

ПОТЕНЦИРОВАНИЕ АНТИГИПОКСАНТАМИ ЭФФЕКТА ГИПОКСИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ

УДК 615.015:616-001.8

<https://doi.org/10.7816/RCF17137-44>© **В.Е. Новиков, О.С. Левченкова, Е.И. Климкина, К.Н. Кулагин**

ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, Смоленск

Для цитирования: Новиков В.Е., Левченкова О.С., Климкина Е.И., Кулагин К.Н. Потенцирование антигипоксантами эффекта гипоксического preconditionирования // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2019. – Т. 17. – № 1. – С. 37–44. <https://doi.org/10.7816/RCF17137-44>

Поступила: 21.01.2019

Одобрена: 07.02.2019

Принята: 21.03.2019

Разработка эффективных способов повышения устойчивости организма к гипоксии является актуальной задачей современной медицины. Одним из таких способов является preconditionирование, в результате которого под действием preconditionирующего фактора происходит мощная мобилизация адаптационных способностей организма. **Цель исследования** — изучение возможности потенцирования эффекта гипоксического preconditionирования с помощью антигипоксантов. **Методы.** Оценку эффективности комбинированного preconditionирования (антигипоксантами + умеренная гипобарическая гипоксия) проводили на моделях острой гипоксии с гиперкапнией, острой гипобарической гипоксии у мышей, а также двусторонней окклюзии общих сонных артерий у крыс. Изучены антигипоксантами: амтизол, гипоксен, кобазол, мексидол, метапрот, милдронат, соединения под шифрами VM-606, пQ-4 и пQ-1104. **Результаты.** Применение амтизола в дозе 25 мг/кг, кобазола в дозе 30 мг/кг, VM-606, пQ-4 и пQ-1104 в дозах 50 мг/кг в режиме комбинированного preconditionирования с умеренной гипоксией увеличивало

продолжительность жизни мышей на моделях острой гипоксии с гиперкапнией и острой гипобарической гипоксии от 57 до 170 %. Комбинированное preconditionирование с амтизолом, кобазолом и пQ-4 достоверно повышало выживаемость крыс при ишемии мозга, амтизол и пQ-4 снижали также неврологический дефицит в постишемический период. **Заключение.** Антигипоксантами амтизол, кобазол, VM-606, пQ-4, пQ-1104 потенцируют эффект гипоксического preconditionирования на моделях острой гипоксии с гиперкапнией, острой гипобарической гипоксии и окклюзии общих сонных артерий, наибольший эффект отмечен для амтизола и пQ-4. Сигнальную роль в индукции процессов адаптации к состояниям гипоксии и ишемии при комбинированном preconditionировании с участием антигипоксантов может выполнять гипоксией индуцированный фактор HIF-1α.

◆ **Ключевые слова:** preconditionирование; гипоксия; ишемия; антигипоксантами; гипоксией индуцированный фактор (HIF-1α).

POTENTIATION OF THE HYPOXIC PRECONDITIONING EFFECT BY ANTIHYPOXANTS

© **V.E. Novikov, O.S. Levchenkova, E.I. Klimkina, K.N. Kulagin**

Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

For citation: Novikov VE, Levchenkova OS, Klimkina EI, Kulagin KN. Potentiation of the hypoxic preconditioning effect by antihypoxants. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2019;17(1):37-44. <https://doi.org/10.7816/RCF17137-44>

Received: 21.01.2019

Revised: 07.02.2019

Accepted: 21.03.2019

The development of effective methods to increase the organism resistance to hypoxia is an important task of current medicine. One of such methods is preconditioning, as a result of which, a potent mobilization of the adaptive organism abilities occurs under a preconditioning factor action. **Aim.** To study the possibility of potentiating of the hypoxic preconditioning effect with help of antihypoxants. **Methods.** Evaluation of the effectiveness of combined preconditioning (antihypoxants + moderate hypobaric hypoxia) was performed on experimental models of acute hypoxia with hypercapnia, acute hypobaric hypoxia in mice, and bilateral occlusion of the common carotid arteries in rats. Investigated antihypoxants are amtizol, hypoxen, cobazole, metaprot, mexidol, mildronate, substances under the codes VM-606, pQ-4 and pQ-1104.

Results. PreC with use of amtizol at dose 25 mg/kg, cobazole at dose 30 mg/kg, VM-606, pQ-4 and pQ-1104 at doses 50 mg/kg in combination with moderate hypoxia increased the lifespan of mice in acute hypoxia with hypercapnia model and acute hypobaric hypoxia from 57 to 170%. Combined preconditioning with amtizol, cobazole and pQ-4 significantly increased the survival rate of rats in cerebral ischemia, amtizol and pQ-4 reduced neurological deficiency in the post ischemic period as well. **Conclusion.** Antihypoxants as amtizol, cobazole, VM-606, pQ-4, pQ-1104 potentiate the hypoxic preconditioning effect on acute hypoxia with hypercapnia, acute hypobaric hypoxia and occlusion of the common carotid arteries models, the most significant effect was noted for amtizol and pQ-4. Signal role in the adaptation induction to hypoxia and ischemia by combined

preconditioning with use of antihypoxants hypoxia-inducible factor HIF-1 α can play.

ВВЕДЕНИЕ

Среди способов повышения устойчивости организма к гипоксии активно изучается возможность применения прекондиционирования (ПреК) — феномена метаболической адаптации организма или отдельных его органов (миокарда, головного мозга и др.) к гипоксии и/или ишемии, когда предварительное кратковременное повторяющееся воздействие потенциально вредным стимулом (снижение доставки кислорода к тканям) может увеличить клеточную устойчивость к последующей более длительной и выраженной гипоксии и/или ишемии [8, 12, 18].

