



ГК-2 — дипептидный миметик 4-й петли NGF — увеличивает содержание BDNF и активен на клеточной модели болезни Паркинсона

Антипова Т. А., Николаев С. В.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

NGF в концентрации 100 нг/мл при добавлении за 24 ч до 6-гидроксидофамина и после повреждения полностью предотвращал развитие повреждающего действия нейротоксина. Дипептид ГК-2 в концентрации 10^{-5} М, подобно NGF, проявлял защитный эффект на клеточной модели болезни Паркинсона. По данным Вестерн-блот анализа NGF через 24 ч после внесения увеличивал содержание BDNF в клетках HT-22 в 1,6 раза по сравнению с контролем, а дипептид ГК-2 в концентрации 10^{-8} М — в 1,4 раза по сравнению с контролем.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона; 6-гидроксидофамин; нейропротекция; NGF; BDNF; димерный дипептидный миметик ГК-2

Для цитирования:

Антипова Т. А., Николаев С. В. ГК-2 — дипептидный миметик 4-й петли NGF — увеличивает содержание BDNF и активен на клеточной модели болезни Паркинсона. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2025;(3):3–8. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-3-3-8>. EDN: ZRAIYQ

Поступила: 03.08.2025. **В доработанном виде:** 15.09.2025. **Принята к печати:** 24.09.2025. **Опубликована:** 30.09.2025.

GK-2 — dipeptide mimetic of 4th loop NGF increases the level of BDNF and is active in the cell model of Parkinson's disease

Tatyana A. Antipova, Sergey V. Nikolaev

Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

NGF at a concentration of 100 ng / ml when added 24 hours before 6-OHDA and after damage completely prevented the development of the damaging effect of neurotoxin. Dipeptide GK-2 at a concentration of 10^{-5} M, similar to NGF, showed a protective effect on the cellular model of Parkinson's disease. According to the Western blot analysis NGF increased the level of BDNF in the HT-22 cells 1.6 times compared to the control, and dipeptide GK-2 at a concentration of 10^{-8} M — 1.4 times compared to the control.

Keywords: Parkinson's disease; 6-hydroxydopamine; neuroprotection; NGF; BDNF; dimeric dipeptide mimetic GK-2

For citations:

Antipova TA, Nikolaev SV. GK-2 — dipeptide mimetic of 4th loop NGF increases the level of BDNF and is active in the cell model of Parkinson's disease. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2025;(3):3–8. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-3-3-8>. EDN: ZRAIYQ

Received: 03.08.2025. **Revision received:** 15.09.2025. **Accepted:** 24.09.2025. **Published:** 30.09.2025.

Введение / Introduction

В ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» был сконструирован и синтезирован димерный дипептидный миметик 4-й петли фактора роста нервов (NGF), гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-глутамил-L-лизина), получивший лабораторный шифр ГК-2 [1]. Этот дипептид активировал специфический для NGF тирозинкиназный рецептор TrkA и обладал нейропротекторной активностью в экспериментах как *in vitro*, так и *in vivo* на моделях нейродегенеративных заболеваний [2]. Для ГК-2 были также выявлены антипаркинсонические эффекты в экспериментах *in vivo* на моделях галоперидоловой каталепсии и паркинсонического синдрома, индуцированного МФТП или 6-гидроксидофамином

(6-ОНДА) [3]. Болезнь Паркинсона характеризуется гибелью дофаминергических нейронов, на которых отсутствуют TrkA рецепторы, но экспрессируются специфические для BDNF рецепторы TrkB [4]. BDNF также способен защищать нейроны от гибели и проявлять антипаркинсонический эффект [5]. Поскольку известно, что NGF повышает экспрессию BDNF в нейронах, то мы предположили, что способность миметика NGF дипептида ГК-2 проявлять антипаркинсоническую активность связана с его способностью влиять на содержание BDNF в нейронах.

Для доказательства нашего предположения о связи антипаркинсонического эффекта ГК-2 с индукцией синтеза BDNF, в настоящей работе мы показали, что ГК-2 активен на клеточной модели болезни Паркинсона и способен увеличивать содержание BDNF в культуре нейрональных клеток.

