

# ГИПОКСИЕЙ ИНДУЦИРОВАННЫЙ ФАКТОР (HIF-1 $\alpha$ ) КАК МИШЕНЬ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

УДК 615.015:616-001.8

© **В. Е. Новиков, О. С. Левченкова**

ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия»

Министерства здравоохранения РФ, Смоленск

## Ключевые слова:

гипоксией индуцированный фактор (HIF-1 $\alpha$ ); гипоксия; фармакологическая коррекция гипоксии.

## Резюме

В обзорной статье изложены современные представления о роли специфического регуляторного белка HIF-1 $\alpha$  (гипоксией индуцированный фактор-1 альфа) в механизмах адаптации организма к состоянию гипоксии. Обсуждается вопрос таргетного фармакологического воздействия на HIF-1 $\alpha$  с целью направленного регулирования процессов срочной и долговременной адаптации организма к гипоксии. Такой подход открывает новые возможности эффективной фармакотерапии онкологических, ревматических, сердечно-сосудистых и других заболеваний, в генезе которых имеют место состояния гипоксии и ишемии.

## ВВЕДЕНИЕ

Вопросы повышения резистентности организма к состояниям гипоксии и ишемии сегодня интенсивно изучаются в научном мире [4, 5, 18]. Это обусловлено тем, что данные процессы в той или иной мере инициируют развитие и сопутствуют течению многих заболеваний, а также развиваются в результате воздействия на организм различных экстремальных факторов [6, 7, 17].

Определенные успехи в терапии гипоксических состояний связаны с внедрением в медицинскую практику группы лекарственных препаратов, объединенных названием «антигипоксанты» [5, 28]. В настоящее время обсуждение вопросов фармакологии антигипоксантов перестало носить сугубо экспериментально-теоретический характер. Накопленная база экспериментальных данных, успешные клинические испытания позволили ряду соединений найти свое медицинское применение [13, 14]. Препараты с антигипоксическим действием все чаще назначают в составе комбинированной фармакотерапии в различных областях клинической медицины, особенно широко их используют при сердечно-сосудистых заболеваниях в кардиологии и неврологии [2, 3, 6]. Так, их применяют при ишемической болезни сердца (как для профилактики приступов стенокардии, так и в лечении острого инфаркта миокарда), в комплексном лечении ишемических и травматических повреждений ЦНС. Однако имеющийся арсенал лекарственных средств с антигипок-

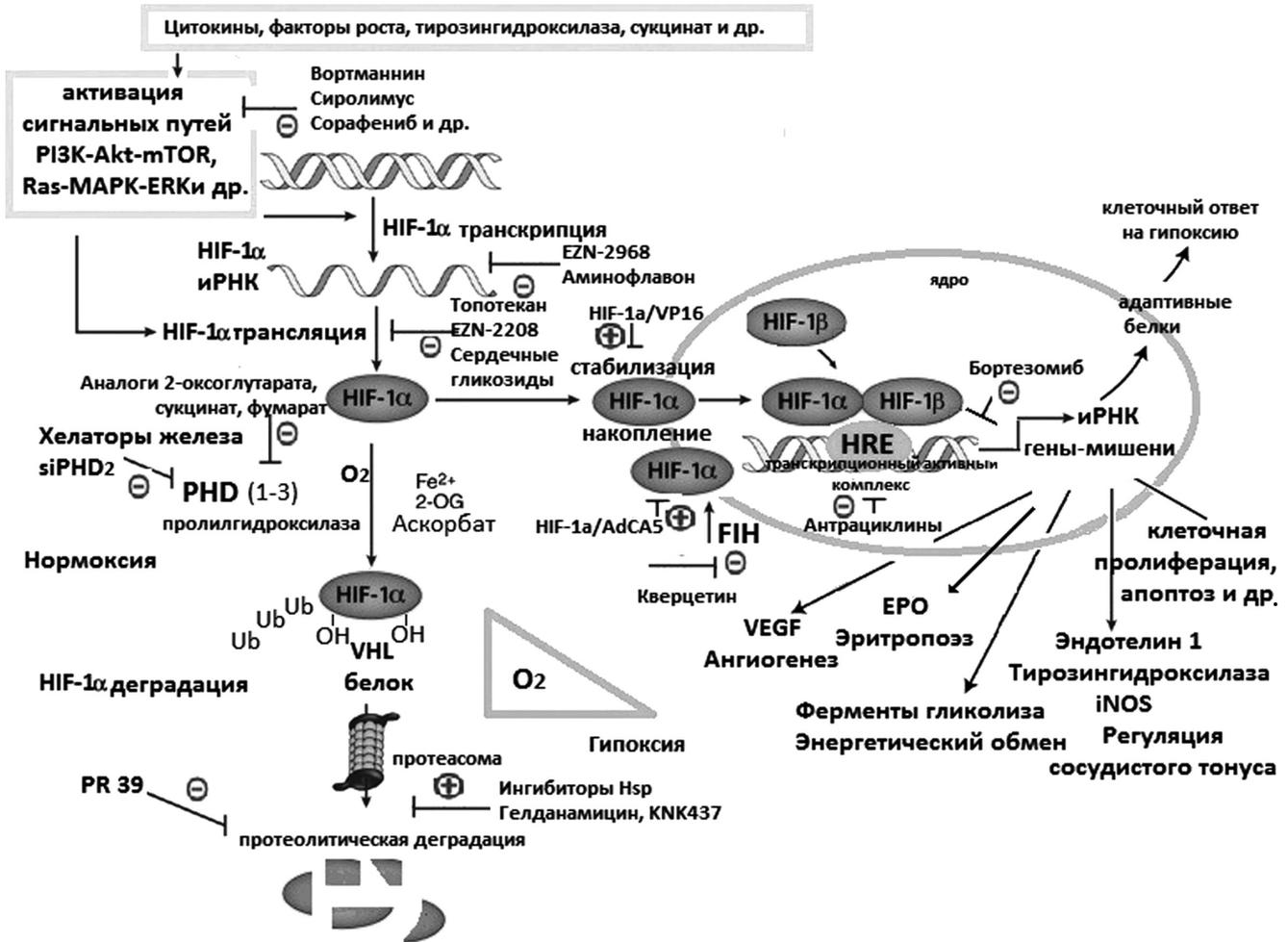
сическим действием не отвечает в полной мере современным требованиям доказательной медицины, а большинство применяемых препаратов относятся к категории «с недоказанной терапевтической эффективностью» [4, 10, 15].