Поиск оптимального способа ПреК постоянно продолжается. Помимо широкопризнанных и изученных физических способов ПреК (ишемическое, гипоксическое) исследуется возможность использования фармакологического ПреК. С одной стороны, ни одно лекарственное средство не дает столь выраженного эффекта для уменьшения зоны некроза в мозге и размера инфаркта в миокарде, как в случае ишемического ПреК [6], с другой — зная патогенетические звенья ПреК, можно создавать или применять уже известные лекарственные средства для стимулирования и/или продления эффекта ПреК, т. е. использовать фармакологическое прекондиционирование [8, 13]. Лекарственные средства из разных фармакологических групп исследуются для инициации ПреК. Но в большинстве случаев фармакологическое ПреК не дает столь выраженного защитного эффекта в сравнении с ишемическим или гипоксическим ПреК. Однако лекарственные средства можно использовать для усиления эффекта ПреК, при этом уменьшая нагрузку физическим фактором.

Представляется перспективным использование для фармакологического потенцирования ПреК (ФПреК) средств с антигипоксическим действием [6, 9]. Это связано в первую очередь с тем, что в механизме действия многих из них имеются те же, что и при ПреК, мишени на сигнальном и эффекторном этапе. Кроме того, применение антигипоксантов до ПреК, возможно, способно смягчить тяжелое воздействие физического прекондиционирования на организм.

Целью данного исследования явилось изучение возможности потенцирования эффекта гипоксического ПреК с помощью антигипоксантов различного химического строения и механизма действия.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на мышах-самцах гибридах (СВА \times С57В1/6)F1 массой 20–23 г и белых крысах-

◆ **Keywords:** preconditioning; hypoxia; ischemia; antihypoxants; hypoxia-inducible factor 1-alpha (HIF-1 α).

самцах линии «Вистар» массой 200–270 г, полученных из филиала «Столбовая» ФГБУН «НЦБМТ» Федерального медико-биологического агентства России. Все исследования проводили согласно правилам лабораторной практики (приказ Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»). На предварительном этапе за месяц до основного эксперимента животных типизировали по устойчивости к гипоксии на высоко- и низкоустойчивых, в основной эксперимент брали низкоустойчивых животных.

Гипоксическое ПреК (ГПреК) моделировали следующим образом: подвергали мышей трижды (1 раз в день с интервалом в 1 день) умеренной гипобарической гипоксии (ГБГ), помещая животных в условия разреженного воздуха (360 мм рт. ст.), что соответствовало высоте 5000 м (ГБГ-5000), экспозиция после достижения «высоты 5000 метров» составляла 60 мин [23].

В опытных группах использовали чередующееся применение антигипоксанта и гипобарической гипоксии (комбинированное ПреК). В первый, третий и пятый день эксперимента животным соответствующих групп вводили внутривенно одно из следующих средств с выраженным антигипоксическим действием:

1) амтизол (3,5-диамино-1,2,4-тиадиазол) в дозе 25 мг/кг (субстанция препарата представлена проф. П.Д. Шабановым, кафедра фармакологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова Минобороны России, Санкт-Петербург);

2) гипоксен (поли-(2,5-дигидроксифенилен)-4-тиосульфат натрия) в дозе 50 мг/кг (ЗАО «Корпорация Олифен», Россия);

3) кобазол (тетра-(1-винилимидазол) кобальт-дихлорида) в дозе 30 мг/кг (Ацизол-фарма, Институт химии СО РАН, Россия);

4) мексидол (2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат) в дозе 50 мг/кг (ООО «Фармасофт», Россия);

5) метапрот (2-этилтиобензимидазола гидробромид) в дозе 25 мг/кг (ЗАО «Фармпроект», Россия);

6) милдронат (3-(2,2,2-триметилгидразиний)) пропионат (моногидрат) в дозе 10 мг/кг (АО «Гриндекс», Россия);

7) вещество под лабораторным шифром ВМ-606 (2-амино-4-ацетилтиазоло[5,4-*b*]индола) в дозе 50 мг/кг (соединение синтезировано и представлено д-ром биол. наук В.В. Марышевой, кафедра фармакологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова Минобороны России, Санкт-Петербург);

8) вещество под лабораторным шифром π Q-4 (3-нитро-4-кумаринилтиолят) в дозе 50 мг/кг;

9) вещество под лабораторным шифром π Q-1104 (N-ацетил-L-цистеинат) Zn²⁺-сульфат октагидрат) в дозе 50 мг/кг (π Q-4 и π Q-1104 синтезированы

д-ром хим. наук Э.А. Парфеновым в НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина).

Все изучаемые соединения использовали в тех дозах, в которых они проявляли высокую эффективность на моделях гипоксии и ишемии согласно литературным данным [1, 3, 4, 5, 7, 9, 10, 14].

Во 2, 4, 6-й день эксперимента моделировали умеренную гипобарическую гипоксию, «поднимая животных на высоту 5000 метров» (ГБГ-5000) с экспозицией 60 мин, таким образом, чередуя фармакологическое и гипоксическое ПреК.

Для оценки эффективности комбинированных способов ПреК через 1 ч после их окончания использовали модель острой гипоксии с гиперкапнией (ОГсГк) в гермообъеме 250 мл и острой гипобарической гипоксии (ОГБГ) «высотой 11000 метров» у мышей (регистрировали продолжительность жизни), а также модель ишемии мозга (одномоментная двусторонняя окклюзия общих сонных артерий, ООСА) под хлоралгидратным наркозом у крыс (оценивали выживаемость животных и неврологический дефицит по шкале Stroke Index McGrow спустя сутки после операции).

Для соединений, продемонстрировавших эффективность в потенцировании гипоксического ПреК на моделях гипоксии и ишемии, определяли уровень гипоксией индуцированного фактора (HIF-1 α) в супернатанте головного мозга с помощью иммуноферментного анализа (SEA798Ra 96 Tests ELISA for HIF-1 α , Cloud-Clone Corp., США) через сутки после моделирования ишемии.

