

## ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИНТРАНАЗАЛЬНО ВВОДИМЫХ ИНСУЛИНА И ИНСУЛИНОПОДОБНОГО ФАКТОРА РОСТА-1 ПРИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

### Обзор

© 2023 И.И. Зорина\*, Н.Ф. Аврова, И.О. Захарова, А.О. Шпаков

ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,  
194223 Санкт-Петербург, Россия; электронная почта: zorina.inna.spb@gmail.com

Поступила в редакцию 11.10.2022

После доработки 07.11.2022

Принята к публикации 07.11.2022

В настоящее время подходы, применяемые для лечения инсульта, имеют существенные ограничения, а нейропротекторная терапия малоэффективна. В связи с этим поиск эффективных нейропротекторов и разработка новых нейропротективных стратегий при церебральной ишемии по-прежнему актуальны. Инсулин и инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1) играют важную роль в функционировании мозга, вовлечены в регуляцию роста, дифференцировки и выживаемости нейронов, нейрональной пластичности, пищевого поведения, контролируют периферический метаболизм и эндокринные функции. Они оказывают комплексное воздействие на мозг, в том числе демонстрируют нейропротекторное действие при церебральной ишемии и инсульте. В экспериментах на животных и клеточных культурах показано, что инсулин и IGF-1 в условиях гипоксии улучшают энергетический обмен в нейронах и глиальных клетках, оказывают положительное влияние на микроциркуляцию крови в мозге, восстанавливают функции нервных клеток и процессы нейротрансмиссии, оказывают противовоспалительное и антиапоптотическое действие на клетки мозга. Наибольший интерес для клиники представляет интраназальный путь введения инсулина и IGF-1, поскольку он позволяет дозированно доставлять их непосредственно в мозг, минуя гематоэнцефалический барьер. Интраназально вводимый инсулин демонстрирует выраженный положительный эффект при коррекции когнитивных нарушений у пожилых людей с нейродегенеративными и метаболическими расстройствами. Инсулин и IGF-1, вводимые интраназально, повышают выживаемость животных с ишемическим инсультом. В обзоре обсуждаются данные литературы и результаты собственных исследований о механизмах нейропротекторного действия интраназально вводимых инсулина и IGF-1 при церебральной ишемии и перспективы их применения для нормализации функций ЦНС и снижения нейродегенеративных изменений при этой патологии.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** интраназальный инсулин, инсулиноподобный фактор роста-1, ишемия головного мозга, реперфузия, нейропротекторный эффект, окислительный стресс.

**DOI:** 10.31857/S0320972523030077, **EDN:** QWRRGY

### ВВЕДЕНИЕ

После открытия инсулина Бантингом и Бестом в 1921 г. было установлено, что этот гормон, продуцируемый панкреатическими  $\beta$ -клетками, при введении в организм оказывает выраженный гипогликемический эффект,

играя ключевую роль в контроле глюкозного гомеостаза. Длительное время общепринятой была точка зрения, что функции инсулина ограничиваются в основном контролем метаболизма углеводов и жиров, и мозг при этом не рассматривался как его возможная мишень. Обнаружение инсулина и его сигнальной

Принятые сокращения: ГЭБ – гематоэнцефалический барьер; ИВИ – интраназально вводимый инсулин; ПОЛ – перекисное окисление липидов; eNOS – эндотелиальная NO-синтаза; GSK3 $\beta$  – киназа-3 $\beta$  гликогенсинтазы; IGF-1 – инсулиноподобный фактор роста-1; IGF1R – рецептор IGF-1; INSR – инсулиновый рецептор; IRS-белки – белки-субстраты рецептора инсулина; MAPK – митогенактивируемые протеинкиназы; MCAO – модель окклюзии средней мозговой артерии; PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа; tPA – активатор тканевого плазминогена.

\* Адресат для корреспонденции.

системы в структурах мозга, а также исследования регуляторных эффектов инсулина на функции ЦНС кардинально изменили эту точку зрения и показали, что инсулин важен как для функционирования мозга, так и периферических тканей [1]. Было показано, что центральные механизмы действия присущи структурному гомологу инсулина – инсулиноподобному фактору роста-1 (IGF-1), который, как и инсулин, относится к семейству инсулиновых пептидов и имеет сходный с ним сигнальный каскад.

### ИНСУЛИН И ЕГО СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ В МОЗГЕ

Инсулин в мозге впервые был обнаружен Navrankova et al. [2], после чего встал вопрос о его источнике в ЦНС. Были получены доказательства, что циркулирующий в кровотоке панкреатический инсулин впоследствии через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) поступает в мозг. Его транспорт может реализовываться как с участием инсулиновых рецепторов (INSR) с помощью рецептор-опосредуемого эндоцитоза [3], так и без образования инсулин-рецепторного комплекса – путем пассивного проникновения через фенестрированные капилляры и эндимные клетки срединного возвышения гипоталамуса или посредством транспорта из спинномозговой жидкости с участием таницитов [4]. Однако расшифровка транспортных путей поступления инсулина в мозг не позволяет объяснить его высокий уровень в мозге в неонатальный период развития, когда инсулин-продуцирующая функция поджелудочной железы отсутствует или еще недостаточна для синтеза значимых количеств гормона. Это оставляет открытым вопрос о возможности синтеза инсулина в ЦНС, по крайней мере на ранних стадиях онтогенеза. В пользу этого свидетельствует обнаружение мРНК для проинсулина в гипоталамусе, CA1- и CA3-областях гиппокампа, зубчатой извилине, обонятельной луковице у эмбрионов крыс, новорожденных крысят и кроликов [5, 6], а также в первичной культуре нейронов, полученных из различных областей эмбрионального мозга кроликов [7]. Необходимо отметить, что как нейроны, так и панкреатические  $\beta$ -клетки являются электрически возбудимыми и отвечают деполяризацией и экзоцитозом на гормональные стимулы и повышение уровня глюкозы. Это важно для синтеза и секреции инсулина, поскольку оба этих процесса требуют деполяризации

АТР-чувствительных калиевых каналов, функционально активных в нейронах и  $\beta$ -клетках [8].

В нейронах и глиальных клетках головного мозга присутствуют все компоненты инсулиновой системы, включая INSR [9]. В ходе альтернативного сплайсинга гена *Insr* генерируются две изоформы рецептора – укороченная (INSR-A) и полноразмерная (INSR-B), которые, несмотря на сходство структурно-функциональной организации, имеют ряд различий [10]. Несмотря на то что в большинстве тканей экспрессируются обе изоформы INSR, соотношение INSR-A/INSR-B в мозге значительно выше, чем на периферии, вследствие чего INSR-A часто называют нейрональной изоформой INSR. INSR-A и INSR-B представляют собой  $\alpha_2\beta_2$ -гетеротетрамеры, в которых внеклеточные  $\alpha$ -субъединицы и трансмембранные  $\beta$ -субъединицы соединены между собой дисульфидными связями [11, 12].  $\alpha$ -Субъединица и N-концевая часть  $\beta$ -субъединицы образуют внеклеточную часть INSR и ответственны за высокоаффинное связывание инсулина. В цитоплазматической части  $\beta$ -субъединицы локализован высококонсервативный тирозинкиназный домен, активность которого стимулируется в результате связывания гормона с  $\alpha$ -субъединицей рецептора [11].

После взаимодействия инсулина с  $\alpha$ -субъединицей INSR ее конформация меняется, что вызывает изменение конформации  $\beta$ -субъединицы и активирует тирозинкиназный домен, вызывая аутофосфорилирование INSR по трем остаткам тирозина (Tyr<sup>1158</sup>, Tyr<sup>1162</sup>, Tyr<sup>1163</sup>). После аутофосфорилирования  $\beta$ -субъединица становится мишенью для белков-субстратов рецептора инсулина (IRS-белков) и ряда других регуляторных и адаптерных молекул, имеющих в своей структуре фосфотирозинсвязывающие участки. Взаимодействие с ними активирует сразу несколько сигнальных путей [13]. Нокаут гена *Insr* в гиппокампе и амигдале мышей как отдельно, так и вместе с нокаутом гена, который кодирует родственный ему рецептор IGF-1 (IGF1R), приводит к когнитивным и поведенческим нарушениям, что указывает на участие инсулина в контроле функций ЦНС [1].

Среди известных в настоящее время 6 изоформ IRS-белков ведущую роль в инсулиновом пути играют IRS-1 и IRS-2, которые обнаруживаются почти во всех типах клеток и тканей. В их N-концевой части располагаются плекстрингомологичный и фосфотирозинсвязывающий домены, необходимые для ассоциации IRS-белков с мембраной и с молекулой INSR. В C-концевой части IRS-1 и IRS-2

располагается домен, отвечающий за взаимодействие с белками, содержащими SH2-домены, которые являются основными эффекторами инсулиновой сигнальной системы [14]. К белкам, содержащим SH2-домены, относятся: (1) фосфатидилинозитол-3-киназа (PI3K), ключевой компонент 3-фосфоинозитидного пути; (2) адаптерный GRB2-белок, который опосредует активацию митогенактивируемых протеинкиназ (MAPK); (3) протеинфосфотириозинфосфатаза SHP2; (4) нерцепторная тирозинкиназа Fyn; (5) супрессоры цитокинового сигналинга [13]. Между IRS-1 и IRS-2 имеются существенные различия – IRS-1 опосредует функции инсулина в основном на периферии, в то время как IRS-2 в большей степени вовлечен в реализацию эффектов инсулина в ЦНС [15].

Основным механизмом негативной регуляции инсулинового сигналинга является изменение статуса фосфорилирования рецептора и IRS-белков. Индуцированное *c-Jun N*-концевой киназой-1 (JNK1) фосфорилирование IRS-1 и IRS-2 по остаткам Ser и Thr приводит к их инактивации, что может служить одной из причин периферической и центральной инсулиновой резистентности [16]. В свою очередь, тирозинное дефосфорилирование активированных гормоном INSR и IRS-белков с помощью тирозинных фосфатаз – протеинфосфотириозинфосфатазы 1B (PTP1B) и T-клеточной фосфатазы – вызывает их инактивацию и подавляет трансдукцию инсулинового сигнала [17, 18].

IRS-белки связываются с фосфотириозинсвязывающим доменом регуляторной субъединицы PI3K, которая катализирует синтез вторичного посредника – фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфата (PI-3,4,5-P<sub>3</sub>) [19]. Его образование индуцирует транслокацию 3-фосфатидилинозитол-зависимых протеинкиназ 1-го и 2-го типов (PKD1/2), белка SIN1, компонента комплекса mTORC2, и протеинкиназы АКТ (протеинкиназа B) к плазматической мембране [13]. Активация АКТ является одним из ключевых событий в трансдукции инсулинового сигнала. Этот фермент представлен тремя изоформами: АКТ1, АКТ2 и АКТ3, экспрессия которых в ЦНС зависит от области мозга и специфична для определенного типа нейронов и глиальных клеток. АКТ1 и АКТ3 в основном представлены в нейронах, в том числе миндалины, гиппокампа и коры больших полушарий, в то время как АКТ2 – в астроцитах [20].

После связывания с мембраной протеинкиназа PDK1 фосфорилирует АКТ по остатку Thr<sup>308</sup> (для АКТ1). mTORC2 и ДНК-

зависимая протеинкиназа (DNA-PK) фосфорилируют АКТ по остатку Ser<sup>473</sup>, локализованному в С-концевом домене АКТ [21]. Таким образом, фосфорилирование АКТ сразу по двум сайтам ведет к полной ее активации, в результате чего АКТ фосфорилирует значительное число эффекторных нижележащих белков – опосредует активацию фосфодиэстеразы 3b, фосфоенолпируваткарбоксихиназы 1 и эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) и ингибирование PGC1 $\alpha$ , p21<sup>kip</sup>, киназы-3 $\beta$  гликогенсинтазы (GSK3 $\beta$ ) и проапоптотического белка BAD. Вызванное АКТ фосфорилирование транскрипционных факторов FOXO1 и FOXK1 инактивирует их и выключает из процесса транскрипции генов [13]. АКТ играет важную роль в контроле жизнедеятельности клеток, участвуя в регуляции экспрессии генов, ответственных за протекание ростовых и метаболических процессов, клеточную выживаемость, ангиогенез и дифференцировку клеток. Одним из ключевых инсулин-опосредуемых эффектов АКТ является транслокация в плазматическую мембрану транспортера глюкозы GLUT4, что обеспечивает ее захват клетками [22].

Сигнальный путь, опосредуемый через АКТ, вовлечен в регуляцию метаболизма гликогена. Активированная форма АКТ фосфорилирует киназу GSK3 по Ser<sup>21</sup> в случае изоформы GSK3 $\alpha$  или по Ser<sup>9</sup> – в случае GSK3 $\beta$ , что ведет к ее инактивации. Таким образом, АКТ блокирует GSK3-опосредуемую регуляцию активности гликогенсинтазы – ключевого фермента синтеза гликогена [23]. В последние годы, помимо синтеза гликогена, изучаются и иные функции GSK3, среди которых патогенез сахарного диабета, нейродегенеративных и онкологических заболеваний. АКТ-индуцированное ингибирование GSK3 подавляет ее влияние на активность множества транскрипционных факторов и их регуляторов, включая NF- $\kappa$ B, Snail, Notch, BAD, транскрипционные факторы FOX-семейства, что обуславливает ключевую роль каскада IRS/PI3K/АКТ/GSK3 в реализации эффектов инсулина на генную экспрессию, апоптоз, аутофагию, клеточную дифференцировку [23–25].