В последние годы благодаря успехам молекулярной биологии и экспериментальной фармакологии вскрыты фундаментальные механизмы формирования состояния гипоксии различного генеза и индуцируемых ею нарушений метаболических и функциональных процессов на уровне клетки и субклеточных структур. Выявлен ряд морфофункциональных объектов, принимающих непосредственное участие в развитии срочной и долговременной адаптации клетки и всего организма к гипоксии [11, 23, 35]. Эти объекты могут выступать специфическими мишенями для воздействия фармакологических агентов с целью регуляции процессов адаптации организма к гипоксии, что открывает перспективные возможности поиска и разработки новых эффективных лекарственных средств с антигипоксическим действием [8, 16, 25].

Сегодня в свете проблемы гипоксии большое внимание уделяют специфическому регуляторному белку — гипоксией индуцированному фактору (HIF-1 $\alpha$ ), активность которого увеличивается при снижении напряжения кислорода в крови. Показано, что этот фактор играет главную роль в системном ответе организма на гипоксию, синтезируется во многих тканях организма, в том числе в нервной ткани, где его экспрессия максимальна в нейронах [9]. Фактор HIF-1 $\alpha$  ответственен за формирование основы долговременной адаптации к гипоксии, а потому представляется удобной мишенью для фармакологического воздействия. Изыскание лекарственных веществ, выступающих в роли индукторов или ингибиторов его синтеза, является актуальным направлением в экспериментальной фармакологии, поскольку позволяет регулировать не только процессы адаптации к гипоксии, но и более эффективно лечить сердечно-сосудистые, онкологические и другие заболевания, в генезе которых ведущую роль играет кислородная недостаточность.

## ГИПОКСИЕЙ ИНДУЦИРОВАННЫЙ ФАКТОР (HIF-1 $\alpha$ )

HIF-1 $\alpha$  является субъединицей гетеродимерного белка HIF-1, бета-субъединица которого экспрессируется постоянно, альфа же субъединица регулируется



■ Рисунок 1. Регуляция синтеза и стабилизации HIF-1α с указанием возможных точек приложения для действия лекарственных веществ HRE (hypoxia-response element) — транскрипционный активный комплекс; PHD — пролилгидроксилаза; VHL — белок фон Хиппель-Линдау; Ub — убиквитин; VEGF — фактор роста эндотелия сосудов; EPO — эритропоэтин; iNOS — индуцибельная NO-синтаза; PI3K (phosphoinositide 3-kinase) — фосфоинозитол 3 киназа; Akt — протеинкиназа B; mTOR (mammalian target of rapamycin) — белок «мишень рапамицина у млекопитающих»; MAPK (mitogen-activated protein kinase) — митогенактивируемая протеинкиназа; ERK (extracellular receptor-stimulated kinase) — регулируемая внеклеточным сигналом киназа; Hsp — белок теплового шока; FIH (factor-inhibiting HIF-1α) — аспарагинил гидроксилаза

ется кислородом (рис. 1). При нормальной концентрации кислорода происходит гидроксирование аминокислотных остатков пролина молекулы HIF-1 альфа в результате активности  $O_2$  и/или  $Fe^{2+}$ -зависимого фермента пролилгидроксилазы (PHD), который является молекулярным сенсором кислорода [21, 39]. Измененная таким образом субъединица HIF-1 альфа через ряд стадий подвергается протеасомной деградации. В состоянии гипоксии белковая молекула HIF-1 альфа не гидроксится, остается стабильной и накапливается. Субъединицы HIF-1 альфа и HIF-1 бета объединяются. Образовавшийся в результате этого транскрипционный белок HIF-1 в ядре клетки связывается с особыми последовательностями ДНК в генах, экспрессия которых индуцируется гипоксией [48].

Известно, что увеличение уровня HIF-1α приводит к повышению экспрессии генов, которые обеспечивают адаптацию клетки к гипоксии и стимулируют

эритропоэз (гены эритропоэтина), ангиогенез (ген фактора роста эндотелия сосудов VEGF), ферменты гликолиза (ген альдолазы, лактатдегидрогеназы, фосфофруктокиназы, пируваткиназы и пр.). Кроме того, HIF-1 регулирует экспрессию генов, участвующих в обмене железа, регуляции сосудистого тонуса, клеточной пролиферации, апоптоза, липогенеза, формировании каротидных клубочков, развитии В-лимфоцитов и др. [19, 46, 50, 57].

Синтез HIF-1α может реализовываться через кислород-независимые механизмы. Так, HIF-1α синтезируется в реакциях, контролируемых такими сигнальными системами, как MAPK (mitogen activated proteinkinase — активируется на сигналы, способствующие пролиферации) и PI3K (фосфатидилинозитол-3 киназа — регуляторный белок, находящийся на пересечении различных сигнальных путей и контролирующей ключевые функции клетки, особое значение имеет в регуляции

таких функций, как рост, выживаемость, старение, опухолевая трансформация). Следует отметить, что PI3K относится к группе ферментов, объединенных под названием «киназы, спасающие от реперфузионных повреждений» (RISK). Эти киназы, как полагают, могут выступать в качестве мишеней для фармакологического воздействия при реперфузионных повреждениях, которые наряду с ишемическими повреждениями играют важное прогностическое значение. Активация этой группы ферментов приводит к ингибированию открытия митохондриальных пор, в результате чего и реализуется цитопротекторное действие [3]. Активируются сигнальные системы MAPK и PI3K через рецептор тирозинкиназы, специфический сукцинатзависимый рецептор GPR-91 и др. Агонистами рецепторов выступают тирозингидроксилаза, цитокины, факторы роста (например, инсулиноподобный фактор роста), сукцинат [11].

### ЗАБОЛЕВАНИЯ, ТРЕБУЮЩИЕ УГНЕТЕНИЯ HIF-1α

Гипоксия, как известно, является типовым патологическим процессом, сопровождающим и определяющим развитие многих патологических состояний [26]. Она приводит к функциональным, а затем структурным изменениям в органах и тканях в результате снижения внутриклеточного напряжения кислорода. Это относится и к гипоксии опухолевых клеток (внутриопухолевая гипоксия). Так, многие раковые опухоли включают области гипоксии. Внутриопухолевая гипоксия существенно ухудшает прогноз заболевания, поскольку в опухолевых тканях ангиогенез протекает очень интенсивно. Это, по-видимому, является одной из причин быстрого роста злокачественных опухолей. Кроме того, усиленный ангиогенез в опухоли способствует метастазированию её клеток, что, в конечном счете, увеличивает смертность среди таких пациентов [44].

Принципиальным механизмом адаптации раковых клеток к гипоксии является активация HIF-1 фактора. Выявление патогенетической роли фактора HIF-1α открывает новые возможности не только в коррекции гипоксии, но и в лечении злокачественных новообразований. Поскольку с помощью лекарственных средств можно как стимулировать, так и угнетать продукцию HIF-1α.