Полученные результаты обрабатывали статистически с помощью программы BioStat 2009. Для сравнения данных при оценке продолжительности жизни животных в условиях острой гипоксии, неврологического дефицита, содержания HIF-1 α использовали непараметрический *U*-критерий Манна–Уитни. Для оценки достоверности различий между группами по выживаемости после ишемии применяли точный критерий Фишера. Различия показателей между группами считались достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Средняя продолжительность жизни мышей контрольной группы в условиях ОГсГк составляла $26,62 \pm 1,66$ мин (рис. 1). Использование гипоксического ПреК повышало продолжительность жизни мышей на модели ОГсГк на 24 % в сравнении с группой контроля ($p = 0,042$). Среди комбинированных способов повышения устойчивости животных к гипоксии наибольшую эффективность на модели ОГсГк продемонстрировало ПреК с соединением π Q-1104, продолжительность жизни в этой группе животных составила $70,3 \pm 5,46$ мин, что было достоверно выше не только в сравнении с контрольной группой животных ($p = 0,002$), группой с гипоксическим ПреК ($p = 0,006$), но и всеми другими опытными группами фармакологически-гипоксического ПреК. Амтизол потенцировал гипоксическое ПреК, продолжительность жизни мышей в этой группе составляла 52,37 мин, что на 96 % дольше в сравнении с контрольной группой и на 58 % — в сравнении с гипоксическим ПреК. Комбинация с кобазолом также оказалась эффективной, увеличивая продолжительность жизни мышей при ОГсГк на 69 и на 31 % в сравнении с контролем и группой с гипоксическим ПреК соответственно. Комбинация с ВМ-606 повышала продолжительность жизни мышей в условиях ОГсГк на 94 % в сравнении с контролем ($p = 0,008$) и на 56 % в сравнении с гипоксическим ПреК ($p = 0,026$). Соединение π Q-4 потенцировало ГПреК, увеличивая продолжительность жизни мышей на 70 % в сравнении с контролем ($p = 0,036$) и на 39 % в сравнении с гипоксическим ПреК ($p = 0,048$).

Результаты в группах с гипоксеном, мексидолом, метапротом и милдронатом были выше в сравнении с контролем, но не отличались статистически от результатов группы, где использовалось только ГПреК.

Продолжительность жизни мышей контрольной группы в условиях тяжелой ОГБГ (11000 м) составля-

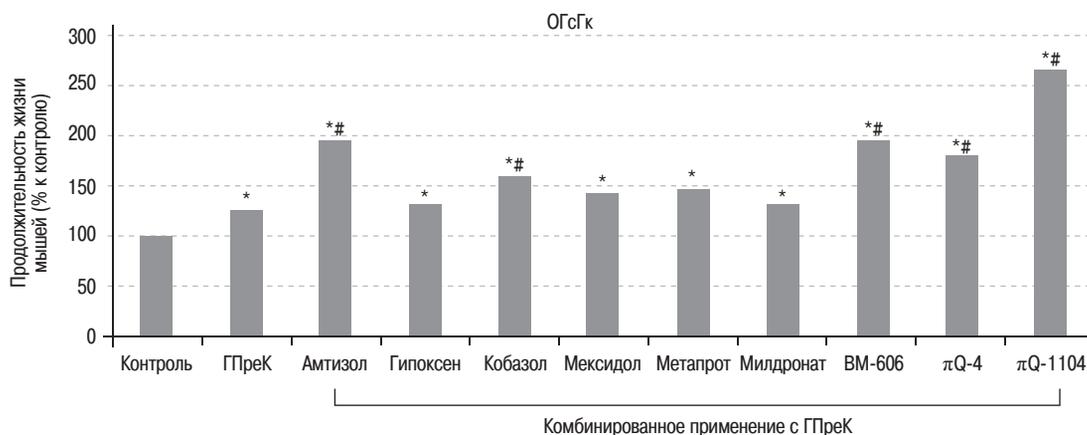


Рис. 1. Влияние комбинированного прекодиционирования (антигипоксанты и гипоксическое прекодиционирование) на продолжительность жизни мышей в условиях острой гипоксии с гиперкапнией (ОГсГк). *Примечание.* Достоверность различий ($p < 0,05$): * с контрольной группой, # с группой ГПреК + с «опытными группами». ГПреК — гипоксическое прекодиционирование

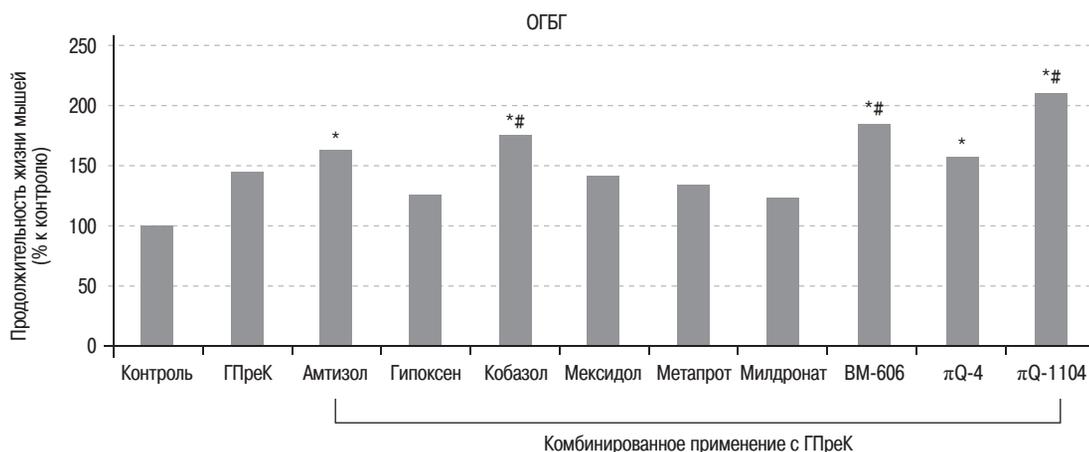


Рис. 2. Влияние комбинированного прекондиционирования (антигипоксантами и гипоксическим прекондиционированием) на продолжительность жизни мышей в условиях острой гипобарической гипоксии (ОГБГ). *Примечание.* Достоверность различий ($p < 0,05$): * с контрольной группой, # с группой ГПреК — гипоксическое прекондиционирование

