

## НОВЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ПОИСКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ С АНТИГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ И МИШЕНИ ДЛЯ ИХ ДЕЙСТВИЯ

В. Е. Новиков, О. С. Левченкова<sup>1</sup>

В обзоре изложены современные представления о механизмах адаптации организма к состоянию гипоксии, предлагаются новые перспективные направления поиска эффективных лекарственных средств с антигипоксическим действием. Обсуждаются такие мишени для их действия, как митохондриальный АТФ-зависимый калиевый канал, митохондриальная мегапора, гипоксией индуцированный фактор-1 альфа.

**Ключевые слова:** гипоксия; физиологически совместимые антиоксиданты (ФСАО); митохондриальный АТФ-зависимый калиевый канал (миток<sub>КАТФ</sub>); митохондриальная мегапора (mPTP); гипоксией индуцированный фактор (HIF-1 $\alpha$ )

В последние годы интенсивно изучаются вопросы повышения резистентности организма к состояниям гипоксии и ишемии, которые в той или иной мере инициируют развитие многих заболеваний и сопутствуют их течению, а также развиваются в результате воздействия на организм различных экстремальных факторов [6, 8, 21, 22, 59]. Определенные успехи в терапии гипоксических состояний связаны с внедрением в медицинскую практику группы лекарственных средств, объединенных в отечественной литературе названием антигипоксанты. Под термином “антигипоксанты” принято понимать вещества метаболического типа действия, способные корректировать нарушения энергетического обмена и их последствия и повышать тем самым устойчивость клеток, органов и организма в целом к недостатку кислорода и другим воздействиям, нарушающим энергопродукцию [5, 28]. Сегодня 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 [3, 15]. Так, их применяют при ишемической болезни сердца (для профилактики приступов стенокардии и в лечении острого инфаркта миокарда), в комплексном лечении ишемических и травматических повреждений ЦНС. По механизму действия и месту приложения действия в системе внутриклеточного метаболизма отечественные исследователи разделяют антигипоксанты на вещества прямого (оказывают прямое влияние на работу митохондриальных ферментных комплексов) и непрямого энергизирующего действия. Последние воздействуют на энергетический обмен опосредованно, влияя на транспорт и окисление жирных кислот, эффективность гликолиза и пр. [20]. Однако имеющийся арсенал лекарственных средств с антигипоксическим действием не отвечает в полной мере современным требованиям доказательной

медицины, а большинство применяемых препаратов относятся к категории “с недоказанной терапевтической эффективностью”.

Успехи молекулярной биологии и экспериментальной фармакологии последних лет позволили вскрыть тонкие механизмы формирования состояния гипоксии различного генеза и индуцируемых ею нарушений метаболических и функциональных процессов на уровне клетки и субклеточных структур. Определен ряд морфо-функциональных объектов (регуляторные белки, митохондриальные ионные каналы, внутриклеточные ферменты, специфические рецепторы и т.д.), принимающих непосредственное участие в развитии срочной и долговременной адаптации клетки и всего организма к гипоксии [6, 11, 50]. Эти объекты могут выступать специфическими мишенями для воздействия фармакологических агентов с целью регуляции процессов адаптации организма к гипоксии, что открывает перспективы поиска и разработки новых эффективных лекарственных средств с антигипоксическим действием, а также возможности уточнения и расширения представлений о механизмах действия известных препаратов.

**Физиологически совместимые антиоксиданты.** Под воздействием гипоксии происходит дисбаланс антиоксидантных и прооксидантных факторов организма в сторону последних. Наблюдается активация токсичных для клетки свободнорадикальных продуктов промежуточного восстановления кислорода [53]. Считается, что свободные радикалы, которые появляются в результате повреждающего воздействия гипоксии, чрезмерно перегружают эндогенные антиоксиданты (супероксиддисмутазу, каталазу, глутатион и др.). Так, гиперактивация свободнорадикальных процессов может приводить к инактивации митохондриальных ферментов, разрушению мембран, выходу ферментов из митохондрий в цитозоль. Отрицательная роль активации перекисного окисления липидов при гипоксии подтверждается на практике тем, что антиоксиданты значительно ослабляют нарушения, связанные с гипоксией [32]. Поэтому в комплексной коррекции

<sup>1</sup> Кафедра фармакологии (зав. — проф. В. Е. Новиков) ГБОУ ВПО “Смоленская государственная медицинская академия” Минздрава РФ, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28.

