

НОВЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ГИПОТЕРМИИ КАК МЕТОДА НЕЙРОПРОТЕКЦИИ ПРИ ПОВРЕЖДЕНИЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА (ОБЗОР)

DOI: 10.17691/stm2020.12.5.11

УДК 615.832.9–036:616.831–009.87:573.6

Поступила 18.12.2019 г.

© Э.Ш. Усманов, научный сотрудник лаборатории клинической нейрофизиологии;
М.А. Чубарова, младший научный сотрудник лаборатории клинической нейрофизиологии;
Ш.Х. Саидов, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической нейрофизиологии

Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии, д. Лыткино, 777,
Московская область, Солнечногорский район, 141534

В обзоре проанализированы современные клинические исследования использования терапевтической гипотермии в качестве нейропротективного метода лечения повреждений головного мозга. Этот метод демонстрирует хорошие результаты при острых повреждениях головного мозга, а также у пациентов в хронических критических состояниях. Показан интерес исследователей к изучению превентивных возможностей терапевтической гипотермии при вторичных повреждениях нейронов. Описано участие в механизмах нейропротекции головного мозга новых молекул, несущих положительные эффекты для тканей и клеток ЦНС, — белков и гормонов холодового стресса. Рассматриваются перспективы использования регулируемой целевой температуры (targeted temperature management) в лечении повреждений головного мозга.

Ключевые слова: терапевтическая гипотермия; нейропротекция; шапероны; гормоны холодового шока; белки холодового шока; регулируемая целевая температура.

Как цитировать: Usmanov E.Sh., Chubarova M.A., Saidov Sh.Kh. Emerging trends in the use of therapeutic hypothermia as a method for neuroprotection in brain damage (review). *Sovremennye tehnologii v medicine* 2020; 12(5): 94–105, <https://doi.org/10.17691/stm2020.12.5.11>

English

Emerging Trends in the Use of Therapeutic Hypothermia as a Method for Neuroprotection in Brain Damage (Review)

E.Sh. Usmanov, Researcher, Laboratory of Clinical Neurophysiology;
M.A. Chubarova, Junior Researcher, Laboratory of Clinical Neurophysiology;
Sh.Kh. Saidov, MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Clinical Neurophysiology

Federal Clinical Research Centre for Intensive Care Medicine and Rehabilitology, 777 Lytkino Village,
Solnechnogorsk District, Moscow Region, 141534, Russia

The review analyzes current clinical studies on the use of therapeutic hypothermia as a neuroprotective method for treatment of brain damage. This method yields good outcomes in patients with acute brain injuries and chronic critical conditions. There has been shown the

Для контактов: Усманов Эрадж Шарифович, e-mail: eradzhik@gmail.com

interest of researchers in studying the preventive potential of therapeutic hypothermia in secondary neuronal damage. There has been described participation of new molecules producing positive effect on tissues and cells of the central nervous system — proteins and hormones of cold stress — in the mechanisms of neuroprotection in the brain. The prospects of using targeted temperature management in treatment of brain damage are considered.

Key words: therapeutic hypothermia; neuroprotection; chaperones; cold shock hormones; cold shock proteins; controlled target temperature.

Введение

Тысячелетиями медицина накапливала практический опыт применения охлаждающих средств в лечении и профилактике болезней. Гиппократ использовал снег и лед в остановке кровотечений у своих пациентов [1]. В средние века гипотермию в виде ледяных кубов применяли при кровотечениях, в случаях остановки сердечной деятельности [2] и у коматозных больных [3]. Локальное охлаждение головы при травматических поражениях головного мозга использовано Фелпсом в XIX в. [4, 5], полное охлаждение тела впервые применено нейрохирургом Т. Фэем в 1938 г. для лечения повреждений головы. В середине XX в. терапевтическая гипотермия была забыта в связи с ростом осложнений (кровотечения, сепсис, нарушения сердечного ритма) на фоне применения общей гипотермии, при которой организм пациента подвергался более глубокому и более длительному охлаждению. Однако в последние три десятилетия гипотермия начала вновь развиваться. В современной практике это один из высокотехнологичных методов, который используется в различных областях медицины.

Огромный интерес вызывало открытие механизмов развития нейропротекции при гипотермии [6]. Роль данного метода была показана авторами [6] при лечении многих неврологических заболеваний, таких как острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), травматические повреждения головного мозга, повреждение спинного мозга, печеночная энцефалопатия и послеродовая энцефалопатия новорожденных.

Гипотермия при температуре 33,5°C является стандартом лечения новорожденных с гипоксической/ишемической энцефалопатией: у данной категории пациентов ее применяют в течение 72 ч [7].

В работе Nielsen с соавт. [8] впервые было введено понятие регулируемой целевой температуры, которая включает в себя более широкий по сравнению с терапевтической гипотермией диапазон температур (33–36°C) с лучшим эффектом в отношении повреждений головного мозга. Кроме того, применение целевой температуры получает все большее распространение в кардиохирургической практике у пациентов с остановкой сердечной деятельности для предотвращения аноксического повреждения головного мозга [9]. Регулируемая целевая температура в диапазоне 32–36°C в течение 24–48 ч у пациентов в коматозном состоянии после перенесенной внебольничной остановки сердечной деятельности является одним из при-

нятых алгоритмов лечения [10]. Профилактическая средняя и глубокая гипотермия также служит стандартом лечения в случаях хирургических вмешательств, при которых возможны нарушения мозгового кровообращения, такие как аневризма сосудов головного мозга, или при операциях по восстановлению дуги аорты [11, 12]. В исследованиях, проходящих на базе Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии, большое значение придается изучению гипотермии у пациентов в хронических критических состояниях. Получены наглядные положительные эффекты влияния этого метода на уровень сознания больных [13].

В клинических исследованиях S. Phadtare и соавт. [14] впервые обнаружены новые молекулы, выделяемые в результате локального и общего охлаждения тела, — гормоны холодового шока (cold stress hormones, CSH) и белки холодового шока (cold shock proteins, CSP). Они играют важную роль в формировании клеток-предшественников нервной ткани головного мозга, а также необходимы для процессов репарации и регенерации поврежденных клеток мозга. Новым веянием в развитии терапевтической гипотермии стала концепция «гипотермия в шприце» [15], основой которой является формирование нейропротективного охлаждения отдельных органов и систем организма на фоне сохранения в норме общей температуры тела путем внутривенного введения специфических молекул, стимулирующих стрессовый ответ на гипотермию и развитие нейропротекции. Данное направление может иметь широкий спектр применения: лечение как нейродегенеративных заболеваний, так и острых и хронических критических состояний.

Механизмы нейропротекции, индуцированные гипотермией

Терапевтическая гипотермия является многообещающим методом нейропротекции при повреждении нервных клеток. Наилучшим образом ее нейропротективная роль показана в экспериментах на собаках [16], крысах [17] и у пациентов с остановкой сердечной деятельности [18], при гипоксической/ишемической энцефалопатиях [19], травматическом повреждении головного мозга [20] и некоторых других заболеваниях (рис. 1).

Несмотря на то, что нейропротекция при гипотермии все еще находится на стадии изучения,

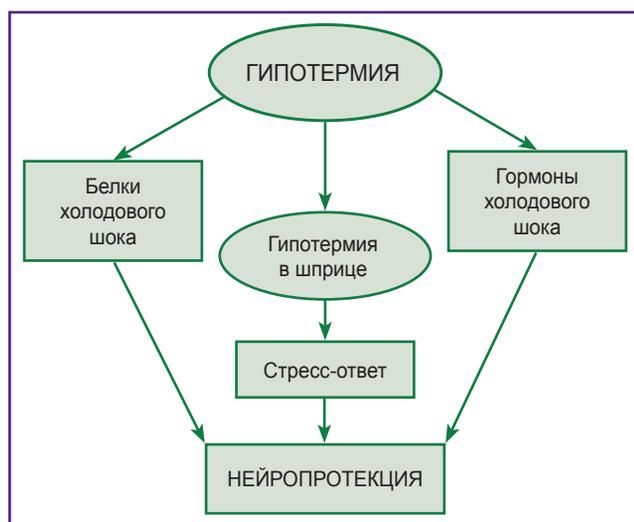


Рис. 1. Механизм нейропротекции при гипотермии

с уверенностью можно сказать, что ее основными механизмами являются снижение уровня метаболизма нервных клеток и образования свободных радикалов, уменьшение воспалительных изменений, ингибирование эксайтотоксичности и апоптоза.

В роли нейропротекторов могут выступать различные молекулы, одной из которых является нестин — нейроэпителиальный стволовой клеточный белок цитоскелета, относящийся к промежуточным филаментам. Впервые он был описан в стволовых клетках нервной ткани развивающегося и развитого головного мозга. Экспрессия нестина обнаружена в стволовых клетках различных тканей [21]. Важно отметить, что в головном мозге обнаруживаются нестин-положительные клетки, которые показали способность формировать нейросферы *ex vivo* и генерировать дифференцированные клетки нервной и астроцитарной линий [22].

Еще одной нейропротективной молекулой является β -тубулин III — элемент микротрубочек, относящийся к семейству тубулиновых белков, один из двух основных тубулинов (α - и β -тубулины), необходимый для гетеродимеризации и сбора микротрубочки. Этот вид белка обнаруживается почти эксклюзивно в нервной ткани и ткани яичка. При экспрессии в нервной ткани β -тубулин III принимает участие в нейрогенезе, аксональном наведении (процесс роста аксона к своей цели) и поддержании клеток [23].