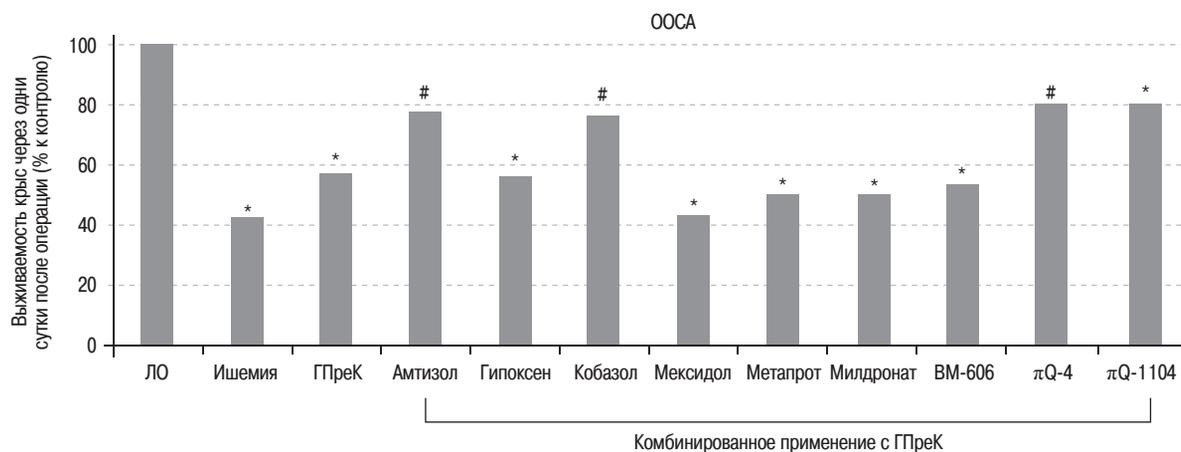


Рис. 3. Влияние комбинированного прекондиционирования (антигипоксантами + гипоксическим прекондиционированием, ГПреК) на выживаемость крыс после окклюзии общих сонных артерий (ООСА). *Примечание.* * данные статистически значимы по отношению к ложно оперированной (ЛО) контрольной группе при $p \leq 0,05$; # к группе «Ишемия» (критерий Фишера)

ла 5,41 мин (рис. 2). После ГПреК продолжительность жизни животных увеличивалась на 34 % ($p = 0,094$). Примерно такие же результаты были получены у животных, подвергавшихся комбинированному прекондиционированию с гипоксеном, мексидолом, метапротом и милдронатом. Однако во всех этих группах изменения продолжительности жизни мышей не были статистически достоверными.

В условиях ОГБГ равную эффективность продемонстрировала комбинация с амтизолом и комбинация с πQ-4. Продолжительность жизни животных в группах с ПреК с кобазолом, VM-606, соединением πQ-1104 на модели ОГБГ, была достоверно выше не только в сравнении с контрольной группой животных, но и группой с ГПреК.

Выживаемость в контрольной группе животных с ишемией была значимо ниже в сравнении с ложно оперированными животными через сутки после операции (рис. 3). Гипоксическое ПреК статистически значимо не повышало выживаемость животных в острейший постишемический период. Комбинированное ПреК с амтизолом оказывало нейропротективное действие, увеличивая выживаемость животных после операции

и уменьшая неврологический дефицит в сравнении с группой с ишемией и группой с гипоксическим ПреК. Комбинация с кобазолом также увеличивала выживаемость крыс в послеоперационном периоде по сравнению с ГПреК, но не уменьшала тяжесть неврологического дефицита (рис. 4). Использование гипоксена, мексидола, метапрота, милдроната, VM-606, πQ-1104 и умеренной гипобарической гипоксии в режиме комбинированного ПреК достоверно не изменяло выживаемость крыс после ООСА в сравнении с контролем с ишемией. Выживаемость в группе комбинированного ПреК с πQ-4 была значимо выше в сравнении с ишемией и не отличалась от показателей ложно оперированной контрольной группой.

При ишемии головного мозга, вызванной окклюзией сонных артерий, у выживших животных наблюдается выраженный неврологический дефицит (рис. 4). Средний суммарный балл неврологических симптомов в этой группе составил $5,5 \pm 1,7$. Изменения, вызванные применением ГПреК, не носили достоверный характер в сравнении с группой с ишемией. Комбинированное прекондиционирование с амтизолом и соединением πQ-4 до ишемии сопровождалось

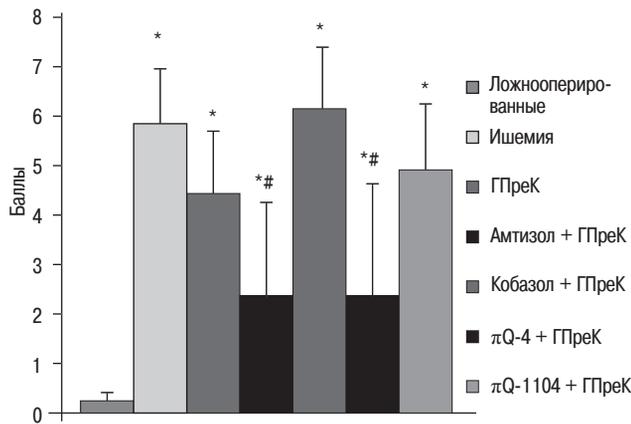


Рис. 4. Влияние комбинированного прекондиционирования (антигипоксанты + гипоксическое прекондиционирование, ГПреК) на неврологический дефицит (по шкале McGrow) у крыс через 1 сут после двусторонней окклюзии общих сонных артерий. *Примечание.* Данные представлены в виде: среднее значение (столбик) ± стандартное отклонение. Различия достоверны: $p < 0,05$ (U -тест Манна – Уитни) по сравнению * с ложно оперированной контрольной группой, # с группой «Ишемия»

снижением выраженности неврологических нарушений через сутки после операции. Так, суммарный балл неврологических симптомов в этих группах составил $2,5 \pm 1,52$ и $2,4 \pm 1,76$ балла соответственно, что достоверно ниже в сравнении с группой с ишемией.