Другой важной мишенью инсулина является каскад MAPK. На начальном этапе комплекс GRB2–SOS взаимодействует с IRS-белками или с адаптерным белком SHC-1. Комплекс GRB2–SOS опосредует GDP/GTP-обмен малого G-белка p21ras, вызывая активацию каскада MAPK: Ras-белок→Raf-киназа→MEK-киназа→ERK1/2-киназа. ERK1/2 стимулирует активность различных транскрип-

ционных факторов и белков, в том числе рибосомального белка S6, NF-κB, протеин-фосфатазы-1 PP1, фактора MYT1, белка Elk-1, cAMP-регулируемого транскрипционного фактора CREB, протоонкогенов c-Fos и c-Jun, транскрипционных факторов STAT-семейства [13, 26]. Способность инсулина активировать MAPK-каскад обеспечивает кросс-взаимодействие инсулиновой системы с другими сигнальными путями, включающими компоненты каскада MAPK.

Инсулин стимулирует синтез белка посредством регуляции ключевых факторов инициации и элонгации трансляции через активацию как MAPK, так и mTORC1-комплекса. Активированная АКТ фосфорилирует адаптерный белок TSC1/2, негативный регулятор mTORC1, отменяя блокирующее влияние TSC1/2 на киназную активность комплекса и вызывая его активацию. mTORC1, в свою очередь, ингибирует факторы, индуцирующие аутофагию, и стимулирует рибосомальную p70-S6-киназу и транскрипционный фактор инициации трансляции eIF4E, что вносит значимый вклад в регуляцию биогенеза рибосом, процессы транскрипции, трансляции и деградации белков. Активация mTORC1 также усиливает синтез липидов посредством активации фактора SREBP1 [13, 27, 28].

### ИНСУЛИНОПОДОБНЫЙ ФАКТОР РОСТА-1 И ЕГО СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ В МОЗГЕ

IGF-1 – полипептид, состоящий из 70 а.о., который вырабатывается в основном гепатоцитами и затем секретируется в кровоток. Циркулирующий в крови IGF-1 проникает через ГЭБ в мозг, где он регулирует рост и развитие нейронов и глиальных клеток [29]. В кровяном русле и в мозге IGF-1 расщепляется, что генерирует укороченную форму IGF-1 и N-концевой трипептид Gly-Pro-Glu, наделенные биологической активностью [30–32]. Некоторые ткани, включая мозг, способны локально экспрессировать и секретировать IGF-1, вследствие чего IGF-1 можно рассматривать как паракринный и аутокринный регулятор [32], причем в мозге он синтезируется как нейронами, так и глиальными клетками [33].

В мозге идентифицирован рецептор IGF-1 (IGF1R), который специфично связывает IGF-1 и структурно и функционально близок INSR [34]. Сходство INSR с IGF1R объясняется тем, что кодирующие их гены (*Insr* и *Igf1r*) произошли от общего анцестрального гена, а сами

рецепторы являются частью эволюционно древней высококонсервативной сигнальной системы у позвоночных, которая вовлечена в контроль метаболизма, роста и дифференцировки клеток [35]. IGF1R и различные изоформы INSR способны образовывать гомодимерные, гетеродимерные и гетероолигомерные комплексы, которые могут активироваться и инсулином, и IGF-1, хотя и с различной эффективностью. Большинство пострецепторных компонентов в сигнальных путях инсулина и IGF-1 в мозге являются сходными, что указывает на согласованные влияния этих гормонов на функции нейронов и глиальных клеток и свидетельствует об их способности по крайней мере частично заменять друг друга в процессе сигнальной трансдукции [36]. Среди общих блоков для инсулина и IGF-1 следует выделить все основные компоненты 3-фосфоинозитидного пути (IRS1/2, PI3K, АКТ-киназы) и компоненты каскада MAPK. Влияние IGF-1 на пролиферацию клеток опосредовано Raf/MEK/ERK-сигнальным путем, в то время как в регуляцию дифференциации клеток вовлечены пути, направленные на активацию АКТ [37]. Для развития и надлежащего функционирования ЦНС необходимо взаимодействие IGF-1-регулируемых каскадов с сигнальными путями, регулируемые другими ростовыми факторами – фактором роста фибробластов (FGF), эпидермальным фактором роста (EGF), фактором роста эндотелия сосудов (VEGF) и нейротрофическими факторами, в том числе BDNF [32]. Показано, что сигнальные пути IGF-1 вовлечены в нейрогенез и аксоногенез во взрослом мозге [38].

IGF-1, как и инсулин, способен оказывать нейромодуляторное, нейротрофическое, нейропротекторное действие на нейроны головного мозга, и, как следствие, нарушения в IGF-1-сигнальной системе мозга являются одним из патогенетических механизмов развития нейродегенеративных заболеваний и других расстройств ЦНС [39]. IGF-1 оказывает множественное действие, и его экспрессия наблюдается на протяжении всего онтогенеза – от раннего постнатального периода до зрелого возраста. IGF-1 играет важную роль в обеспечении нормального протекания эмбрионального периода развития мозга, в контроле миелинизации, образования синапсов, развитии нервной системы в постнатальный период и в регуляции нейрогенеза и нейротрансмиссии [32, 40]. Подобно другим ростовым факторам, IGF-1 оказывает мощный антиапоптотический эффект и выполняет функции нейропротектора при нейровоспалении, повышая выживаемость нейронов.



к активации большого числа протеаз, липаз, эндонуклеаз, сигнальных протеинкиназ и фосфатаз, а также к стимуляции продукции активных форм кислорода, что является триггером каскадов, вызывающих гибель клетки [46]. В то же время стимуляция глутаматом синаптических NMDA-рецепторов вызывает активацию PI3K/АКТ-сигнального пути, который способствует выживаемости клеток мозга, оказывая тем самым нейропротекторное действие, что продемонстрировано в экспериментах с клеточными культурами и на животных моделях [47–49]. После активации АКТ-киназы она осуществляет фосфорилирование ниже лежащих мишеней, в том числе киназы-3 $\beta$  гликогенсинтазы, проапоптотических белков BAD, BAX и p53, что приводит к ингибированию их проапоптотической активности и тем самым способствует выживаемости клеток [50]. Несмотря на запуск антиапоптотических каскадов, как компенсаторных механизмов, препятствующих нейродегенерации, длительное воздействие ишемии на структуры мозга приводит к дезинтеграции и необратимым изменениям в сигнальных каскадах, отвечающих за выживаемость и функциональную активность нейронов и глиальных клеток, результатом чего является их гибель путем апоптоза, некроза или аутофагии [50]. Более подробно с молекулярными механизмами повреждения клеток мозга при недостатке церебрального кровоснабжения можно ознакомиться в обзорных статьях [50, 51].

Важную роль в противодействии ишемии и гипоксии головного мозга играет транскрипционный фактор HIF-1 (фактор-1, индуцируемый гипоксией), состоящий из двух субъединиц: O<sub>2</sub>-чувствительной HIF-1 $\alpha$  и конститутивно-экспрессируемой HIF-1 $\beta$ . В условиях пониженного содержания кислорода происходит стабилизация HIF-1 $\alpha$  с дальнейшей активацией экспрессии HIF-1-зависимых генов. Установлено, что HIF-1 $\alpha$  усиливает экспрессию генов, которые кодируют белки, помогающие клеткам и тканям мозга адаптироваться к условиям гипоксии, такие как VEGF и эритропоэтин [52]. Наряду с этим, наблюдается повышение экспрессии и активация белков, обеспечивающих пролиферацию и выживаемость клеток, усиливается синтез гликолитических ферментов и других регуляторов метаболизма, а также интенсифицируется обмен железа [53]. Установлено, что уровень HIF-1 $\alpha$  в клетках повышается под действием целого ряда гормонов и ростовых факторов, в том числе инсулина, IGF-1, эпидермального фактора роста [54].

Все вышесказанное свидетельствует о том, что при развивающихся в ходе ишемии-реперфузии компенсаторных и патофизиологических процессах активируются различные сигнальные пути, вследствие чего их целенаправленная регуляция, в том числе пептидами инсулинового семейства, может служить многообещающей стратегией для лечения ишемических повреждений мозга.

Во время реперфузии, т.е. при восстановлении кровоснабжения, отмечается дальнейшее прогрессирование индуцированных в ходе ишемии процессов, в том числе усиление окислительного стресса, накопление продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), окислительная инактивация транспортных молекул, включая ключевой для жизнеспособности клеток фермент Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФазу [45]. Одной из причин усиления окислительного стресса и запуска «реакции несвернутых белков», как индуктора стресса эндоплазматического ретикула, является нарушение функциональной активности ферментов антиоксидантной системы, которые исключительно важны для обеспечения выживания нейронов и глиальных клеток в постишемический период [55].

В настоящее время существует несколько подходов для лечения инсульта, которые основаны на необходимости восстановить кровоток в зоне ишемического повреждения и повысить выживаемость клеток в зоне пенумбры, окружающей очаг ишемии. Среди них тромболитическая терапия, которая должна быть проведена в течение первых 4,5 ч после возникновения симптомов ишемического инсульта [56]. Комплексная антитромбоцитарная и нейропротекторная терапия способствует снижению негативных последствий инсульта [57]. Предотвращение образования тромбов в сосудах головного мозга при ишемическом инсульте может быть осуществлено путем использования препаратов активатора тканевого плазминогена (tPA), таких как алтеплаза, которые растворяют тромбы и улучшают приток крови к структурам мозга [56]. Наряду с фармакологическими, используют хирургические подходы, в первую очередь механическую тромбэктомия, которая направлена на удаление тромба, локализованного в кровеносном сосуде [58]. При геморрагическом инсульте остановка кровотечения хирургическим путем является единственным способом эффективного лечения. Однако все эти подходы имеют серьезные ограничения, а терапевтическое окно для их применения является очень узким. Так, препараты tPA являются эффективными только в течение первых 3–4 ч после начала инсульта [58].

Нейропротекторная терапия включает использование различных по механизму действия препаратов, среди которых «депротеинизированный гемодериват крови телят» или актовегин, винпоцетин, АКТГ и родственные ему пептидные регуляторы, а также препараты, содержащие метаболиты и биологически активные вещества (инозин + никотинамид + рибофлавин + янтарная кислота, ЦДФ-холин, альфосцерат холина, сукцинат этилметилгидроксипиридина) [57]. Актовегин обладает выраженным стимулирующим действием на клеточный метаболизм [59]. Винпоцетин способствует вазодилатации, снижая агрегацию тромбоцитов и оказывая противовоспалительное действие [60]. Интраназально вводимый негормональный аналог АКТГ и другие нонапептиды обладают выраженными противовоспалительным, нейротрофическим и нейрогенеративным действиями [61]. Однако с позиций доказательной медицины назначение нейропротекторных препаратов при терапии ишемического инсульта не является в полной мере подтвержденным, и в настоящее время отсутствуют оптимальные протоколы для такой терапии [57]. Патофизиология инсульта сложна и включает нарушения во многих сигнальных путях, поэтому комбинации нейропротекторных агентов или препарат с множественным действием могут быть более эффективными, поскольку препятствуют развитию сразу нескольких патологических процессов. Таким образом, разработка новых фармакологических подходов для лечения ишемического инсульта по-прежнему остается актуальной задачей.

Почти полвека назад было установлено, что у пациентов с сахарным диабетом, имеющих нарушенную толерантность к глюкозе и постпрандиальную гипергликемию, вероятность развития инсульта в 2–4 раза выше, чем у пациентов с нормальным уровнем глюкозы [62]. У гипергликемических пациентов намного медленнее проходит восстановление после инсульта и существенно ухудшается неврологический исход заболевания. Обнаружено, что гипергликемия выявляется у 28% пациентов с инсультом даже при отсутствии в анамнезе сахарного диабета, причем уровень гипергликемии положительно коррелирует с тяжестью инсульта, а смертность у пациентов с сильно выраженной гипергликемией значительно выше, чем у пациентов с нормальным уровнем глюкозы [62]. Впоследствии взаимосвязь между симптоматическими проявлениями гипергликемии и исходом инсульта была подтверждена другими исследователями [63]. Это, как полагают, обусловлено индуцирован-

ными гипергликемией окислительным стрессом и нейровоспалением, а также интенсификацией неферментативного гликирования белков в условиях персистентного повышения уровня глюкозы [64]. Существуют убедительные доказательства, что высокий уровень глюкозы в острой фазе инсульта является независимым предиктором увеличения размера инфаркта, неблагоприятного функционального исхода и более высокой смертности [65]. Гипергликемия также ассоциирована с менее благоприятным исходом у пациентов с острым геморрагическим инсультом и церебральным венозным тромбозом [66].

### ПРИМЕНЕНИЕ ИНСУЛИНА И IGF-1 ДЛЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ПОСЛЕДСТВИЙ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Поскольку гипергликемия усугубляет течение инсульта и ассоциирована с тяжелым состоянием больного, то нормализация уровня глюкозы у пациентов с гипергликемией является одним из подходов для предотвращения и лечения инсульта. Инсулин, оказывающий мощный гипогликемический эффект, в этом отношении рассматривается как препарат первой линии выбора для предотвращения инсульта у диабетических пациентов с сильно выраженной гипергликемией. Однако в этом случае речь идет о способности инсулина нормализовать уровень глюкозы в крови и глюкозный гомеостаз в целом, в то время как центральные механизмы действия гормона остаются «за скобками». В последнее время все больший интерес прикован к нейропротекторному действию гормона и его способности непосредственно влиять на структуры мозга, подвергнувшиеся ишемическому повреждению.