Ишемия головного мозга инициирует нейрональные повреждения (например, после остановки сердечной деятельности или ОНМК) и способствует вторичному повреждению после травм головного мозга (особенно в совокупности с гипоксией и/или гипотонией) [24–26]. Количество аденозинтрифосфата (АТФ), которое необходимо нейронам, чтобы выжить, пропорционально уровню метаболизма головного мозга. Смерть клеток при ишемии наступает вследствие дисбаланса между снабжением клеток АТФ (утрата оксидативного

фосфорилирования при гипоксии) и их нуждой в нем (высокое потребление кислорода тканями мозга). Известно, что при гипотермии снижение температуры на каждый градус Цельсия (от 37 до 27°C) приводит к снижению потребления кислорода тканями мозга на 6–7% [27, 28]. Поэтому гипотермия способна лимитировать или предотвратить развитие ишемии при эпизодах нарушения или полного отсутствия кровотока в головном мозге за счет снижения потребления АТФ и необходимости в обеспечении кислородом нужных для жизнедеятельности тканей [29].

Оксидативный стресс способствует повреждению тканей после травм головного мозга вследствие повышенной выработки токсичных продуктов окисления (реактивные кислородные продукты (РКП) и реактивные азотистые продукты (РАП)) и снижения уровня внутриклеточных механизмов нейтрализации кислорода. Условий генерации РКП и РАП большое количество, включая нарушения в митохондриальной дыхательной цепи, активацию стимулирующих ферментов (ксантин-оксидаза, НАДФ-оксидаза), циркуляцию редокс-агентов (свободное железо). Кумулятивным эффектом этих явлений становится прямое повреждение белков, жиров и РНК/ДНК [30]. Терапевтическая гипотермия ингибирует окислительное повреждение головного мозга за счет уменьшения этих процессов [31–33] и усиления антиоксидантной защиты, что было показано в клинических исследованиях и у пациентов с различными повреждениями ЦНС [34, 35].

Повреждения головного мозга при избыточной нейронной деполяризации приводят к перегрузке внутриклеточным Ca^{2+} и непрерывной выработке глутамата (эксайтотоксичность) [36, 37]. Более того, уровень внеклеточного глутамата растет и за счет патологического изменения его астроцитарных переносчиков [38]. Конечным эффектом этих событий становится быстрая активация внесинаптических N-метил-D-аспарат-рецепторов, приводящая к включению внутриклеточного апоптозного сигнального каскада и последующей смерти нейрона [39]. Гипотермия мощно ингибирует нейронную смерть, вызванную прямым включением глутамата в паренхиму мозга [40]. Кроме того, охлаждение головного мозга препятствует посттравматическим скачкам внеклеточного глутамата при ишемии [41, 42], сотрясениях головного мозга [31], субарахноидальных кровоизлияниях [43, 44] и бактериальном менингите [45].

Высвобождение внутриклеточной ДНК и обломков погибающей клетки во внеклеточное пространство и выделение дополнительных ассоциированных повреждений молекулярных структур становится триггером выработки провоспалительных цитокинов (повышение уровня TNF, INF- γ и IL-6) [46, 47]. Более того, нейтрофилы ускоренно аккумулируются в ранних стадиях после травм и в фазе реперфузии после ишемии [48, 49]. Выработка цитокинов стимулирует провоспалительный (M1/M1-подобный) фенотип у макрофагов

и микроглии [50, 51]. Эти события являются мощным механизмом повреждений тканей ЦНС. В хронической фазе, при идеальных условиях, макрофаги и микроглия переключаются на противовоспалительный (M2/M2-подобный) фенотип, стимулируя восстановление и уменьшение очага повреждения. Однако недавние исследования показали, что M2/M2-подобная фазы достигают своего пика в подострой и ранней хронической фазах после повреждений головного мозга, сменяясь продолжительной и негативной фазой смещения в сторону M1/M1-подобного фенотипов [52]. Гипотермия снижает воспаление нейронов за счет блокирования вышеуказанных триггеров и смещения моноцитов в сторону противовоспалительного M2-фенотипа [53, 54].

Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) поддерживает химический состав интерстициальной жидкости мозга и является важнейшей структурой, необходимой для нормального функционирования ЦНС [55]. Повышение проницаемости ГЭБ вследствие механического повреждения после травм головного мозга или при различных патологических процессах увеличивает проникновение патогенов и токсических микро/макромолекул в подлежащую церебральную паренхиму [56, 57]. В то же время прохождение эритроцитов в периваскулярное пространство с последующим гемолизом приводит к увеличению внеклеточного гемоглобина и свободного железа, усугубляя повреждение за счет РКП [58]. Гипотермия снижает повреждение ГЭБ при травмах [59, 60], ОНМК [61, 62], бактериальном менингите [63] и внутримозговом кровоизлиянии [64]. Механизмы защиты при гипотермии включают в себя ингибирование матричных металлопротеиназ [65], сохранение белков, плотных контактов [66] и снижение количества внутриклеточной ICAM-1 (молекула клеточной адгезии) на поверхности сосудистого эндотелия, предотвращают лейкоцитарный диапедез [59, 67].

Вышеуказанные повреждения стимулируют разнообразные факторы нисходящих сигнальных путей, которые запускают различные типы механизмов клеточной гибели и приводят к вторичным повреждениям головного мозга. Каждый механизм гибели клетки имеет свой уникальный «молекулярный почерк», который включает в себя многочисленные молекулы-эффекторы и сигнальные каскады. При использовании мягкой и средней гипотермии демонстрируются положительные эффекты в виде ингибирования уровня повреждающих энзимов или молекул-мишеней, которые запускают апоптоз [68, 69], некроз [70], аутофагию [64, 71], некроптоз [72] или пироптоз [73, 74].

Белки теплового шока

Под влиянием стресса на организм происходит выделение различных белков, которые запускают механизмы восстановления клеток. Одной из разновидностей восстановительных молекул являются белки теплового шока (heat shock proteins, Hsp).

Терапевтическая гипотермия является мощным стимулом для выработки Hsp в клетках головного мозга. При воздействии низких температур формируется устойчивость нейронов к стрессу и стимулируются клетки-предшественники, которые в свою очередь восполняют и замещают погибшие нервные клетки.

Для правильного прохождения процесса сборки белка, состоящего из трансляции, транскрипции и терминации белковой цепи, необходимо наличие молекулярных шаперонов — белков, которые участвуют в распознавании и селективном связывании чужеродных белковых молекул, формируя стабильные комплексы [75]. Они играют важную роль в сборке белка за счет предотвращения неправильного фолдинга и агрегации сборочных компонентов [76]. Hsp — это молекулярные шапероны, которые ассистируют в правильной сборке вновь синтезированных белков, а также тех, которые подвержены денатурации вследствие стресса. В дополнение к шапероновой роли Hsp демонстрируют цитопротективные функции [77] и ингибируют апоптозный каскад [78].

Белки теплового шока классифицированы в различные семейства на основании молекулярной массы, измеряемой в килодальтонах (кДа): Hsp100, Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40 и более маленькие. Практически все семейства имеют представителей, играющих роль конститутивных (выработка которых не зависит от стрессовых воздействий на клетки организма) и индуцибельных белков (синтез которых в нормальных условиях идет слабо, но при стрессовых воздействиях на клетку резко увеличивается). Наиболее изученным шапероном, который способствует правильной сборке и переносу различных белковых молекул, является Hsp70 [79].

Основным транскрипционным фактором, ответственным за активацию белков теплового шока, служит транскрипционный фактор теплового шока 1 (heat shock factor 1, HSF1) [80] (рис. 2). В физиологических условиях он связан с Hsp90, который ингибирует его транскрипционную активность, формируя с ним неактивный комплекс. В условиях стресса выделяемые стрессорные молекулы связываются с Hsp90, высвобождая HSF1, который в свою очередь формирует связь с представителями других семейств белков теплового шока, индуцируя их экспрессию [81]. Высвободившись из комплекса, HSF1 мигрирует в ядро, соединяется с промоторами генов Hsp, приводя к усилению регуляции данных генов [80] (рис. 3).