У контрольных животных с ишемией уровень HIF-1 α через сутки после перевязки ООСА был выше в сравнении с ложно оперированной группой контроля (рис. 5). Применение ГПреК не вызывало статистически значимых изменений в уровне HIF-1 α . Комбинированное ПреК с амтизолом приводило к снижению в сравнении с группой с ишемией уровня HIF-1 α в супернатанте головного мозга через сутки после перевязки ОСА. При этом в предыдущей работе показано, что использование амтизола в комбинации с ГПреК в условиях нормоксии вызывает повышение уровня HIF-1 α [20].

В группе животных с комбинированным ПреК с π Q-4 наблюдались те же изменения, что и с амтизолом: снижение уровня HIF-1 α относительно группы с ишемией и отсутствие отличий от ложно оперированного контроля. Таким образом, под влиянием комбинированного ПреК с амтизолом и π Q-4 уровень HIF-1 α в головном мозге крыс стабилизировался на уровне значений контрольных животных.

Идея применения антигипоксантов в качестве средств для потенцирования или инициации феномена ПреК связана с тем, что в механизме их действия можно встретить те мишени, которые описаны в механизме развития ПреК [13, 15]. Наиболее очевиден такой выбор при использовании средств, которые, являясь гипоксимиметиками, могут стабилизировать HIF-1 α в условиях нормоксии, например дихлорид кобальта [11, 24]. Выбранный для данного исследования кобазол является тетра-(1-винилимидазол)

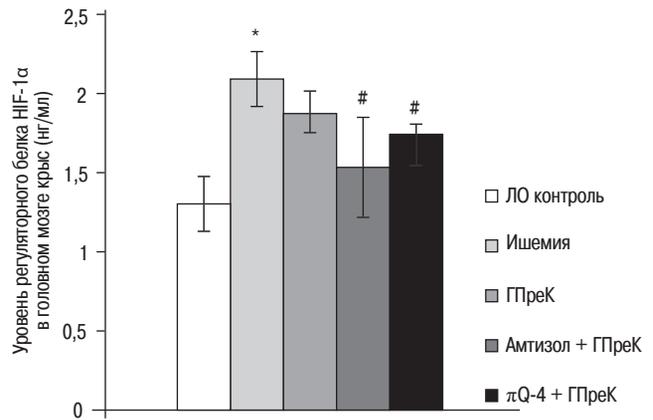


Рис. 5. Влияние комбинированного прекондиционирования (антигипоксанты + гипоксическое прекондиционирование, ГПреК) на содержание HIF-1 α в головном мозге крыс через 1 сутки после двусторонней окклюзии общих сонных артерий. *Примечание.* Данные представлены в виде: медиана (столбик) и 25-й и 75-й процентиля. Различия достоверны: $p < 0,05$ (U -тест Манна – Уитни) по сравнению * с ложно оперированной (ЛО) контрольной группой, # с группой «Ишемия»

кобальтдихлоридом. Вероятно, его высокая антигипоксическая активность и способность стимулировать эритропоэз связана со стабилизацией HIF-1 α и повышенной экспрессией HIF-1 α -зависимых генов-мишеней и синтезом адаптационных белков, в частности эритропоэтина. В данной работе кобазол оказывал потенцирующее действие, усиливая эффект ГПреК, однако на модели ишемии головного мозга его комбинированное использование с ГПреК приводило к ухудшению состояния экспериментальных животных, нарастанию неврологического дефицита. Поэтому использование такого механизма действия средств небезопасно в комбинации с ПреК и не может быть оправдано в клинической медицине.

Гипоксен, сочетая выраженные антигипоксические и антиоксидантные свойства, является искусственным акцептором электронов в митохондриальной дыхательной цепи, он восстанавливает процессы сопряжения окисления с фосфорилированием, измененные под действие гипоксии [1]. Однако в комбинации с ГПреК антигипоксант, формирующий в клетке искусственные редокс-системы, не оказывает потенцирующего действия.

Привычные представления об антигипоксантах дополняются новыми сведениями [21]. Так, продемонстрировано, что мексидол в дозе 40 мг/кг способствует активации экспрессии HIF-1 α в коре головного мозга крыс в условиях гипоксии, не влияя при этом на HIF-1 α в нормоксических условиях [22]. Это связано с существованием сукцинатзависимой сигнальной регуляции адаптации к гипоксии. Способность мексидола увеличивать экспрессию HIF-1 α в коре головного мозга в условиях ишемии, но не нормоксии, также показана в исследовании, когда мексидол использовался в дозе 100 мг/кг 3 раза в день в течение

14 дней до и после односторонней окклюзии общей сонной артерии [17]. Вместе с тем в данной работе у мексидола отсутствовал явный эффект в потенцировании ГПреК. Возможно, это связано с недостаточной дозой и длительностью его использования.

В основе действия метапрота лежит активация синтеза РНК, а затем белков, в частности ферментов глюконеогенеза, митохондриальных ферментов, что поддерживает уровень синтеза АТФ при гипоксии, уменьшая разобщение окисления с фосфорилированием. Согласно данным литературы, метапрот может усиливать антигипоксическое действие ГПреК [5]. Тем не менее в выбранном в исследовании режиме комбинированного ПреК с метапротом не было отмечено потенцирования ГПреК.

