореактивного GFAP в области черной субстанции крыс через 8 недель после унилатерального введения ЛПС в эту область. Обозначения: *a* – контроль; *б* – малая доза ЛПС; *в* – большая доза ЛПС. Длина линии = 80 мкм

Нами обнаружены значительные различия в морфологии микроглиоцитов в группах животных, получавших малую и большую дозы ЛПС. Анализ этих изменений базировался на ранее описанной нами морфофункциональной классификации микроглиальных цитофенотипов [21]. В контроле, в области черной субстанции доминировали цитофенотипы «а» и «б», соответствующие состояниям покоя и слабой стимуляции. Нейровоспаление, вызываемое введением малой дозы ЛПС, вело к исчезновению вышеописанных цитофенотипов и появлению «в», «г» и «д» микроглии. Важно отметить, что практически половина микроглиоцитов демонстрировала репаративный «в» фенотип, а остальные клетки принадлежали к «деструктивным» формам. Примечательно, что при введении большой дозы ЛПС последние начинали доминировать, кроме того, появлялись и «е» микроглиоциты, соответствующие фагоцитирующим клеткам. Можно видеть, что сильное нейровоспаление, несмотря на незначительный количественный прирост микроглиоцитов по сравнению с воспалением низкой интенсивности, значительно меняло соотношение репаративных и деструктивных форм микроглиальных цитофенотипов в пользу последних.

Интенсивность экспрессии BDNF в черной субстанции через 8 недель после однократной инъекции в нее ЛПС демонстрировала зависимость от дозы вводимого эндотоксина. Если в контроле экспрессия BDNF была незначительной и обнаруживалась лишь в редких клеточных отростках (рис. 2, а), то введение малой дозы ЛПС приводило к радикальному усилению продукции этого трофического фактора (рис. 2, б). Интенсивно светящийся иммунореактивный продукт выявлялся в большом количестве отростков и клеточных телах, морфология которых была сходной с астроцитарной. Высокий уровень его производства может свидетельствовать о значительной активности протективных механизмов нервной ткани в условиях нейровоспаления низкой интенсивности.

Совершенно иная картина наблюдалась после введения в черную субстанцию высокой дозы ЛПС. Интенсивность экспрессии BDNF значительно падала до уровней сопоставимых с контролем,

хотя, в отличие от контроля, здесь чаще обнаруживались окрашенные клеточные тела, как правило, вблизи от кровеносных сосудов (рис. 2с). Таким образом, логично полагать, что при сильном нейровоспалении в нервной ткани блокируется синтез трофического фактора BDNF, то есть снижается эффективность одного из ключевых нейропротективных механизмов.

В исследованиях с двойной иммуногистохимической окраской срезов мы идентифицировали тип глиальных клеток, реактивно меняющих продукцию BDNF в ответ на введение ЛПС. Одновременное окрашивание антителами к CD11b (маркер микроглиоцитов) и BDNF не выявило выраженной солокализации экспрессируемых маркеров в изученных группах, то есть микроглия не являлась основным продуцентом ростового фактора. Двойное окрашивание на BDNF и GFAP в подавляющем количестве случаев демонстрировало солокализацию этих меток, что свидетельствовало о ведущей роли астроглии в продукции нейротрофического фактора в условиях нейровоспаления низкой интенсивности. Однако следует заметить, что даже в случае введения малой дозы ЛПС часть астроглиальных клеток (до 10 % от общего количества) не экспрессировала BDNF (рис. 3), что можно интерпретировать как функциональную гетерогенность астроцитарной популяции.

