

Противоишемические свойства агониста TrkA-рецепторов миметика 4-ой петли фактора роста нервов

Пекельдина Е.С., Ионова Е.О., Мирошкина И.А., Сорокина А.В., Столярчук В.Н., Цорин И.Б., Гудашева Т.А., Крыжановский С.А.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Зукосова», Москва

Резюме. *Актуальность.* Одной из актуальных проблем, стоящих перед современной медицинской наукой, является изучение механизмов и поиск эффективных способов активации неоваскуляризации тканей. Возможным подходом к решению этой проблемы является использование агонистов TrkA-рецепторов для активации ангиогенеза и, как следствие этого, улучшение васкуляризации ишемизированных тканей. *Целью* данного исследования явилось изучение ангиогенной и противоишемической активности агониста TrkA-рецепторов дипептидного миметика 4-ой петли фактора роста нервов соединения GK-2. *Методы.* Эксперименты проводили на моделях ишемии задней конечности и инфаркта миокарда у крыс. Соединение GK-2 (1 мг/кг) вводили внутривенно на протяжении 14 дней. Оценка изучаемых эффектов проводили с использованием световой микроскопии и двухмерной эхокардиографии. *Результаты.* На модели ишемии задней конечности крыс показано, что GK-2 (1 мг/кг, в/б) значительно усиливает васкуляризацию ишемизированной икроножной мышцы. Индекс васкуляризации ишемизированной ткани у животных, получавших соединение GK-2, был практически в 2 раза выше, чем в контроле – 27794 (25218 ± 5941) и 14725 (9030 ± 19630), соответственно ($p < 0,001$). По данным световой микроскопии изучаемое вещество уменьшает интенсивность повреждения ткани. В условиях экспериментального инфаркта миокарда соединение GK-2 уменьшает интенсивность патологического ремоделирования левого желудочка сердца. *Заключение.* Можно полагать, что антиишемический эффект GK-2 связан с усилением васкуляризации поражённой ткани, т. е. со стимуляцией ангиогенеза.

Ключевые слова: фактор роста нервов; соединение GK-2; TrkA-рецепторы; инфаркт миокарда; ишемия задних конечностей; ангиогенез; антиишемическая активность

Для цитирования:

Пекельдина Е.С., Ионова Е.О., Мирошкина И.А., Сорокина А.В., Столярчук В.Н., Цорин И.Б., Гудашева Т.А., Крыжановский С.А. Противоишемические свойства агониста TrkA-рецепторов миметика 4-ой петли фактора роста нервов // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2018. – №2. – С.16–21. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10010.

Antiischemic properties of the TrkA-receptor agonist, the nerve growth factor 4th loop mimetic

Pekeldina E.S., Ionova E.O., Mirochkina I.A., Sorokina A.V., Stolyaruk V.N., Tsorin I.B., Gudacheva T.A., Kryzhanovskii S.A.

FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Resume. *Relevance.* One of the actual problems facing modern medical science is the study of mechanisms and the search for effective ways to activate tissue neovascularization. A possible approach to the decision of this problem is the use of TrkA receptor agonists to activate angiogenesis and, as a consequence, improve the vascularization of ischemic tissues. *The aim* of this investigation was to study the angiogenic and antiischemic activity of the TrkA receptor agonist the nerve growth factor 4th loop dipeptide mimetic the GK-2 compound. *Methods.* Experiments were performed on models of hind limb ischemia and myocardial infarction in rats. The compound GK-2 (1 mg/kg) was administered intraperitoneally for 14 days. Effects were evaluated using light microscopy and two-dimensional echocardiography. *Results.* In the model of the hindlimb ischemia in rats, it was shown that GK-2 (1 mg/kg, i.p.) significantly enhances the vascularization of the ischemic sural muscle. The vascularization index of ischemic tissue in animals treated with GK-2 was almost 2 times higher than in control – 27794 (25218 ± 35941) and 14725 (9030 ± 19630), respectively ($p < 0.001$). According to light microscopy, the studied compound reduces the intensity of tissue damage. Under conditions of experimental myocardial infarction, the GK-2 compound reduces the pathological remodeling intensity of the heart left ventricle. *Conclusion.* It can be assumed that the antiischemic effect of GK-2 is associated with increased vascularization of the affected tissue, i.e. with the stimulation of angiogenesis.