гипоксических состояний целесообразно использовать антиоксиданты.

Одним из перспективных направлений поиска антигипоксантов является изучение химически модифицированных природных антиоксидантов. Впервые это направление предложено Э. А. Парфеновым, а синтезированные на основе природных антиоксидантов соединения он назвал “физиологически совместимые антиоксиданты” (ФСАО) [23]. В понятие “физиологическая совместимость” разработчик соединений вкладывает способность того или иного агента воздействовать на параметры энзиматического катализа (переноса электронов) в качестве составной части той или иной физиологической системы [20, 23]. ФСАО являются сопрягающими редокс-факторами, поддерживающими показатели гомеостаза в физиологических границах в нормальном состоянии и возвращающими его показатели к нормальным значениям в патологических или экстремальных ситуациях. Особенностью ФСАО является их способность к физиологической совместимости, что представляется более важным в сравнении с антиоксидантной активностью. Они способны в качестве составной части той или иной физиологической системы воздействовать на молекулярные мишени и вызывать сдвиги окислительно-восстановительного потенциала клетки, синхронизированно с клеточными и другими биологическими циклами.

Сырьем для создания ФСАО являются природные антиоксиданты — некоторые аминокислоты (цистеин, глицин, пролин,  $\beta$ -аланин, таурин и др.), витамины (аскорбат, никотиновая кислота, пиридоксин, рибофлавин), полифенолы (фосфаден, кумарин) и переходные биометаллы (цинк, железо, кобальт, марганец, медь и др.).

По экспериментальным данным ФСАО обладают широким спектром фармакологической активности. В результате биологического тестирования среди ФСАО выявлены вещества с ярко выраженной противоопухолевой активностью, гастропротекторным и бронхорасширяющим действием. Многие из изученных ФСАО зарекомендовали себя как перспективные антигипоксанты на различных моделях острой гипоксии [8, 22]. Так, в собственных исследованиях установлено, что соединение под лабораторным шифром  $\pi Q-4$ , относящееся к классу стабилизированных тиолятов, по эффективности и широте действующих доз значительно превосходит антиоксидант/антигипоксант мексидол на разных моделях гипоксии [20].

Поскольку в большинстве экспериментальных работ изучение антигипоксической активности ФСАО проводилось в форме скринингового исследования, вопросы о механизмах развития устойчивости организма к гипоксическому воздействию при их применении до сих пор остаются открытыми. Однако следует отметить, что большинство ФСАО, показавших высокую антигипоксическую активность в эксперименте, замедляют основной обмен у животных в условиях нормоксии (снижают потребление кислорода и ректальную температуру), что, вероятно, замедляет развитие энергодефицита и увеличивает продолжительность жизни животных в условиях гипоксии [14].

**Митохондриальный АТФ-зависимый калиевый канал (миток<sub>АТФ</sub>).** Ряд исследователей отмечает важную роль  $K^+$ -АТФ-зависимых каналов в формировании адаптации организма к гипоксии [4, 17]. Поэтому ещё одной мишенью действия антигипоксантов может, по всей видимости, являться калиевый канал, расположенный во внутренней мембране митохондрий. В лабораторных условиях был выделен белок, обладающий свойствами данного канала. Позднее было показано, что выделенный белок-канал ингибируется физиологическими концентрациями АТФ, поэтому этот канал получил название митохондриальный АТФ-ингибируемый (зависимый) калиевый канал (миток<sub>АТФ</sub>) [9].