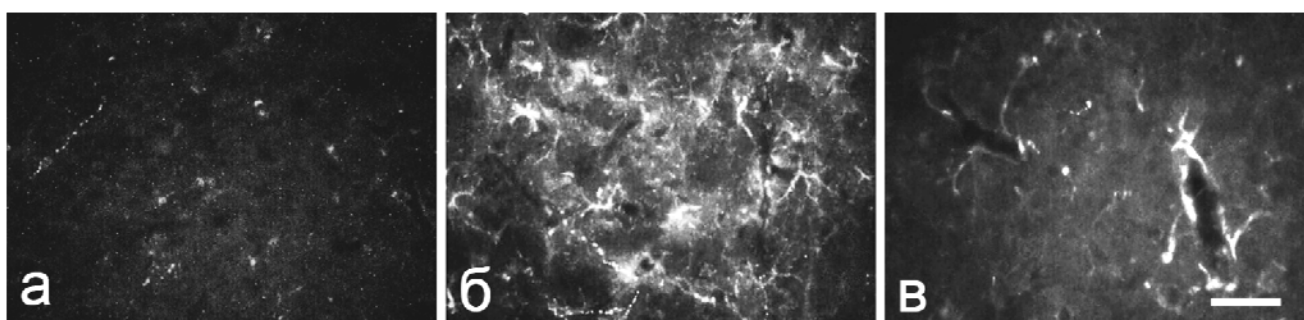


Рис. 2. Экспрессия иммунореактивного BDNF в области черной субстанции крыс через 8 недель после унилатерального введения ЛПС в эту область. Обозначения: *a* – контроль; *б* – малая доза ЛПС; *в* – большая доза ЛПС. Длина линии = 80 мкм

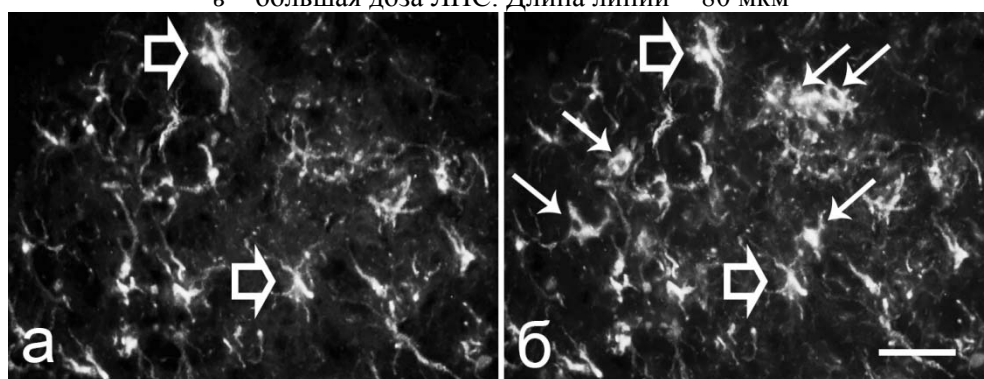


Рис.3. Двойное иммуногистохимическое окрашивание антителами к BDNF (*a*) и GFAP (*б*) клеток в области черной субстанции крыс после введения ЛПС в эту область. Обозначения: большие стрелки – клетки, экспрессирующие обе метки, т. е. астроциты, синтезирующие BDNF; маленькие стрелки – астроциты, не синтезирующие BDNF. Длина линии = 100 мкм

Проведенное исследование позволяет сделать вывод о том, что нейровоспаление низкой интенсивности, несмотря на выраженный микро- и астроглиоз, характеризуется повышенной продукцией BDNF, обладающего выраженными нейропротективными свойствами. Важно отметить, что основными продуцентами этого ростового фактора в нашем эксперименте служили астроциты, в то время как микроглиальные клетки не демонстрировали его значительных уровней. Этот вывод не подтверждает сделанное ранее сообщение о способности микроглиальных клеток синтезировать BDNF в ответ на стимуляцию эндотоксином [12; 19]. Возможное объяснение этому мы видим в том, что эти эксперименты проводились в условиях *in vitro*, значительно меняющими функциональные свойства культивируемых клеток.