Материалы и методы / Materials and methods

1. Препараты

Дипептид ГК-2 был синтезирован в отделе химии лекарственных средств «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» как описано ранее [6]. Клетки нейробластомы человека линии SH-SY5Y были получены из ФГБНУ «РОНЦ имени Н.Н. Блохина», иммортализованные клетки гиппокампа мыши линии HT-22 из клеточного банка Утрехтского университета (Голландия).

Для изучения влияния ГК-2 на содержание BDNF миметик использовали в виде стерильного водного раствора в конечной концентрации 10^{-8} М, установленной в экспериментах по нейропротекторному действию этого соединения на культуре гиппокампальных клеток линии HT-22 [7].

Для изучения антипаркинсонической активности на клетках SH-SY5Y использовали ГК-2 в виде стерильного водного раствора в концентрациях 10^{-5} – 10^{-8} М.

В качестве положительного контроля использовали NGF (мышинный NGF 7S, Thermo Fisher Scientific, США) в конечной концентрации 10^{-9} М (100 нг/мл).

2. Культивирование клеток

Клетки культивировали в культуральных флаконах площадью 75 см^2 в среде DMEM с добавлением 15 % FBS в случае клеток нейробластомы человека линии SH-SY5Y, в случае гиппокампальных клеток линии HT-22 — 5 % FBS при температуре 37°C в газовой смеси, содержащей 95 % воздуха и 5 % CO_2 . Затем клетки рассеивали в 96-луночные планшеты (15 тыс. на лунку, SH-SY5Y) или на 6-луночные планшеты (200 тыс. на лунку, HT-22), обработанные поли-D-лизином (BD Biosciences, San Jose, USA; 5 мкг/см^2), и инкубировали в той же среде до образования монослоя при 37°C в газовой смеси, содержащей 95 % воздуха и 5 % CO_2 .

3. Клеточная модель болезни Паркинсона

В культуру клеток SH-SY5Y вносили 6-ОНДА в конечной концентрации 100 мкМ [8] через 24 ч или 48 ч после рассеивания клеток с плотностью

15 тыс. на лунку в 96-луночные планшеты, предварительно обработанные поли-D-лизином. После 24 ч инкубации среду с 6-ОНДА заменяли на обычную среду культивирования. ГК-2 добавляли в клеточную среду за 24 ч до 6-ОНДА или после него. Жизнеспособность клеток определяли через 24 ч с помощью МТТ-теста [9]. Схема эксперимента приведена на рис. 1.

4. Исследование содержания BDNF с использованием Вестерн-блот анализа

ГК-2 и NGF вносили через 24 ч после рассевания клеток HT-22 на 6-луночные планшеты. Содержание BDNF определяли через 24 ч после внесения ГК-2 и NGF. К клеткам добавляли лизирующий буфер (50 mM Tris-HCl, 5mM EDTA, 1mM DTT, 1 % Triton X-100, pH = 7,5) при температуре 4°C и лизировали в течение 5 мин на льду, затем соскребали, помещали в центрифужную пробирку объемом 1,5 мл и центрифугировали 10 мин при 13000 об/с и 4°C . Концентрацию белка в образцах измеряли по методу Фолина–Лоури [10]. Белки разделяли электрофорезом в 10 % полиакриламидном геле (ПААГ; Bio-Rad, Hercules, USA) в присутствии додецилсульфата натрия. Перенос белков с ПААГ на мембрану PVDF (Bio-Rad, Hercules, USA) осуществляли электроэлюцией в течение 45 минут [11]. Преинкубацию Вестерн-блотов проводили в буфере TBS с 1 % Tween-20 и 5 % (масса/объем) обезжиренным молоком (Bio-Rad, Hercules, USA) (TBS-T) в течение ночи. Затем мембраны инкубировали в присутствии первичных кроличьих поликлональных антител против BDNF (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA) в разведении 1:1000 или против бета-актина (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA) в разведении 1:5000 в течение 1 часа. Бета-актин использовали в качестве контроля загрузки. Затем после отмывки в буфере TBS-T и 0,5 % (масса/объем) обезжиренным молоком мембраны инкубировали в присутствии вторичных козьих антител (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA), конъюгированных с пероксидазой хрена (разведение 1: 2000), в течение 1 ч. Детектирование белков