Keywords: nerve growth factor; GK-2 compound; TrkA receptors; myocardial infarction; hind limb ischaemia; angiogenesis; antiischemic activity

For citations:

Pekeldina ES, Ionova EO, Mirochkina IA, Sorokina AV, Stolyaruk VN, Tsorin IB, Gudacheva TA, Kryzhanovskii SA. Antiischemic properties of the TrkA-receptor agonist, the nerve growth factor 4th loop mimetic. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2018;2:16–21. (In Russ). DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10010.

Введение

Фактор роста нервов (nerve growth factor – NGF) относится к семейству регуляторных белков – нейротрофинов, принимающих участие в регуляции процессов пролиферации, дифференциации и миелинизации, а также поддержании функциональной активности центральных и периферических нейронов. Помимо этого, нейротрофины, и, в частности NGF, играют важную роль в образовании синапсов и регуляции синаптической пластичности [1, 2]. Исторически NGF и его предшественник proNGF рассматривались как одни из основных регуляторов нейрональной функции. Однако в настоящее время накоплен большой экспериментальный материал, свидетельствующий о том, что биологическая роль NGF существенно шире и обусловлена его способностью регулировать процессы выживания клетки, апоптоза, клеточной пролиферации, воспаления, ангиогенеза и ремоделирования тканей [3]. В частности, показано, что NGF является одним из ключевых эндогенных регуляторов ангиогенеза и, помимо ЦНС, синтезируется и экскретируется эндотелиальными и гладкомышечными клетками сосудов, а на их клеточной мембране представлены специфичные для NGF TrkA-рецепторы [4, 5], посредством взаимодействия с которыми NGF реализует свои ангиогенные эффекты.

В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» в течение многих лет проводятся фундаментальные исследования по созданию и фармакологическому изучению биологически активных замещённых низкомолекулярных миметиков NGF. В результате этих исследований было синтезировано дипептидное соединение ГК-2, являющееся агонистом TrkA-рецепторов [6, 7]. Ранее нами в экспериментах *in vitro*, выполненных на культуре эндотелиальных клеток человека HUVEC, было показано, что соединение ГК-2 стимулирует первичную стадию ангиогенеза – тубулогенез, т. е. стимулирует рост и ветвление сосудов посредством активации TrkA-рецепторов [8]. Логично предположить, что, обладая такими свойствами, соединение ГК-2 может оказаться эффективным при лечении больных с различными ишемическими состояниями, так как, стимулируя ангиогенез, оно может улучшать перфузию ишемизированных тканей с помощью усиления естественных, но недостаточных в критических ситуациях, процессов неоваскуляризации тканей. Такой подход к терапии известен и носит название «терапевтический ангиогенез» или «биологическое шунтирование» [9, 10]. «Терапевтический ангиогенез» может использоваться для лечения практически любых ишемических состояний, но наиболее целесообразен у пациентов, у которых невозможно проведение хирургического лечения.

Цель исследования

Целью данного исследования явилось изучение противоишемических свойств дипептидного миметика 4-ой петли NGF – соединения ГК-2 на моделях ишемии задней конечности и инфаркта миокарда у крыс.