Подводя итог описанным выше наблюдениям, можно сделать вывод о том, что нейровоспалительная реакция, индуцированная низким уровнем антигенной стимуляции, имеет выраженный протективный характер, поскольку характеризуется высоким уровнем экспрессии астроцитами BDNF, в то время как высокая доза эндотоксина снимает этот протективный эффект. Можно предположить, что в последнем случае баланс между противо- и провоспалительными факторами, синтезируемыми глиальными клетками, смещается в пользу последних, и это может послужить причиной начала нейродегенеративных изменений.

### Заключение

Иммуногистохимическое исследование позволило нам выявить зависимость функциональных изменений нервной ткани от дозы вводимого в нее бактериального ЛПС. Обнаружено, что ЛПС в малой концентрации вызывает увеличение количества микроглиоцитов и астроцитов, а также значительное увеличение поледними продукции ростового фактора BDNF. В модели интенсивного нейровоспаления, достигаемой введением большой дозы ЛПС, меняется спектр микроглиоцитарных цитофенотипов с преобладанием «деструктивных» форм, и резко снижается продукция BDNF. Наше исследование дополняет и расширяет представление о защитных молекулярных и клеточных механизмах нервной ткани в ответ на действие бактериальных стимулов, а также позволяет идентифицировать маркеры репаративной и деструктивной стадий нейровоспаления.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sastre M., Richardson J.C., Gentleman S.M., Brooks D.J. Inflammatory risk factors and pathologies associated with Alzheimer's disease // *Curr Alzheimer Res.* 2011. Vol. 8, № 2. P. 132-141.
2. Tansey M.G., Goldberg M.S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: its role in neuronal death and implications for therapeutic intervention // *Neurobiol Dis.* 2010. Vol. 37, № 3. P. 510-518.
3. Reitz C., Brayne C., Mayeux R. Epidemiology of Alzheimer disease // *Nat Rev Neurol.* 2011. Vol. 7, № 3. P. 137-152.
4. Kettenmann H., Hanisch U.K., Noda M., Verkhratsky A. Physiology of microglia // *Physiol Rev.* 2011. Vol. 91, № 2. P. 461-553.
5. Batchelor P.E., Liberatore G.T., Porritt M.J., Donnan G.A., Howells D.W. Inhibition of brain-derived neurotrophic factor and glial cell line-derived neurotrophic factor expression reduces dopaminergic sprouting in the injured striatum // *Eur J Neurosci.* 2000. Vol. 12, № 10. P. 3462-3468.
6. Espinosa-Oliva A.M., de Pablos R.M., Villarán R.F., Argüelles S., Venero J.L., Machado A., Cano J. Stress is critical for LPS-induced activation of microglia and damage in the rat hippocampus // *Neurobiol Aging.* 2011. Vol. 32, № 1. P. 85-102.
7. Madinier A., Bertrand N., Mossiat C., Prigent-Tessier A., Beley A., Marie C., Garnier P. Microglial involvement in neuroplastic changes following focal brain ischemia in rats // *PLoS One.* 2010. Vol. 4, № 12. P. 1-12.
8. Murer M.G., Yan Q., Raisman-Vozari R. Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease // *Prog. Neurobiol.* 2001. Vol. 3. P. 71-124.
9. Porritt M.J., Batchelor P., Howells D. Inhibiting BDNF expression by antisense oligonucleotide infusion causes loss of nigral dopaminergic neurons // *Exp. Neurol.* 2005. Vol. 192. P. 226-234.
10. Zuccato C., Cattaneo E. Brain-derived neurotrophic factor in neurodegenerative diseases // *Nat Rev Neurol.* 2009. Vol. 5. P. 311-322.
11. Fujita R., Ma Y., Ueda H. Lysophosphatidic acid-induced membrane ruffling and brain-derived neurotrophic factor gene expression are mediated by ATP release in primary microglia // *J Neurochem.* 2008. Vol. 107, № 1. P. 152-160.
12. Miwa T., Furukawa S., Nakajima K., Furukawa Y., Kohsaka S. Lipopolysaccharide enhances synthesis of brain-derived neurotrophic factor in cultured rat microglia // *J Neurosci Res.* 1997. Vol. 50, № 6. P. 1023-1029.
13. Cardile V, Pavone A, Gulino R, Renis M, Scifo C., Perciavalle V. Expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in rat astrocyte cultures treated with Levetiracetam // *Brain Res.* 2003. Vol. 976, № 2. P. 227-233.
14. Reick C., Ellrichmann G., Tsai T., Lee D.H., Wiese S., Gold R., Saft C., Linker R.A. Expression of brain-derived neurotrophic factor in astrocytes - Beneficial effects of glatiramer acetate in the R6/2 and YAC128 mouse models of Huntington's disease // *Exp Neurol.* 2016. Vol. 285, Pt A. P. 12-23.
15. Takano K., Yamasaki H., Kawabe K., Moriyama M., Nakamura Y. Imipramine induces brain-derived neurotrophic factor mRNA expression in cultured astrocytes // *J Pharmacol Sci.* 2012. Vol. 120, № 3. P. 176-186.
16. Miyamoto N., Maki T., Shindo A., Liang A.C., Maeda M., Egawa N., Itoh K., Lo E.K., Lok J., Ihara M., Arai K. Astrocytes promote oligodendrogenesis after white matter damage via Brain-Derived Neurotrophic Factor // *J Neurosci.* 2015. Vol. 35, № 41. P. 14002-14008.