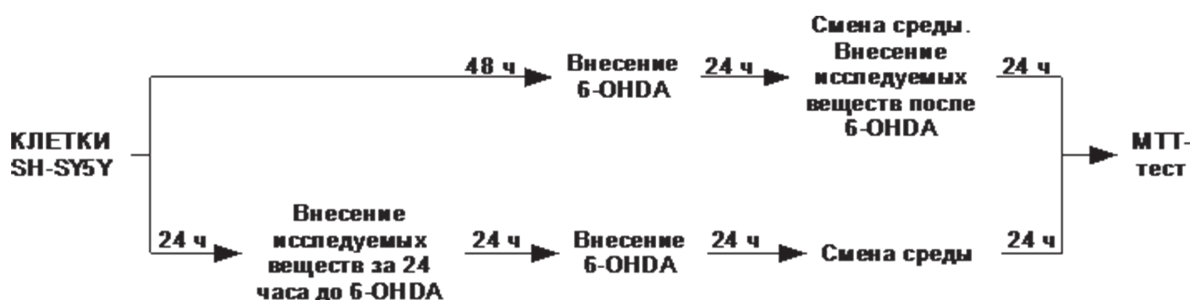


Рис. 1. Схема внесения нейротоксина 6-ОНДА и исследуемых соединений в клетки SH-SY5Y

Fig. 1. Scheme of 6-6-OHDA neurotoxin and test compounds application to SH-SY5Y cells

осуществляли после отмывки от вторичных антител в буфере TBS-T и 0,5 % (масса/объем) обезжиренным молоком в реакции с ECL-реагентами (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA), используя гель-документирующую систему Alliance UVITEC (UK). Денситометрию полученных изображений проводили с помощью программы GIMP2.

5. Статистический анализ

Для оценки межгрупповых различий при сравнении двух групп при обчёте результатов Вестерн-блот анализа использовали U-критерий Манна–Уитни и критерий Краскела–Уоллиса с последующим тестом по Данну (ANOVA) при обработке данных МТТ-теста. Данные считались достоверными при $p \leq 0,05$. Результаты представлены в $m \pm s.d.$

Результаты и обсуждение / Results and discussion

Дипептид ГК-2 активен на клеточной модели БП

Нейротоксин 6-ОНДА, внесённый в культуру клеток SH-SY5Y в концентрации 100 мМ, через 48 ч приводил к статистически значимому снижению их жизнеспособности (табл. 1). NGF в концентрации 100 нг/мл при добавлении за 24 ч до 6-ОНДА полностью предотвращал развитие повреждающего действия нейротоксина, а при добавлении через 24 ч после 6-ОНДА обладал 100 % лечебным эффектом. Дипептид ГК-2 в концентрации 10^{-5} М, подобно NGF, проявлял статистически достоверный как профилактический, так и терапевтический защитный эффект. Однако эти эффекты были менее вы-

раженными по сравнению с эффектами полноразмерного нейротрофина. В меньших концентрациях (10^{-6} – 10^{-8} М) ГК-2 был неактивен (табл. 1).

Таким образом, низкомолекулярный миметик NGF дипептид ГК-2 обладает активностью на клеточной модели болезни Паркинсона.

Дипептид ГК-2 увеличивает содержание BDNF в культуре гиппокампальных нейронов линии HT-22

По данным Вестерн-блот анализа NGF в конечной концентрации 10^{-9} М через 24 ч после внесения достоверно ($p \leq 0,05$) увеличивал содержание BDNF в клетках HT-22 в 1,6 раза по сравнению с контролем с $2,3 \pm 0,1$ до $3,6 \pm 0,3$ о.д.е (относительные денситометрические единицы). Дипептид ГК-2 в концентрации 10^{-8} М также достоверно ($p \leq 0,05$) увеличивал содержание BDNF в этих же клетках в 1,4 раза по сравнению с контролем, с $2,3 \pm 0,1$ до $3,2 \pm 0,6$ о.д.е (рис. 2).