Еще одним антигипоксантом, в механизме которого главным установленным фактом считается активация гликолиза, является амтизол [15]. Амтизол демонстрирует высокую эффективность при большинстве форм кислородной недостаточности преимущественно за счет оптимизации энергетического обмена в клетке. Амтизол уменьшает потребность организма в кислороде, повышает процессы сопряжения окисления с фосфорилированием в дыхательной цепи митохондрий. Кроме того, может активировать процессы глюконеогенеза даже при низком уровне углеводных резервов в тканях. Возможно, среди мишеней действия амтизола есть те, что имеют значение в реализации срочного этапа адаптации к гипоксии, в том числе гипоксией индуцированный фактор-1 (HIF-1 α). Транскрипционный фактор HIF-1 регулирует экспрессию большого количества генов, играющих важную роль в формировании устойчивости к ишемии и гипоксии [11, 21]. Молекула HIF-1 представляет собой гетеродимер, состоящий из двух субъединиц — α и β . При нормоксии α -субъединица HIF-1 подвергается быстрой убиквитин-протеасомной деградации. В случае понижения напряжения кислорода в тканях не происходит протеасомной деградации, димер HIF-1 α транслоцируется в ядро, где активирует экспрессию целого ряда кислород-чувствительных генов [16]. В частности, происходит повышение синтеза гликолитических ферментов, таких как фосфофруктокиназа, пируваткиназа и другие, усиливается экспрессия мембранных транспортеров глюкозы (GLUT1 и GLUT3) и др. Не исключено, что именно с этим связана способность амтизола активировать гликолиз в условиях гипоксии. В данной работе амтизол продемонстрировал эффективность в потенцировании ГПреК на всех взятых экспериментальных моделях гипоксии/ишемии.

Антигипоксант милдронат, относящийся к блокаторам окисления жирных кислот, активирует митохондриальное аэробное окисление глюкозы без накопления токсичных ацилкарнитина и ацилкоэнзим А (ацил-КоА). За счет подавления синтеза карнитина и накопления гамма-бутиробетаина, милдронат способен индуцировать эндотелиальную NO-синтазу. Кроме того, гамма-бутиробетаин способен стимулировать ацетилхолиновые рецепторы, для которых

также показано участие в развитии ПреК [9]. В выбранном нами режиме комбинированного ПреК милдронат в дозе 10 мг/кг не потенцировал ГПреК на моделях острой гипоксии и ишемии головного мозга. В литературе описан актопротекторный эффект милдроната при применении лишь в дозе 100 мг/кг [2].

Соединение тиазолиндола со свободной аминокислотой под шифром ВМ-606 замедляет обменные процессы у животных, снижает ректальную температуру в условиях нормоксии, на моделях острой гипоксии значительно увеличивая продолжительность жизни мышей, превосходя амтизол [4, 15]. В данном исследовании, будучи эффективным на моделях острой гипоксии у мышей в режиме комбинированного ПреК, на модели ишемии головного мозга соединение ВМ-606 не потенцировало эффект ГПреК.

Соединение меркаптокумарина под шифром π Q-4 в условиях нормоксии существенно снижает величину энергозатрат, потребление кислорода и ректальную температуру животных [7]. В данном исследовании π Q-4 усиливало действие ГПреК как на моделях острой гипоксии, так и на модели ООСА, ослабляя неврологические нарушения, вызванные ишемией.

Соединение π Q-1104, продемонстрировавшее наивысшую эффективность на моделях острой гипоксии в потенцировании ГПреК, на модели ООСА не уменьшало у выживших животных неврологический дефицит. При этом следует отметить, что в последующие дни наблюдений летальность в этой группе животных нарастала, не отличаясь от группы с ишемией через 3 суток после операции. Известно, что цинксодержащее соединение π Q-1104 уменьшает скорости окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи, что при острой гипоксии может оптимизировать расход O_2 и окисляемых биологических субстратов. Однако предполагаемое ограничение потока электронов в области третьего митохондриального ферментного комплекса под действием π Q-1104 [3] может лишь усугублять воздействие гипоксического фактора. Индуцированная толерантность к гипоксии путем ингибирования различных митохондриальных комплексов обсуждается в литературе [19]. Вместе с тем химическое preconditionирование не может получить должного развития, т. к. его воздействие на организм чрезвычайно рискованно.

Таким образом, физические способы ПреК, в том числе ГПреК, оказывают достаточно тяжелое воздействие на организм. Использование в качестве фармакологического компонента комбинированного ПреК антигипоксантов позволяет не только потенцировать эффект ПреК и повысить устойчивость организма к последующей тяжелой гипоксии и/или ишемии, но и смягчить действие физического preconditionирующего фактора.

ВЫВОДЫ

1. Антигипоксанты амтизол (25 мг/кг), кобазол (30 мг/кг), ВМ-606, π Q-4 и π Q-1104 (50 мг/кг) по-