17. Takemoto T., Ishihara Y., Ishida A., Yamazaki T. Neuroprotection elicited by nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor released from astrocytes in response to methylmercury // *Environ Toxicol Pharmacol.* 2015. Vol. 40, № 1. P. 199-205.
18. Kimura N., Takahashi M., Tashiro T., Terao K. Amyloid beta up-regulates brain-derived neurotrophic factor production from astrocytes: rescue from amyloid beta-related neuritic degeneration // *J Neurosci Res.* 2006. Vol. 84, № 4. P. 782-789.
19. Gomes C., Ferreira R., George J., Sanches R., Rodrigues D.I., Gonçalves N., Cunha R.A. Activation of microglial cells triggers a release of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) inducing their proliferation in an adenosine A2A receptor-dependent manner: A2A receptor blockade prevents BDNF release and proliferation of microglia // *Journal of Neuroinflammation.* 2013. Vol. 10, № 16. P. 1-13.
20. Сергеева Т.Н., Сергеев В.Г., Чучков В.М. Клеточные механизмы хронического нейровоспаления // *Морфологические ведомости.* 2014. № 4. С. 31-36.
21. Заколюкина Е.С., Вежеева О.А., Тукмачева К.А., Сергеев В.Г. Возрастные различия в изменении цитофенотипов микроглиальных клеток черной субстанции мозг крыс, вызываемых стереотаксическим введением бактериального эндотоксина // *Вестн. Удм. ун-та Сер. Биология. Науки о Земле.* 2015. Т. 25, вып. 4. С. 93-97.

Поступила в редакцию 08.02.17

**E.S. Zakolyukina, K.A. Tukmacheva, V.G. Sergeev**

#### **LPS DOSE-DEPENDENT EXPRESSION OF BDNF IN THE RAT SUBSTANTIA NIGRA**

We investigated the expression of BDNF in substantia nigra glial cells under inflammatory conditions of varying intensity using immunohistochemistry. Neuroinflammation was caused by stereotactic unilateral injection in the rat substantia nigra small or large concentrations LPS. 8 weeks after the endotoxin administration we considered the number of GFAP and CD11b positive cells (markers, respectively, astroglia and microglia), measured the fluorescence intensity of BDNF, and identified the types of glial cells synthesizing BDNF by double immunohistochemistry. The introduction of low doses of LPS caused a significant increase in the number of microglia and astroglia, as well as a significant increase in BDNF expression in bodies and processes of astroglia. A large dose of LPS caused a significant reduction of immunoreactive BDNF compared to the level observed after the administration of a small dose, and the emergence in the field of administration of endotoxin "destructive" forms of microglia. The data indicate that the neuroinflammatory response induced by a low level of antigenic stimulation has a pronounced protective nature, as it is characterized by high levels of astrocytes BDNF, while a high dose of endotoxin removes this protective effect.