Таким образом, дипептид ГК-2 подобно NGF увеличивает содержание BDNF в культуре нейронов HT-22.

Поскольку дофаминергические нейроны человека трудно получить и поддерживать в качестве первичной культуры, исследования болезни Паркинсона в основном выполняются с использованием моделей нейрональных клеток, в частности линии нейробластомы SH-SY5Y. Эту клеточную линию часто выбирают из-за её происхождения (человек), катехоламинергических нейрональных свойств и простоты культивирования [12]. Клетки SH-SY5Y экспрессируют ряд дофаминергических нейрональных маркеров. В этих клетках синтезируется тирозингидроксилаза, фермент, критически важный для катализа дофамина и далее норадреналина и адреналина [13]. Важно отметить, что клетки SH-SY5Y экспрессируют транспортер дофамина, а также подтипы рецепторов дофамина 2 и 3, что делает их адекватной системой *in vitro* для исследования нейротоксичности в дофаминергических нейронах [14].

Гиппокампальные нейроны и нейрональные клетки гиппокампа мыши линии HT-22 экспрессируют и TrkA, и TrkB рецепторы [15, 16]. По данным литературы известно, что дофаминергические нейроны не экспрессируют TrkA рецепторы, но на этих нейронах присутствуют специфические для BDNF рецепторы TrkB [4]. Кроме того, NGF может регулировать экспрессию BDNF [17]. Эксперименты по аксотомии показывают, что нейротрофины чаще всего действуют не в месте их синтеза, а в целевых компартментах, куда транспортируются с помощью ретроградного и антероградного аксонального транспорта [18–20]. Поэтому защитный эффект ГК-2 на клеточной модели болезни Паркинсона может быть связан и с его влиянием на синтез BDNF.

Таким образом, димерный дипептидный миметик ГК-2, подобно NGF, увеличивает уровень BDNF в гиппокампальных клетках HT-22, что может быть

Таблица 1

Влияние дипептида ГК-2 на жизнеспособность клеток нейробластомы человека SH-SY5Y при 6-гидроксидофаминовом повреждении (результаты МТТ-теста)

Table 1

Effect of the dipeptide GK-2 on the viability of human SH-SY5Y neuroblastoma cells by 6-hydroxydopamine damage (MTT test results)

| Название групп, $n = 12$ | % от контроля | |
|-----------------------------|----------------------------|-----------------------|
| | Внесение за 24 ч до 6-ОНДА | Внесение после 6-ОНДА |
| Контроль | 100±7 | 100±4 |
| 6-ОНДА (100 мМ) | 78±3* | 85±1* |
| NGF (100 нг/мл) | 100±8^ | 100±3* |
| ГК-2 (10^{-5} М) | 89±3^ | 92±4^ |
| ГК-2 (10^{-6} М) | 86±6 | 91±5 |
| ГК-2 (10^{-7} М) | 86±5 | 90±6 |
| ГК-2 (10^{-8} М) | 86±5 | 90±4 |

Примечания: * — $p \leq 0,05$. Достоверность отличий от 6-ОНДА: ^ — $p \leq 0,05$. Критерий Краскела–Уоллиса с последующим тестом по Данну (ANOVA).

Notes: * — $p \leq 0.05$. Significance of differences from 6-OHDA: ^ — $p \leq 0.05$. Kruskal–Wallis test followed by Dunn's test (ANOVA).