- тенцируют эффект гипоксического preconditionирования, что проявляется увеличением продолжительности жизни мышей в условиях острой гипоксии с гиперкапнией и острой гипобарической гипоксии.
2. Применение амтизола, кобазола и π Q-4 в режиме комбинированного preconditionирования с умеренной гипоксией повышает выживаемость крыс при ишемии мозга, амтизол и π Q-4 снижают также неврологический дефицит у животных в постшемический период.
 3. Гипоксией индуцированный фактор HIF-1 α может выполнять сигнальную роль в индукции процессов адаптации к состояниям гипоксии и ишемии при комбинированном preconditionировании с участием антигипоксантов.
-
- ## ЛИТЕРАТУРА
4. Александрова А.Е., Енохин С.Ф., Медведев Ю.В. Антигипоксическая активность и механизм действия олифена // Всероссийская конференция «Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция»; Октябрь 5–7, 1999; Москва. [Aleksandrova A.E., Enokhin S.F., Medvedev Yu.V. Antigipoksicheskaya aktivnost' i mekhanizm deystviya olifena. In: Proceedings of the 2nd All-Russian Conference "Gipoksiya: mekhanizmu, adaptatsiya, korrektsiya"; 5–7 Oct 1999; Moscow. (In Russ.)]
 5. Воронина Т.А., Капица И.Г., Иванова Е.А. Сравнительное исследование влияния мексидола и милдроната на физическую работоспособность в эксперименте // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2017. – Т. 117. – № 4. – С. 71–74. [Voronina TA, Kapitsa IG, Ivanova EA. A comparative study of the effects of mexidolum and mildronatum on the physical performance of experimental animals. *Zh Nevrol Psikhiatr im S.S. Korsakova*. 2017;117(4):71-74. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17116/jnevro20171174171-74>.
 6. Евсеев А.В., Парфенов Э.А., Правдивцев В.А., и др. Цинксодержащий антигипоксикант аминотиолового ряда π Q1104 и его влияние на функциональную активность митохондрий клеток головного мозга // Психофармакология и биологическая наркология. – 2007. – Т. 7. – № 1. – С. 1423–1430. [Evseev AV, Parfenov EA, Pravdivtsev VA, et al. Zinc-Containing Aminothiol Antihypoxant π Q1104, and Its Influence on the Functional Activity of Brain Cell Mitochondria. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2007;7(1):1423-1430. (In Russ.)]
 7. Дикманов В.В., Новиков В.Е., Марышева В.В., Шабанов П.Д. Антигипоксические свойства производных триазолиндола // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2011. – Т. 9. – № 3. – С. 60–64. [Dikmanov VV, Novikov VE, Marysheva VV, Shabanov PD. Antihypoxic properties of triazolinol derivatives. *Reviews on clinical pharmacology and drug therapy*. 2011;9(3):60-64. (In Russ.)]
 8. Зарубина И.В., Нурманбетова Ф.Н., Агаджанян Е.Ф., Шабанов П.Д. Бемитил потенцирует антиоксидантные эффекты импульсной гипоксической тренировки // Психофармакология и биологическая наркология. – 2005. – Т. 5. – № 1. – С. 836–840. [Zarubina IV, Nurmanbetova FN, Agadzhanyan EF, Shabanov PD. Bemithil strengthens antioxidative effects of interval hypoxic training. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2005;5(1):836-840. (In Russ.)]
 9. Зарубина И.В., Шабанов П.Д. От идеи С.П. Боткина о «предвоздействии» до феномена preconditionирования. Перспективы применения феноменов ишемического и фармакологического preconditionирования // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2016. – Т. 14. – № 1. – С. 4–28. [Zarubina IV, Shabanov PD. From the S.P. Botkin's idea of "preexposure" to preconditioning phenomenon. Perspectives for use of phenomena of ischemic and pharmacological preconditioning. *Reviews on clinical pharmacology and drug therapy*. 2016;14(1):4-28. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17816/RCF1414-28>.
 10. Левченкова О.С., Новиков В.Е., Парфенов Э.А. Антигипоксическая активность новых производных кумарина // Вятский медицинский вестник. – 2004. – № 2–4. – С. 40–43. [Levchenkova OS, Novikov VE, Parfenov EA. Antigipoksicheskaya aktivnost' novykh proizvodnykh kumarina. *Medical newsletter of Vyatka*. 2004;(2-4):40-43. (In Russ.)]
 11. Левченкова О.С., Новиков В.Е. Возможности фармакологического preconditionирования // Вестник РАМН. – 2016. – Т. 71. – № 1. – С. 16–24. [Levchenkova OS, Novikov VE. Possibilities of Pharmacological Preconditioning. *Vestn Ross Akad Med Nauk*. 2016; 71(1): 16-24. (In Russ.)] <https://doi.org/10.15690/vra mn626>.
 12. Михин В.П., Поздняков Ю.М., Хлебодаров Ф.Е., Кольцова О.Н. Милдронат в кардиологической практике — итоги, новые направления, перспективы // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2012. – Т. 11. – № 1. – С. 96–103. [Mikhin VP, Pozdnyakov YM, Khlebodarov FE, Kol'tsova ON. Mildronate in cardiology practice — current evidence, ongoing research, and future perspectives. *Cardiovascular therapy and prevention*. 2012;11(1):96-103. (In Russ.)]
 13. Новиков В.Е., Климкина Е.И. Влияние гипоксена на морфо-функциональное состояние печени при экзогенной интоксикации // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – Т. 72. – № 5. – С. 43–45. [Novikov VE, Klimkina EI. Effects of Hypoxen on Morphological and Functional State of the Liver under of Exogenous Intoxication Conditions. *Eksp Klin Farmakol*. 2009;72(5):43-45. (In Russ.)]
 14. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Гипоксией индуцированный фактор (HIF-1 α) как мишень фармакологического воздействия // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2013. – Т. 11. – № 2. – С. 8–16. [Novikov VE, Levchenkova OS. Hypoxia-inducible factor as a pharmacological target. *Reviews on clinical pharmacology and drug therapy*. 2013;11(2):8-16. (In Russ.)]
 15. Новиков В.Е., Левченкова О.С., Пожилова Е.В. Preconditionирование как способ метаболической адаптации организма к состояниям гипоксии и ишемии // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2018. – Т. 17. – № 1. – С. 69–79. [Novikov VE, Levchenkova OS, Pozhilova EV. Preconditioning as a method of metabolic adaptation to hypoxia and ischemia. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii*. 2018;17(1):69-79. (In Russ.)]