В ЦНС белки теплового шока индуцируются различными патологическими процессами, включая ОНМК, нейродегенеративные заболевания, эпилепсию и травмы [82]. Их экспрессия зарегистрирована в различных типах клеток, в том числе в нейронах, глиии и эндотелиальных клетках. Они также обнаруживаются в виде внеклеточных белков, которые формируются путем физиологических секреторных механизмов и в процессе некроза клеток. Во внеклеточной среде эти белки повышают устойчивость к стрессу за счет

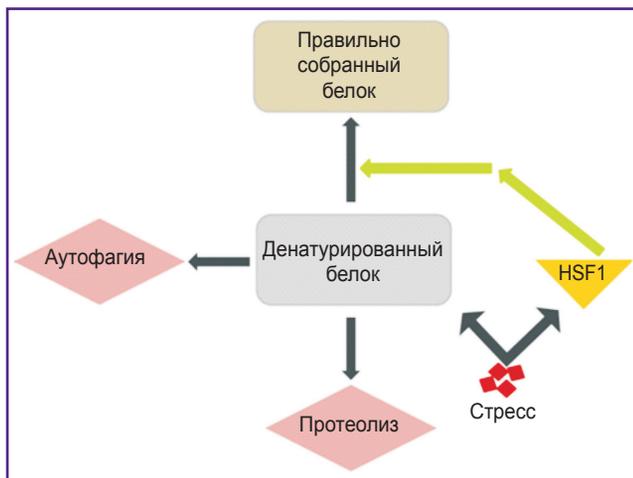


Рис. 2. Индукция HSF1 и шаперонов в ответ на стресс

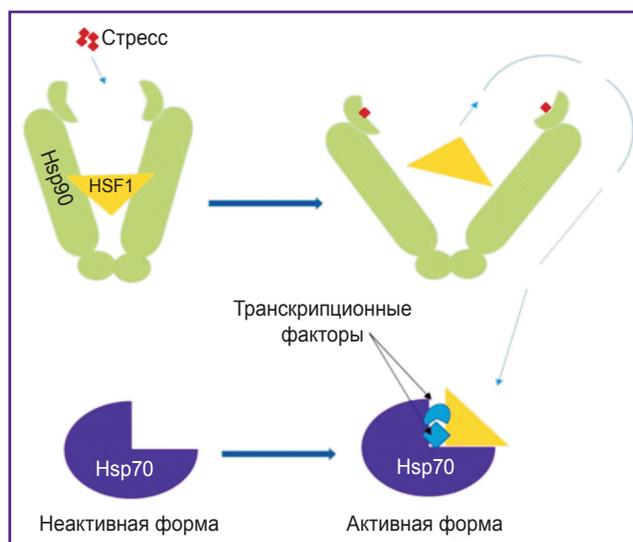


Рис. 3. Высвобождение HSF1 из связи с Hsp90 при влиянии стресса с последующей активацией индуцибельного Hsp70

связывания со стресс-чувствительными клетками, к которым относятся нейроны [83].

При повреждениях головной мозг становится очень уязвимым даже к небольшим колебаниям температуры [84]. Изменения в клеточной среде мозга при температурном стрессе включают в себя формирование свободных радикалов, изменение механизмов передачи нервных импульсов или снижение синтеза нейрональных белков, изменение экспрессии генов.

Колебания температуры тела могут приводить к гибели клеток и тканей мозга (нейродегенеративным изменениям) [85]. Для восстановления поврежденных клеток головного мозга необходимым условием является наличие стволовых клеток (клеток-предшественников). В работе [86] был доказан потенциал клеток-предшественников нервной ткани в роли источника восполнения и восстановления тканей ЦНС.

Гормоны и белки холодового шока

Наряду с классическими путями использования гипотермии существуют механизмы и события, которые запускаются гипотермией и функционируют за счет выработки гормонов холодового шока (CSH) и белков холодового шока (CSP).

Рассмотрены наиболее изученные **гормоны холодового шока**. Большинство факторов роста фибробластов (fibroblast growth factors, FGF) являются паракринными гормонами [87]. Протеогликансвязывающий домен гепаринсульфата ограничивает их активность вплоть до полного выключения [88]. Напротив, FGF21 является представителем эндокринного подтипа, к которым относятся FGF19, FGF21 и FGF23. Эндокринные факторы роста утратили свою гепаринсвязывающую способность в процессе эволюции, что позволило им свободно циркулировать после выработки [89]. Как следствие, они используют трансмембранные белки klotho как корецепторы (α -klotho и/или β -klotho), которые играют роль молекулярных связующих, чтобы способствовать и стабилизировать взаимодействие между внеклеточными лигандами и тканевыми рецепторами [90, 91]. Белок β -klotho является обязательным корецептором для FGF21 и необходим для связывания с лигандом и активации рецептора FGFR1c *in vivo* [92, 93]. Было показано также, что *in vitro* протеин β -klotho повышает аффинность FGF21 к связыванию с различными изоформами рецепторов FGF, но магнитуда их активации будет зависеть от типа рецептора на органах-мишенях (FGFR1c > FGFR2c > FGFR3c) [92]. Более того, экспрессия белка β -klotho ограничена следующими органами: печень, поджелудочная железа, жировая ткань и некоторые популяции нейронов гипоталамуса и заднего мозга [94, 95].

Уровень циркуляции FGF21 повышается у людей и грызунов при холодовом стрессе. У людей этот феномен был доказан в работе [96], когда пациентов в больничных костюмах оставляли в палате со сниженной до 19°C температурой окружающей среды на 12 ч, после чего измеряли уровень FGF21 у данных пациентов и лиц, находившихся в палатах с термонейтральной температурой окружающей среды (24°C).

В исследованиях [97] было показано, что повышение уровня FGF21 может улучшать состояние головного мозга после острых патологий и при хронических нейродегенеративных состояниях. Считается, что эффекты FGF21 имеют прямой и непрямой механизмы воздействия; также выявлено, что FGF21 проникает через ГЭБ.

Прямое воздействие данного фактора показано в работе [97], где *in vitro* в течение 6 дней в пробы вводилось 5 нмоль FGF21, после чего было отмечено сокращение повреждения клеток с рецепторами к FGF21 за счет глутамата. Кроме того, было отмечено повышение фосфорилирования нейронных АКТ (киназа АКТ-1), ВСК (внеклеточная сигнальная киназа) и

ГСК-3 β (гликоген-синтаза-киназа), которые приводят к повышению выживаемости клеток и нейропротекции. Авторы работы [98] утверждают, что периферически выработанный FGF21 способствует ремиелинизации в головном и спинном мозге за счет лизофосфатидилхолина. В исследовании [99] *in vitro* установлено, что FGF21 уменьшает поражение нейронов, поврежденных A β 1–42 (структурная разновидность β -амилоида), у пациентов с болезнью Альцгеймера. Было также отмечено [100], что введение FGF21 нормотермичным исследуемым улучшало целостность ГЭБ, уменьшало отек мозга и тканевое повреждение наряду с улучшением неврологического дефицита. В работе [101] продемонстрировано, что 14 дней терапии 1,5 мг/кг рекомбинантным FGF21 (начатой через 6 ч после повреждения) снизило метаболическую дисфункцию, воспаление нейронов, сократило область инфаркта мозга, повреждение белого вещества мозга и улучшило неврологические результаты после фокального ОНМК. И наконец, *in vivo* было показано [102], что повышенный стресс в эндоплазматическом ретикулуме нейронов головного мозга приводит к фосфорилированию эукариотического фактора инициации 2 альфа (eIF2 α), который в свою очередь стимулирует активацию транскрипционного фактора 4 (ATF4) и приводит к увеличению нейронной экспрессии FGF21. Непрямым механизмом работы FGF21 является стимуляция кетогенеза в печени. Кетоновые тела (ацетон, ацетоацетат и β -гидроксibuтират) эффективно доставляются в головной мозг, где служат альтернативным источником энергии для оксидативного метаболизма [103].

Еще одним механизмом непрямого воздействия является влияние FGF21 на уровень глюкозы в крови: данный фактор приводит к его нормализации [104]. Однако, в отличие от инсулина, FGF21 нормализует уровень глюкозы крови без индуцирования гипогликемии [105]. Таким образом, стимуляция или введение FGF21 может быть лучшей методикой контроля гликемии у критических пациентов.

Ирисин — гликозилированный фрагмент белка, который выделяется мышечной тканью в ответ на тренировочный стресс и при сокращении мышц (дрожь) в момент охлаждения. Чем больше сокращений совершает мышца, тем более высокий уровень ирисина в крови будет достигнут [106, 107].

Ирисин является нейропротективным гормоном. Было установлено, что введение 200 мг/кг этого вещества в венозный кровоток через 30 мин после окклюзии средней мозговой артерии в модели ОНМК уменьшило объем инфаркта мозга спустя 3 дня [108]. В другом исследовании [109] было выявлено, что введение 7,5 мг/кг ирисина напрямую в желудочковую систему мозга уменьшило степень выраженности неврологического дефицита, сократило область инфаркта и отек тканей мозга. А также было отмечено влияние ирисина на BDNF в виде стимуляции его выработки и усиления иммунореактивности. Эти явления приводят к усилению нейропротективных

свойств головного мозга и уменьшению зоны апоптоза. Влияние данного гормона все еще нуждается в изучении, но уже сейчас можно сказать, что он очень перспективен как фактор восстановления и протекции нейроглии и астроцитов, которые стоит исследовать как у пациентов в острых и хронических критических состояниях, так и при нейродегенеративных заболеваниях ЦНС.

Метеоринподобный гормон впервые был выявлен как фактор мобилизации жира и экспрессии PGC-1 α 4 (регулятора гипертрофии) в мышцах. Было установлено стимулирующее влияние этого гормона на противовоспалительную функцию макрофагов за счет эозинофилзависимой экспрессии IL-4 [110]. Иммунные клетки ЦНС, включая микроглию и инфильтрирующие макрофаги, изменяют внеклеточную микросреду после повреждений головного мозга [111]. Микроглия и макрофаги M1-типа вырабатывают провоспалительные цитокины, в то время как клетки M2-типа стимулируют выброс противовоспалительных факторов. В работе [61] продемонстрировано, что терапевтическая гипотермия при 33°C в течение четырех часов увеличила соотношение M2/M1-микроглии и лимфоцитов в поврежденной коре после сотрясения головного мозга. Более того, авторами данного исследования показано, что гипотермия увеличивает экспрессию провоспалительных цитокинов, включая IL-10 и TGF- β .