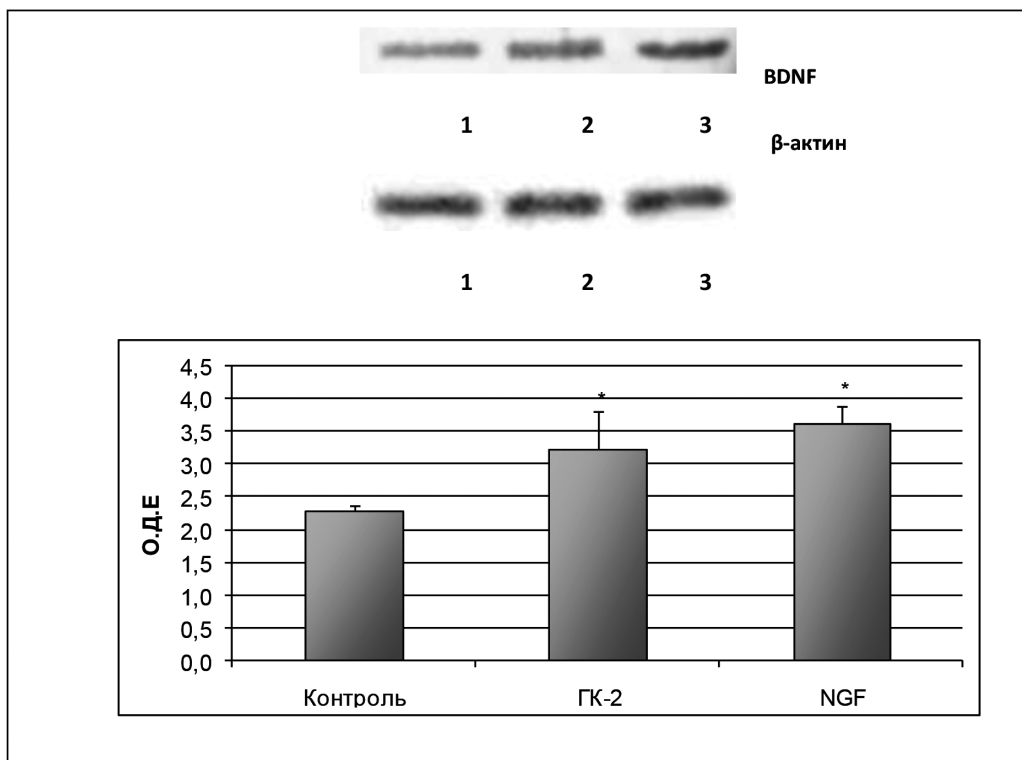


Рис. 2. Влияние ГК-2 (10^{-8} М) и NGF ($\sim 10^{-9}$ М) на содержание BDNF в культуре клеток HT-22
Fig. 2. Effect of GK-2 (10^{-8} М) and NGF ($\sim 10^{-9}$ М) on the BDNF level in HT-22 cell culture

Примечания: Результаты денситометрии оригинального Вестерн-блота. Дорожки: 1 — контроль; 2 — ГК-2; 3 — NGF; статистически значимые отличия ($p \leq 0,05$, U-критерий Манна–Уитни): * — относительно контроля, о.д.е. — относительные денситометрические единицы.

Notes: The results of densitometry of the original Western blot. Runs: 1 — control; 2 — GK-2; 3 — NGF; statistically significant differences ($p \leq 0.05$, Mann–Whitney U-test): * — compared to the control, o.d.e. — compared densitometric units.

одним из механизмов антипаркинсонического действия ГК-2. В настоящей работе мы показали, что ГК-2 обладает активностью и на клеточной модели болезни Паркинсона, в которой используются клетки нейробластомы человека, что соответствует ранее полученным данным по антипаркинсоническому эффекту ГК-2 в опытах *in vivo*. Тот факт, что ГК-2 был эффективен на модели болезни Паркинсона с использованием человеческих клеток, позволяет предполагать его перспективность в качестве терапевтического средства.

Выводы / Conclusions

1. Димерный дипептидный миметик ГК-2, подобно NGF, увеличивает уровень BDNF в гиппокампальных клетках HT-22.

2. ГК-2 обладает активностью на клеточной модели болезни Паркинсона в клетках нейробластомы человека SH-SY5Y.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The team of authors declares that there is no conflict of interest in the preparation of this article.