Материалы и методы

Животные

Эксперименты выполнены на беспородных белых крысах-самцах массой 180–200 г, полученных из Филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства». Животные имели ветеринарный сертификат и прошли карантин в виварии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». Животных содержали в соответствии с приказом Минздрава России № 199 от 01 апреля 2016 года «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 29 августа 2014 г. № 51. Все эксперименты с животными проводили в соответствии с международными правилами (European Communities Council Directive of November 24, 1986 (86/609/EEC)), а также в соответствии с «Правилами работы с животными», утвержденными биоэтической комиссией ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

Изучение влияния соединения ГК-2 на ишемическое повреждение икроножной мышцы

Животных рандомизировали на 2 группы: контрольную ($n = 18$) и основную ($n = 17$). Ишемию задних конечностей у анестезированных крыс (тиопентал натрия, 50 мг/кг, в/б) вызывали путём одномоментной резекции участка бедренной артерии, после чего рану послойно ушивали. Соединение ГК-2 (1 мг/кг) вводили внутривентрально в течение 14 дней от момента резекции бедренной артерии. Первую инъекцию осуществляли через 1 ч после окончания операции. Контрольным животным по аналогичной схеме внутривентрально вводили 0,3 мл стерильного изотонического раствора натрия хлорида. Через сутки после последней инъекции животных забивали и извлекали икроножную мышцу из ишемизированной конечности. Для оценки интенсивности некробиотических процессов, протекающих в ишемизированной икроножной мышце, использовали световую микроскопию, для чего мышцу фиксировали в 10 % нейтральном растворе формалина, при помощи замора-

живающего микроотома изготовляли срезы толщиной 5 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином по стандартной методике. Для визуализации капилляров использовали синьку Эванса. Для каждого поля зрения рассчитывали суммарную длину сосудов и их количество в мм². О степени васкуляризации судили по величине индекса васкуляризации, за который принимали произведение длины капилляров и их количества в 1 мм² ишемизированной ткани. Полученную величину выражали в условных единицах – у. е.

Статистическую значимость изменений, вызываемых соединением ГК-2, определяли с помощью критерия Манна–Уитни. Результаты выражали в виде медиан и нижнего и верхнего квартилей. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Изучение влияния вещества ГК-2 на ремоделирование сердца в условиях 14-суточного экспериментального инфаркта миокарда (ЭИМ)

Эксперименты проводили на модели инфаркта миокарда у крыс, который воспроизводили по Селье [11]. Животных рандомизировали на две группы: 1-я ($n = 13$) – контроль, 2-я ($n = 10$) – животные, получавшие соединение ГК-2 (1 мг/кг/сут., в/б) ежедневно в течение 14 дней, первая инъекция через 60 мин после окончания оперативного вмешательства. Животные контрольной группы по аналогичной схеме получали 0,3 мл стерильного изотонического раствора натрия хлорида.

Через 7 и 14 дней после воспроизведения ЭИМ у животных с помощью эхокардиографии оценивали геометрию и сократительную функцию сердца. Измерения производили в условиях закрытой грудной клетки и спонтанного дыхания в одномерном М- и двухмерном В-модальных режимах при положении датчика эхокардиографа в парастеральной позиции по длинной оси. В М-модальном режиме оценивали конечно-систолический (КСР) и конечно-диастолический (КДР) размеры левого желудочка сердца, затем по методу Teichholz рассчитывали такие показатели насосной функции сердца, как фракция выброса (ФВ) и фракция укорочения (ФУ). Измерения проводили, как минимум, по пяти последовательным сердечным циклам. Все измерения производили в соответствии с Рекомендациями Американского общества и Европейской ассоциации по эхокардиографии [12]. В работе использовали цифровой ультразвуковой эхокардиограф DP-6600 с электронным микроконвексным датчиком 65C15EA (6,5/8,0 МГц).