Сегодня, когда доказана роль гипоксии в развитии опухолей, исследователями всё больше обсуждается вопрос о значимости ингибиторов HIF-1α в патогенетической терапии раковых опухолей. Многие современные лекарственные средства так называемой целенаправленной или таргетной терапии опосредованно блокируют функции HIF-1α фактора и оказывают антиангиогенное действие (см. рис. 1). Например, трастузумаб (герцептин) и gefitinib, цалфостин С (ингибитор протеинкиназы С), вортманнин (ингибитор PI3K), PD98095 (ин-

гибитор MAPK), рапамицин (сиролимус, ингибитор FRAP/mTOR), сорафениб и сунитиниб (мультикиназные ингибиторы) [27, 42].

Разработаны способы стабилизации HIF-1α путем изменения скорости его метаболизма по одному из возможных механизмов [48].

1. Уменьшение образования HIF-1 альфа. Выделяют ингибиторы образования этого белка ещё на этапе мРНК. Так действует олигонуклеотид под шифром EZN-2968, который снижает уровень HIF-1 альфа как *in vitro*, так и *in vivo*. В клинических исследованиях вещество показало свою эффективность, получены положительные результаты у пациентов с почечной карциномой с метастазами. Другим соединением, ингибирующим HIF-1α РНК экспрессию, является аминоксифлавон. Второй подход — блокада синтеза HIF-1 альфа на рибосомах на матрице информационной РНК, т.е. блокада трансляции HIF-1 альфа. К препаратам с таким механизмом относят топотекан, его более активный и более удобный по фармакокинетическим характеристикам аналог под шифром EZN-2208. Угнетают образование HIF-1α сердечные гликозиды, что открывает новые возможности применения данной группы кардиотонических средств. Обсуждается вопрос использования сердечных гликозидов в качестве противоопухолевых средств. Проводятся экспериментальные и клинические испытания некоторых из них [58].

В качестве ещё одного, возможно, перспективного средства, ингибирующего избыточную экспрессию HIF-1 альфа при некоторых солидных опухолях, рассматривается препарат носкапин (наркотин — производное бензилизохинолина). Этот алкалоид опия применяется как противокашлевое средство. Экспериментальное изучение носкапина показало его антиангиогенное действие при глиомах (нейроэпителиальных опухолях) [41]. Отечественными исследователями показана роль опиоидной системы (а именно, мю- и дельта-опиоидных рецепторов) в повышении устойчивости миокарда к ишемии-реперфузии при адаптации к хронической нормобарической гипоксии. Предварительная блокада опиоидных рецепторов налтрексоном и другими более избирательными антагонистами опиоидных рецепторов предупреждала кардиопротекторный эффект адаптации [28].

2. Ускорение распада HIF-1 альфа. Усилить протеасомную деградацию HIF-1α могут ингибиторы Hsp90 (белок теплового шока), например, препарат гелданамицин. Белок теплового шока 90 (Hsp90) участвует в укладке, активации и сборке белков, в том числе HIF-1α. Связывание гелданамицина с Hsp90 нарушает взаимодействия Hsp90 с HIF-1α, препятствуя его правильной укладке и подвергая разрушению, опосредуемому протеасомой. Свойством ингибитора белков теплового шока является бензилиден лактамное соединение KNK437, которое угнетает гипоксией обусловленную резистент-

ность раковых клеток к лучевой терапии. Это связано с тем, что HIF-1 $\alpha$  в значительной степени отвечает за резистентность опухолевых клеток к ионизирующей радиации в условиях гипоксии [45].

Эхиномицин и антрациклиновые антибиотики (доксорубин и даунорубин) угнетают транскрипционную активность HIF-1 альфа, блокируя его связывания с компонентами транскрипционного активного комплекса (HRE). При множественной миеломе используют ингибитор транскрипционной активности HIF-1 альфа — бортезомиб. Данный препарат относится к ингибиторам протеасом. Угнетение активности протеасом ведет к такому типу накопления HIF-1 $\alpha$ , как в случае нормоксии. Парадоксально, но при блокаде протеасом накопленный HIF-1 $\alpha$  транскрипционно неактивен [44].

Следует помнить, что стратегия использования ингибиторов HIF-1 $\alpha$  в онкологии может оказывать неблагоприятное воздействие при сопутствующих ишемических состояниях.

Помимо роста злокачественных новообразований и их метастазирования патологический ангиогенез лежит в основе ревматоидного артрита, ретинопатии, псориаза. Так, ревматоидный артрит характеризуется гипоксией и экспрессией гипоксией-индуцируемых транскрипционных факторов. Наблюдаемая при ревматоидном артрите опухолеподобная гиперплазия синовиальной оболочки оказывает деструктивное действие на внутрисуставные ткани и формируется из новообразованных сосудов. Важную роль в ангиогенезе и пролиферации фибробластов играют факторы роста эндотелиоцитов, тромбоцитов, фибробластов, вырабатываемые макрофагоподобными и фибробластоподобными синовиоцитами. PHD-2 является гидроксилазой, регулирующей HIF уровень и экспрессию ангиогенных генов в клетках фибробластоподобных синовиоцитов, поэтому эта изоформа фермента может служить фармакологической мишенью при данном заболевании [38].

Есть исследования, показавшие, что селективное ингибирование HIF-1 $\alpha$  в адипоцитах может стать эффективным терапевтическим подходом в коррекции метаболической дисфункции при ожирении. Так, изучен ингибитор HIF-1 $\alpha$  под шифром PX-478, эффективно подавляющий активацию HIF-1 $\alpha$  в жировой ткани, индуцибельную у мышей диетой, богатой жирами. Ингибирование HIF-1 $\alpha$  приводило к снижению прибавки веса у животных в условиях липидной нагрузки. Кроме того, применение PX-478 уменьшало фиброз жировой ткани и количество воспалительных инфильтратов в ней [53].

### **ЗАБОЛЕВАНИЯ, ТРЕБУЮЩИЕ АКТИВАЦИИ HIF-1 $\alpha$**

Если в терапии раковых опухолей и ревматоидного артрита существует необходимость угнетения активности HIF-1 $\alpha$ , то при ишемической болезни

сердца и ишемии головного мозга патогенетически оправдано усиление активности данного фактора (см. рис. 1). Повышение экспрессии фактора роста эндотелия сосудов через активацию HIF-1 $\alpha$  индуцирует образование новых кровеносных сосудов в области ишемии мозга и сердца, усиливая кровоток и кислородное обеспечение, тем самым, уменьшая ишемию [46].

К настоящему времени в зарубежной литературе можно встретить большое количество попыток активировать HIF-1 с помощью лекарственных веществ, однако большинство работ носит сугубо экспериментальный характер [33, 38, 40, 52].

Известные HIF-1 активаторы подразделяют на две основные группы в зависимости от их влияния на HIF-1 $\alpha$ :

- 1) ингибиторы деградации и инактивации HIF-1 $\alpha$ ;
- 2) активаторы транскрипции и трансляции HIF-1 $\alpha$ .