Участие авторов

Антипова Т. А. — разработка модели, выполнение вестерн-блот анализа, анализ и интерпретация результатов, написание текста, редактирование, финальное утверждение рукописи; *Николаев С. В.* — выполнение экспериментальных работ с культурами клеток, редактирование, финальное утверждение рукописи.

Финансирование

Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Authors' participation

Antipova TA — development of a model, execution of a western blot analysis, analysis and interpretation of the results, writing the text, editing, and final approval of the manuscript; *Nikolaev SV* — performing experimental work with cell cultures, editing, and final approval of the manuscript.

Funding

The work was carried out without sponsorship.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Антипова Татьяна Алексеевна — к. б. н., в. н. с. лаборатории молекулярной фармакологии, ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: antipova_ta@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9309-4872>
РИНЦ SPIN-код: 7723-6008

Николаев Сергей Владимирович — н. с. лаборатории молекулярной фармакологии, ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
Автор, ответственный за переписку
e-mail: nikolaev_sv@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4584-746X>
РИНЦ SPIN-код: 1144-0269

Tatyana A. Antipova — PhD, Cand. Sci. (Biology), Leading researcher, Molecular pharmacology laboratory, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: antipova_ta@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9309-4872>
RSCI SPIN code: 7723-6008

Sergey V. Nikolaev — Research Scientist Molecular pharmacology laboratory, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
Corresponding author
e-mail: nikolaev_sv@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4584-746X>
RSCI SPIN code: 1144-0269

Список литературы / References

1. Патент РФ на изобретение №2410392C2/ 27.01.11 Середенин (RU) С.Б., Гудашева Т.А. Дипептидные миметики нейротрофинов NGF и BDNF. [Patent Russ. №RU2410392C2/ 27.01.11 [Seredenin SB, Gudasheva TA. Dipeptide mimetics of NGF and BDNF neurotrophins. (In Russ.).] Доступно по: <https://patents.google.com/patent/RU2410392C2/ru>. Ссылка активна на 15.09.2025.
2. Середенин С.Б., Гудашева Т.А. Создание фармакологически активной малой молекулы, обладающей свойствами фактора роста нервов. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2015;115(6):63-70. [Seredenin SB, Gudasheva TA. The development of a pharmacologically active low-molecular mimetic of the nerve growth factor. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2015;115(6):63-70. (In Russ.).] doi: 10.17116/jnevro20151156163-70.
3. Поварнина П.Ю., Гудашева Т.А., Воронцова О.Н., и др. Антипаркинсонические свойства дипептидного миметика фактора роста нервов GK-2 в экспериментах *in vivo*. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2011;151(6):634-637. [Povarnina PYu, Gudasheva TA, Vorontsova ON, et al. Antiparkinsonian properties of a nerve GROWTH FACTOR dipeptide mimetic GK-2 *in vivo* experiments. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2011;151(6):634-637. (In Russ.).] EDN: NXLJAX
4. Berg-von der Emde K, Dees WL, Hiney JK, et al. Neurotrophins and the neuroendocrine brain: different neurotrophins sustain anatomically and