Циркулирующий в крови метеорин активирует противовоспалительные пути макрофагов, приводя к их конверсии в M2-тип.

Белки холодового шока вырабатываются в процессе холодового стресса и стимулируют холодовую адаптацию клеток. Данные белки после появления остаются внутри клетки, и их уровень прогрессивно нарастает при снижении температуры ниже термонейтральной. Терапевтический эффект достигается за счет стимуляции сигнальных путей и приводит к нейропротекции. Нами будут рассмотрены 3 клинически значимых белка холодового шока: РНК-связывающий мотив 3, индуцируемый холодом РНК-связывающий белок и Ретикулон-3.

РНК-связывающий мотив 3 (RBM3) впервые описан в исследовании [112], где было показано, что охлаждение организма при температуре 32°C в течение 24 ч приводит к увеличению уровня RBM3 у млекопитающих. Недавние исследования [113] подтвердили, что гипотермия увеличивает уровень RBM3 в основных нейронах головного мозга. А также было отмечено увеличение содержания информационной РНК (иРНК) RBM3 в клетках мозга после инкубации при 32°C в течение 72 ч.

RBM3 является мощным нейропротектором. У пациентов с болезнью Хантингтона отмечается снижение иРНК RBM3 в клетках, экспрессирующих токсический фрагмент полиглутамина HD-74Q. Показано [114], что введение RBM3 экзогенно приводит к ингибированию HD-74Q и снижает смертность клеток, подверженных действию этого фрагмента.

Были также получены данные, что повышение экспрессии RBM3 в нейронах снижает клеточную смерть, индуцированную оксидом азота [115]. При острых повреждениях головного мозга часто отмечается отложенная смерть нейронов [116, 117]. Выработка RBM3 в опытах *in vitro* и *in vivo* приводила к усилению функции иРНК, что в свою очередь обеспечивало выживаемость подверженных травме нейронов [118, 119] (рис. 4).

Индукцируемый холодом РНК-связывающий белок (CIRBP) впервые был открыт в опытах Н. Nishiyama как один из представителей белков холодового шока [120].

В современных исследованиях *in vitro* и *in vivo* установлено, что под воздействием гипотермии уровень CIRBP повышается в основных нейронах головного мозга. Исследования S. Li с соавт. [121] показали, что снижение температуры коры больших полушарий до 32°C в течение 2 ч приводит к увеличению уровня CIRBP. В последующем M.J. Zhang с соавт. [122] продемонстрировали, что экспозиция нейронов коркового вещества при 32°C в течение 12 ч также приводит к повышению CIRBP. Сходные результаты были получены и при полном охлаждении тела, после которого регистрировалось повышение CIRBP *in vivo*. Индуцированное полное охлаждение организма (31°C) у взрослых крыс в течение 48 ч стимулировало увеличенную выработку CIRBP в гипоталамусе [123]. В другом исследовании было определено увеличение фосфорилирования (активация) защитных киназ pERK и pAKT при выработке CIRBP после гипотермии [124]. Более того, гипотермия повышает выделение протективных белков, включая CIRBP, Bcl-2 и AKT, одновременно снижая выделение белков апоптоза, включая Bax, Bad, Bak, а также каспазы-3, каспазы-9 и Araf1 [125].

Установлены нейропротективные свойства CIRBP в случаях посттравматических повреждений головного мозга [123]. При охлаждении до 31°C в течение 48 ч у крыс после ушиба головного мозга повышался уровень указанного белка в гипоталамусе и оставался повышенным в течение 48 ч. В этой же работе было

установлено снижение уровня апоптоза поврежденных клеток в коре головного мозга, гиппокампе и гипоталамусе.

В исследовании [126] отмечено, что при гипоксии снижается пролиферация клеток, в которых отсутствует холодовой РНК-связывающий белок. CIRBP блокирует смерть данных нейронов. Гипотермия осуществляет их защиту за счет предупреждения апоптоза, снижая функции мишеней апоптозных белков, включая HIF1 α .

Последним представителем белков холодового шока является Ретикулон-3 (RTN3A1), который был впервые описан в 1999 г. E.F. Moreira и соавт. [127]. Авторы [128] показали, что RTN3A1 является белком холодового шока, так как он вырабатывается в нейронах при охлаждении. Данный белок служит модулятором патогенеза болезни Альцгеймера. Предшественник β -амилоида BACE1 стимулирует процессинг белка APP (amyloid precursor protein) — предшественника белка-амилоида — в β -амилоид, который образует синильные бляшки в головном мозге [129]. Ингибирование BACE1 является одним из вероятных вариантов лечения болезни Альцгеймера, а RTN3A1 ингибирует BACE1 за счет двух механизмов: первый — ингибирование аксонального транспорта белка BACE1 в синапсы, что ухудшает его взаимодействие с APP, снижая формирование синильных бляшек; второй — снижение количества нейротоксичных фрагментов (A β 1–40 и A β 1–42) в коре больших полушарий [130].

Заключение

Терапевтическая гипотермия является мощным нейропротекторным методом, который воздействует на головной мозг за счет различных механизмов. Стимулируя выработку белков теплового шока, этот метод формирует устойчивость нейронов к стрессу и в свою очередь стимулирует клетки-предшественники, которые восполняют и замещают погибшие нервные клетки. За счет стимуляции выработки нестина терапевтическая гипотермия генерирует дифференцировку клеток нервной и астроцитарной линий. Использование данного метода способно лимитировать или предотвратить развитие ишемии при отсутствии кровотока в головном мозге за счет снижения потребления АТФ и необходимости в обеспечении кислородом нужных для жизнедеятельности тканей. Гормоны и белки холодового шока, которые вырабатываются в процессе гипотермии, оказывают противовоспалительные, нейропротективные и стимулирующие эффекты на клетки головного мозга, что позволяет считать их одним из важнейших механизмов, которые запускает терапевтическая гипотермия.

Исследования последних десятилетий дают нам возможность еще раз убедиться в обширности доказанных эффектов, получаемых при терапевтической гипотермии, и в то же время оставляют огромное

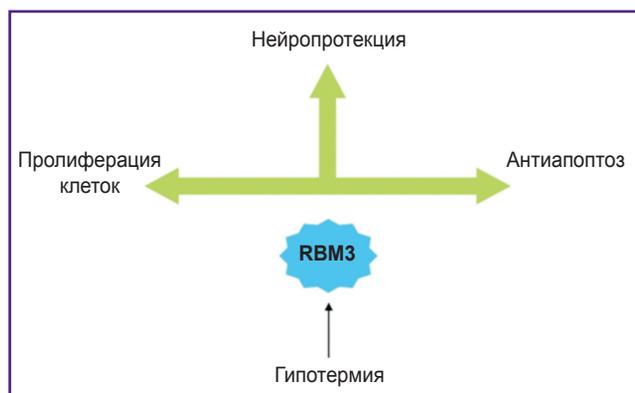


Рис. 4. Основные функции белка RBM3

поле для открытия новых возможностей этого метода, проявляемых на молекулярном уровне. Необходимо активно изучать, развивать и применять терапевтическую гипотермию в лечении больных в острых и хронических критических состояниях.

Вклад авторов: Э.Ш. Усманов — анализ литературы, разработка идеи и структуры статьи, написание текста; М.А. Чубарова — разработка структуры статьи и редактирование текста; Ш.Х. Саидов — разработка идеи и концепции статьи, подбор литературы.

Финансирование исследования и конфликт интересов. Исследование не финансировалось какими-либо источниками, и конфликты интересов, связанные с данным исследованием, отсутствуют.