Первые сообщения об инсулине как потенциальном нейропротекторе при ишемическом поражении мозга появились на рубеже 1980–1990-х гг. [67–69]. В дальнейшем изучали защитное действие инсулина при моделировании ишемии как на здоровых животных, так и при экспериментальном диабете. Так, в 1992 г. было установлено, что при подкожном введении инсулина диабетическим животным еще до индукции у них ишемии не только нормализуется уровень глюкозы в крови, но и существенно улучшается исход ишемического эпизода [70]. Положительное влияние обработки инсулином на исход ишемии было продемонстрировано при различных инъекционных способах введения гормона – внутривенном [71], подкожном [72–74] и внутрибрюшинном [75, 76].

Важным вкладом в понимание роли инсулина в мозге, как нейропротектора, стала работа Voll и Auer [77], в которой авторы показали, что инсулин при периферическом введении уменьшает повреждение мозга, и этот эффект определяется не только его способностью ослаблять гипергликемию, но и непосредственным воздействием на структуры мозга. В дальнейшем, основываясь на предположении о том, что инсулин оказывает нейропротекторное воздействие на нейроны, независимо от его влияния на уровень глюкозы в крови, были предприняты исследования по изучению эффектов центрально вводимого инсулина при ишемических повреждениях головного мозга. Было установлено, что при церебральной ишемии интрацеребровентрикулярное введение инсулина эффективно в той же степени, что и периферическое введение, но, в отличие от последнего, не приводит к нежелательным гипогликемическим эпизодам [78–80]. В модели ишемии переднего мозга центральное введение инсулина не только снижало размер инфаркта мозга, но и улучшало когнитивные способности животных, нарушенные в результате ишемического поражения [79]. Изучение молекулярных механизмов защитного действия инсулина на нейроны и глиальные клетки показало, что ключевую роль в них играет антиапоптотический сигнальный путь PI3K/AKT. Активируя AKT, инсулин ингибировал выход цитохрома *c* из митохондрий, предотвращая перемещение к ним проапоптотического белка Bax [81–83] и усиливая синтез белков, в том числе ферментов антиоксидантной защиты [84, 85], в результате чего повышалась выживаемость нейронов и восстанавливались когнитивные функции у животных, перенесших ишемию мозга [82].

По имеющимся данным, инсулин способен выполнять функции вазоактивного гормона, вовлеченного в регуляцию мозгового кровотока, что иллюстрируется способностью гормона вызывать как расширение [86], так и сужение сосудов [87]. Активация AKT под действием инсулина приводит к повышению экспрессии eNOS в клетках эндотелия сосудов и, как результат, усиливает продукцию NO, важнейшего вазодилататора, что особенно важно при дефиците NO в условиях нейродегенеративных и метаболических расстройств [88, 89].

В контексте предотвращения последствий ишемии головного мозга в настоящее время широко изучается и IGF-1. Церебральная ишемия и другие повреждения мозга индуцируют экспрессию IGF-1 и IGF-1-связывающих белков (IGFBP), и это, как пола-

гают, может предотвратить или по крайней мере снизить гибель нейронов и глиальных клеток [90, 91]. При изучении последствий инсульта у людей было обнаружено, что уровень IGF-1 в момент верификации инсульта (1–10 дней после ишемического эпизода) и через 3 месяца после перенесенного инсульта положительно коррелирует с кратко- и долгосрочным восстановлением функционального состояния пациентов, в том числе с нормализацией у них когнитивных функций [92]. При моделировании одностороннего повреждения головного мозга в результате ишемии-гипоксии у крыс показано, что IGF-1 накапливается в поврежденном полушарии в течение 5 ч после воздействия, а через 3 дня наблюдается повышенная экспрессия IGF-1 в микроглии и IGFBP2 – в астроцитах, причем по всему поврежденному полушарию [90].

При интрацеребровентрикулярном введении за 1 ч или через 2 ч после проведения односторонней временной гипоксии-ишемии IGF-1 значительно снижал размер инфаркта и предотвращал массовую гибель нейронов у взрослых крыс [78]. Установлено также, что IGF-1 в суточной дозе 50 мкг на крысу, вводимый в желудочки мозга в течение 7 дней, уменьшал повреждение гиппокампа после транзиторной ишемии переднего мозга крыс, проводимой путем окклюзии сонных артерий [79]. В модели гипоксической ишемии на новорожденных крыс, которым сразу после воздействия интрацеребровентрикулярно вводили 50 мкг IGF-1 с последующими ежедневными инъекциями IGF-1 в дозе 50 мкг на крысу, зона индуцированного ишемией инфаркта была существенно меньше, чем у животных без обработки IGF-1 [93]. IGF-1 также снижал индуцированный ишемией-реперфузией апоптоз и некроз в мозге диабетических крыс [94]. Совокупность этих данных свидетельствует о том, что повреждение, вызванное ишемическим инфарктом головного мозга, может быть ослаблено или в значительной степени предотвращено при неотложном лечении ишемизированных животных с помощью различных доз IGF-1.

Нейропротекторные эффекты IGF-1 интенсивно изучаются в условиях повреждения белого вещества мозга, которое ассоциировано с тяжелыми неврологическими последствиями после перенесенной гипоксии-ишемии, особенно у новорожденных. Основной мишенью гипоксии-ишемии становятся незрелые олигодендроциты, которые участвуют в миелинизации нервных волокон. Интрацеребровентрикулярное введение IGF-1 крысам,

подвергнутым постнатальной гипоксии-ишемии, существенно снижало гибель незрелых олигодендроцитов, подавляя активность проапоптотических каспазных путей, а также улучшало миелинизацию и пролиферацию клеток, что в конечном итоге восстанавливало неврологические функции, нарушенные у крысят раннего возраста вследствие воздействия [95]. Хотя популяция незрелых олигодендроцитов в белом веществе взрослого человека относительно невелика, но имеющийся пул клеток играет важную роль в ремиелинизации после травмы или ишемии. В процессе онтогенетического развития мозга незрелые олигодендроциты мигрируют из вентрикулярной зоны к конечному месту назначения, где дифференцируются с образованием миелиновых оболочек. Однако после черепно-мозговой травмы они могут мигрировать к поврежденному участку, где способствуют восстановлению миелина [96]. В этом отношении стимуляция миграции клеток с помощью IGF-1 может быть весьма эффективной.

Поддержание функций глиальных клеток и их защита также рассматриваются, как перспективный нейропротекторный подход при инсульте, поскольку деструктивные процессы затрагивают и их в условиях ишемии. Астроциты выполняют защитную роль при недостатке кровоснабжения, окислительном стрессе и эксайтотоксичности. При патологическом изменении ионного состава межклеточной жидкости астроциты выступают в качестве буфера ионов и возбуждающих аминокислот, глутамата и аспартата [97]. IGF-1 оказывает протекторное действие на глиальные клетки. Снижение уровня IGF-1 или блокирование IGF1R в астроцитах приводит к уменьшению скорости захвата глутамата при одновременном усилении высвобождения нейромедиатора [98]. Подобные процессы, которые могут наблюдаться при инсулиновой резистентности, приводят к образованию эксайтотоксичного микроокружения вокруг нейронов, что в конечном итоге способствует повреждению тканей при инсульте. Нарушение IGF-1-опосредуемого сигналинга влечет за собой дисбаланс гомеостаза глюкозы в астроцитах, что отрицательно влияет на нейротрансмиссию и метаболическую активность нейронов, поскольку эти процессы зависят от поступающих из астроцитов метаболитов, глутамина и лактата [99]. Введение IGF-1 оказывает также противовоспалительное действие при ишемии мозга, снижая высвобождение фактора некроза опухоли- $\alpha$  и интерлейкина- $1\beta$  и экспрессию индуцибельной NO-синтазы [100].

IGF-1, подобно инсулину, может проявлять нейропротекторные свойства при остром ишемическом инсульте благодаря влиянию на окислительный стресс, а также присущему ему сосудорасширяющему, противовоспалительному и антитромботическому действию. Наряду с этим, IGF-1 и инсулин, действуя синергично через сходные сигнальные каскады, способны улучшать функциональные взаимосвязи между нейронами, их метаболизм, сигнальные функции и процесс ремиелинизации нервных волокон [85, 101–104].

Таким образом, полученные данные указывают на то, что инсулин и IGF-1 положительно влияют на выживаемость, рост и дифференцировку нейронов и глиальных клеток, нейрональную пластичность и контролируемые ими функции ЦНС, а также способны предотвратить нейродегенерацию и другие патологические процессы в мозге, развивающиеся после ишемии и ишемического инсульта. Это является несомненным преимуществом инсулина и IGF-1 по сравнению со многими другими препаратами, кандидатами на роль нейропротекторов при церебральной ишемии. В отличие от инсулина и IGF-1, которые действуют комплексно, мишенями других нейропротекторов, как правило, являются отдельные звенья ишемического каскада, что, как полагают, и обуславливает их низкую эффективность или отсутствие восстанавливающего эффекта на функции ЦНС при ишемическом повреждении мозга во время клинических испытаний. Однако в случае инсулина и IGF-1 сохраняются существенные проблемы в адресной доставке препаратов в зону ишемического поражения. Так, инсулин, как правило, вводят пациентам с помощью внутривенных инъекций и только в условиях выраженной гипергликемии. Однако кровоток в зоне инфаркта сильно нарушен, и это не позволяет гормону в достаточных количествах поступить в поврежденную область мозга. В дополнение к этому инсульт часто ассоциирован с метаболическими расстройствами с характерной для них инсулиновой резистентностью. Поскольку значительная часть инсулина поступает в мозг через ГЭБ с помощью рецептор-опосредуемого транспорта, то в условиях инсулиновой резистентности такой транспорт нарушен, что приводит к снижению уровня инсулина в мозге и ослаблению проникновения в него инъекционного инсулина. Так, ранее нами было показано, что уровень инсулина в ЦНС в условиях инсулиновой резистентности при ожирении и метаболическом синдроме сильно снижен [105, 106]. Интрацеребровентрикулярные

инъекции инсулина и IGF-1 в условиях клиники неприемлемы вследствие травматичности. В соответствии с этим наиболее значимой и практически реализуемой альтернативой является интраназальное введение инсулина и IGF-1.

### **ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИНТРАНАЗАЛЬНО ВВОДИМЫХ ИНСУЛИНА И IGF-1 ДЛЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА**

Интраназальный способ введения препаратов в настоящее время стал широко применяться, в том числе в клинике для доставки гормонов, ростовых факторов, синтетических фармакологических препаратов, нуклеиновых кислот и даже стволовых клеток [107]. Преимуществом интраназального введения является адресная доставка в мозг веществ, не имеющих возможности эффективно проникать через ГЭБ вследствие размера, заряда или иных физико-химических особенностей их молекул, а также имеющих низкую устойчивость в крови, высокую иммуногенность, склонность к агрегации. Интраназальное введение обеспечивает высокую биодоступность препаратов для структур мозга, быстрое достижение терапевтического эффекта, обусловленного воздействием на нейроны и глиальные клетки, отсутствие травматизации кожных покровов и сосудов и удобство в применении по сравнению с пероральным и инъекционными способами введения. Важной особенностью интраназального введения является отсутствие прохождения через печеночный барьер, что позволяет использовать существенно более низкие дозы препаратов и тем самым снижает их побочные эффекты [107]. Несомненным преимуществом можно считать лояльность пациента к такой терапии, что особенно важно для пациентов пожилого возраста и для людей с когнитивными нарушениями.

В настоящее время накоплено достаточно данных по длительному применению интраназально вводимого инсулина (ИВИ) у здоровых людей, и результаты проведенных исследований не вызывают опасений в отношении возможных нежелательных эффектов такой терапии. Напротив, большинство результатов указывает на положительное влияние ИВИ на когнитивные функции и память [108, 109]. Длительная клиническая история применения инсулина также является несомненным преимуществом. Более того, продемонстри-

рованная в конце 2000-х гг. эффективность интраназально вводимого IGF-1 животным, подвергнутым ишемии-реперфузии [95, 109], является косвенным доказательством фармакологической безопасности и эффективности интраназально вводимых пептидов инсулиновой группы.

Сравнительно недавно были описаны фармакокинетика и фармакодинамика ИВИ у грызунов [110–112]. После распыления в носовой полости инсулин попадает на слизистую оболочку носа, где он транспортируется в мозг внутриклеточным путем с помощью рецептор-опосредованного эндоцитоза, а также параклеточным или трансклеточным путями. Все эти пути объединяет способность инсулина распространяться вдоль обонятельного и тройничного нервов, по которым гормон быстро распределяется в вентральном и дорсальном направлениях. Максимальные значения концентрации инсулина через 15–30 мин после его введения обнаруживаются в обонятельных луковицах, стриатуме, черной субстанции, стволе мозга, мозжечке и в меньших количествах – в гиппокампе и коре мозга [110, 111]. Содержание инсулина в мозге постепенно снижается, но остается значимо повышенным через 6 ч после введения [110]. Увеличение концентрации инсулина закономерно обнаруживается в спинномозговой жидкости, при этом ИВИ заметно не снижает уровень глюкозы на периферии, т.е. лишен выраженного гипогликемического эффекта, характерного для инъекционных форм гормона [111, 112].