- functionally segregated subsets of hypothalamic dopaminergic neurons. *J Neurosci*. 1995 Jun;15(6):4223-37. doi: 10.1523/JNEUROSCI.15-06-04223.1995.
5. Binder DK, Scharfman HE. Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors*. 2004 Sep;22(3):123-31. doi: 10.1080/08977190410001723308.
6. Сазонова Н.М., Тарасюк А.В., Курилов Д.В., и др. Синтез димерного дипептидного миметика фактора роста нервов GK-2, потенциального нейропротективного препарата. *Химико-фармацевтический журнал*. 2015;49(7):10-19. [Sazonova NM, Tarasyuk AV, Kurilov DV, et al. Synthesis of two-dimensional dipeptide mimetic of nerve growth factor: new potential neuroprotective drug. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2015;49(7):10-19. (In Russ.).]
7. Антипова Т.А., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Исследование *in vitro* нейропротективных свойств нового оригинального миметика фактора роста нервов GK-2. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2010;150(11):538-541. [Antipova TA, Gudasheva TA, Seredenin SB. *In vitro* study of neuroprotective properties of GK-2, a new original nerve growth factor mimetic. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2010;150(11):538-541. (In Russ.).] EDN: MVUWEP
8. Riveles K, Huang LZ, Quik M. Cigarette smoke, nicotine and cotinine protect against 6-hydroxydopamine-induced toxicity in SH-SY5Y cells. *Neurotoxicology*. 2008 May;29(3):421-7. doi: 10.1016/j.neuro.2008.02.001.
9. Ueda Y, Walsh E, Nakanishi H, Yoshida K. A colorimetric assay method for the evaluation of neurotrophic activity *in vitro*. *Neurosci Lett*. 1994 Jan 3; 165(1-2):203-7. doi: 10.1016/0304-3940(94)90745-5.

10. Alam A. A model for formulation of protein assay. *Anal Biochem.* 1992 May 15;203(1):121-6. doi: 10.1016/0003-2697(92)90051-8.
11. Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1979 Sep;76(9):4350-4. doi: 10.1073/pnas.76.9.4350.
12. Xicoy H, Wieringa B, Martens GJ. The SH-SY5Y cell line in Parkinson's disease research: a systematic review. *Mol Neurodegener.* 2017 Jan 24;12(1):10. doi: 10.1186/s13024-017-0149-0.
13. Kume T, Kawato Y, Osakada F, et al. Dibutyl cyclic AMP induces differentiation of human neuroblastoma SH-SY5Y cells into a noradrenergic phenotype. *Neurosci Lett.* 2008 Oct 10;443(3):199-203. doi: 10.1016/j.neulet.2008.07.079.
14. Arun P, Madhavarao CN, Moffett JR, Namboodiri AM. Antipsychotic drugs increase N-acetylaspartate and N-acetylaspartylglutamate in SH-SY5Y human neuroblastoma cells. *J Neurochem.* 2008 Aug;106(4):1669-80. doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05524.x.
15. Chong PN, Sangu M, Huat TJ, et al. Trkb-IP3 Pathway Mediating Neuroprotection in Rat Hippocampal Neuronal Cell Culture Following Induction of Kainic Acid. *Malays J Med Sci.* 2018 Nov;25(6):28-45. doi: 10.21315/mjms2018.25.6.4.
16. Yoo JM, Lee BD, Sok DE, et al. Neuroprotective action of N-acetyl serotonin in oxidative stress-induced apoptosis through the activation of both TrkB/CREB/BDNF pathway and Akt/Nrf2/Antioxidant enzyme in neuronal cells. *Redox Biol.* 2017 Apr;11:592-599. doi: 10.1016/j.redox.2016.12.034.
17. Yu SJ, Grider JR, Gulick MA, et al. Up-regulation of brain-derived neurotrophic factor is regulated by extracellular signal-regulated protein kinase 5 and by nerve growth factor retrograde signaling in colonic afferent neurons in colitis. *Exp Neurol.* 2012 Dec;238(2):209-17. doi: 10.1016/j.expneurol.2012.08.007.
18. R. Levi-Montalcini. The Saga of the Nerve Growth Factor: Preliminary Studies, Discovery, Further Development. Singapore: World Scientific; 1997.
19. Salehi A, Delcroix JD, Mobley WC. Traffic at the intersection of neurotrophic factor signaling and neurodegeneration. *Trends Neurosci.* 2003 Feb;26(2):73-80. doi: 10.1016/S0166-2236(02)00038-3.
20. Lazo OM, Mauna JC, Pissani CA, et al. Axotomy-induced neurotrophic withdrawal causes the loss of phenotypic differentiation and downregulation of NGF signalling, but not death of septal cholinergic neurons. *Mol Neurodegener.* 2010 Jan 19;5:5. doi: 10.1186/1750-1326-5-5.