Литература/References

1. Jones W.H.S., Withington E.T. (translators). *Hippocrates. De Vetere Medicina*. Loeb Classical Library; 460–375 BC.
2. Dzieciol M., Kacprzak M., Goleniewska B., Zielińska M. Osborn wave in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing mild hypothermia after cardiac arrest. *Acta Cardiol* 2014; 69(5): 532–540, <https://doi.org/10.2143/AC.69.5.3044880>.
3. Dell'Anna A.M., Taccone F.S., Halenarova K., Citerio G. Sedation after cardiac arrest and during therapeutic hypothermia. *Minerva Anesthesiol* 2014; 80(8): 954–962.
4. Phelps C. *Principles of treatment*. In: *Traumatic injuries of the brain and its membranes*. New York: D. Appleton and Co.; 1897.
5. Karnatovskaia L.V., Wartenberg K.E., Freeman W.D. Therapeutic hypothermia for neuroprotection: history, mechanisms, risks and clinical applications. *Neurohospitalist* 2014; 4(3): 153–163, <https://doi.org/10.1177/1941874413519802>.
6. Jackson T.C., Kochanek P.M. A new vision for therapeutic hypothermia in the era of targeted temperature management: a speculative synthesis. *Ther Hypothermia Temp Manag* 2019; 9(1): 13–47, <https://doi.org/10.1089/ther.2019.0001>.
7. Martinello K., Hart A.R., Yap S., Mitra S., Robertson N.J. Management and investigation of neonatal encephalopathy: 2017 update. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2017; 102(4): F346–F358, <https://doi.org/10.1136/archdischild-2015-309639>.
8. Nielsen N., Wetterslev J., Cronberg T., Erlinge D., Gasche Y., Hassager C., Horn J., Hovdenes J., Kjaergaard J., Kuiper M., Pellis T., Stament P., Wanscher M., Wise M.P., Åneman A., Al-Subaie N., Boesgaard S., Bro-Jeppesen J., Brunetti I., Bugge J.F., Hingston C.D., Juffermans N.P., Koopmans M., Køber L., Langørgen J., Lilja G., Møller J.E., Rundgren M., Rylander C., Smid O., Werer C., Winkel P., Friberg H.; TTM Trial Investigators. Targeted temperature management at 33°C versus 36°C after cardiac arrest. *N Engl J Med* 2013; 369(23): 2197–2206, <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1310519>.
9. Kuroda Y., Kawakita K. Targeted temperature management for postcardiac arrest syndrome. *J Neurocrit Care* 2020; 13(1): 1–18, <https://doi.org/10.18700/jnc.200001>.
10. Callaway C.W., Donnino M.W., Fink E.L., Geocadin R.G., Golan E., Kern K.B., Leary M., Meurer W.J., Peberdy M.A., Thompson T.M., Zimmerman J.L. Part 8: post-cardiac arrest care: American Heart Association guidelines update for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care. *Circulation* 2015; 132(18 Suppl 2): S465–S482, <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000262>.
11. Hanel R.A., Spetzler R.F. Surgical treatment of complex intracranial aneurysms. *Neurosurgery* 2008; 62(6 Suppl 3): 1289–1297, <https://doi.org/10.1227/01.neu.0000333794.13844.d9>.
12. Tian D.H., Wan B., Bannon P.G., Misfeld M., LeMaire S.A., Kazui T., Kouchoukos N.T., Elefteriades J.A., Bavaria J., Coselli J.S., Greipp R.B., Mohr F.W., Oo A., Svensson L.G., Hughes G.C., Yan T.D. A meta-analysis of deep hypothermic circulatory arrest versus moderate hypothermic circulatory arrest with selective antegrade cerebral perfusion. *Ann Cardiothorac Surg* 2013; 2(2): 148–158, <https://doi.org/10.3978/j.issn.2225-319X.2013.03.13>.
13. Шевелев О.А., Гречко А.В., Петрова М.В. *Терапевтическая гипотермия*. М: РУДН; 2019.
Shevelev O.A., Grechko A.V., Petrova M.V. *Terapevticheskaya gipotermiya* [Therapeutic hypothermia]. Moscow: RUDN; 2019.
14. Phadtare S., Alsina J., Inouye M. Cold-shock response and cold-shock proteins. *Curr Opin Microbiol* 1999; 2(2): 175–180, [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(99\)80031-9](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(99)80031-9).
15. Jinka T.R., Tøien O., Drew K.L. Season primes the brain in an arctic hibernator to facilitate entrance into torpor mediated by adenosine A₁ receptors. *J Neurosci* 2011; 31: 10752–10758, <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1240-11.2011>.
16. Leonov Y., Sterz F., Safar P., Radovsky A., Oku K., Tisherman S., Stezoski S.W. Mild cerebral hypothermia during and after cardiac arrest improves neurologic outcome in dogs. *J Cereb Blood Flow Metab* 1990; 10(1): 57–70, <https://doi.org/10.1038/jcbfm.1990.8>.
17. Ridenour T.R., Warner D.S., Todd M.M., McAllister A.C. Mild hypothermia reduces infarct size resulting from temporary but not permanent focal ischemia in rats. *Stroke* 1992; 23(5): 733–738, <https://doi.org/10.1161/01.str.23.5.733>.
18. Hakim S.M., Ammar M.A., Reyad M.S. Effect of therapeutic hypothermia on survival and neurological outcome in adults suffering cardiac arrest: a systematic review and meta-analysis. *Minerva Anesthesiol* 2018; 84(6): 720–730, <https://doi.org/10.23736/S0375-9393.18.12164-X>.
19. Yum S.K., Seo Y.M., Kwun Y., Moon C.J., Youn Y.A., Sung I.K. Therapeutic hypothermia in infants with hypoxic-ischemic encephalopathy and reversible persistent pulmonary hypertension: short-term hospital outcomes. *Matern Fetal Neonatal Med* 2018; 31(23): 3108–3114, <https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1365123>.
20. Leng L. Hypothermia therapy after traumatic brain injury: a systematic review and meta-analysis. *Turk Neurosurg* 2017, <https://doi.org/10.5137/1019-5149.JTN.19696-16.2>.
21. Bernal A., Arranz L. Nestin-expressing progenitor cells: function, identity and therapeutic implications. *Cell Mol Life Sci* 2018; 75(12): 2177–2195, <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2794-z>.
22. Mignone J.L., Kukekov V., Chiang A.S., Steindler D., Enikolopov G. Neural stem and progenitor cells in nestin-GFP transgenic mice. *Comp Neurol* 2004; 469(3): 311–324, <https://doi.org/10.1002/cne.10964>.
23. *Tubulin beta 3 class III*. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/10381>.
24. Kaufmann A.M., Firlik A.D., Fukui M.B., Wechsler L.R., Jungries C.A., Yonas H. Ischemic core and penumbra in human stroke. *Stroke* 1999; 30(1): 93–99, <https://doi.org/10.1161/01.str.30.1.93>.

25. Coles J.P., Fryer T.D., Smielewski P., Chatfield D.A., Steiner L.A. Incidence and mechanisms of cerebral ischemia in early clinical head injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 2004; 24(2): 202–211, <https://doi.org/10.1097/01.WCB.0000103022.98348.24>.
26. Iordanova B., Li L., Clark R.S.B., Manole M.D. Alterations in cerebral blood flow after resuscitation from cardiac arrest. *Front Pediatr* 2017; 5: 174, <https://doi.org/10.3389/fped.2017.00174>.
27. Edgar A., Bering J. Effect of body temperature change on cerebral oxygen consumption of the intact monkey. *Am J Physiol* 1961; 200: 417–419, <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1961.200.3.417>.
28. Steen P.A., Newberg L., Milde J.H., Michenfelder J.D. Hypothermia and barbiturates: individual and combined effects on canine cerebral oxygen consumption. *Anesthesiology* 1983; 58(6): 527–532.
29. Metz C., Holzschuh M., Bein T., Woertgen C., Frey A., Frey I., Taeger K., Brawanski A. Moderate hypothermia in patients with severe head injury: cerebral and extracerebral effects. *J Neurosurg* 1996; 85(4): 533–541, <https://doi.org/10.3171/jns.1996.85.4.0533>.
30. Kohen R., Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol* 2002; 30(6): 620–650, <https://doi.org/10.1080/01926230290166724>.
31. Lei B., Adachi N., Arai T. The effect of hypothermia on H₂O₂ production during ischemia and reperfusion: a microdialysis study in the gerbil hippocampus. *Neurosci Lett* 1997; 222(2): 91–94, [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(97\)13349-3](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(97)13349-3).
32. Globus M.Y., Alonso O., Dietrich W.D., Busto R., Ginsberg M.D. Glutamate release and free radical production following brain injury: effects of posttraumatic hypothermia. *J Neurochem* 1995; 65(4): 1704–1711, <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1995.65041704.x>.
33. Chatzipanteli K., Wada K., Busto R., Dietrich W.D. Effects of moderate hypothermia on constitutive and inducible nitric oxide synthase activities after traumatic brain injury in the rat. *J Neurochem* 1999; 72(5): 2047–2052, <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1999.0722047.x>.
34. Bayir H., Adelson P.D., Wisniewski S.R., Shore P., Lai Y., Brown D., Janesko-Feldman K.L., Kagan V.E., Kochanek P.M. Therapeutic hypothermia preserves antioxidant defenses after severe traumatic brain injury in infants and children. *Crit Care Med* 2009; 37(2): 689–695, <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e318194abf2>.
35. Hackenhaar F.S., Medeiros T.M., Heemann F.M., Behling C.S., Putti J.S., Mahl C.D., Verona C., da Silva A.C.A., Guerra M.C., Gonçalves C.A.S., Oliveira V.M., Riveiro D.F.M., Vieira S.R.R., Benfato M.S. Therapeutic hypothermia reduces oxidative damage and alters antioxidant defenses after cardiac arrest. *Oxid Med Cell Longev* 2017; 2017: 8704352, <https://doi.org/10.1155/2017/8704352>.
36. Chamoun R., Suki D., Gopinath S.P., Goodman J.C., Robertson C. Role of extracellular glutamate measured by cerebral microdialysis in severe traumatic brain injury. *J Neurosurg* 2010; 113(3): 564–570, <https://doi.org/10.3171/2009.12.JNS09689>.
37. Schober A., Warenits A.M., Testori C., Weihs W., Hosmann A., Högl S., Sterz F., Janata A., Scherer T., Magnet I.A., Ettl F., Laggner A.N., Herkner H., Zeitlinger M. Microdialysis assessment of cerebral perfusion during cardiac arrest, extracorporeal life support and cardiopulmonary resuscitation in rats — a pilot trial. *PLoS One* 2016; 11(5): e0155303, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155303>.
38. Goux E., Lévillé F., Nicole O., Melon C., Aissouni L., Buisson A. Reverse glial glutamate uptake triggers neuronal cell death through extrasynaptic NMDA receptor activation. *Mol Cell Neurosci* 2009; 40(4): 463–473, <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2009.01.002>.
39. Hardingham G.E., Fukunaga Y., Bading H. Extrasynaptic NMDARs oppose synaptic NMDARs by triggering CREB shut-off and cell death pathways. *Nat Neurosci* 2002; 5(5): 405–414, <https://doi.org/10.1038/nn835>.
40. Suehiro E., Fujisawa H., Ito H., Ishikawa T., Maekawa T. Brain temperature modifies glutamate neurotoxicity in vivo. *J Neurotrauma* 1999; 16(4): 285–297, <https://doi.org/10.1089/neu.1999.16.285>.
41. Mitani A., Kataoka K. Critical levels of extracellular glutamate mediating gerbil hippocampal delayed neuronal death during hypothermia: brain microdialysis study. *Neuroscience* 1991; 42(3): 661–670, [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(91\)90035-m](https://doi.org/10.1016/0306-4522(91)90035-m).
42. Campos F., Pérez-Mato M., Agulla J., Blanco M., Barral D., Almeida A., Brea D., Waeber C., Castillo J., Ramos-Cabrer P. Glutamate excitotoxicity is the key molecular mechanism which is influenced by body temperature during the acute phase of brain stroke. *PLoS One* 2012; 7(8): e44191, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044191>.
43. Shuaib A., Kanthan R., Goplen G., Griebel R., el-Azzouni H., Miyashita H., Liu L., Hogan T. In-vivo microdialysis study of extracellular glutamate response to temperature variance in subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl* 1996; 67: 53–58, https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6894-3_12.
44. Schubert G.A., Poli S., Mendelowitsch A., Schilling L., Thomé C. Hypothermia reduces early hypoperfusion and metabolic alterations during the acute phase of massive subarachnoid hemorrhage: a laser-Doppler-flowmetry and microdialysis study in rats. *Neurotrauma* 2008; 25(5): 539–548, <https://doi.org/10.1089/neu.2007.0500>.
45. Irazuzta J.E., Zingarelli B., Milam K., Kiefaber M., Kamdar T. Hypothermia attenuates inflammation in bacterial meningitis. *Pediatr Res* 1999; 45: 41a, <https://doi.org/10.1203/00006450-199904020-00250>.
46. Frugier T., Morganti-Kossmann M.C., O'Reilly D., McLean C.A. In situ detection of inflammatory mediators in post mortem human brain tissue after traumatic injury. *Neurotrauma* 2010; 27(3): 497–507, <https://doi.org/10.1089/neu.2009.1120>.
47. Ansari M.A. Temporal profile of M1 and M2 responses in the hippocampus following early 24 h of neurotrauma. *J Neurol Sci* 2015; 357(1–2): 41–49, <https://doi.org/10.1016/j.jns.2015.06.062>.
48. Garcia J.H., Liu K.F., Yoshida Y., Lian J., Chen S., del Zoppo G.J. Influx of leukocytes and platelets in an evolving brain infarct (Wistar rat). *Am J Pathol* 1994; 144(1): 188–199.
49. Price C.J., Menon D.K., Peters A.M., Ballinger J.R., Barber R.W. Cerebral neutrophil recruitment, histology, and outcome in acute ischemic stroke: an imaging-based study. *Stroke* 2004; 35(7): 1659–1664, <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000130592.71028.92>.
50. Harting M.T., Jimenez F., Adams S.D., Mercer D.W., Cox C.S. Jr. Acute, regional inflammatory response after traumatic brain injury: implications for cellular therapy. *Surgery* 2008; 144(5): 803–813, <https://doi.org/10.1016/j.surg.2008.05.017>.