Попадая в ЦНС, инсулин связывается с INSR, что приводит к активации каскада IRS/PI3K/AKT и других сигнальных путей. Об этом свидетельствует увеличение содержания Ser<sup>473</sup>-фосфорилированной формы AKT в обонятельных луковицах, коре мозга, гиппокампе и черной субстанции через 15–30 мин после интраназального введения гормона, за которым, однако, уже через 60 мин следует снижение содержания активированной формы AKT [110, 111].

В ряде исследований продемонстрирован защитный эффект интраназального введения IGF-1 животным с очаговой и глобальной ишемией [95, 113–118]. Их результаты обобщены в таблице. Так, Liu et al. [113, 114, 118] изучали эффект различных доз интраназально вводимого IGF-1 (37,5; 75 и 150 мкг) на крысах с моделью окклюзии средней мозговой артерии (МCAO). IGF-1 был наиболее эффективен в дозе 150 мкг, его введение вызывало уменьшение объема инфаркта мозга, улучшало

Эффекты интраназально вводимых инсулина и IGF-1 при ишемии головного мозга

№	Схема введения	Вид животного	Эффекты	Ссылка
1	инсулин (0,5; 1,0 и 2,0 Ед./мышь) вводили дважды в день с 1-го дня после операции и до конца	мыши C57BL/6J (самцы, 6–8 недель)	инсулин (1,0 Ед./мышь) снижал смертность, улучшал неврологические функции, уменьшал отек мозга и проницаемость гематоэнцефалического барьера, ослаблял постишемическую нейродегенерацию	[122]
2	0,5 Ед. инсулина/крыса однократно за 1 ч до ишемии	крысы Wistar (самцы, 3–4 месяца)	нормализация экспрессии генов каталазы, супероксиддисмутазы 1-го и 2-го типов в коре мозга крыс после ишемии-реперфузии	[123]
3	0,25–0,5 Ед. инсулина/крыса однократно за 1 ч до ишемии	крысы Wistar (самцы, 3–4 месяца)	инсулин (0,5 Ед./крыса) снижал показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ), предотвращал снижение активности $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы в коре мозга крыс	[124]
4	0,5 Ед. инсулина/крыса однократно за 1 ч до ишемии	крысы Wistar (самцы, 3–4 месяца)	снижение показателей ПОЛ, увеличение уровня общего глутатиона в коре мозга контрольных и ишемизированных крыс	[125]
5	0,25 Ед. инсулина/крыса однократно за 1 ч до ишемии	крысы Wistar (самцы, 3–4 месяца)	снижение уровня оснований Шиффа, повышение активности $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы и экспрессии $\alpha 2$ -субъединицы фермента в коре мозга крыс; инсулин и альфа-токоферол усиливают защитное действие друг друга	[126, 127]
6	37,5 и 150 мкг IGF-1/крыса, 10 мин, 24 ч и 48 ч после МСАО	крысы Sprague–Dawley, (самцы, масса 250–303 г)	обработка крыс 150 мкг IGF-1 снижала размер инфаркта, улучшала моторные, сенсорные и вестибулярные функции	[113]
7	75 мкг/крыса IGF-1, 10 мин, 24 ч и 48 ч после МСАО	крысы Sprague–Dawley, (самцы, масса 243–280 г)	введение 75 мкг IGF-1 (суммарно 225 мкг IGF-1 в течение 48 ч) снижало объем инфаркта и отек мозга и улучшало неврологические функции	[114]
8	150 мкг/крыса IGF-1, однократно через 2, 4 и 6 ч после МСАО. Вторая доза – через 24 ч; третья доза – через 48 ч	крысы Sprague–Dawley, (самцы, масса 242–290 г)	введение IGF-1 снижало размеры инфаркта мозга через 2 и 4 ч после МСАО; введение через 6 ч после инсульта снижало некроз клеток; установлен размер терапевтического окна для интраназального IGF-1	[118]
9	50 мкг/крыса IGF-1 сразу после гипоксии-ишемии, через 1 или через 2 ч	крысята Sprague–Dawley 7-го дня жизни (P7)	введение IGF-1 сразу после и через 1 ч после гипоксии-ишемии снижало повреждение мозга, улучшало неврологические функции, выявлены антиапоптотический и пролиферативный эффекты	[95]
10	1 мкг/мышь IGF-1 сразу после начала реперфузии	мыши C57BL/6 (самцы, 20–25 г)	улучшение соматосенсорных и локомоторных функций; при интраназальном пути доставки показаны самые высокие концентрации и самые ранние пиковые концентрации в мозге по сравнению с другими типами инъекций; эритропоэтин и IGF-1 усиливали действие друг друга	[115]
11	500 нг/мышь IGF-1 вводили на 3, 5 и 7 дни после окклюзии	мыши C57BL/6 (самцы)	усиление нейрогенеза и ангиогенеза, улучшение локального мозгового кровотока; IGF-1 усиливал действие мезенхимальных стволовых клеток костного мозга при их совместном интраназальном введении	[117]

Примечание. ПОЛ – перекисное окисление липидов; МСАО – модель окклюзии средней мозговой артерии (middle cerebral artery occlusion).

моторные, сенсорные, рефлекторные и вестибуломоторные функции у крыс после двухчасовой МСАО. В другой работе те же авторы показали, что интраназальное введение IGF-1 в суммарной дозе 225 мкг в течение 48 ч также способствует уменьшению объема инфаркта и отека полушарий, предотвращая неврологический дефицит в условиях МСАО [114]. При этом защитное действие IGF-1 сохранялось в течение 6 ч после МСАО, что позволило оценить размер терапевтического окна для интраназально вводимого IGF-1 [118].

Примечательно, что уровни IGF-1 в крови и тканях снижаются с возрастом. В соответствии с этим, основываясь на данных об отрицательной корреляции между уровнями циркулирующего в крови IGF-1 и частотой инсульта головного мозга [119], можно предположить, что неинвазивное введение IGF-1 пожилым пациентам будет весьма эффективным для предотвращения инсульта и ослабления его негативных последствий. Следует, однако, отметить, что IGF-1, являясь мощным стимулятором пролиферации клеток, характеризуется высоким онкогенным потенциалом и возможные последствия от его применения мало изучены, в отличие от таковых для ИВИ.

Описанное положительное влияние интраназально вводимого IGF-1 на функции ЦНС у животных, подвергнутых ишемии-реперфузии, позволило высказать гипотезу о том, что нейропротекторный эффект в условиях ишемического инсульта будет проявлять также ИВИ [102]. Это предположение базируется как на выявлении нейропротекторных, антиапоптотических и противовоспалительных эффектов ИВИ, полученных при его использовании у животных с экспериментальными моделями нейродегенерации и в условиях клиники при лечении пациентов с болезнью Альцгеймера [120, 121], так и на сходстве молекулярных механизмов и мишеней действия инсулина и IGF-1 в ЦНС [107]. Несмотря на обоснованность и логичность этого предположения, до настоящего времени работы, в которых изучали влияние ИВИ и его нейропротекторный эффект при ишемии головного мозга, единичны. Среди них выполненное в 2022 г. исследование Zhu et al. [122], в котором использовали ИВИ для коррекции ишемических повреждений при геморрагическом инсульте у мышей, и наши работы 2018–2022 гг., в которых изучалась способность ИВИ нормализовать метаболические процессы и ослаблять окислительный стресс при двухсторонней глобальной ишемии переднего мозга у крыс [123–127] (таблица).

Изучая нейропротекторные свойства ИВИ при ишемии, китайские ученые осуществляли оптимизацию доз ИВИ, которые позволяют с наибольшей эффективностью восстанавливать функции мозга при геморрагическом инсульте у мышей [122]. Обнаружено, что ИВИ эффективен в дозе 1,0 Ед./мышь, в то время как в более высокой дозе (2,0 Ед./мышь) он не продемонстрировал значимого ослабления нейродегенеративных процессов. Защитный эффект инсулина при ишемии был обусловлен активацией им 3-фосфоинозитидного пути, включающего АКТ и нижележащую GSK3 $\beta$ . Было высказано предположение, что инсулин регулирует кровоток в сосудах головного мозга дозозависимо, и чрезмерное расширение сосудов в зоне геморрагии при использовании его высоких доз может только усилить повреждение тканей мозга. В этой связи необходимо отметить, что инсулин может оказывать на тонус сосудов разнонаправленные влияния, выступая в качестве вазодилататора [86] и вазоконстриктора [87].

Нами были проведены системные исследования эффективности ИВИ при ишемии мозга, в том числе в условиях двухсторонней глобальной ишемии переднего мозга [123–127]. Впервые было установлено, что ИВИ оказывает антиоксидантное и нейропротекторное воздействие на мозг ишемизированных крыс в дозах 0,25 и 0,5 Ед. на крысу, а также предотвращает окислительную инактивацию Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФазы, препятствуя накоплению продуктов ПОЛ и повышая уровень общего глутатиона в коре мозга крыс, перенесших ишемию-реперфузию. Антиоксидантное действие ИВИ на ткани мозга осуществлялось на уровне регуляции экспрессии генов, кодирующих ферменты антиоксидантной защиты, что выражалось в ИВИ-индуцированном повышении экспрессии генов, кодирующих каталазу и супероксиддисмутазу 1-го и 2-го типов в коре головного мозга [123]. Нормализация процесса ПОЛ может быть опосредована повышением под влиянием ИВИ уровня общего глутатиона в мозге, который играет ключевую роль в антиоксидантной защите нейронов и глиальных клеток [125]. В пользу этого свидетельствует то, что в опытах *in vitro* на первичной культуре нейронов коры мозга другими авторами было показано, что инсулин способен повышать уровень общего глутатиона как в контрольных клетках, так и в клетках, подвергнутых окислительному стрессу, и в основе этого лежит усиление активности глутатионредуктазы и снижение активности глутатионпероксидазы [128]. Сходная ситуация может реализовываться в мозге грызунов при ишемии-реперфузии головного мозга.

В изученной нами модели ишемии-реперфузии выраженным защитным действием обладал инсулин в минимальной дозе 0,25 Ед. на крысу [124, 126, 127], что значительно ниже эффективной дозы ИВИ, описанной в работе Zhu et al. (1,0 Ед. на мышь) [122]. Стоит подчеркнуть, что при внутривенном или подкожном введении инсулина его защитный эффект проявлялся при значительно более высоких дозах, составляющих 4 или даже 12 Ед./животное [89]. Используемые нами эффективные дозы ИВИ сопоставимы с таковыми при интрацеребровентрикулярном введении гормона. В этой связи необходимо упомянуть тот факт, что ИВИ в дозах 0,25–0,5 Ед. на крысу отчетливо восстанавливал метаболические и гормональные показатели, а также когнитивные функции при экспериментальном сахарном диабете [129–131] и метаболическом синдроме [132].