К средствам первой группы, осуществляющим ферментативную регуляцию HIF, относят, прежде всего, так называемые природные малые молекулы и их вторичные метаболиты, проявляющие свойство HIF-1 активаторов. Это относительно низкомолекулярные органические соединения, продуцируемые растениями, животными, микроорганизмами [45].

Поскольку HIF-пролилгидроксилазы в качестве кофакторов используют железо, 2-оксоглутарат и кислород, оказалось, что хелаторы железа, в частности, дефероксамин, препятствуют HIF-1 $\alpha$  протеасомной деградации, что в итоге вызывает экспрессию генов, обеспечивающих выживание клетки в условиях гипоксии. Дефероксамин впервые был идентифицирован как сидерохром из *Streptomyces pilosus*. Являясь хелатирующим веществом, образует комплексы путем присоединения ионов трехвалентного железа. Используется в клинике в качестве антагониста тяжелых металлов, прежде всего, в лечении отравлений железом и алюминием. Показано, что дефероксамин индуцирует ДНК-связывающую активность HIF-1 и увеличивает уровень иРНК эритропоэтина в культуре клеток [45]. Кроме дефероксамина, свойствами хелатора железа обладает диметилноксалилглицин (DMOG). DMOG ингибирует оксоглутарат-зависимые дегидрогеназы и тем самым индуцирует стабилизацию HIF-1 $\alpha$ . Диметилноксалилглицин значительно повышает экспрессию HIF-1 $\alpha$  и VEGF в культуре клеток эндотелия и увеличивает выживаемость кожного лоскута *in vivo* на модели у крыс [51]. В экспериментах на мышах показано, что транзитная активация HIF с помощью DMOG стимулирует не только антиапоптотические пути, но и усиливает неоваскуляризацию с сопутствующим увеличением количества клеток-предшественников костного мозга [35]. Кроме того, есть исследование, продемонстрировавшее, что ингибирование пролилгидроксилазы с помощью DMOG сохраняет функцию эндотелия сосудов при моделировании ишемически-реперфузионных по-

вреждений сосудов *in vitro* на изолированной аорте крыс и функцию гладкомышечных клеток аорты на модели холодовой ишемии/реперфузии теплым реперфузионным раствором [30].

Дихлорид кобальта ( $\text{CoCl}_2$ ) оказывает аналогичное гипоксии, а также дефероксамину и диметилкоксалилглицину действие на экспрессию мРНК HIF-1 $\alpha$ , что указывает на зависимость процесса экспрессии этой мРНК не только от уровня кислорода, но и от наличия ионов железа. Кобальт способен более прочно связываться с гемом, чем железо. Также было показано, что кобальт активирует HIF-1 за счет истощения внутриклеточного содержания аскорбиновой кислоты, ко-фактора для HIF-гидроксилазы, который стабилизирует и инактивирует HIF-1 $\alpha$  [54].  $\text{CoCl}_2$  используется преимущественно *in vitro* для индукции и оценки гипоксии в культурах клеток млекопитающих. Возможно, антигипоксическая активность отечественного лекарственного средства кобазола (кобальтового комплекса с 1-винилимидазолом), обладающего свойством стимулятора кроветворения, связана со способностью этого металлокомплексного препарата влиять на стабилизацию HIF-1 [20].

К другим конкурентным ингибиторам пролилгидроксилазы, действующим не через железо, а через ещё один кофактор фермента 2-оксоглутарат, относится L-мимозин. Показано, что активаторы HIF ускоряют регенерацию костной ткани, улучшая кровоснабжение и формирование костей после перенесенных травм опорно-двигательного аппарата. Вводимые инъекционно непосредственно в место перелома бедренной кости у мышей дефероксамин, диметилкоксалилглицин и L-мимозин ингибировали PND, что увеличивало васкуляризацию и размер костной мозоли [52].

Доказано, что свойствами хелатора железа обладает также лактоферрин (ЛФ) — белок из семейства трансферринов, осуществляющий перенос железа в клетки и контролирующий уровень свободного железа в крови и во внешних секретах. ЛФ является одним из основных белков секрета большинства экзокринных желез человека, содержится в плазме крови, нейтрофилах, участвует в системе неспецифического гуморального иммунитета и др. Отечественными учеными на модели острой гипоксии с гиперкапнией у мышей продемонстрировано дозозависимое антигипоксическое действие апоформы ЛФ человека (апоЛФ). Показано, что у мышей, получавших апоЛФ, происходит накопление HIF-1 $\alpha$  во многих тканях. Обнаружено достоверное повышение концентрации эритропоэтина в сыворотке крови мышей, получавших апоЛФ внутрибрюшинно. АпоЛФ рекомендуют исследовать в качестве нейропротектора, поскольку он выгодно отличается от других хелаторов железа способностью проникать через гематоэнцефалический барьер и отсутствием многих побочных эффектов, характерных для последних [24].

Существуют и другие хелаторы железа, проникающие через ГЭБ, например, вещества M30 и HLA20, которые продемонстрировали нейропротективную активность *in vitro* и *in vivo* в эксперименте на животных при повреждениях, применимых к различным нейродегенеративным заболеваниям, таким как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и боковой амиотрофический склероз. При этом исследователи делают акцент на способность соединений M30 и HLA20 активировать HIF-1 сигнальный путь [29, 59].

Идентифицирован и в разной степени исследован и ряд других ингибиторов HIF-пролилгидроксилаз, например, N-оксалил-2S-аланин, 3-карбоксиметилен N-гидрокси-сукцинимид, 3-карбоксо-N-гидрокси-пирролидон и др. [45, 55]. Для связывания пролилгидроксилазы считается возможным использование аналогов 2-оксоглутарата (2-оксоглутарата, сукцината, фумарата). Так, например, сукцинат ингибирует HIF-пролилгидроксилазы в цитозоле, стабилизирует HIF-1 $\alpha$  белок и, как результат, активирует HIF-1 [40]. Перорально используемый ингибитор пролилгидроксилазы GSK360A оказывает кардиопротекторное действие при сердечной недостаточности после инфаркта миокарда. Кроме того, он оказывает благотворное воздействие за счет увеличения толерантности к гипоксии скелетных мышц путем перепрограммирования основного обмена. GSK360A оказывало защитное действие на модели ишемически-реперфузионных повреждений у мышей [49].

Блокировать деградацию HIF-1 $\alpha$  можно с помощью некоторых пептидов, например, PR 39. Этот пептид, выделенный из макрофагов, индуцирует HIF-1 $\alpha$  путем ингибирования протеасомной деградации. Показана кардиопротекторная способность PR39 при ишемии-реперфузии у мышей [37].