16. Семенцов А.С., Маслов Л.Н., Бушов Ю.В. Кардиопротекторный эффект адаптивного феномена раннего гипоксического preconditionирования и его фармакологическая имитация // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2017. – Т. 103. – № 9. – С. 1022–1031. [Sementsov AS, Maslov LN, Bushov YV. Cardioprotective effect of adaptive phenomenon of early hypoxic preconditioning and its pharmacological imitation. *Russ Fiziol Zh im I.M. Sechenova*. 2017;103(9):1022-1031. (In Russ.)]
17. Стратиенко Е.Н., Катунина Н.П., Петухова Н.Ф., Ромащенко С.В. Изучение антигипоксической активности новых соединений производных винилимидазола // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – Т. 113. – № 8. – С. 79–80. [Stratienko EN, Katunina NP, Petukhova NF, Romashchenko SV. The study of antihypoxic activity of new complex metal alkenylimidazol derivated compositions. *Kubanskii nauchnyi meditsynskii vestnik*. 2009;113(8):79-80. (In Russ.)]
18. Шабанов П.Д., Зарубина И.В., Новиков В.Е., Цыган В.Н. Метаболические корректоры гипоксии. – СПб.: Информ-Навигатор, 2010. – 916 с. [Shabanov PD, Zarubina IV, Novikov VE, Tsygan VN. *Metabolicheskie korrektoiry gipoksii*. Saunt Petersburg: Inform-Navigator; 2010. 916 p. (In Russ.)]
19. Щербак Н.С., Галагудза М.М., Шляхто Е.В. Роль индуцируемого гипоксией фактора-1 (HIF-1) в реализации цитопротективного эффекта ишемического и фармакологического посткондиционирования // Российский кардиологический журнал. – 2014. – Т. 115. – № 11. – С. 70–75. [Shcherbak NS, Galagudza MM, Shlyakhto EV. The role of hypoxia-induced factor-1 (HIF-1) in cytoprotection effect in ischemic and pharmacologic postconditioning. *Russian journal of cardiology*. 2014;115(11):70-75. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2014-11-70-75>.
20. Якушева Е.Н., Мылников П.Ю., Черных И.В., Щулькин А.В. Влияние мексидола на экспрессию фактора, индуцируемого гипоксией HIF-1 α , в коре больших полушарий головного мозга крыс при ишемии // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2017. – Т. 117. – № 10. – С. 87–91. [Yakusheva EN, Myl'nikov PY, Chernykh IV, Shchul'kin AV. Mexidol effect on the factor induced by hypoxia HIF-1 α expression in the rat cerebral cortex in ischemia. *Zh Nevrol Psikhiatr im SS Korsakova*. 2017;117(10):87-91. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17116/jnevro201711710187-91>.
21. Dezfulian C, Garrett M, Gonzalez NR. Clinical application of preconditioning and postconditioning to achieve neuroprotection. *Transl Stroke Res*. 2013;4(1):19-24. <https://doi.org/10.1007/s12975-012-0224-3>.
22. Jin Z, Wu J, Yan LJ. Chemical Conditioning as an Approach to Ischemic Stroke Tolerance: Mitochondria as the Target. *Int J Mol Sci*. 2016;17(3):351. <https://doi.org/10.3390/ijms17030351>.
23. Levchenkova OS, Novikov VE, Abramova ES, Feoktistova ZA. Signal Mechanism of the Protective Effect of Combined Preconditioning by Amtizole and Moderate Hypoxia. *Bull Exp Biol Med*. 2018;164(3):320-323. <https://doi.org/10.1007/s10517-018-3981-5>.
24. Lukyanova LD. Mitochondrial Signaling in Hypoxia. *Open J Endocr Metab Dis*. 2013;03(03):213-225. <https://doi.org/10.4236/ojemd.2013.33029>.
25. Lukyanova LD, Kirova YI, Germanova EL. The Role of Succinate in Regulation of Immediate HIF-1 α Expression in Hypoxia. *Bull Exp Biol Med*. 2018;164(3):298-303. <https://doi.org/10.1007/s10517-018-3976-2>.
26. Rybnikova E, Samoilov M. Current insights into the molecular mechanisms of hypoxic pre- and postconditioning using hypobaric hypoxia. *Front Neurosci*. 2015;9:388. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00388>.
27. Teti G, Focaroli S, Salvatore V, et al. The Hypoxia-Mimetic Agent Cobalt Chloride Differently Affects Human Mesenchymal Stem Cells in Their Chondrogenic Potential. *Stem Cells Int*. 2018;2018:3237253. <https://doi.org/10.1155/2018/3237253>.

♦ Информация об авторах

Василий Егорович Новиков — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии. ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, Смоленск. E-mail: novikov.farm@yandex.ru.

Ольга Сергеевна Левченкова — канд. мед. наук, доцент кафедры фармакологии. ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, Смоленск. E-mail: os.levchenkova@gmail.com.

Елена Ивановна Климкина — канд. мед. наук, доцент кафедры фармакологии. ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, Смоленск. E-mail: elena-klm@mail.ru.

Константин Николаевич Кулагин — канд. мед. наук, доцент, заведующий кафедрой биологической и биоорганической химии. ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, Смоленск. E-mail: sgma-pharm@mail.ru.

♦ Information about the authors

Vasily E. Novikov — Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Pharmacology Department. Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia. E-mail: novikov.farm@yandex.ru.

Olga S. Levchenkova — PhD (Pharmacology), Assistant Professor, Pharmacology Department. Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia. E-mail: os.levchenkova@gmail.com.

Elena I. Klimkina — PhD (Pharmacology), Assistant Professor, Pharmacology Department. Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia. E-mail: elena-klm@mail.ru.

Konstantin N. Kulagin — PhD (Pharmacology), Assistant Professor, Head of the Biological and Bioorganic Chemistry Department. Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia. E-mail: sgma-pharm@mail.ru.