Статистическая обработка полученных данных. Нормальность распределения полученных данных проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка; гомогенность дисперсий с помощью критерия Левена. Так как распределение данных не отличалось от нормального, а дисперсии выборок были равны, то для

определения значимости различий между выборками использовали t-критерия Стьюдента. Полученные данные выражали в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Анализ результатов, полученных в экспериментах на модели ишемии задних конечностей у крыс, показал, что у животных, получавших соединение ГК-2, суммарная длина капиллярного русла статистически значимо больше ($p = 0,003$), чем у контрольных животных: 19531 (16085 ÷ 24511) и 14456 (10901 ÷ 17404) мкм/мм², соответственно. Количество сосудов в 1 мм² ишемизированной ткани у животных, получавших соединение ГК-2, также было статистически значимо больше ($p < 0,001$), чем в контроле: 70 (70 ÷ 78) и 53 (50 ÷ 57), соответственно. Математический анализ полученных результатов свидетельствует о том, что интенсивность васкуляризации ишемизированной ткани у животных, получавших соединение ГК-2, практически в 2 раза выше, чем в контроле – индекс васкуляризации 27794 (25218 ÷ 35941) и 14725 (9030 ÷ 19630), соответственно ($p < 0,001$). Полученные данные позволяют говорить о наличии у соединения ГК-2 ангиогенной/антиишемической активности, что подтверждается и результатами световой микроскопии. У контрольных животных основу ткани составляет некробиотически изменённая мышца с участками восковидного некроза. Саркоплазма ярко окрашена, гомогенна, поперечная исчерченность отсутствует (рис. 1А). Отмечается большое количество воспалительных инфильтратов. Ядра поперечнополосатых мышц мелкие, гиперхромные или отсутствуют. Сосуды полнокровны, околососудистый отёк хорошо выражен, капилляры извитые, мелкие, тонкие, плохо различимы. Таким образом, в результате удаления участка бедренной артерии в икроножной мышце развиваются выраженные некротические и некробиотические изменения, сопровождающиеся воспалительной реакцией и расстройством кровообращения. У животных, получавших соединение ГК-2, микроскопическая картина икроножной мышцы существенно отличается от таковой в контроле – интенсивность альтеративных процессов в мышце этих крыс менее выражена, количество и размер участков восковидного некроза значимо меньше, чем у контрольных крыс. Площадь воспалительных инфильтратов незначительна. У леченых животных, в отличие от контрольных, эндотелий сосудов чётко выражен. Поперечная исчерченность скелетной мускулатуры сохранена. Капиллярная сеть хорошо различима, капилляры идут прямо и располагаются вдоль мышечных волокон (рис. 1Б).

Таким образом, агонист TrkA – соединение ГК-2 в

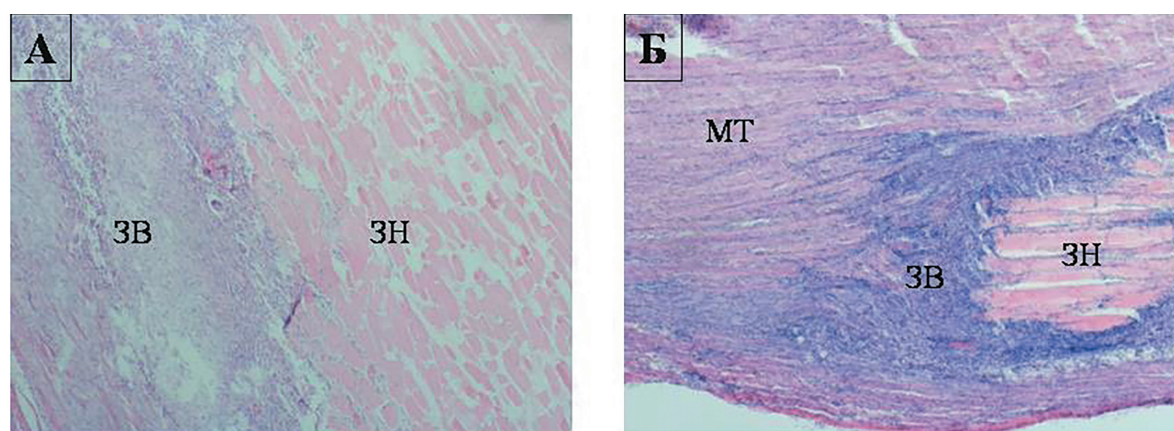


Рис. 1. Морфологическая картина икроножной мышцы крысы. Данные световой микроскопии. Увеличение 4×10: А – контроль, Б – ГК-2 (1 мг/кг/сут., в/б, 14 дней)

Примечания: ЗВ – зона воспаления, ЗН – зона некроза; МТ – мышечная ткань.