Спорным до некоторых пор был вопрос о влиянии монооксида азота на активность HIF-1 в условиях гипоксии. В настоящее время показана возможность для некоторых донаторов NO индуцировать HIF-1 $\alpha$ -накопление и HIF-1-активность (S-нитрозо-N-ацетил-D, L-пеницилламин; S-нитрозоглутатион и др.). Выявлено, что для повышения активности HIF-1 с помощью донаторов NO требуется присутствие NO, этот процесс независим от cGMP, активирует PI3K/AKT/mTOR сигнальный путь для увеличения синтеза HIF-1 $\alpha$  белка и чувствителен к колебаниям редокс-потенциала клетки. NO может связываться с железом HIF-гидроксилаз, блокировать связывание с ними кислорода и тем самым подавлять реакцию гидроксирования [40]. Кроме того, при гипоксии белок фон Хиппель-Линдау (pVHL, т.е. белок, участвующий в деградации HIF-1 $\alpha$ ) S-нитрозилируется и не распознается HIF-1 $\alpha$ . Как концентрацию, так и время высвобождения NO из разных по химической структуре донаторов NO рекомендуют принимать во внимание при интерпретации результатов по активации HIF-1 с их помощью.

Показано также, что в условиях нормоксии разная пороговая концентрация NO активирует различные сигнальные пути [31, 57].

Ещё одним подходом для стабилизации HIF-1α является использование коротких интерферирующих РНК (siRNA), понижающих экспрессию специфических генов. В частности, в эксперименте показана эффективность использования особых молекул коротких РНК для выключения экспрессии гена пролилгидроксилазы (siPHD). Развивается так называемое «молчание» гена PHD, что позволяет увеличить транскрипционную активность HIF. Внутривенное введение siPHD2 мышам с ишемией-реперфузией миокарда, ишемией нижних конечностей обеспечивало значимое улучшение роста сосудов в ишемизированных тканях [33].

Для активации HIF-1α транскрипции и трансляции используется генноинженерный метод — генотерапия с использованием вирусных векторов для доставки генетической информации в геном клеток. Так, например, показано, что введение животным HIF1α/VP16 гибрида увеличивает ангиогенез и уменьшает размеры инфаркта миокарда в эксперименте [40]. HIF1α/VP16 гибрид представляет собой ДНК-связывающий и димеризационный домен от HIF1α и трансактивационный домен белка VP16 вируса герпеса. Кроме того, HIF-1α/VP16 увеличивает образование коллатеральных сосудов и кровотоков на модели ишемии задних конечностей.

В результате 1-й фазы клинических испытаний у пациентов с критической ишемией нижних конечностей HIF-1α/VP16 показал себя как безопасное лекарственное средство, уменьшающее боль в покое и способствующее заживлению трофических язв у некоторых пациентов. Однако при проведении рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования был сделан вывод, что генотерапия с внутримышечным введением HIF-1α не является эффективной терапией для пациентов с заболеваниями периферических артерий, а именно тяжелым течением перемежающейся хромоты. Широко используются для введения генов в геном человека и аденовирусные векторы. Конститутивная экспрессия HIF1α с использованием рекомбинантных аденовирусных векторов (например, AdCA5) защищает культуру кардиомиоцитов крыс от ишемически-реперфузионных повреждений. Эти результаты позволяют предполагать, что HIF-1-активаторы могут предупреждать или ослаблять проявления ишемически-реперфузионных повреждений, запуская феномен preconditionирования. Введение AdCA5 кроликам с ишемией задних конечностей, мышам с моделью диабетической ишемии задних конечностей стимулировало процесс восстановления кровообращения в конечностях путем возрастания плотности капиллярной сети и увеличения просвета артерий [40, 47].

Обобщая информацию о целесообразности поиска и применения имеющихся активаторов HIF-1α, следует отметить их эффективность при ишемии тканей и связанных с нею заболеваний. К состояниям, когда индукторы HIF-1α могут оказаться полезны, следует отнести анемию при хронических заболеваниях, ишемическую болезнь сердца, ишемию сосудов головного мозга, период реперфузии после инфаркта миокарда или инсульта, некоторые нарушения периферического кровообращения [36, 49]. Особенно перспективным может оказаться их применение при острой предсказуемой ишемии, например, ишемии миокарда при операциях на сердце или сосудах (аортокоронарного шунтирования) или при трансплантации органов, поскольку обсуждается возможность запуска феномена preconditionирования с помощью индукторов HIF-1α [22]. С практической точки зрения метод фармакологического preconditionирования удобнее в сравнении с инвазивным ишемическим preconditionированием или гипоксическим, который требует специального оборудования и доступен не всем пациентам.

Активация HIF-1α, который стимулирует ангиогенез через экспрессию многих ангиогенных факторов, может оказаться более эффективной, чем воздействие одним каким-либо ангиогенным фактором [12]. Однако системная активация ангиогенеза вызывает побочные эффекты у больных с ангиомой, раком, артритом, ретинопатиями, атеросклерозом в фазу прогрессирования. Поэтому к использованию активаторов HIF-1α следует подходить осторожно, тем более что общий результат зависит от состояния больного и характера стимула. В некоторых моделях присутствие HIF-1α только ухудшает эффект ишемии. Наличие пролиферативных заболеваний служит противопоказанием для активаторов HIF-1α.

HIF-1-активность и экспрессия регулируемыми им генами, такими как фактор роста эндотелия сосудов и эритропоэтин, изменяются при ряде нейродегенеративных заболеваний, что может расширить применение активаторов этого фактора в их лечении, в частности в лечении болезни Паркинсона [59]. Постоянный уровень HIF1 отвечает за синтез эритропоэтина, в том числе и в головном мозге при гипоксии. Эритропоэтин оказывает положительный протектирующий эффект у больных паркинсонизмом. В эксперименте показано, что введение эритропоэтина в паренхиму мозга предупреждает гибель дофаминергических нейронов [23]. Более того, тирозингидроксилаза — фермент, лимитирующий скорость синтеза катехоламинов, в частности превращающий L-тирозин в предшественник дофамина L-ДОФА, является геном-мишенью HIF-фактора. Есть данные, позволяющие рассматривать HIF-1 в качестве потенциальной мишени для средств, используемых и при болезни Альцгеймера [43]. В исследованиях *in vitro* и на различных моделях ней-

родегенеративных заболеваний у животных было подтверждено нейропротекторное действие указанного выше вещества М30 и его способность регулировать уровень предшественника бета-амилоида (APP) и самого бета-амилоида. М30 представляет собой комбинацию особого хелатора железа с ингибитором MAO В — разагилином. Показано, что М30 повышает активность HIF-1, увеличивает транскрипцию HIF-1 $\alpha$ -зависимых генов, в том числе VEGF, эритропоэтина, p21 и тирозингидроксилазы в корковых клетках у крыс. Кроме того, М30 увеличивает экспрессию нейротрофического фактора мозга (BDNF) и нейромодулина (GAP-43). Что касается аспектов, непосредственно имеющих отношение к болезни Альцгеймера, то выявлено, что М30 ослабляет фосфорилирование тау-белка, оказывает протекторное действие на культуры корковых нейронов против токсичности бета-амилоида (A $\beta$ 25–35) [32].