51. Boddaert J., Bielen K., Jongers B., Manocha E., Yperzeele L., Cras P., Pirici D., Kumar-Singh S. CD8 signaling in microglia/macrophage M1 polarization in a rat model of cerebral ischemia. *PLoS One* 2018; 13(1): e0186937, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186937>.
52. Loane D.J., Kumar A. Microglia in the TBI brain: the good, the bad, and the dysregulated. *Exp Neurol* 2016; 275(Pt 3): 316–327, <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.08.018>.
53. Truettner J.S., Bramlett H.M., Dietrich W.D. Posttraumatic therapeutic hypothermia alters microglial and macrophage polarization toward a beneficial phenotype. *J Cereb Blood Flow Metab* 2017; 37(8): 2952–2962, <https://doi.org/10.1177/0271678X16680003>.
54. Liu L.Q., Liu X.R., Zhao J.Y., Yan F., Wang R.L., Wen S.H., Wang L., Luo Y.M., Ji X.M. Brain-selective mild hypothermia promotes long-term white matter integrity after ischemic stroke in mice. *CNS Neurosci Ther* 2018; 24(12): 1275–1285, <https://doi.org/10.1111/cns.13061>.
55. Sweeney M.D., Zhao Z., Montagne A., Nelson A.R., Zlokovic B.V. Blood-brain barrier: from physiology to disease and back. *Physiol Rev* 2019; 99(1): 21–78, <https://doi.org/10.1152/physrev.00050.2017>.
56. Wennberg R.P., Hance A.J. Experimental bilirubin encephalopathy: importance of total bilirubin, protein binding, and blood-brain barrier. *Pediatr Res* 1986; 20(8): 789–792, <https://doi.org/10.1203/00006450-198608000-00018>.
57. Kristensson K. Microbes' roadmap to neurons. *Nat Rev Neurosci* 2011; 12(6): 345–357, <https://doi.org/10.1038/nrn3029>.
58. Rifkind J.M., Mohanty J.G., Nagababu E. The pathophysiology of extracellular hemoglobin associated with enhanced oxidative reactions. *Front Physiol* 2014; 5: 500, <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00500>.
59. Smith S.L., Hall E.D. Mild pre- and posttraumatic hypothermia attenuates blood-brain barrier damage following controlled cortical impact injury in the rat. *Neurotrauma* 1996; 13(1): 1–9, <https://doi.org/10.1089/neu.1996.13.1>.
60. Lotocki G., Vaccari J.P.D., Perez E.R., Sanchez-Molano J., Furones-Alonso O., Bramlett H.M., Dietrich W.D. Alterations in blood-brain barrier permeability to large and small molecules and leukocyte accumulation after traumatic brain injury: effects of post-traumatic hypothermia. *Neurotrauma* 2009; 26(7): 1123–1134, <https://doi.org/10.1089/neu.2008.0802>.
61. Tang X.N., Liu L., Koike M.A., Yenari M.A. Mild hypothermia reduces tissue plasminogen activator-related hemorrhage and blood brain barrier disruption after experimental stroke. *Ther Hypothermia Temp Manag* 2013; 3(2): 74–83, <https://doi.org/10.1089/ther.2013.0010>.
62. Liu Y.C., Lee Y.D., Wang H.L., Liao K.H., Chen K.B., Poon K.S., Pan Y.L., Lai T.W. Anesthesia-induced hypothermia attenuates early-phase blood-brain barrier disruption but not infarct volume following cerebral ischemia. *PLoS One* 2017; 12(1): e0170682, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170682>.
63. Irazuzta J.E., Pretzlaff R., Rowin M., Milam K., Zemlan F.P., Zingarelli B. Hypothermia as an adjunctive treatment for severe bacterial meningitis. *Brain Res* 2000; 881(1): 88–97, [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)02894-8](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)02894-8).
64. Song F., Guo C., Geng Y., Wu X., Fan W. Therapeutic time window and regulation of autophagy by mild hypothermia after intracerebral hemorrhage in rats. *Brain Res* 2018; 1690: 12–22, <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.04.005>.
65. Lee J.E., Yoon Y.J., Moseley M.E., Yenari M.A. Reduction in levels of matrix metalloproteinases and increased expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in response to mild hypothermia therapy in experimental stroke. *J Neurosurg* 2005; 103(2): 289–297, <https://doi.org/10.3171/jns.2005.103.2.0289>.
66. Li J., Li C., Yuan W., Wu J., Zhao Y. Mild hypothermia alleviates brain oedema and blood-brain barrier disruption by attenuating tight junction and adherens junction breakdown in a swine model of cardiopulmonary resuscitation. *PLoS One* 2017; 12(3): e0174596, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174596>.
67. Choi J.S., Park J., Suk K., Moon C., Park Y.K., Han H.S. Mild hypothermia attenuates intercellular adhesion molecule-1 induction via activation of extracellular signal-regulated kinase-1/2 in a focal cerebral ischemia model. *Stroke Res Treat* 2011; 2011: 846716, <https://doi.org/10.4061/2011/846716>.
68. Edwards A.D., Yue X., Squier M.V., Thoresen M., Cady E.B., Penrice J., Cooper C.E., Wyatt J.S., Reynolds E.O., Mehmet H. Specific inhibition of apoptosis after cerebral hypoxia-ischaemia by moderate post-insult hypothermia. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 217(3): 1193–1199, <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.2895>.
69. Eroğlu O., Deniz T., Kisa Ü., Atasoy P., Aydinuraz K. Effect of hypothermia on apoptosis in traumatic brain injury and hemorrhagic shock model. *Injury* 2017; 48(12): 2675–2682, <https://doi.org/10.1016/j.injury.2017.09.032>.
70. Liebetrau M., Burggraf D., Martens H.K., Pichler M., Hamann G.F. Delayed moderate hypothermia reduces calpain activity and breakdown of its substrate in experimental focal cerebral ischemia in rats. *Neurosci Lett* 2004; 357(1): 17–20, <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2003.12.031>.
71. Lu J., Qian H.Y., Liu L.J., Zhou B.C., Xiao Y., Mao J.N., An G.Y., Rui M.Z., Wang T., Zhu C.L. Mild hypothermia alleviates excessive autophagy and mitophagy in a rat model of asphyxial cardiac arrest. *Neurosci Sci* 2014; 35(11): 1691–1699, <https://doi.org/10.1007/s10072-014-1813-6>.
72. Liu T., Zhao D.X., Cui H., Chen L., Bao Y.H., Wang Y., Jiang J.Y. Therapeutic hypothermia attenuates tissue damage and cytokine expression after traumatic brain injury by inhibiting necroptosis in the rat. *Sci Rep* 2016; 6: 24547, <https://doi.org/10.1038/srep24547>.
73. Tomura S., de Rivero Vaccari J.P., Keane R.W., Bramlett H.M., Dietrich W.D. Effects of therapeutic hypothermia on inflammasome signaling after traumatic brain injury. *Cereb Blood Flow Metab* 2012; 32(10): 1939–1947, <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.99>.
74. Zhou M., Wang P., Yang Z., Wu H., Huan Z. Spontaneous hypothermia ameliorated inflammation and neurologic deficit in rat cardiac arrest models following resuscitation. *Mol Med Rep* 2018; 17(2): 2127–2136, <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.8113>.
75. Ellis R.J. The molecular chaperone concept. *Semin Cell Biol* 1990; 1(1): 1–9.
76. Hartl F.U. Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature* 1996; 381(6583): 571–580, <https://doi.org/10.1038/381571a0>.
77. Giffard R.G., Xu L., Zhao H., Carrico W., Ouyang Y., Qiao Y., Sapolsky R., Steinberg G., Hu B., Yenari M.A. Chaperones, protein aggregation, and brain protection from hypoxic/ischemic injury. *J Exp Biol* 2004; 207(Pt 18): 3213–3220, <https://doi.org/10.1242/jeb.01034>.
78. Beere H.M. "The stress of dying": the role of heat shock proteins in the regulation of apoptosis. *J Cell Sci* 2004; 117(Pt 13): 2641–2651, <https://doi.org/10.1242/jcs.01284>.
79. Muchowski P.J., Wacker J.L. Modulation of neurodegeneration by molecular chaperones. *Nat Rev Neurosci* 2005; 6(1): 11–22, <https://doi.org/10.1038/nrn1587>.