условиях экспериментальной ишемии нижней конечности у крыс проявляет выраженную ангиогенную и противоишемическую активность. Можно полагать, что антиишемический эффект данного вещества связан с его способностью стимулировать неоангиогенез в повреждённой икроножной мышце.

В следующей серии экспериментов, выполненной на модели острой ишемии миокарда у крыс, воспроизведённой по методу Селье [11], при помощи эхокардиографии в динамике оценивали влияние соединения ГК-2 на интенсивность раннего постинфарктного ремоделирования левого желудочка сердца.

Анализ полученных данных показал, что у животных контрольной группы наблюдалась динамическая дилатация полостей левого желудочка сердца (табли-

ца). Так, например, в период с 7-го по 14-й день от момента коронарной окклюзии КСР левого желудочка сердца увеличился на $+0,52 \pm 0,16$ мм, соответственно, $3,67 \pm 0,23$ и $3,16 \pm 0,18$ мм, тогда как у животных, получавших соединение ГК-2, этот показатель практически не изменился и составлял, соответственно, $3,57 \pm 0,15$ и $3,54 \pm 0,16$ мм ($+0,03 \pm 0,13$ мм, $p \approx 0,0037$ по отношению к контрольной серии экспериментов). Аналогичная динамика отмечена и в отношении КДР (соответственно $+0,76 \pm 0,20$ и $+0,03 \pm 0,17$ мм, $p \approx 0,012$).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что соединение ГК-2 на модели острого инфаркта миокарда у крыс препятствует развитию постинфарктного ремоделирования левого желудочка сердца и, как следствие этого, последующему развитию

Таблица

Изменения показателей кардиогемодинамики крыс под влиянием соединения ГК-2 в условиях 2-недельного экспериментального инфаркта миокарда (ЭИМ)

Показатель	Группа	Время после воспроизведения ЭИМ		Изменения с 1-й до конца 2-й недели
		1 неделя	2 неделя	
КСР, мм	Контроль, $n = 13$	$3,16 \pm 0,18$	$3,67 \pm 0,23$	$+0,52 \pm 0,16$
	ГК-2, $n = 10$	$3,54 \pm 0,16$	$3,57 \pm 0,15$	$+0,03 \pm 0,13$ $p \approx 0,037$
КДР, мм	Контроль, $n = 13$	$4,41 \pm 0,22$	$5,18 \pm 0,28$	$+0,76 \pm 0,20$
	ГК-2, $n = 10$	$4,82 \pm 0,18$	$4,86 \pm 0,19$	$+0,03 \pm 0,17$ $p \approx 0,012$
ФУ, %	Контроль, $n = 13$	$28,4 \pm 2,0$	$28,8 \pm 2,1$	$+0,4 \pm 2,6$
	ГК-2, $n = 10$	$26,6 \pm 1,5$	$26,1 \pm 2,0$	$-0,4 \pm 1,1$ $p \approx 0,796$
ФВ, %	Контроль, $n = 13$	$60,7 \pm 3,0$	$60,9 \pm 2,9$	$+0,2 \pm 3,5$
	ГК-2, $n = 10$	$58,2 \pm 2,4$	$57,1 \pm 3,3$	$-1,1 \pm 1,9$ $p \approx 0,764$

Примечания: указаны средние арифметические значения и их стандартные ошибки; p – по отношению к контролю.