При изучении активаторов HIF-1 $\alpha$  следует учитывать, что множественность эффектов HIF-1 $\alpha$  приводит к увеличению его нежелательных побочных влияний. Например, HIF-1 $\alpha$  усиливает как ангиогенез, так и эритропоэз. Усиление последнего приводит к полицитемии (повышение вязкости крови, замедление кровотока и нарушение микроциркуляции), что осложняет лечение, направленное на поддержку ангиогенеза. В то же время именно за счет усиления эритропоэза активаторы HIF-1 $\alpha$  имеют перспективы быть использованными при лечении анемий, связанных с почечной недостаточностью.

### **РОЛЬ HIF-1 $\alpha$ В МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ С АНТИГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

В нашей стране среди лекарственных средств с антигипоксическим действием широко распространено применение различных органических сукцинатсодержащих соединений (этилметилгидроксипиридина сукцинат, меглюмина натрия сукцинат и др.) [10, 15, 17, 26]. Возможно, цитопротекторная активность антигипоксантов прямого энергизирующего действия, к которым относятся сукцинатсодержащие соединения, связана и со способностью влиять на активность HIF-пролилгидроксилаз. Интересный факт обнаружен в отношении биофлавоноида кверцетина, который, как оказывается, в условиях нормоксии активирует HIF-1 в различных клеточных культурах, увеличивает экспрессию в них VEGF и GLUT-1 (см. рис. 1). Кверцетин блокирует фактор, ингибирующий HIF (аспарагинил гидроксилазу), который инактивирует HIF-1 $\alpha$  в условиях нормоксии [40]. По данным литературы, средства растительного происхождения, содержащие хинонную структуру в молекуле, в том числе кверцетин, оказывают прямое влияние на работу 1-го митохондриального ферментного комплекса и проявляют выраженный протекторный эффект на различных моделях гипоксии.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, проведенный анализ результатов экспериментальных и клинических исследований свидетельствует о том, что развитие многих заболеваний сопровождается состоянием гипоксии и прямо или косвенно связано с нарушением кислородного бюджета организма. Объективным показателем развития гипоксии является активность специфического белка HIF-1 $\alpha$  (гипоксией индуцированный фактор-1 $\alpha$ ), который играет ведущую роль в реализации функционально взаимосвязанных компенсаторно-адаптационных реакций клеток, тканей и всего организма на гипоксию [34]. Современный уровень знаний патофизиологических и патобиохимических процессов, индуцируемых гипоксией, позволяет проводить патогенетическую коррекцию метаболических и морфо-функциональных изменений с помощью лекарственных средств, мишенью действия для которых является HIF-1 $\alpha$ .

Гипоксией индуцированный фактор-1 $\alpha$  регулирует процессы адаптации организма к состоянию гипоксии и его можно использовать в качестве специфической мишени для фармакологического воздействия. Такой подход открывает новые направления поиска эффективных лекарственных средств направленного регулирования процессов срочной и долговременной адаптации организма к гипоксии и является актуальным в лечении онкологических, ревматических, сердечно-сосудистых и других заболеваний, в генезе которых имеют место состояния гипоксии и ишемии. Активаторы HIF-1 $\alpha$  могут быть эффективными для стимуляции заживления ран, ожогов, регенерации костной ткани после переломов, в лечении хронических анемий [36, 56]. Поэтому поиск активаторов экспрессии HIF-1 альфа также актуален, как и изучение влияния известных лекарственных средств с антигипоксическим действием на уровень этого информативного при гипоксии фактора. Не случайно некоторые авторы рекомендуют оценивать способность антигипоксантов снижать активность ферментов, участвующих в гидроксилировании HIF-1 $\alpha$  [1]. Изучение влияния известных препаратов антигипоксантов на уровень HIF-1 $\alpha$  может изменить представления об их фармакодинамике и показаниях к применению. Как можно теоретически предположить, лекарственные препараты в зависимости от дозы, схемы применения могут по-разному влиять на этот фактор и проявлять собственно антигипоксические свойства, а могут, напротив, выступая в качестве гипоксантов, вызывать фармакологическое прекондиционирование и повышать резистентность организма к последующему гипоксическому воздействию.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Александрова А.Е. Антигипоксическая активность и механизмы действия некоторых синтетических