80. Voellmy R. On mechanisms that control heat shock transcription factor activity in metazoan cells. *Cell Stress Chaperones* 2004; 9(2): 122–133, <https://doi.org/10.1379/csc-14r.1>.
81. Fernandez-Funez P., Rincon-Limas D.E. Launching Hsp70 neuroprotection: two drugs better than one. *Cell Cycle* 2014; 13(11): 1657–1658, <https://doi.org/10.4161/cc.29148>.
82. Yenari M.A. Heat shock proteins and neuroprotection. *Adv Exp Med Biol* 2002; 513: 281–299, https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0123-7_10.
83. Calderwood S.K., Mambula S.S., Gray P.J. Jr., Theriault J.R. Extracellular heat shock proteins in cell signaling. *FEBS Lett* 2007; 581(19): 3689–3694, <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.04.044>.
84. Sharma H.S. Hyperthermia induced brain oedema: current status and future perspectives. *Indian J Med Res* 2006; 123(5): 629–652.
85. Vishwakarma S.K., Paspala S.A.B., Tiwari S.K., Khan A. ATP-binding cassette (ABC) transporters as emerging targets in modulation of neural stem cell behavior in neurodegenerative diseases and cell therapy benefits. *JCMR* 2014; 6(1): 44–49, <https://doi.org/10.22067/jcmr.v6i1.30375>.
86. Mrozek S., Vardon F., Geeraerts T. Brain temperature: physiology and pathophysiology after brain injury. *Anesthesiol Res Pract* 2012; 2012: 989487, <https://doi.org/10.1155/2012/989487>.
87. Ornitz D.M., Itoh N. The fibroblast growth factor signaling pathway. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol* 2015; 4(3): 215–266, <https://doi.org/10.1002/wdev.176>.
88. Thompson L.D., Pantoliano M.W., Springer B.A. Energetic characterization of the basic fibroblast growth factor-heparin interaction: identification of the heparin binding domain. *Biochemistry* 1994; 33(13): 3831–3840, <https://doi.org/10.1021/bi00179a006>.
89. Itoh N., Ornitz D.M. Functional evolutionary history of the mouse Fgf gene family. *Dev Dyn* 2008; 237(1): 18–27, <https://doi.org/10.1002/dvdy.21388>.
90. Chen G.Z., Liu Y., Goetz R., Fu L.L., Jayaraman S., Hu M.C., Moe O.W., Liang G., Li X., Mohammadi M. α -Klotho is a nonenzymatic molecular scaffold for FGF23 hormone signalling. *Nature* 2018; 553(7689): 461–466, <https://doi.org/10.1038/nature25451>.
91. Lee S., Choi J., Mohanty J., Sousa L.P., Tome F., Pardon E., Steyaert J., Lemmon M.A., Lax I., Schlessinger J. Structures of β -klotho reveal a 'zip code'-like mechanism for endocrine FGF signalling. *Nature* 2018; 553(7689): 501–505, <https://doi.org/10.1038/nature25010>.
92. Kurosu H., Choi M., Ogawa Y., Dickson A.S., Goetz R., Eliseenkova A.V., Mohammadi M., Rosenblatt K.P., Klierer S.A., Kuro-o M. Tissue-specific expression of β Klotho and fibroblast growth factor (FGF) receptor isoforms determines metabolic activity of FGF19 and FGF21. *Biol Chem* 2007; 282(37): 26687–26695, <https://doi.org/10.1074/jbc.M704165200>.
93. Adams A.C., Cheng C.C., Coskun T., Kharitonov A. FGF21 requires β klotho to act in vivo. *PLoS One* 2012; 7(11): e49977, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049977>.
94. Tacer K.F., Bookout A.L., Ding X.S., Kurosu H., John G.B., Wang L., Goetz R., Mohammadi M., Kuro-o M., Mangelsdorf D.J., Klierer S.A. Research resource: comprehensive expression atlas of the fibroblast growth factor system in adult mouse. *Mol Endocrinol* 2010; 24(10): 2050–2064, <https://doi.org/10.1210/me.2010-0142>.
95. Bookout A.L., de Groot M.H.M., Owen B.M., Lee S., Gautron L., Lawrence H.L., Ding X.S., Elmquist J.K., Takahashi J.S., Mangelsdorf D.J., Klierer S.A. FGF21 regulates metabolism and circadian behavior by acting on the nervous system. *Nat Med* 2013; 19(9): 1147–1152, <https://doi.org/10.1038/nm.3249>.
96. Lee P., Brychta R.J., Linderman J., Smith S., Chen K.Y., Celi F.S. Mild cold exposure modulates fibroblast growth factor 21 (FGF21) diurnal rhythm in humans: relationship between FGF21 levels, lipolysis, and cold-induced thermogenesis. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98(1): E98–E102, <https://doi.org/10.1210/jc.2012-3107>.
97. Leng Y., Wang Z., Tsai L.K., Leeds P., Fessler E.B., Wang J., Chuang D.M. FGF-21, a novel metabolic regulator, has a robust neuroprotective role and is markedly elevated in neurons by mood stabilizers. *Mol Psychiatr* 2015; 20(2): 215–223, <https://doi.org/10.1038/mp.2013.192>.
98. Kuroda M., Muramatsu R., Maedera N., Koyama Y., Hamaguchi M., Fujimura H., Yoshida M., Konishi M., Itoh N., Mochizuki H., Yamashita T. Peripherally derived FGF21 promotes remyelination in the central nervous system. *J Clin Invest* 2017; 127(9): 3496–3509, <https://doi.org/10.1172/JCI94337>.
99. Amiri M., Braid N., Aminzadeh M. Protective effects of fibroblast growth factor 21 against amyloid-beta₁₋₄₂-induced toxicity in SH-SY5Y cells. *Neurotox Res* 2018; 34(3): 574–583, <https://doi.org/10.1007/s12640-018-9914-2>.
100. Chen J., Hu J., Liu H., Xiong Y., Zou Y.C., Huang W.T., Shao M.J., Wu J.M., Yu L., Wang X.J., Wang X., Lin L. FGF21 protects the blood-brain barrier by upregulating PPAR γ via FGFR1/ β -klotho after traumatic brain injury. *Neurotrauma* 2018; 35(17): 2091–2103, <https://doi.org/10.1089/neu.2017.5271>.
101. Jiang Y., Liu N., Wang Q., Yu Z., Lin L., Yuan J., Guo S., Ahn B.J., Wang X.J., Li X., Lo E.H., Sun X., Wang X. Endocrine regulator rFGF21 (recombinant human fibroblast growth factor 21) improves neurological outcomes following focal ischemic stroke of type 2 diabetes mellitus male mice. *Stroke* 2018; 49(12): 3039–3049, <https://doi.org/10.1161/strokeaha.118.022119>.
102. Restelli L.M., Oettinghaus B., Halliday M., Agca C., Licci M., Sironi L., Savoia C., Hench J., Tolnay M., Neutzner A., Schmidt A., Eckert A., Mallucci G., Scorrano L., Frank S. Neuronal mitochondrial dysfunction activates the integrated stress response to induce fibroblast growth factor 21. *Cell Rep* 2018; 24(6): 1407–1414, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.07.023>.
103. Ruderman N.B., Ross P.S., Berger M., Goodman M.N. Regulation of glucose and ketone-body metabolism in brain of anaesthetized rats. *Biochem J* 1974; 138(1): 1–10, <https://doi.org/10.1042/bj1380001>.
104. Kwon M.M., O'Dwyer S.M., Baker R.K., Covey S.D., Kieffer T.J. FGF21-mediated improvements in glucose clearance require uncoupling protein 1. *Cell Rep* 2015; 13(8): 1521–1527, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.10.021>.
105. Kharitonov A., Wroblewski V.J., Koester A., Chen Y.F., Clutinger C.K., Tigno X.T., Hansen B.C., Shanafelt A.B., Etgen G.J. The metabolic state of diabetic monkeys is regulated by fibroblast growth factor-21. *Endocrinology* 2007; 148(2): 774–781, <https://doi.org/10.1210/en.2006-1168>.
106. Bostrom P., Wu J., Jedrychowski M.P., Korde A., Ye L., Lo J.C., Rasbach K.A., Bostrom E.A., Choi J.H., Long J.Z., Kajimura S., Zingaretti M.C., Vind B.F., Tu H., Cinti S., Hojlund K., Gygi S.P., Spiegelman B.M. A PGC1- α -dependent

- myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012; 481(7382): 463–468, <https://doi.org/10.1038/nature10777>.
- 107.** Lee P., Linderman J.D., Smith S., Brychta R.J., Wang J., Idelson C., Perron R.M., Werner C.D., Phan G.Q., Kammula U.S., Kebebew E., Pacak K., Chen K.Y., Celi F.S. Irisin and FGF21 are cold-induced endocrine activators of brown fat function in humans. *Cell Metab* 2014; 19(2): 302–309, <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.12.017>.
- 108.** Li D.J., Li Y.H., Yuan H.B., Qu L.F., Wang P. The novel exercise-induced hormone irisin protects against neuronal injury via activation of the Akt and ERK1/2 signaling pathways and contributes to the neuroprotection of physical exercise in cerebral ischemia. *Metabolism* 2017; 68: 31–42, <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2016.12.003>.
- 109.** Asadi Y., Gorjipour F., Behrouzifar S., Vakili A. Irisin peptide protects brain against ischemic injury through reducing apoptosis and enhancing BDNF in a rodent model of stroke. *Neurochem Res* 2018; 43(8): 1549–1560, <https://doi.org/10.1007/s11064-018-2569-9>.
- 110.** Rao R.R., Long J.Z., White J.P., Svensson K.J., Lou J., Lokurkar I., Jedrychowski M.P., Ruas J.L., Wrann C.D., Lo J.C., Camera D.M., Lachey J., Gygi S., Seehra J., Hawley J.A., Spiegelman B.M. Meteorin-like is a hormone that regulates immune-adipose interactions to increase beige fat thermogenesis. *Cell* 2014; 157(6): 1279–1291, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.065>.
- 111.** Lan X., Han X., Li Q., Yang Q.W., Wang J. Modulators of microglial activation and polarization after intracerebral haemorrhage. *Nat Rev Neurol* 2017; 13(7): 420–433, <https://doi.org/10.1038/nrneuro.2017.69>.
- 112.** Danno S., Itoh K., Matsuda T., Fujita J. Decreased expression of mouse Rbm3, a cold-shock protein, in Sertoli cells of cryptorchid testis. *Am J Pathol* 2000; 156(5): 1685–1692, [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65039-0](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65039-0).
- 113.** Chip S., Zelmer A., Ogunshola O.O., Felderhoff-Mueser U., Nitsch C., Buhner C., Wellmann S. The RNA-binding protein RBM3 is involved in hypothermia induced neuroprotection. *Neurobiol Dis* 2011; 43(2): 388–396, <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.04.010>.
- 114.** Kita H., Carmichael J., Swartz J., Muro S., Wyttenbach A., Matsubara K., Rubinsztein D.C., Kato K. Modulation of polyglutamine-induced cell death by genes identified by expression profiling. *Hum Mol Genet* 2002; 11(19): 2279–2287, <https://doi.org/10.1093/hmg/11.19.2279>.
- 115.** Yang H.J., Ju F., Guo X.X., Ma S.P., Wang L., Cheng B.F., Zhuang R.J., Zhang B.B., Shi X., Feng Z.W., Wang M. RNA-binding protein RBM3 prevents NO-induced apoptosis in human neuroblastoma cells by modulating p38 signaling and miR-143. *Sci Rep* 2017; 7: 41738, <https://doi.org/10.1038/srep41738>.
- 116.** Neumar R.W., DeGracia D.J., Konkoly L.L., Khoury J.I., White B.C., Krause G.S. Calpain mediates eukaryotic initiation factor 4G degradation during global brain ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998; 18(8): 876–881, <https://doi.org/10.1097/00004647-199808000-00007>.
- 117.** de la Vega C.M., Burda J., Nemethova M., Quevedo C., Alcázar A., Martín M.E., Danielisova V., Fando J.L., Salinas M. Possible mechanisms involved in the down-regulation of translation during transient global ischaemia in the rat brain. *Biochem J* 2001; 357(Pt 3): 819–826, <https://doi.org/10.1042/0264-6021:3570819>.
- 118.** Pilotte J., Dupont-Versteegden E.E., Vanderklish P.W. Widespread regulation of miRNA biogenesis at the Dicer step by the cold-inducible RNA-binding protein, RBM3. *PLoS One* 2011; 6(12): e28446, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028446>.
- 119.** Peretti D., Bastide A., Radford H., Verity N., Molloy C., Martin M.G., Moreno J.A., Steinert J.R., Smith T., Dinsdale D., Willis A.E., Mallucci G.R. RBM3 mediates structural plasticity and protective effects of cooling in neurodegeneration. *Nature* 2015; 518(7538): 236–239, <https://doi.org/10.1038/nature14142>.
- 120.** Nishiyama H., Itoh K., Kaneko Y., Kishishita M., Yoshida O., Fujita J. A glycine-rich RNA-binding protein mediating cold-inducible suppression of mammalian cell growth. *J Cell Biol* 1997; 137(4): 899–908, <https://doi.org/10.1083/jcb.137.4.899>.
- 121.** Li S., Zhang Z., Xue J., Liu A., Zhang H. Cold-inducible RNA binding protein inhibits H₂O₂-induced apoptosis in rat cortical neurons. *Brain Res* 2012; 1441: 47–52, <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.12.053>.
- 122.** Zhang M.J., Li W.J., Niu G.M., Leak R.K., Chen J., Zhang F. ATP induces mild hypothermia in rats but has a strikingly detrimental impact on focal cerebral ischemia. *Cereb Blood Flow Metab* 2013; 33(1): e1–e10, <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.146>.
- 123.** Wang G., Zhang J.N., Guo J.K., Cai Y., Sun H.S., Dong K., Wu C.G. Neuroprotective effects of cold-inducible RNA-binding protein during mild hypothermia on traumatic brain injury. *Neural Regen Res* 2016; 11(5): 771–778, <https://doi.org/10.4103/1673-5374.182704>.
- 124.** Liu J., Xue J., Zhang H., Li S., Liu Y., Xu D., Zou M., Zhang Z., Diao J. Cloning, expression, and purification of cold inducible RNA-binding protein and its neuroprotective mechanism of action. *Brain Res* 2015; 1597: 189–195, <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.11.061>.
- 125.** Zhang H.T., Xue J.H., Zhang Z.W., Kong H.B., Liu A.J., Li S.C., Xu D.G. Cold-inducible RNA-binding protein inhibits neuron apoptosis through the suppression of mitochondrial apoptosis. *Brain Res* 2015; 1622: 474–483, <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.07.004>.
- 126.** Zhang Q., Wang Y.Z., Zhang W., Chen X., Wang J., Chen J., Luo W. Involvement of cold inducible RNA-binding protein in severe hypoxia-induced growth arrest of neural stem cells in vitro. *Mol Neurobiol* 2017; 54(3): 2143–2153, <https://doi.org/10.1007/s12035-016-9761-1>.
- 127.** Moreira E.F., Jaworski C.J., Rodriguez I.R. Cloning of a novel member of the reticulon gene family (RTN3): gene structure and chromosomal localization to 11q13. *Genomics* 1999; 58(1): 73–81, <https://doi.org/10.1006/geno.1999.5807>.
- 128.** Bastide A., Peretti D., Knight J.R.P., Grosso S., Spriggs R.V., Pichon X., Sbarrato T., Roobol A., Roobol J., Vito D., Bushell M., von der Haar T., Smales C.M., Mallucci G.R., Willis A.E. RTN3 is a novel cold-induced protein and mediates neuroprotective effects of RBM3. *Curr Biol* 2017; 27(5): 638–650, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.01.047>.
- 129.** Masters C.L., Bateman R., Blennow K., Rowe C.C., Sperling R.A., Cummings J.L. Alzheimer's disease. *Nat Rev Dis Primers* 2015; 1: 15056, <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.56>.
- 130.** Deng M., He W., Tan Y., Han H., Hu X., Xia K., Zhang Z., Yan R. Increased expression of reticulon 3 in neurons leads to reduced axonal transport of β site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1. *Biol Chem* 2013; 288(42): 30236–30245, <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.480079>.