*Keywords:* microglia, astroglia, neuroinflammation, neurodegeneration, BDNF.

#### REFERENCE

1. Sastre M., Richardson J.C., Gentleman S.M. and Brooks D.J. Inflammatory risk factors and pathologies associated with Alzheimer's disease, in *Curr Alzheimer Res.*, 2011, vol. 8, no. 2, pp. 132-141.
2. Tansey M.G. and Goldberg M.S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: its role in neuronal death and implications for therapeutic intervention, in *Neurobiol Dis.*, 2010, vol. 37, no. 3, pp. 510-518.
3. Reitz C., Brayne C. and Mayeux R. Epidemiology of Alzheimer disease, in *Nat Rev Neurol.*, 2011, vol. 7, no. 3, pp. 137-152.
4. Kettenmann H., Hanisch U.K., Noda M. and Verkhratsky A. Physiology of microglia, in *Physiol Rev.*, 2011, vol. 91, no. 2, pp. 461-553.
5. Batchelor P.E., Liberatore G.T., Porritt M.J., Donnan G.A. and Howells D.W. Inhibition of brain-derived neurotrophic factor and glial cell line-derived neurotrophic factor expression reduces dopaminergic sprouting in the injured striatum, in *Eur J Neurosci.*, 2000, vol. 12, no. 10, pp. 3462-3468.
6. Espinosa-Oliva A.M., de Pablos R.M., Villarán R.F., Argüelles S., Venero J.L., Machado A. and Cano J. Stress is critical for LPS-induced activation of microglia and damage in the rat hippocampus, in *Neurobiol Aging.*, 2011, vol. 32, no. 1, pp. 85-102.
7. Madinier A., Bertrand N., Mossiat C., Prigent-Tessier A., Beley A., Marie C. and Garnier P. Microglial involvement in neuroplastic changes following focal brain ischemia in rats, in *PLoS One*, 2010, vol. 4, no. 12, pp. 1-12.
8. Murer M.G., Yan Q. and Raisman-Vozari R. Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease, in *Prog. Neurobiol.*, 2001, vol. 3, pp. 71-124.
9. Porritt M.J., Batchelor P. and Howells D. Inhibiting BDNF expression by antisense oligonucleotide infusion causes loss of nigral dopaminergic neurons, in *Exp. Neurol.*, 2005, vol. 192, pp. 226-234.
10. Zuccato C. and Cattaneo E. Brain-derived neurotrophic factor in neurodegenerative diseases, in *Nat Rev Neurol.*, 2009, vol. 5, pp. 311-322.