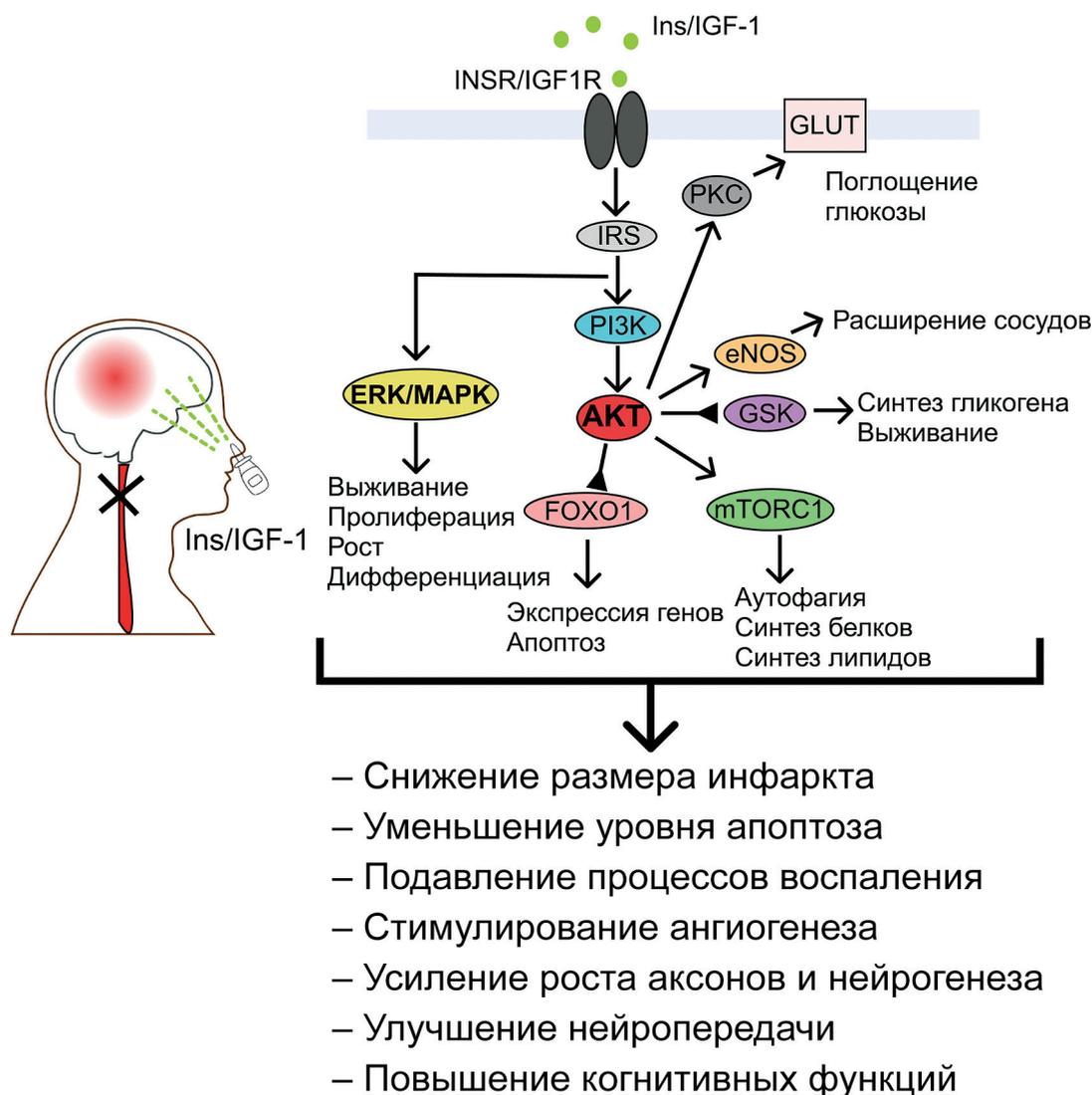
Исследования последних лет направлены на изучение возможного аддитивного действия ИВИ и интраназально вводимого IGF-1 с другими потенциальными нейропротекторами. Нами показано, что при совместном применении с  $\alpha$ -токоферолом, биоактивным компонентом витамина Е, нейропротекторный эффект ИВИ усиливается, и это указывает на синергичность действия препаратов [126]. Иллюстрацией этого является значительное повышение антиоксидантного эффекта ИВИ в присутствии  $\alpha$ -токоферола. Эксперименты *in vivo* были подкреплены данными *in vitro* по взаимному усилению нейропротекторных эффектов инсулина и  $\alpha$ -токоферола в первичной культуре кортикальных нейронов, подвергнутых окислительному стрессу, индуцированному перекисью водорода [126]. Fletcher et al. [115] показали, что интраназально вводимый цитокин эритропоэтин оказывает мощный нейропротекторный эффект на структуры мозга в случае его совместного применения с IGF-1 при ишемическом инсульте. Об этом свидетельствует значимое уменьшение объема инфаркта мозга и улучшение неврологической функции у мышей в течение 90 дней после окклюзии средней мозговой артерии. Изучение распределения [ $^{125}$ I] IGF-1 после его интраназального введения в ишемизированном мозге позволило установить, что этот ростовый фактор обнаруживается в ишемической зоне мозга всего через 20 мин после введения и в дальнейшем накапливается в ней. И, что особенно важно, при интраназальном введении достигается более высокий уровень IGF-1 в мозге как здоровых, так и ишемизированных животных по сравнению с внутривенным, под-

кожным или внутрибрюшинным способами введения IGF-1 [115]. Эти данные свидетельствуют о высокой биодоступности различных отделов мозга при интраназальном введении пептидов инсулиновой группы, а также о более высокой эффективности такого способа доставки инсулиновых пептидов в мозг в сравнении с инъекционными способами.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ишемия тканей головного мозга может возникнуть при различных по этиологии и патогенезу заболеваниях и состояниях. Резкое снижение кровоснабжения и энергетический дефицит в ткани мозга приводят к запуску множества компенсаторных механизмов, направленных на поддержание, хотя бы временное, жизнеспособности нейронов и снижение интенсивности провоспалительных и апоптотических процессов в ЦНС. Важную роль в них играют сигнальные каскады, индуцированные широким спектром гормонов, ростовых факторов, цитокинов, наделенных свойствами нейропротекторов и нейромодуляторов. Инсулин и IGF-1 можно рассматривать в качестве ключевых кандидатов на роль нейропротекторных и нейротрофических факторов, защищающих мозг от повреждений и последующей лавинообразной нейродегенерации при инсульте. Плейотропные эффекты, реализуемые инсулином и IGF-1 в ЦНС, делают их участниками целого ряда патологических и регенерационных процессов, которые разворачиваются сразу после ишемического инсульта. Характерная для инсулина и IGF-1 множественность действий становится их неоспоримым преимуществом по сравнению со многими другими нейропротекторами, действие которых направлено на конкретные звенья патологических процессов и регуляторных каскадов. Вследствие этого применение таких узконаправленных, высокоспецифичных нейропротекторов характеризуется их низкой эффективностью в условиях, когда вследствие массовой гибели нейронов и глиальных клеток после ишемии нарушаются множественные интегративные взаимосвязи между различными сигнальными путями и процессами, а запуск программы восстановления функций ЦНС требуют согласованной их коррекции. Можно полагать, что инсулин и его функциональный гомолог IGF-1 в этом случае могут стать незаменимыми.

Инсулин и IGF-1 присутствуют в ЦНС на протяжении всего онтогенеза и даже, в случае



**Рис. 2.** Молекулярные и физиологические эффекты интраназально вводимых инсулина и IGF-1 при ишемии головного мозга. Ins – инсулин; IGF-1 – инсулиноподобный фактор роста-1; INSR – рецептор инсулина; IGF1R – рецептор IGF-1; IRS – белки-субстраты рецептора инсулина; PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа; PKC – протеинкиназа C; GLUT – инсулин-зависимый глюкозный транспортер; AKT – протеинкиназа B; GSK3 – киназа-3 гликогенсинтазы; FOXO1 – транскрипционный фактор O1 семейства Forkhead; mTORC1 – мишень рапамицинового комплекса 1 млекопитающих; ERK/MAPK – митогенактивируемые протеинкиназы; eNOS – эндотелиальная форма NO-синтазы

инсулина, могут вырабатываться в мозге на ранних стадиях развития организма. Тем самым они не являются чужеродными молекулами для мозга, и потому их введение можно рассматривать как естественный процесс восстановления зависимых от них физиологических процессов, в отличие, например, от введения многих регуляторных молекул, в том числе синтетических, которые могут взаимодействовать с нецелевыми мишенями и тем самым необратимо менять жизненно важные функции мозга. Одним из наиболее эффективных способов доставки инсулина и IGF-1 в мозг является интраназальный способ их введения (рис. 2).

Естественность и безопасность терапии ИВИ основывается на большом положительном опыте его применения при лечении болезни Альцгеймера и некоторых других нейродегенеративных заболеваний, а также при коррекции сахарного диабета, травм головного мозга и других патологических состояниях нервной системы. Преимуществами интраназального способа доставки является безболезненность, отсутствие необходимости в специальном оборудовании или стерилизации. Интраназальное введение позволяет доставить препарат непосредственно в мозг неинвазивно и быстрее, чем при периферическом способе введения. Такое введение улучшает

проникновение препарата в ЦНС, минуя ГЭБ, а предотвращение биодegradации препарата в печени и почках, а также отсутствие риска иммунной реакции на него заметно снижают фармакологически релевантную дозу и уменьшают вероятность побочных эффектов [107]. При интраназальном пути доставки не наблюдается проникновения препарата в системный кровоток, что особенно важно при использовании инсулина, поскольку позволяет предотвратить риск развития опасной для жизни гипогликемии [108, 110]. В случае IGF-1 интраназальное введение позволяет избежать непосредственного воздействия этого мощного митогена на периферические ткани и тем самым минимизирует его возможный онкогенный потенциал.

Существующие исследования ИВИ и интраназально вводимого IGF-1, однако, не лишены недостатков. Большинство из них проведены с использованием здоровых взрослых, не сенильного возраста, не имеющих коморбидных заболеваний, не страдающих атеросклерозом, сахарным диабетом или гипертонией, т.е. не имеющих выраженной предрасположенности к инсульту. Как отмечалось выше, имеется положительная взаимосвязь между тяжестью и продолжительностью этих патологических состояний и повышенным риском возникновения инсульта [45]. Ассоциацией STAIR (Stroke Treatment Academic Industry Roundtable) опубликованы рекомендации, которых необходимо придерживаться при поиске и валидации нейропротек-

торных препаратов для лечения инсульта [133]. Эти рекомендации включают изучение дозозависимого эффекта препаратов и длительности терапевтического окна, необходимость проверки на различных моделях ишемии и ишемии-реперфузии, использование нескольких видов животных (грызуны, кошки, приматы), изучение влияния возраста, пола и других факторов. Таким образом, в настоящее время существует значимый пробел в области фармакологии и фармакокинетики ИВИ и интраназально вводимого IGF-1 при лечении инсульта, несмотря на их потенциальную эффективность и безопасность. Именно поэтому необходимы дальнейшие исследования на животных моделях, которые позволят получить убедительные доказательства эффективности ИВИ и интраназально вводимого IGF-1 в качестве нейропротекторов при инсульте и ишемии головного мозга.

**Вклад авторов.** И.И.З., И.О.З. – анализ литературы, написание текста статьи, подготовка иллюстраций; А.О.Ш., Н.Ф.А. – концептуализация, редактирование текста статьи, руководство.

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания ИЭФБ РАН № 075-00967-23-00.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Soto, M., Cai, W., Konishi, M., and Kahn, C. R. (2019) Insulin signaling in the hippocampus and amygdala regulates metabolism and neurobehavior, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 6379-6384, doi: 10.1073/pnas.1817391116.
2. Havrankova, J., Roth, J., and Brownstein, M. J. (1979) Concentrations of insulin and insulin receptors in the brain are independent of peripheral insulin levels. Studies of obese and streptozotocin-treated rodents, *J. Clin. Invest.*, **64**, 636-642, doi: 10.1172/JCI109504.
3. Rhea, E. M., and Banks, W. A. (2019) Role of the blood-brain barrier in central nervous system insulin resistance, *Front. Neurosci.*, **13**, 521, doi: 10.3389/fnins.2019.00521.
4. Beddows, C. A., and Dodd, G. T. (2021) Insulin on the brain: The role of central insulin signalling in energy and glucose homeostasis, *J. Neuroendocrinol.*, **33**, e12947, doi: 10.1111/jne.12947.
5. Devaskar, S. U., Giddings, S. J., Rajakumar, P. A., Carnaghi, L. R., Menon, R. K., and Zahm, D. S. (1994) Insulin gene expression and insulin synthesis in mammalian neuronal cells, *J. Biol. Chem.*, **269**, 8445-8454, doi: 10.1016/S0021-9258(17)37214-9.
6. Devaskar, S. U., Singh, B. S., Carnaghi, L. R., Rajakumar, P. A., and Giddings, S. J. (1993) Insulin II gene expression in rat central nervous system, *Regul. Pept.*, **48**, 5563, doi: 10.1016/0167-0115(93)90335-6.
7. Schechter, R., Whitmire, J., Wheet, G.S., Beju, D., Jackson, K. W., Harlow, R., and Gavin, J. R., 3rd (1994) Immunohistochemical and in situ hybridization study of an insulin-like substance in fetal neuron cell cultures, *Brain Res.*, **636**, 9-27, doi: 10.1016/0006-8993(94)90170-8.
8. Gerozissis, K. (2008) Brain insulin, energy and glucose homeostasis; genes, environment and