В настоящее время довольно хорошо исследованы биофизические свойства митохондриального калиевого канала и его физиологическая роль. Так, показано, что его активация играет роль в защите миокарда при ишемии, участвует в формировании устойчивости организма к кислородному голоданию. Найден ряд синтетических активаторов миток<sub>АТФ</sub>, являющихся потенциальными кардиопротекторами. Обнаружен эффективный природный метаболический активатор миток<sub>АТФ</sub> — уридин-5'-дифосфат (УДФ) [16]. Среди активаторов канала можно назвать диазоксид и никорандил, которые активируют не только миток<sub>АТФ</sub>, но в более высоких концентрациях также активируют и циток<sub>АТФ</sub>. Функцию метаболических регуляторов канала могут выполнять гормоны. Обнаружено, что женский половой гормон  $\beta$ -эстрадиол является активатором миток<sub>АТФ</sub>. Мужской половой гормон тестостерон также оказывает активирующее влияние на миток<sub>АТФ</sub>-канал.

Кроме того, показано, что дифосфонуклеотиды (АДФ, ГДФ) являются активаторами канала, причем, наиболее выраженный эффект вызывает уридиндифосфат (УДФ). В качестве веществ, предупреждающих развитие гипоксии, предложены предшественники УДФ — уридин и УМФ. На модели инфаркта миокарда крыс эти вещества значительно снижают зону инфаркта, нормализуют уровень АТФ, креатинфосфата и систем антиокислительной защиты, уменьшают образование активных форм кислорода, а также нормализуют ритм сердца. Данные положительные эффекты уридина и УМФ предупреждаются предварительным введением ингибиторов миток<sub>АТФ</sub>, таких как глибенкламид, что подтверждает существенную роль этого канала в защите сердца от ишемии [24]. Фармакологическое открытие миток<sub>АТФ</sub>, можно сказать, имитирует эффект preconditionирования, вызываемый кратковременными сублетальными по интенсивности эпизодами ишемии.

Привычное представление о митохондриях как о специализированных органеллах, контролирующих энергетический обмен, в настоящее время дополнилось представлением о них, как об органеллах, в которых заключены факторы, определяющие “судьбу” клетки [34]. В действительности, на митохондриях сходятся и регулируются большое количество сигнальных путей, обеспечивающих как пролиферацию клеток и митохондриальный биогенез, так и, наоборот, запрограммированную гибель клетки путем ограничения окислительно-восстановительных реакций. Из этого следует, что

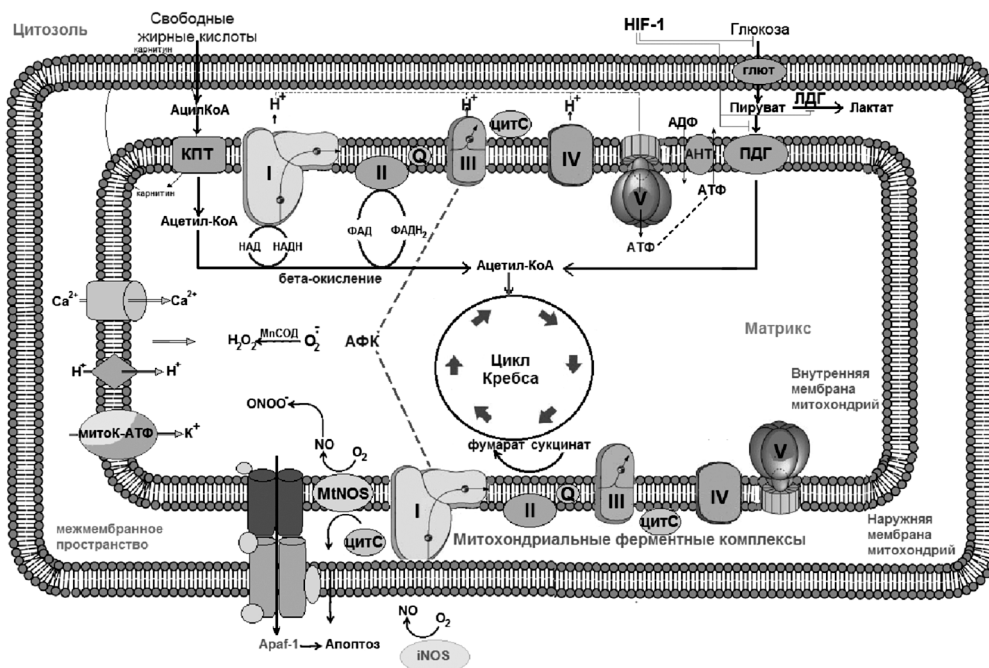


Рис. 1. Возможные митохондриальные мишени для антигипоксантов.