11. Fujita R., Ma Y. and Ueda H. Lysophosphatidic acid-induced membrane ruffling and brain-derived neurotrophic factor gene expression are mediated by ATP release in primary microglia, in *J Neurochem.*, 2008, vol. 107, no. 1, pp. 152-160.
12. Miwa T., Furukawa S., Nakajima K., Furukawa Y. and Kohsaka S. Lipopolysaccharide enhances synthesis of brain-derived neurotrophic factor in cultured rat microglia, in *J Neurosci Res.*, 1997, vol. 50, no. 6, pp. 1023-1029.
13. Cardile V, Pavone A, Gulino R, Renis M, Scifo C. and Perciavalle V. Expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in rat astrocyte cultures treated with Levetiracetam, in *Brain Res.*, 2003, vol. 976, no. 2, pp. 227-233.
14. Reick C., Ellrichmann G., Tsai T., Lee D.H., Wiese S., Gold R., Saft C. and Linker R.A. Expression of brain-derived neurotrophic factor in astrocytes – Beneficial effects of glatiramer acetate in the R6/2 and YAC128 mouse models of Huntington's disease, in *Exp Neurol.*, 2016, vol. 285, Pt A, pp. 12-23.
15. Takano K., Yamasaki H., Kawabe K., Moriyama M. and Nakamura Y. Imipramine induces brain-derived neurotrophic factor mRNA expression in cultured astrocytes, in *J Pharmacol Sci.*, 2012, vol. 120, no. 3, pp. 176-186.
16. Miyamoto N., Maki T., Shindo A., Liang A.C., Maeda M., Egawa N., Itoh K., Lo E.K., Lok J., Ihara M. and Arai K. Astrocytes promote oligodendrogenesis after white matter damage via Brain-Derived Neurotrophic Factor, in *J Neurosci.*, 2015, vol. 35, no. 41, pp. 14002-14008.
17. Takemoto T., Ishihara Y., Ishida A. and Yamazaki T. Neuroprotection elicited by nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor released from astrocytes in response to methylmercury, in *Environ Toxicol Pharmacol.*, 2015, vol. 40, no. 1, pp. 199-205.
18. Kimura N., Takahashi M., Tashiro T. and Terao K. Amyloid beta up-regulates brain-derived neurotrophic factor production from astrocytes: rescue from amyloid beta-related neuritic degeneration, in *J Neurosci Res.*, 2006, vol. 84, no. 4, pp. 782-789.
19. Gomes C., Ferreira R., George J., Sanches R., Rodrigues D.I., Gonçalves N. and Cunha R.A. Activation of microglial cells triggers a release of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) inducing their proliferation in an adenosine A2A receptor-dependent manner: A2A receptor blockade prevents BDNF release and proliferation of microglia, in *Journal of Neuroinflammation*, 2013, vol. 10, no.16, pp. 1-13.
20. Sergeeva T.N., Sergeev V.G. and Chuchkov V.M. [Cellular mechanisms of chronic neuroinflammation], in *Morfologicheskie vedomosti*, 2014, no. 4, pp. 31-36 (in Russ.).
21. Zakoljukina E.S., Vezheeva O.A., Tukmacheva K.A. and Sergeev V.G. [Age differences in the change tsitofeno types microglial cells of the substantia nigra brain of rats induced by stereotactic administration of bacterial endotoxin], in *Vestn. Udm. Un-ta. Ser. Biologija. Nauki o Zemle*, 2015, vol. 25, iss. 4, pp. 93-97 (in Russ.).

Заколюкина Елена Сергеевна, аспирант

E-mail: alena-immun@yandex.ru

Тукмачева Ксения Андреевна, магистрант

E-mail: kseniyatukmasheva@rambler.ru

ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет»  
426034, Россия, г. Ижевск, ул. Университетская, 1 (корп. 1)

Сергеев Валерий Георгиевич,  
доктор биологических наук, профессор

ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет»  
426034, Россия, г. Ижевск, ул. Университетская, 1 (корп. 1);

заведующий учебно-экспериментальной лабораторией

ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия»

426034, Россия, г. Ижевск, ул. Коммунаров, 281

E-mail: cellbio@yandex.ru

Zakolykina E.S., postgraduate student

E-mail: alena-immun@yandex.ru

Tukmasheva K.A., master degree student

E-mail: kseniyatukmasheva@rambler.ru

Udmurt State University  
Universitetskaya st., 1, Izhevsk, Russia, 426034

Sergeev V.G.,  
Doctor of Biology, Professor

Udmurt State University  
Universitetskaya st., 1, Izhevsk, Russia, 426034

Head of Educational and Research Laboratory  
Izhevsk State Medical Academy

Kommunarov st., 281, Izhevsk, Russia, 426034

E-mail: cellbio@yandex.ru