- metabolic pathologies, *Eur. J. Pharmacol.*, **585**, 38-49, doi: 10.1016/j.ejphar.2008.01.050.
9. Havrankova, J., Roth, J., and Brownstein, M. (1978) Insulin receptors are widely distributed in the central nervous system of the rat, *Nature*, **272**, 827-829, doi: 10.1038/272827a0.
  10. Escribano, O., Beneit, N., Rubio-Longás, C., López-Pastor, A. R., and Gómez-Hernández, A. (2017) The role of insulin receptor isoforms in diabetes and its metabolic and vascular complications, *J. Diabetes Res.*, **2017**, 1403206, doi: 10.1155/2017/1403206.
  11. De Meyts, P. (2008) The insulin receptor: a prototype for dimeric, allosteric membrane receptors? *Trends Biochem. Sci.*, **33**, 376-384, doi: 10.1016/j.tibs.2008.06.003.
  12. Belfiore, A., Frasca, F., Pandini, G., Sciacca, L., and Vigneri, R. (2009) Insulin receptor isoforms and insulin receptor/insulin-like growth factor receptor hybrids in physiology and disease, *Endocr. Rev.*, **30**, 586-623, doi: 10.1210/er.2008-0047.
  13. White, M. F., and Kahn, C. R. (2021) Insulin action at a molecular level – 100 years of progress, *Mol. Metab.*, **52**, 101304, doi: 10.1016/j.molmet.2021.101304.
  14. Copps, K. D., and White, M. F. (2012) Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2, *Diabetologia*, **55**, 2565-2582, doi: 10.1007/s00125-012-2644-8.
  15. Razzini, G., Ingrosso, A., Brancaccio, A., Sciacchitano, S., Esposito, D. L., and Falasca, M. (2000) Different subcellular localization and phosphoinositides binding of insulin receptor substrate protein pleckstrin homology domains, *Mol. Endocrinol.*, **14**, 823-836, doi: 10.1210/mend.14.6.0486.
  16. Aguirre, V., Werner, E. D., Giraud, J., Lee, Y. H., Shoelson, S. E., and White, M. F. (2002) Phosphorylation of Ser307 in insulin receptor substrate-1 blocks interactions with the insulin receptor and inhibits insulin action, *J. Biol. Chem.*, **277**, 1531-1537, doi: 10.1074/jbc.M101521200.
  17. Bakke, J., and Haj, F. G. (2015) Protein-tyrosine phosphatase 1B substrates and metabolic regulation, *Semin. Cell Dev. Biol.*, **37**, 58-65, doi: 10.1016/j.semcdb.2014.09.020.
  18. Dodd, G. T., Xirouchaki, C. E., Eramo, M., Mitchell, C. A., Andrews, Z. B., Henry, B. A., Cowley, M. A., and Tiganis, T. (2019) Intranasal targeting of hypothalamic PTP1B and TCPTP reinstates leptin and insulin sensitivity and promotes weight loss in obesity, *Cell Rep.*, **28**, 2905-2922.e5, doi: 10.1016/j.celrep.2019.08.019.
  19. Vanhaesebroeck, B., Guillermet-Guibert, J., Graupera, M., and Bilanges, B. (2010) The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signalling, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **11**, 329-341, doi: 10.1038/nrm2882.
  20. Levença, J., Wong, H., Milstead, R. A., LaPlante, L. E., Hoeffler, C. A. (2021) Immunohistological examination of AKT isoforms in the brain: cell-type specificity that may underlie AKT's role in complex brain disorders and neurological disease, *Cereb. Cortex Commun.*, **2**, tgab036, doi: 10.1093/texcom/tgab036.
  21. Manning, B. D., and Toker, A. (2017) AKT/PKB signaling: navigating the network, *Cell*, **169**, 381-405, doi: 10.1016/j.cell.2017.04.001.
  22. Hemmings, B. A., and Restuccia, D. F. (2012) PI3K-PKB/Akt pathway, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **4**, a011189, doi: 10.1101/cshperspect.a011189. Erratum in: (2015) *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **7**, a026609, doi: 10.1101/cshperspect.a026609.
  23. McCubrey, J. A., Steelman, L. S., Bertrand, F. E., Davis, N. M., Sokolosky, M., Abrams, S. L., Montalto, G., D'Assoro, A. B., Libra, M., Nicoletti, F., Maestro, R., Basccke, J., Rakus, D., Gizak, A., Demidenko, Z. N., Cocco, L., Martelli, A. M., and Cervello, M. (2014) GSK-3 as potential target for therapeutic intervention in cancer, *Oncotarget*, **5**, 2881-2911, doi: 10.18632/oncotarget.2037.
  24. Beurel, E., Grieco, S. F., and Jope, R. S. (2015) Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): regulation, actions, and diseases, *Pharmacol. Ther.*, **148**, 114-131, doi: 10.1016/j.pharmthera.2014.11.016.
  25. Brown, A. K., and Webb, A. E. (2018) Regulation of FOXO factors in mammalian cells, *Curr. Top. Dev. Biol.*, **127**, 165-192, doi: 10.1016/bs.ctdb.2017.10.006.
  26. Ghasemi, R., Haeri, A., Dargahi, L., Mohamed, Z., and Ahmadiani, A. (2013) Insulin in the brain: sources, localization and functions, *Mol. Neurobiol.*, **47**, 145-171, doi: 10.1007/s12035-012-8339-9.
  27. Wang, X., and Proud, C. G. (2006) The mTOR pathway in the control of protein synthesis, *Physiology (Bethesda)*, **21**, 362-369, doi: 10.1152/physiol.00024.2006.
  28. Stoica, L., Zhu, P. J., Huang, W., Zhou, H., Kozma, S. C., and Costa-Mattioli, M. (2011) Selective pharmacogenetic inhibition of mammalian target of Rapamycin complex I (mTORC1) blocks long-term synaptic plasticity and memory storage, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 3791-3796, doi: 10.1073/pnas.1014715108.
  29. Trueba-Saiz, A., Fernandez, A. M., Nishijima, T., Mecha, M., Santi, A., Munive, V., and Aleman, I. T. (2017) Circulating insulin-like growth factor I regulates its receptor in the brain of male mice, *Endocrinology*, **158**, 349-355, doi: 10.1210/en.2016-1468.
  30. Baker, A. M., Batchelor, D. C., Thomas, G. B., Wen, J. Y., Rafiee, M., Lin, H., and Guan, J. (2005) Central penetration and stability of N-terminal tripeptide of insulin-like growth factor-I, glycine-proline-glutamate in adult rat, *Neuropeptides*, **39**, 81-87, doi: 10.1016/j.npep.2004.11.001.
  31. Guan, J. (2011) Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) derived neuropeptides, a novel strategy for the

- development of pharmaceuticals for managing ischemic brain injury, *CNS Neurosci. Ther.*, **17**, 250-255, doi: 10.1111/j.1755-5949.2009.00128.x.
32. Lewitt, M. S., and Boyd, G. W. (2019) The role of insulin-like growth factors and insulin-like growth factor-binding proteins in the nervous system, *Biochem. Insights*, **12**, 1178626419842176, doi: 10.1177/1178626419842176.
33. Rotwein, P., Burgess, S. K., Milbrandt, J. D., and Krause, J. E. (1988) Differential expression of insulin-like growth factor genes in rat central nervous system, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 265-269, doi: 10.1073/pnas.85.1.265.
34. Whittaker, J., Groth, A. V., Mynarcik, D. C., Pluzek, L., Gadsbøll, V. L., and Whittaker, L. J. (2001) Alanine scanning mutagenesis of a type 1 insulin-like growth factor receptor ligand binding site, *J. Biol. Chem.*, **276**, 43980-43986, doi: 10.1074/jbc.M102863200.
35. Drakas, R., Tu, X., and Baserga, R. (2004) Control of cell size through phosphorylation of upstream binding factor 1 by nuclear phosphatidylinositol 3-kinase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 9272-9276, doi: 10.1073/pnas.0403328101.
36. Shpakov, A. O., Derkach, K. V., and Berstein, L. M. (2015) Brain signaling systems in the type 2 diabetes and metabolic syndrome: promising target to treat and prevent these diseases, *Future Sci. OA*, **1**, FSO25, doi: 10.4155/fso.15.23.
37. Yuan, H., Chen, R., Wu, L., Chen, Q., Hu, A., Zhang, T., Wang, Z., and Zhu, X. (2015) The regulatory mechanism of neurogenesis by IGF-1 in adult mice, *Mol. Neurobiol.*, **51**, 512-522, doi: 10.1007/s12035-014-8717-6.
38. Agis-Balboa, R. C., and Fischer, A. (2014) Generating new neurons to circumvent your fears: the role of IGF signaling, *Cell Mol. Life Sci.*, **71**, 21-42, doi: 10.1007/s00018-013-1316-2.
39. Gubbi, S., Quipildor, G. F., Barzilai, N., Huffman, D. M., and Milman, S. (2018) 40 YEARS of IGF1: IGF1: the Jekyll and Hyde of the aging brain, *J. Mol. Endocrinol.*, **61**, T171-T185, doi: 10.1530/JME-18-0093.
40. Wrigley, S., Arafa, D., and Tropea, D. (2017) Insulin-like growth factor 1: at the crossroads of brain development and aging, *Front. Cell Neurosci.*, **11**, 14, doi: 10.3389/fncel.2017.00014.
41. Memezawa, H., Minamisawa, H., Smith, M. L., and Siesjö, B. K. (1992) Ischemic penumbra in a model of reversible middle cerebral artery occlusion in the rat, *Exp. Brain Res.*, **89**, 67-78, doi: 10.1007/BF00229002.
42. Gidö, G., Kristián, T., and Siesjö, B. K. (1997) Extracellular potassium in a neocortical core area after transient focal ischemia, *Stroke*, **28**, 206-210, doi: 10.1161/01.str.28.1.206.
43. Kristián, T., Gidö, G., Kuroda, S., Schütz, A., and Siesjö, B. K. (1998) Calcium metabolism of focal and penumbral tissues in rats subjected to transient middle cerebral artery occlusion, *Exp. Brain Res.*, **120**, 503-509, doi: 10.1007/s002210050424.
44. Dirnagl, U., Iadecola, C., and Moskowitz, M. A. (1999) Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view, *Trends Neurosci.*, **22**, 391-397, doi: 10.1016/s0166-2236(99)01401-0.
45. Khoshnam, S. E., Winlow, W., Farzaneh, M., Farbood, Y., and Moghaddam, H. F. (2017) Pathogenic mechanisms following ischemic stroke, *Neurol. Sci.*, **38**, 1167-1186, doi: 10.1007/s10072-017-2938-1.
46. George, P. M., and Steinberg, G. K. (2015) Novel stroke therapeutics: unraveling stroke pathophysiology and its impact on clinical treatments, *Neuron*, **87**, 297-309, doi: 10.1016/j.neuron.2015.05.041.
47. Zhang, F. X., Rubin, R., and Rooney, T. A. (1998) N-methyl-D-aspartate inhibits apoptosis through activation of phosphatidylinositol 3-kinase in cerebellar granule neurons – a role for insulin receptor substrate-1 in the neurotrophic action of N-methyl-D-aspartate and its inhibition by ethanol, *J. Biol. Chem.*, **273**, 26596-26602, doi: 10.1074/jbc.273.41.26596.
48. Endo, H., Nito, C., Kamada, H., Nishi, T., and Chan, P. H. (2006) Activation of the Akt/GSK3beta signaling pathway mediates survival of vulnerable hippocampal neurons after transient global cerebral ischemia in rats, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **26**, 1479-1489, doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600303.
49. Soriano, F. X., Papadia, S., Hofmann, F., Hardingham, N. R., Bading, H., and Hardingham, G. E. (2006) Preconditioning doses of NMDA promote neuroprotection by enhancing neuronal excitability, *J. Neurosci.*, **26**, 4509-4518, doi: 10.1523/JNEUROSCI.0455-06.2006.
50. Qin, C., Yang, S., Chu, Y. H., Zhang, H., Pang, X. W., Chen, L., Zhou, L. Q., Chen, M., Tian, D. S., and Wang, W. (2022) Signaling pathways involved in ischemic stroke: molecular mechanisms and therapeutic interventions, *Signal Transduct. Target. Ther.*, **7**, 215, doi: 10.1038/s41392-022-01064-1. Erratum in: *Signal Transduct. Target. Ther.*, **7**, 278.
51. Ahad, M. A., Kumaran, K. R., Ning, T., Mansor, N. I., Effendy, M. A., Damodaran, T., Lingam, K., Wahab, H. A., Nordin, N., Liao, P., Müller, C. P., and Hassan, Z. (2020) Insights into the neuropathology of cerebral ischemia and its mechanisms, *Rev. Neurosci.*, **31**, 521-538, doi: 10.1515/revneuro-2019-0099.
52. Semenza, G. L. (2009) Regulation of oxygen homeostasis by hypoxia-inducible factor 1, *Physiology (Bethesda)*, **24**, 97-106, doi: 10.1152/physiol.00045.2008.
53. Sharp, F., and Bernaudin, M. (2004) HIF1 and oxygen sensing in the brain, *Nat. Rev. Neurosci.*, **5**, 437-448, doi: 10.1038/nrn1408.
54. Zhang, Z., Yao, L., Yang, J., Wang, Z., and Du, G. (2018) PI3K/Akt and HIF 1 signaling pathway in