хронической сердечной недостаточности. Механизм, лежащий в основе этого феномена, в настоящее время не известен, однако есть все основания полагать, что он может быть обусловлен способностью соединения стимулировать образование капилляров в периинфарктной зоне и тем самым в той или иной мере устранять дефицит кровоснабжения сердечной мышцы.

Заключение

Таким образом, соединение ГК-2, являющееся дипептидным миметиком 4-й петли NGF и также как и прототип NGF реализующее свои ангиогенные эффекты посредством стимуляции TrkA-рецепторов,

расположенных на клеточной мембране эндотелиальных и гладкомышечных клеток сосудов, в модельных экспериментах, воспроизводящих ишемию задней конечности и инфаркт миокарда у крыс, оказывает значимое противоишемическое действие. Учитывая тот факт, что соединение ГК-2 стимулирует рост и ветвление кровеносных сосудов, можно полагать, что его антиишемическое действие является следствием его ангиогенной активности. Полученные данные позволяют говорить о перспективности дальнейшего доклинического изучения соединения ГК-2 в плане создания оригинального инновационного лекарственного средства, способного восстанавливать кровоснабжение ишемизированных тканей.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Крыжановский Сергей Александрович

Автор, ответственный за переписку

e-mail: SAK-538@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0003-2832-4739

SPIN-код: 6596-4865

д. м. н., зав. лабораторией фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Kryzhanovskii Sergey

Corresponding author

e-mail: SAK-538@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0003-2832-4739

SPIN code: 6596-4865

Doctor of Medical Sciences, head of the laboratory of pharmacological screening, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Пекельдина Евгения Сергеевна

SPIN-код: 3225-9216

н. с., лаборатория фармакологического скрининга, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Pekeldina Evgeniya

SPIN code: 3225-9216

Research Officer, head of the laboratory of pharmacological screening, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Ионова Екатерина Олеговна

ORCID ID: 0000-0003-0154-722X

SPIN-код: 5042-1952

м. н. с., лаборатория фармакологического скрининга, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Ionova Ekaterina

ORCID ID: 0000-0003-0154-722X

SPIN code: 5042-1952

Junior researcher, laboratory of pharmacological screening, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Мирошкина Ирина Александровна

ORCID ID: 0000-0002-3208-198X

SPIN-код: 4697-7938

н. с., лаборатория лекарственной токсикологии, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Mirochkina Irina

ORCID ID: 0000-0002-3208-198X

SPIN code: 4697-7938

Research Officer, laboratory of drug toxicology, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Сорокина Александра Валериановна

ORCID ID: 0000-0002-9600-7244

к. б. н., в. н. с., лаборатории лекарственной токсикологии, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Sorokina Aleksandra

ORCID ID: 0000-0002-9600-7244

Candidate of Biological Sciences, leading researcher, laboratory of drug toxicology, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Столярук Валерий Николаевич

ORCID ID: 0000-0002-4779-427X

к. м. н., с. н. с., лаборатория фармакологического скрининга, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Цорин Иосиф Борисович

ORCID ID: 0000-0002-3988-7724

SPIN-код: 4015-3025

д. б. н., в. н. с., лаборатория фармакологического скрининга, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Гудашева Татьяна Александровна

ORCID ID: 0000-0002-5185-4474

SPIN-код: 4970-0006

д. б. н., руководитель отдела, отдел химии лекарственных средств, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Stolyaruk Valeriy

ORCID ID: 0000-0002-4779-427X

Candidate of Medical Sciences, senior researcher, laboratory of pharmacological screening, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Tsorin Iosif

ORCID ID: 0000-0002-3988-7724

SPIN code: 4015-3025

Doctor of Biological Sciences, leading researcher, laboratory of pharmacological screening, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Gudacheva Tatiana

ORCID ID: 0000-0002-5185-4474

SPIN code: 4970-0006

Doctor of Biological Sciences, head of Department, Department of drug chemistry, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Литература / References