- и природных соединений // Эксперим. и клин. фармакол. — 2005. — Т. 68, № 5. — С. 72–78.
2. *Беленичев И. Ф., Черный В. И., Колесник Ю. М.* и др. Рациональная нейропротекция — Донецк: Издатель Заславский А. Ю., 2009. — 262 с.
  3. *Галагудза М. М.* Пре- и посткондиционирование как способы защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждений: Автореф. дис... д-ра мед. наук. — СПб., 2007. — 46 с.
  4. *Дикманов В. В., Новиков В. Е., Марышева В. В., Шабанов П. Д.* Антигипоксические свойства производных тиазолиндола // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. — 2011. — Т. 9, № 3. — С. 60–64.
  5. *Зарубина И. В., Шабанов П. Д.* Молекулярная фармакология антигипоксантов. — СПб.: Н-Л, 2004. — 368 с.
  6. *Зарубина И. В.* Современные представления о патогенезе гипоксии и ее фармакологической коррекции // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. — 2011. — Т. 9, № 3. — С. 31–48.
  7. *Илюхин С. А., Новиков В. Е.* Влияние антигипоксантов на эффективность кислоты ацетилсалициловой при остром воспалении // Вестник Смоленской гос. мед. академии. — 2012. — Т. 11, № 4. — С. 46–51.
  8. *Кирова Ю. И.* Влияние гипоксии на динамику содержания HIF-1α в коре головного мозга и формирование адаптации у крыс с различной резистентностью к гипоксии // Пат. физиол. и эксперим. терапия. — 2012. — № 3. — С. 51–55.
  9. *Левина А. А., Макешова А. Б., Мамукова Ю. И.* и др. Регуляция гомеостаза кислорода. Фактор, индуцированный гипоксией (HIF) и его значение в гомеостазе кислорода // Педиатрия. — 2009. — Т. 87, № 4. — С. 92–98.
  10. *Левченкова О. С., Новиков В. Е., Пожилова Е. В.* Фармакодинамика и клиническое применение антигипоксантов // Обзоры по клин. фармакологии и лек. терапии. — 2012. — Т. 10, № 3. — С. 3–12.
  11. *Лукьянова Л. Д.* Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции // Пат. физиол. и эксперим. терапия. — 2011. — № 1. — С. 3–19.
  12. *Мисюрин А. В.* Молекулярный патогенез миелопротективных заболеваний // Клинич. онкогематология. — 2009. — Т. 2, № 3. — С. 211–219.
  13. *Новиков В. Е., Илюхин С. А.* Влияние гипоксена на эффективность кислоты ацетилсалициловой при остром воспалении // Эксперим. и клин. фармакол. — 2013. — Т. 76, № 4. — С. 32–35.
  14. *Новиков В. Е., Илюхин С. А., Пожилова Е. В.* Влияние метапрота и гипоксена на развитие воспалительной реакции в эксперимента // Обзоры по клин. фармакологии и лек. терапии. — 2012. — Т. 10, № 4. — С. 63–66.
  15. *Новиков В. Е., Левченкова О. С.* Фармакология гипоксии. — Смоленск: СГМА, 2007. — 130 с.
  16. *Новиков В. Е., Левченкова О. С.* Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени для их действия // Эксперим. и клин. фармакол. — 2013. — Т. 76, № 5. — С. 37–47.
  17. *Новиков В. Е., Новиков А. С., Крюкова Н. О.* Гастропротекторные свойства мексидола и гипоксена // Эксперим. и клиническая фармакол. — 2010. — № 5. — С. 15–18.
  18. *Новиков В. Е., Маркова Е. О., Дьяков М. Ю., Парфенов Э. А.* Антигипоксическая активность комплексных соединений на основе аскорбиновой кислоты // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. — 2011. — Т. 9, № 2. — С. 35–41.
  19. *Павлов А. Д., Морцакова Е. Ф., Румянцев А. Г.* Эритропоэз, эритропоэтин, железо. Молекулярные и клинические аспекты. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. — 299 с.
  20. *Петухова Н. Ф., Новиков В. Е.* Синергизм в действии кобазола и гипоксена // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. — 2011. — Т. 9, № 2. — С. 51–54.
  21. *Портниченко В. И., Носарь В. И., Портниченко А. Г.* и др. Фазовые изменения энергетического метаболизма // Физиол. журн. — 2012. — Т. 58, № 4. — С. 3–20.
  22. *Ратан Р. Р., Сиддик А., Аминова Д.* и др. Моделирование ишемического прекодиционирования. Ингибирование пролилгидроксилазы и индуцируемый гипоксией фактор-1: новые мишени для терапии инсульта // Stroke. — 2005. — № 7. — С. 87–92.
  23. *Серебровская Т. В.* Новая стратегия в лечении болезней: гипоксия-индуцируемый фактор // Вестник междунар. Акад. наук. — 2006. — № 1. — С. 29–31.
  24. *Соколов А. В., Захарова Е. Т., Костевич В. А.* и др. Аполлактоферрин грудного молока — физиологический миметик гипоксии // Патогенез. — 2011. — Т. 9, № 3. — С. 61–62.
  25. *Солкин А. А., Белявский Н. Н., Кузнецов В. И., Николаева А. Г.* Основные механизмы формирования защиты головного мозга при адаптации к гипоксии // Вестник ВГМУ. — 2012. — Т. 11, № 1. — С. 6–14.
  26. *Шабанов П. Д., Зарубина И. В., Новиков В. Е., Цыган В. Н.* Метаболические корректоры гипоксии. — СПб., 2010. — 916 с.
  27. *Шимановский Н. Л.* Перспективы применения таргетной терапии при раке почек и печени // Междунар. мед. журн. — 2008. — № 3. — С. 108–111.
  28. *Цибульников С. Ю.* Исследование рецепторной природы опиоидергического компонента кардиопротекторного эффекта адаптации к хронической нормобарической гипоксии // Патогенез. — 2011. — Т. 9, № 3. — С. 69.
  29. *Avramovich-Tirosh Y., Bar-Am O., Amit T.* et al. Up-regulation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1α and HIF-target genes in cortical neurons by the novel multifunctional iron chelator anti-Alzheimer drug, M30 // Curr. Alzheimer Res. — 2010. — Vol. 7, № 4. — P. 300–306.
  30. *Barnucz E., Veres G., Hegedűs P.* et al. Prolyl-hydroxylase inhibition preserves endothelial cell function in a rat model of vascular ischemia reperfusion injury // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 2013. — Vol. 345, N 1. — P. 25–31.
  31. *Finocchietto P. V., Franco M. C., Holod S.* et al. Mitochondrial nitric oxide synthase: a masterpiece of metabolic adaptation, cell growth, transformation, and death // Exp. Biol. Med. — 2009. — Vol. 234. — P. 1020–1028.
  32. *Freeman R. S., Barone M. C.* Targeting hypoxia-inducible factor (HIF) as a therapeutic strategy for CNS disorders // Curr. Drug Targets CNS & Neurol. Disord. — 2005. — Vol. 4. — P. 85–92.
  33. *Loinard C., Ginouvès A., Vilar J.* et al. Inhibition of prolyl hydroxylase domain proteins promotes therapeutic revascularization // Circulation. — 2009. — Vol. 7. — P. 50–59.
  34. *Lukyanova L. D., Sukoyan G. V., Kirova Y. I.* Role of proinflammatory factors, nitric oxide, and some parameters of lipid metabolism in the development of immediate adaptation to hypoxia and HIF-1α accumulation // Bull. Exp. Biol. Med. — 2013. — Vol. 154, N 5. — P. 597–601.
  35. *Mitsuru Takaku, Shuhei Tomita, Hirotsugu Kurobe* et al. Systemic preconditioning by a prolyl hydroxylase inhibitor promotes prevention of skin flap necrosis via HIF1- $\alpha$ -induced bone marrow-derived cells // PLOS ONE. — 2012. — Vol. 7, N 8. — P.1–9.
  36. *Muchnik E, Kaplan J.* HIF prolyl hydroxylase inhibitors for anemia // Expert Opin. Investig. Drugs. — 2011. — Vol. 20, N 5. — P. 645–656.
  37. *Muinck E. D., Nagy N., Tirziu D., Murakami M.* Protection against myocardial ischemia-reperfusion injury by the angiogenic MasterSwitch protein PR 39 gene therapy: the roles of HIF1α stabilization and FGFR1 signaling // Antioxid. Redox Signal. — 2007. — Vol. 9, N 4. — P. 437–45.
  38. *Muz B., Larsen H., Madden L.* et al. Prolyl hydroxylase domain enzyme 2 is the major player in regulating hypoxic responses in rheumatoid arthritis // Arthritis Rheum. — 2012. — Vol. 64, N 9. — P. 2856–2867.