- hypoxia ischemia (Review), *Mol. Med. Rep.*, **18**, 3547-3554, doi: 10.3892/mmr.2018.9375.
55. Sanderson, T. H., Reynolds, C. A., Kumar, R., Przyklenk, K., and Hüttemann, M. (2013) Molecular mechanisms of ischemia-reperfusion injury in brain: pivotal role of the mitochondrial membrane potential in reactive oxygen species generation, *Mol. Neurobiol.*, **47**, 9-23, doi: 10.1007/s12035-012-8344-z.
  56. Wardlaw, J. M., Murray, V., Berge, E., and del Zoppo, G. J. (2014) Thrombolysis for acute ischaemic stroke, *Cochrane Database Syst. Rev.*, **2014**, CD000213, doi: 10.1002/14651858.CD000213.pub3.
  57. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных (2022) Ишемический инсульт и транзиторная ишемическая атака у взрослых, Москва.
  58. Emberson, J., Lees, K. R., Lyden, P., Blackwell, L., Albers, G., Bluhmki, E., Brott, T., Cohen, G., Davis, S., Donnan, G., Grotta, J., Howard, G., Kaste, M., Koga, M., von Kummer, R., Lansberg, M., Lindley, R. I., Murray, G., Olivot, J. M., Parsons, M., Tilley, B., Toni, D., Toyoda, K., Wahlgren, N., Wardlaw, J., Whiteley, W., del Zoppo, G. J., Baigent, C., Sandercock, P., and Hacke, W. (2014) Stroke Thrombolysis Trialists' Collaborative Group. Effect of treatment delay, age, and stroke severity on the effects of intravenous thrombolysis with alteplase for acute ischaemic stroke: a meta-analysis of individual patient data from randomised trials, *Lancet*, **384**, 1929-1935, doi: 10.1016/S0140-6736(14)60584-5.
  59. Guekht, A., Skoog, I., Edmundson, S., Zakharov, V., and Korczyn, A. D. (2017) ARTEMIDA Trial (a Randomized Trial of Efficacy, 12 Months International Double-Blind Actovegin): A randomized controlled trial to assess the efficacy of actovegin in poststroke cognitive impairment, *Stroke*, **48**, 1262-1270, doi: 10.1161/STROKEAHA.116.014321.
  60. Zhang, C., and Yan, C. (2020) Updates of recent vinpocetine research in treating cardiovascular diseases, *J. Cell Immunol.*, **2**, 211-219, doi: 10.33696/immunology.2.045.
  61. Gusev, E. I., Skvortsova, V. I., and Chukanova, E. I. (2005) Semax in prevention of disease progress and development of exacerbations in patients with cerebrovascular insufficiency [in Russian], *Zhurn. Nevrol. Psikhiatr. Im. S. S. Korsakova*, **105**, 35-40.
  62. Melamed, E. (1976) Reactive hyperglycaemia in patients with acute stroke, *J. Neurol. Sci.*, **29**, 267-275, doi: 10.1016/0022-510x(76)90176-3.
  63. Capes, S. E., Hunt, D., Malmberg, K., Pathak, P., and Gerstein, H. C. (2001) Stress hyperglycemia and prognosis of stroke in nondiabetic and diabetic patients: a systematic overview, *Stroke*, **32**, 2426-2432, doi: 10.1161/hs1001.096194.
  64. Zhang, Z., Yan, J., and Shi, H. (2013) Hyperglycemia as a risk factor of ischemic stroke, *J. Drug Metab. Toxicol.*, **4**, 153, doi: 10.4172/2157-7609.1000153.
  65. Piironen, K., Putaala, J., Rosso, C., and Samson, Y. (2012) Glucose and acute stroke: evidence for an interlude, *Stroke*, **43**, 898-902, doi: 10.1161/STROKEAHA.111.631218.
  66. Saxena, A., Anderson, C. S., Wang, X., Sato, S., Arima, H., Chan, E., Muñoz-Venturelli, P., Delcourt, C., Robinson, T., Stapf, C., Lavados, P. M., Wang, J., Neal, B., Chalmers, J., and Heeley, E. (2016) INTERACT2 Investigators. Prognostic significance of hyperglycemia in acute intracerebral hemorrhage: The INTERACT2 study, *Stroke*, **47**, 682-688, doi: 10.1161/STROKEAHA.115.011627.
  67. Voll, C. L., and Auer, R. N. (1988) The effect of postischemic blood glucose levels on ischemic brain damage in the rat, *Ann. Neurol.*, **24**, 638-646, doi: 10.1002/ana.410240508.
  68. Voll, C. L., Whishaw, I. Q., and Auer, R. N. (1989) Postischemic insulin reduces spatial learning deficit following transient forebrain ischemia in rats, *Stroke*, **20**, 646-651, doi: 10.1161/01.str.20.5.646. Erratum in: (1989), *Stroke*, **20**, 1118.
  69. Hamilton, M. G., Tranmer, B. I., and Auer, R. N. (1995) Insulin reduction of cerebral infarction due to transient focal ischemia, *J. Neurosurg.*, **82**, 262-268, doi: 10.3171/jns.1995.82.2.0262.
  70. Warner, D. S., Gionet, T. X., Todd, M. M., and McAllister, A. M. (1992) Insulin-induced normoglycemia improves ischemic outcome in hyperglycemic rats, *Stroke*, **23**, 1775-1780, discussion 1781, doi: 10.1161/01.str.23.12.1775.
  71. Guyot, L. L., Diaz, F. G., O'Regan, M. H., Ren, J., and Phillis, J. W. (2000) The effect of intravenous insulin on accumulation of excitotoxic and other amino acids in the ischemic rat cerebral cortex, *Neurosci. Lett.*, **288**, 61-65, doi: 10.1016/s0304-3940(00)01168-x.
  72. Fukuoka, S., Yeh, H., Mandybur, T. I., and Tew, J. M. Jr. (1989) Effect of insulin on acute experimental cerebral ischemia in gerbils, *Stroke*, **20**, 396-399, doi: 10.1161/01.str.20.3.396.
  73. Meden, P., Andersen, M., Overgaard, K., Rasmussen, R. S., and Boysen, G. (2002) The effects of early insulin treatment combined with thrombolysis in rat embolic stroke, *Neurol. Res.*, **24**, 399-404, doi: 10.1179/016164102101200096.
  74. Huang, S. S., Lu, Y. J., Huang, J. P., Wu, Y. T., Day, Y. J., and Hung, L. M. J. (2014) The essential role of endothelial nitric oxide synthase activation in insulin-mediated neuroprotection against ischemic stroke in diabetes, *Vasc. Surg.*, **59**, 483-491, doi: 10.1016/j.jvs.2013.03.023.
  75. Izumi, Y., Pinard, E., Roussel, S., and Seylaz, J. (1992) Insulin protects brain tissue against focal ischemia in rats, *Neurosci. Lett.*, **144**, 121-123, doi: 10.1016/0304-3940(92)90730-u.
  76. Fanne, R. A., Nassar, T., Heyman, S. N., Hijazi, N., and Higazi, A. A. (2011) Insulin and glucagon share

- the same mechanism of neuroprotection in diabetic rats: role of glutamate, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **301**, R668-R673, doi: 10.1152/ajpregu.00058.2011.
77. Voll, C. L., and Auer, R. N. (1991) Insulin attenuates ischemic brain damage independent of its hypoglycemic effect, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **11**, 1006-1014, doi: 10.1038/jcbfm.1991.168.
  78. Guan, J., Williams, C., Gunning, M., Mallard, C., and Gluckman, P. (1993) The effects of IGF-1 treatment after hypoxic-ischemic brain injury in adult rats, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **13**, 609-616, doi: 10.1038/jcbfm.1993.79.
  79. Zhu, C. Z., and Auer, R. N. (1994) Intraventricular administration of insulin and IGF-1 in transient forebrain ischemia, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **14**, 237-242, doi: 10.1038/jcbfm.1994.30.
  80. Russo, V., Candeloro, P., Malara, N., Perozziello, G., Iannone, M., Scicchitano, M., Mollace, R., Musolino, V., Gliozzi, M., Carresi, C., Morittu, V. M., Gratteri, S., Palma, E., Muscoli, C., Di Fabrizio, E., and Mollace, V. (2019) Key role of cytochrome C for apoptosis detection using Raman microimaging in an animal model of brain ischemia with insulin treatment, *Appl. Spectrosc.*, **73**, 1208-1217, doi: 10.1177/0003702819858671.
  81. Sanderson, T. H., Kumar, R., Sullivan, J. M., and Krause, G. S. (2008) Insulin blocks cytochrome c release in the reperfused brain through PI3-K signaling and by promoting Bax/Bcl-XL binding, *J. Neurochem.*, **106**, 1248-1258, doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05473.x.
  82. Sanderson, T. H., Kumar, R., Murariu-Dobrin, A. C., Page, A. B., Krause, G. S., and Sullivan, J. M. (2009) Insulin activates the PI3K-Akt survival pathway in vulnerable neurons following global brain ischemia, *Neurol. Res.*, **31**, 947-958, doi: 10.1179/174313209X382449.
  83. Sanderson, T. H., Mahapatra, G., Pecina, P., Ji, Q., Yu, K., Sinkler, C., Varughese, A., Kumar, R., Bukowski, M. J., Tousignant, R. N., Salomon, A. R., Lee, I., and Hüttemann, M. (2013) Cytochrome C is tyrosine 97 phosphorylated by neuroprotective insulin treatment, *PLoS One*, **8**, e78627, doi: 10.1371/journal.pone.0078627.
  84. Duarte, A. I., Santos, P., Oliveira, C. R., Santos, M. S., and Rego, A. C. (2008) Insulin neuroprotection against oxidative stress is mediated by Akt and GSK-3beta signaling pathways and changes in protein expression, *Biochim. Biophys. Acta*, **1783**, 994-1002, doi: 10.1016/j.bbamcr.2008.02.016.
  85. Duarte, A. I., Moreira, P. I., and Oliveira, C. R. (2012) Insulin in central nervous system: more than just a peripheral hormone, *J. Aging Res.*, **2012**, 384017, doi: 10.1155/2012/384017.
  86. Hughes, T. M., and Craft, S. (2016) The role of insulin in the vascular contributions to age-related dementia, *Biochim. Biophys. Acta*, **1862**, 983-991, doi: 10.1016/j.bbdis.2015.11.013.
  87. Muniyappa, R., and Yavuz, S. (2013) Metabolic actions of angiotensin II and insulin: a microvascular endothelial balancing act, *Mol. Cell Endocrinol.*, **378**, 59-69, doi: 10.1016/j.mce.2012.05.017.
  88. McKay, M. K., and Hester, R. L. (1996) Role of nitric oxide, adenosine, and ATP-sensitive potassium channels in insulin-induced vasodilation, *Hypertension*, **28**, 202-208, doi: 10.1161/01.hyp.28.2.202.
  89. Hung, L. M., Huang, J. P., Liao, J. M., Yang, M. H., Li, D. E., Day, Y. J., and Huang, S. S. (2014) Insulin renders diabetic rats resistant to acute ischemic stroke by arresting nitric oxide reaction with superoxide to form peroxynitrite, *J. Biomed. Sci.*, **21**, 92, doi: 10.1186/s12929-014-0092-0.
  90. Beilharz, E. J., Russo, V. C., Butler, G., Baker, N. L., Connor, B., Sirimanne, E. S., Dragunow, M., Werther, G. A., Gluckman, P. D., Williams, C. E., and Scheepens, A. (1998) Co-ordinated and cellular specific induction of the components of the IGF/IGFBP axis in the rat brain following hypoxic-ischemic injury, *Brain Res. Mol. Brain Res.*, **59**, 119-134, doi: 10.1016/s0169-328x(98)00122-3.
  91. Schober, M. E., Ke, X., Xing, B., Block, B. P., Requena, D. F., McKnight, R., and Lane, R. H. (2012) Traumatic brain injury increased IGF-1B mRNA and altered IGF-1 exon 5 and promoter region epigenetic characteristics in the rat pup hippocampus, *J. Neurotrauma*, **29**, 2075-2085, doi: 10.1089/neu.2011.2276.
  92. Åberg, D., Jood, K., Blomstrand, C., Jern, C., Nilsson, M., Isgaard, J., and Åberg, N. D. (2011) Serum IGF-I levels correlate to improvement of functional outcome after ischemic stroke, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **96**, E1055-E1064, doi: 10.1210/jc.2010-2802.
  93. Brywe, K. G., Mallard, C., Gustavsson, M., Hedtjärn, M., Leverin, A. L., Wang, X., Blomgren, K., Isgaard, J., and Hagberg, H. (2005) IGF-I neuroprotection in the immature brain after hypoxia-ischemia, involvement of Akt and GSK3beta? *Eur. J. Neurosci.*, **21**, 1489-1502, doi: 10.1111/j.1460-9568.2005.03982.x.
  94. Rizk, N. N., Rafols, J. A., and Dunbar, J. C. (2006) Cerebral ischemia-induced apoptosis and necrosis in normal and diabetic rats: effects of insulin and C-peptide, *Brain Res.*, **1096**, 204-212, doi: 10.1016/j.brainres.2006.04.060.
  95. Lin, S., Fan, L. W., Rhodes, P. G., and Cai, Z. (2009) Intranasal administration of IGF-1 attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats, *Exp. Neurol.*, **217**, 361-370, doi: 10.1016/j.expneurol.2009.03.021.
  96. Nishiyama, A., Komitova, M., Suzuki, R., and Zhu, X. (2009) Polydendrocytes (NG2 cells): multifunctional cells with lineage plasticity, *Nat. Rev. Neurosci.*, **10**, 9-22, doi: 10.1038/nrn2495.