1. Poo MM. Neurotrophins as synaptic modulators. *Nat Rev Neurosci.* 2001 Jan;2(1):24–32. DOI: 10.1038/35049004
2. Bradshaw RA, Pundavela J, Biarc J, et al. NGF and proNGF: Regulation of neuronal and neoplastic responses through receptor signaling. *Adv Biol Regul.* 2015 May;58:16–27. DOI: 10.1016/j.jbior.2014.11.003
3. Schenck K, Schreurs O, Hayashi K, Helgeland K. The role of nerve growth factor (NGF) and its precursor forms in oral wound healing. *Int J Mol Sci.* 2017 Feb 11;18(2). pii: E386. DOI: 10.3390/ijms18020386
4. Saygili E, Kluttig R, Rana OR, et al. Age-related regional differences in cardiac nerve growth factor expression. *Age (Dordr).* 2012 Jun;34(3):659–67. DOI: 10.1007/s11357-011-9262-0
5. Retamales-Ortega R, Orystica L, Vera C, et al. Role of nerve growth factor (NGF) and miRNAs in epithelial ovarian cancer. *Int J Mol Sci.* 2017 Feb 26;18(3). pii: E507. DOI: 10.3390/ijms18030507
6. Гудашева Т.А., Антипова Т.А., Константинопольский М.А., и др. Оригинальный дипептидный миметик фактора роста нервов ГК-2 избирательно активирует пострецепторные пути TrkA, не вызывая побочных действий полноразмерного нейротрофина // ДАН. – 2014. – Т. 456. – №2. – С.231–235. [Gudacheva TA, Antipova TA, Konstantinopolsky MA, et al. Nerve growth factor novel dipeptide mimetic GK-2 selectively activates TrkA postreceptor signaling pathways and does not cause adverse effects of native neurotrophin. *Doklady Biochemistry and Biophysics.* 2014;456(2):231–235. (In Russ).] DOI: 10.7868/S0869565214140254
7. Гудашева Т.А., Антипова Т.А., Середенин С.Б. Новые низкомолекулярные миметики фактора роста нервов // ДАН. – 2010. – Т.434. – №4. – С.549–552. [Gudacheva TA, Antipova TA, Seredenin SB.

Novel low-molecular-weight mimetics of the nerve growth factor. *Doklady Biochemistry and Biophysics.* 2010;434(4):549–552. (In Russ).]

8. Крыжановский С.А., Антипова Т.А., Цорин И.Б., и др. Ангиогенные эффекты димерного дипептидного миметика четвертой петли фактора роста нервов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2016. – Т.161. – №4. – С.503–507. [Kryzhanovskii SA, Antipova TA, Tsorin IB, et al. Angiogenic effects of dimeric dipeptide mimetic of loop 4 of nerve growth factor. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2016;161(4):503–507. (In Russ).]

9. Парфенова Е.В., Ткачук В.А. Терапевтический ангиогенез: достижения, проблемы, перспективы // Кардиологический вестник. – 2007. – Т.2. – №2. – С.5–15. [Parfenova EV, Tkachuk VA. Therapeutic angiogenesis: advances, problems, prospects. *Cardiological bulletin.* 2007;2(2):5–15. (In Russ).]

10. Ko SH, Bandyk DF. Therapeutic angiogenesis for critical limb ischemia. *Semin Vasc Surg.* 2014 Mar;27(1):23–31. DOI: 10.1053/j.semvascsurg.2014.10.001

11. Selye AI, Bajusz E, Grasso S, Mendell B. Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat. *Angiology.* 1960 Oct;11:398–407. DOI: 10.1177/000331976001100505

12. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MS, Stewart WJ. Recommendations for chamber quantification: A report from the American Society of Echocardiography's guidelines and standards committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *Journal of the American Society of Echocardiography.* 2005;18:1440–1463. DOI: 10.1016/j.echo.2005.10.005