39. Myllyharju J., Koivunen P. Hypoxia-inducible factor prolyl 4-hydroxylases: common and specific roles // *Biol Chem.* — 2013. — Vol. 394, N 4. — P. 435–448.
40. Nagle D.G., Zhou Yu-Dong Natural Product-Derived Small Molecule Activators of Hypoxia-Inducible Factor-1 (HIF-1) // *Curr. Pharm. Des.* — 2006. — Vol. 12, N 21. — P. 2673–2688.
41. Newcomb E.W., Lukyanov Y., Schnee T. etc. Noscipine inhibits hypoxia-mediated HIF-1 $\alpha$  expression and angiogenesis in vitro: a novel function for an old drug // *Int. J. Oncol.* — 2006. — Vol. 28, N 5. — P. 1121–1130.
42. Nilsson M.B., Zage P.E., Zeng L. et al. Multiple receptor tyrosine kinases regulate HIF-1 $\alpha$  and HIF-2 $\alpha$  in normoxia and hypoxia in neuroblastoma: implications for antiangiogenic mechanisms of multikinase inhibitors // *Oncogene.* — 2010. — Vol. 29. — P. 2938–2949.
43. Ogunshola O., Antoniou X. Contribution of hypoxia to Alzheimer's disease: is HIF-1 $\alpha$  a mediator of neurodegeneration? // *Cell Mol. Life Sci.* — 2009. — Vol. 66, N 22. — P. 3555–3563.
44. Onnis B., Rapisarda A., Melillo G. Development of HIF-1 Inhibitors for cancer therapy // *J. Cell Mol. Med.* — 2009. — Vol. 13, N 9. — P. 2780–2786.
45. Oommen D., Prise K.M. KNK437, abrogates hypoxia-induced radioresistance by dual targeting of the AKT and HIF-1 $\alpha$  survival pathways // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2012. — Vol. 421, N 3. — P. 538–543.
46. Qingdong K., Costa M. Hypoxia-Inducible Factor-1 // *Mol. Pharmacol.* — 2006. — Vol. 70, N 5. — P. 1469–1480.
47. Semenza G.L. Evaluation of HIF-1 inhibitors as anticancer agents // *Drug Discov. Today.* — 2007. — 12(19–20). — P. 853–859.
48. Semenza G.L. Regulation of oxygen homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 // *Physiology (Bethesda).* — 2009. — Vol. 24. — P. 97–106.
49. Sen Banerjee S., Thirunavukkarasu M., Tipu Rishi M. et al. HIF-prolyl hydroxylases and cardiovascular diseases // *Toxicol. Mech. Methods.* — 2012. — Vol. 22, N 5. — P. 347–358.
50. Sendoel A., Kohler I., Fellmann C. et al. HIF-1 antagonizes p53-mediated apoptosis through a secreted neuronal tyrosinase // *Nature.* — 2010. — Vol. 465. — P. 577–583.
51. Shafiqhi M., Olariu R., Fathi A.R. et al. Dimethylglycine stabilizes HIF-1 $\alpha$  in cultured human endothelial cells and increases random-pattern skin flap survival *in vivo* // *Plast. Reconstr. Surg.* — 2011. — Vol. 128, N 2. — P. 415–422.
52. Shen X., Wan C., Ramaswamy G. et al. Prolyl hydroxylase inhibitors increase neoangiogenesis and callus formation following femur fracture in mice // *J. Orthop. Res.* — 2009. — Vol. 27, N 10. — P. 1298–1305.
53. Sun K., Halberg N., Khan M. Selective inhibition of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  ameliorates adipose tissue dysfunction // *Mol. Cell Biol.* — 2013. — Vol. 33, N 5. — P. 904–917.
54. Tanaka T., Kojima I., Ohse T. et al. Cobalt promotes angiogenesis via hypoxia-inducible factor and protects tubulointerstitium in the remnant kidney model // *Lab. Invest.* — 2005. — Vol. 85. — P. 1292–1307.
55. Walmsley S.R., Chilvers E.R., Thompson A.A. et al. Prolyl hydroxylase 3 (PHD3) is essential for hypoxic regulation of neutrophilic inflammation in humans and mice // *J. Clin. Invest.* — 2011. — Vol. 121, N 3. — P. 1053–1063.
56. Wan C., Gilbert S.R., Wang Y. et al. Activation of the hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  pathway accelerates bone regeneration // *PNAS.* — 2008. — Vol. 105, N 2. — P. 686–691.
57. Zagorska A., Dulak J. HIF-1: knowns and unknowns of hypoxia sensing // *Acta Biochimica Polonica.* — 2004. — Vol. 51, N 3. — P. 563–585.
58. Zhang H., Qian D.Z., Tan Y.S. et al. Digoxin and other cardiac glycosides inhibit HIF-1 synthesis and block tumor growth // *PNAS.* — 2008. — Vol. 105, N 50. — P. 19579–19586.
59. Zhang Z., Yan J., Chang Y. et al. Hypoxia Inducible Factor-1 as a target for neurodegenerative diseases // *Current Medicinal Chemistry.* — 2011. — Vol. 18, N 28. — P. 4335–4343.

**HYPOXIA-INDUCIBLE FACTOR AS A PHARMACOLOGICAL TARGET**

Novikov V. Ye., Levchenkova O. S.

◆ **Summary:** The review is devoted to the role of specific regulatory protein HIF-1 $\alpha$  (hypoxia-induced factor-1 $\alpha$ ) in the mechanisms of the organism adaptation to hypoxia. Pharmacological influence on HIF-1 $\alpha$  for a target upregulation of processes of immediate and delayed organism adaptation to hypoxia is discussed in the article. Such approach opens new possibilities of effective pharmacotherapy of oncological, rheumatic, cardio-vascular and other diseases which have hypoxia and ischemia in their pathogenetic state.

◆ **Key words:** hypoxia; hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ); pharmacological correction of hypoxia.

◆ Информация об авторах

Новиков Василий Егорович — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии. Смоленская государственная медицинская академия. 214019, Смоленск, ул. Крупской, д. 28. E-mail: novikov.farm@yandex.ru.

Левченкова Ольга Сергеевна — к. м. н., старший преподаватель кафедры фармакологии. Смоленская государственная медицинская академия. 214019, Смоленск, ул. Крупской, д. 28. E-mail: os.levchenkova@gmail.com.

Novikov Vasilij Yegorovich — Dr. Med. Sci., Professor and Head, Department of Pharmacology. Smolensk State Medical Academy. 214019, Smolensk, Krupskaya St., 28. E-mail: novikov.farm@yandex.ru.

Levchenkova Olga Sergeevna — PhD (Pharmacology), Assistant Professor, Department of Pharmacology. Smolensk State Medical Academy. 214019, Smolensk, Krupskaya St., 28. E-mail: os.levchenkova@gmail.com.