97. Storm-Mathisen, J., Danbolt, N. C., Rothe, F., Torp, R., Zhang, N., Aas, J. E., Kanner, B. I., Langmoen, I., and Ottersen, O. P. (1992) Ultrastructural immunocytochemical observations on the localization, metabolism and transport of glutamate in normal and ischemic brain tissue, *Prog. Brain Res.*, **94**, 225-241, doi: 10.1016/s0079-6123(08)61753-7.
98. Prabhu, D., Khan, S. M., Blackburn, K., Marshall, J. P., and Ashpole, N. M. (2019) Loss of insulin-like growth factor-1 signaling in astrocytes disrupts glutamate handling, *J. Neurochem.*, **151**, 689-702, doi: 10.1111/jnc.14879.
99. Logan, S., Pharaoh, G. A., Marlin, M. C., Masser, D. R., Matsuzaki, S., Wronowski, B., Yeganeh, A., Parks, E. E., Premkumar, P., Farley, J. A., Owen, D. B., Humphries, K. M., Kinter, M., Freeman, W. M., Szweida, L. I., Van Remmen, H., and Sonntag, W. E. (2018) Insulin-like growth factor receptor signaling regulates working memory, mitochondrial metabolism, and amyloid- $\beta$  uptake in astrocytes, *Mol. Metab.*, **9**, 141-155, doi: 10.1016/j.molmet.2018.01.013.
100. Grinberg, Y. Y., Dibbern, M. E., Levasseur, V. A., and Kraig, R. P. (2013) Insulin-like growth factor-1 abrogates microglial oxidative stress and TNF- $\alpha$  responses to spreading depression, *J. Neurochem.*, **126**, 662-672, doi: 10.1111/jnc.12267.
101. Lee, C. C., Huang, C. C., and Hsu, K. S. (2011) Insulin promotes dendritic spine and synapse formation by the PI3K/Akt/mTOR and Rac1 signaling pathways, *Neuropharmacology*, **61**, 867-879, doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.06.003.
102. Lioutas, V. A., Alfaro-Martinez, F., Bedoya, F., Chung, C. C., Pimentel, D. A., and Novak, V. (2015) Intranasal insulin and insulin-like growth factor 1 as neuroprotectants in acute ischemic stroke, *Transl. Stroke Res.*, **6**, 264-275, doi: 10.1007/s12975-015-0409-7.
103. Yu, L. Y., and Pei, Y. (2015) Insulin neuroprotection and the mechanisms, *Chin. Med. J. (Engl.)*, **128**, 976-981, doi: 10.4103/0366-6999.154323.
104. Lioutas, V. A., and Novak, V. (2016) Intranasal insulin neuroprotection in ischemic stroke, *Neural Regen. Res.*, **11**, 400-401, doi: 10.4103/1673-5374.179040.
105. Romanova, I. V., Derkach, K. V., Mikhrina, A. L., Sukhov, I. B., Mikhailova, E. V., and Shpakov, A. O. (2018) The leptin, dopamine and serotonin receptors in hypothalamic POMC-neurons of normal and obese rodents, *Neurochem. Res.*, **43**, 821-837, doi: 10.1007/s11064-018-2485-z.
106. Derkach, K., Zakharova, I., Zorina, I., Bakhtuykov, A., Romanova, I., Bayunova, L., and Shpakov, A. (2019) The evidence of metabolic-improving effect of metformin in Ay/a mice with genetically-induced melanocortin obesity and the contribution of hypothalamic mechanisms to this effect, *PLoS One*, **14**, e0213779, doi: 10.1371/journal.pone.0213779.
107. Gänger, S., and Schindowski, K. (2018) Tailoring formulations for intranasal nose-to-brain delivery: a review on architecture, physico-chemical characteristics and mucociliary clearance of the nasal olfactory mucosa, *Pharmaceutics*, **10**, 116, doi: 10.3390/pharmaceutics10030116.
108. Craft, S., Baker, L. D., Montine, T. J., Minoshima, S., Watson, G. S., Claxton, A., Arbuckle, M., Callaghan, M., Tsai, E., Plymate, S. R., Green, P. S., Leverenz, J., Cross, D., and Gerton, B. (2012) Intranasal insulin therapy for Alzheimer disease and amnesic mild cognitive impairment: a pilot clinical trial, *Arch. Neurol.*, **69**, 29-38, doi: 10.1001/archneurol.2011.233.
109. Kooijman, R., Sarre, S., Michotte, Y., and De Keyser, J. (2009) Insulin-like growth factor I: a potential neuroprotective compound for the treatment of acute ischemic stroke? *Stroke*, **40**, e83-e88, doi: 10.1161/STROKEAHA.108.528356.
110. Fan, L. W., Carter, K., Bhatt, A., and Pang, Y. (2019) Rapid transport of insulin to the brain following intranasal administration in rats, *Neural Regen. Res.*, **14**, 1046-1051, doi: 10.4103/1673-5374.250624.
111. Picone, P., Sabatino, M. A., Ditta, L. A., Amato, A., San Biagio, P. L., Mulè, F., Giacomazza, D., Dispenza, C., and Di Carlo, M. (2018) Nose-to-brain delivery of insulin enhanced by a nanogel carrier, *J. Control Release*, **270**, 23-36, doi: 10.1016/j.jconrel.2017.11.040.
112. Lochhead, J. J., Kellohen, K. L., Ronaldson, P. T., and Davis, T. P. (2019) Distribution of insulin in trigeminal nerve and brain after intranasal administration, *Sci. Rep.*, **9**, 2621, doi: 10.1038/s41598-019-39191-5.
113. Liu, X. F., Fawcett, J. R., Thorne, R. G., DeFor, T. A., and Frey, W. H. 2nd (2001) Intranasal administration of insulin-like growth factor-I bypasses the blood-brain barrier and protects against focal cerebral ischemic damage, *J. Neurol. Sci.*, **187**, 91-97, doi: 10.1016/s0022-510x(01)00532-9.
114. Liu, X. F., Fawcett, J. R., Thorne, R. G., and Frey, W. H. 2nd (2001) Non-invasive intranasal insulin-like growth factor-I reduces infarct volume and improves neurologic function in rats following middle cerebral artery occlusion, *Neurosci. Lett.*, **308**, 91-94, doi: 10.1016/s0304-3940(01)01982-6.
115. Fletcher, L., Kohli, S., Sprague, S. M., Scranton, R. A., Lipton, S. A., Parra, A., Jimenez, D. F., and Digicaylioglu, M. (2009) Intranasal delivery of erythropoietin plus insulin-like growth factor-I for acute neuroprotection in stroke. Laboratory investigation, *J. Neurosurg.*, **111**, 164-170, doi: 10.3171/2009.2.JNS081199.
116. Lin, S., Rhodes, P. G., and Cai, Z. (2011) Whole body hypothermia broadens the therapeutic window of intranasally administered IGF-1 in a neonatal rat model of cerebral hypoxia-ischemia, *Brain Res.*, **1385**, 246-256, doi: 10.1016/j.brainres.2011.02.013.

117. Shen, H., Gu, X., Wei, Z. Z., Wu, A., Liu, X., and Wei, L. (2021) Combinatorial intranasal delivery of bone marrow mesenchymal stem cells and insulin-like growth factor-1 improves neurovascularization and functional outcomes following focal cerebral ischemia in mice, *Exp. Neurol.*, **337**, 113542, doi: 10.1016/j.expneurol.2020.113542.
118. Liu, X. F., Fawcett, J. R., Hanson, L. R., and Frey, W. H. 2nd (2004) The window of opportunity for treatment of focal cerebral ischemic damage with noninvasive intranasal insulin-like growth factor-I in rats, *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.*, **13**, 16-23, doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2004.01.005.
119. Saber, H., Himali, J. J., Beiser, A. S., Shoamanesh, A., Pikula, A., Roubenoff, R., Romero, J. R., Kase, C. S., Vasan, R. S., and Seshadri, S. (2017) Serum insulin-like growth factor 1 and the risk of ischemic stroke: The framingham study, *Stroke*, **48**, 1760-1765, doi: 10.1161/STROKEAHA.116.016563.
120. Irvanpour, F., Dargahi, L., Rezaei, M., Haghani, M., Heidari, R., Valian, N., and Ahmadiani, A. (2021) Intranasal insulin improves mitochondrial function and attenuates motor deficits in a rat 6-OHDA model of Parkinson's disease, *CNS Neurosci. Ther.*, **27**, 308-319, doi: 10.1111/cns.13609.
121. Kim, B. H., Kelschenbach, J., Borjabad, A., Hadas, E., He, H., Potash, M. J., Nedelcovych, M. T., Rais, R., Haughey, N. J., McArthur, J. C., Slusher, B. S., and Volsky, D. J. (2019) Intranasal insulin therapy reverses hippocampal dendritic injury and cognitive impairment in a model of HIV-associated neurocognitive disorders in EcoHIV-infected mice, *AIDS*, **33**, 973-984, doi: 10.1097/QAD.0000000000002150.
122. Zhu, Y., Huang, Y., Yang, J., Tu, R., Zhang, X., He, W. W., Hou, C. Y., Wang, X. M., Yu, J. M., and Jiang, G. H. (2022) Intranasal insulin ameliorates neurological impairment after intracerebral hemorrhage in mice, *Neural Regen. Res.*, **17**, 210-216, doi: 10.4103/1673-5374.314320.
123. Zorina, I. I., Saveleva, L. O., Bakhtyukov, A. A., and Shpakov, A. O. (2018) Intranasal insulin administration normalizes the gene expression of antioxidant enzymes in the two-vessel ischemia and reperfusion in the rat brain, in BIOMEMBRANES 2018: International Conference 1-5 October 2018 Book of Abstracts, *J. Bioenerg. Biomembr.*, **50**, 467-603, doi: 10.1007/s10863-018-9775-7.
124. Zorina, I. I., Zakharova, I. O., Bayunova, L. V., and Avrova, N. F. (2018) Insulin administration prevents accumulation of conjugated dienes and trienes and inactivation of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase in the rat cerebral cortex during two-vessel forebrain ischemia and reperfusion, *J. Evol. Biochem. Phys.*, **54**, 246-249, doi: 10.1134/S0022093018030109.
125. Zorina, I. I., Galkina, O. V., Bayunova, L. V., and Zakharova, I. O. (2019) Effect of insulin on lipid peroxidation and glutathione levels in a two-vessel occlusion model of rat forebrain ischemia followed by reperfusion, *J. Evol. Biochem. Phys.*, **55**, 333-335, doi: 10.1134/S0022093019040094.
126. Zakharova, I. O., Bayunova, L. V., Zorina, I. I., Sokolova, T. V., Shpakov, A. O., and Avrova, N. F. (2021) Insulin and  $\alpha$ -tocopherol enhance the protective effect of each other on brain cortical neurons under oxidative stress conditions and in rat two-vessel forebrain ischemia/reperfusion injury, *Int. J. Mol. Sci.*, **22**, 11768, doi: 10.3390/ijms22211768.
127. Zakharova, I. O., Bayunova, L. V., Zorina, I. I., Shpakov, A. O., and Avrova, N. F. (2022) Insulin and brain gangliosides prevent metabolic disorders caused by activation of free radical reactions after two-vessel ischemia-reperfusion injury to the rat forebrain, *J. Evol. Biochem. Phys.*, **58**, 279-291, doi: 10.1134/S0022093022010240.
128. Duarte, A. I., Santos, M. S., Oliveira, C. R., and Rego, A. C. (2005) Insulin neuroprotection against oxidative stress in cortical neurons – involvement of uric acid and glutathione antioxidant defenses, *Free Radic. Biol. Med.*, **39**, 876-889, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.05.002.
129. Derkach, K. V., Bogush, I. V., Berstein, L. M., and Shpakov, A. O. (2015) The influence of intranasal insulin on hypothalamic-pituitary-thyroid axis in normal and diabetic rats, *Horm. Metab. Res.*, **47**, 916-924, doi: 10.1055/s-0035-1547236.
130. Derkach, K. V., Bondareva, V. M., and Shpakov, A. O. (2019) Regulatory effects of intranasal C-peptide and insulin on thyroid and androgenic status of male rats with moderate type 1 diabetes mellitus, *J. Evol. Biochem. Physiol.*, **55**, 493-496, doi: 10.1134/S0022093019060073.
131. Sukhov, I. B., Derkach, K. V., Chistyakova, O. V., Bondareva, V. M., and Shpakov, A. O. (2016) Functional state of hypothalamic signaling systems in rats with type 2 diabetes mellitus treated with intranasal insulin, *J. Evol. Biochem. Physiol.*, **52**, 204-216, doi: 10.1134/S0022093016030030.
132. Derkach, K. V., Ivantsov, A. O., Chistyakova, O. V., Sukhov, I. B., Buzanakov, D. M., Kulikova, A. A., and Shpakov, A. O. (2017) Intranasal insulin restores metabolic parameters and insulin sensitivity in rats with metabolic syndrome, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **163**, 184-189, doi: 10.1007/s10517-017-3762-6.
133. Albers, G. W., Goldstein, L. B., Hess, D. C., Wechsler, L. R., Furie, K. L., Gorelick, P. B., Hurn, P., Liebeskind, D. S., Nogueira, R. G., and Saver, J. L. (2011) STAIR VII Consortium. Stroke Treatment Academic Industry Roundtable (STAIR) recommendations for maximizing the use of intravenous thrombolytics and expanding treatment options with intra-arterial and neuroprotective therapies, *Stroke*, **42**, 2645-2650, doi: 10.1161/STROKEAHA.111.618850.

## PROSPECTS FOR THE USE OF INTRANASALLY ADMINISTERED INSULIN AND INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-1 IN CEREBRAL ISCHEMIA

### Review

I. I. Zorina\*, N. F. Avrova, I. O. Zakharova, and A. O. Shpakov

*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences,  
194223 Saint-Petersburg, Russia; e-mail: zorina.inna.spb@gmail.com*

Currently, the approaches used to treat stroke have significant limitations, and neuroprotective therapy is ineffective. In this regard, the search for effective neuroprotectors and the development of new neuroprotective strategies in cerebral ischemia are still relevant. Insulin and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) play a key role in the functioning of the brain, are involved in the regulation of growth, differentiation and survival of neurons, neuronal plasticity, food intake, control peripheral metabolism and endocrine functions. They have a complex effect on the brain, including neuroprotective effects in cerebral ischemia and stroke. Experiments on animals and cell cultures have shown that insulin and IGF-1 under hypoxic conditions improve energy metabolism in neurons and glial cells, have a positive effect on blood microcirculation in the brain, restore nerve cell functions and neurotransmission processes, and have anti-inflammatory and antiapoptotic effects on brain cells. Of greatest interest to the clinic is the intranasal route of administration of insulin and IGF-1, since it allows dosed delivery of these hormones directly to the brain, bypassing the blood-brain barrier. Intranasally administered insulin demonstrates a pronounced positive effect in the correction of cognitive impairment in elderly people with neurodegenerative and metabolic disorders. Insulin and IGF-1 administered intranasally improve increase the survival of animals with ischemic stroke. The review discusses literature data and the results of our own studies on the mechanisms of the neuroprotective action of intranasally administered insulin and IGF-1 in cerebral ischemia and the prospects for their use to normalize CNS functions and reduce neurodegenerative changes in this pathology.

*Keywords:* intranasal insulin, insulin-like growth factor-1, cerebral ischemia, reperfusion, neuroprotective effect, oxidative stress