I — комплекс НАДН-дегидрогеназа, II — комплекс сукцинатдегидрогеназа, III — комплекс убиквинол цитохром С оксидоредуктаза, IV — комплекс цитохромоксидаза, V — комплекс АТФ синтаза, HIF-1 — гипоксией индуцированный фактор-1, ЛДГ — лактатдегидрогеназа, ПДГ — пируватдегидрогеназа, митК-АТФ — митохондриальный АТФ-зависимый калиевый канал, mtNOS - митохондриальная синтаза оксида азота, MnCOД — митохондриальная марганца супероксиддисмутаза, АФК — активные формы кислорода, КПТ — карнитин-пальмитоилтрансфераза, Araf-1 (англ. Apoptotic peptidase activating factor 1) — апоптоз инициирующий белковый фактор-1.

митохондриальные структуры являются важными мишенями для фармакологического воздействия в условиях гипоксии и ишемии (рис. 1).

**Митохондриальная мегапора (mPTP).** Перспективным направлением в коррекции гипоксии может стать изыскание лекарственных веществ, мишенью для которых станет митохондриальная мегапора (Mitochondrial Permeability Transition Pore, mPTP). Митохондриальная мегапора — комплекс белков, представляющий собой канал, проходящий через наружную и внутреннюю мембраны митохондрии. Митохондриальная мегапора функционирует путём изменения конфигурации составляющих её белков.

Среди структурных компонентов мегاپоры выделяют потенциалзависимый анионный канал и периферический бензодиазепиновый рецептор, расположенные в наружной мембране митохондрий. Во внутренней мембране представлена адениннуклеотидтранслоказа, близ которой в матриксе находится циклофиллин D. Митохондриальная мегапора открывается при определенных патологических состояниях, таких как инсульт, черепно-мозговая травма, нейродегенеративные заболевания, печеночная энцефалопатия, мышечная дистрофия, инфаркт миокарда и др. При ишемии миокарда открытие митохондриальных пор является фактором, который играет важную роль в реперфузионном повреждении миокарда, так как показано, что во время самого эпизода ишемии пора закрыта, но открывается сразу, как только возобновляется ток крови к тканям.

Кроме структурной и метаболической функций, мегапора выполняет регуляторную функцию, участвуя непосредственно в реализации митохондриального сигнального пути апоптоза [2]. Образование и открытие mPTP не является единственным механизмом выхода межмембранных белков митохондрий в цитоплазму. Однако судьба клетки, например, после инсульта зависит от степени и продолжительности открытия mPTP. Если повышение проницаемости mPTP происходит лишь в слабой степени, клетка может восстановиться, а если открытие мегапоры более выраженное она может подвергаться апоптозу. Открытие mPTP приводит к поступлению воды и ионов в матрикс митохондрий, вызывая их набухание, что повреждает наружную мембрану митохондрий и вызывает высвобождение из межмембранного пространства в цитоплазму белков апоптоза (апоптоз индуцирующий фактор, вторичный митохондриальный активатор каспаз, некоторые прокаспазы). Кроме того, открытие митохондриальной мегапоры обеспечивает повышенную проницаемость и выход через неё цитохрома С — конечного звена электронно-транспортной цепи. В цитоплазме цитохром С связывается с белком Araf-1 (Apoptotic protease activating factor-1 — фактор активации протеаз апоптоза) и формирует апоптосому. Затем через ряд реакций образуются каспазы-9, -3 и -7, которые и расщепляют структурные белки, приводя к появлению биохимических и морфологических признаков апоптоза.

Среди эндогенных факторов, способных индуцировать открытие mPTP, особый интерес представляет концентрация ионов  $Ca^{2+}$  и адениннуклеотидов, окись азота, активные формы кислорода, пиримидиновый и тиоловый ре-

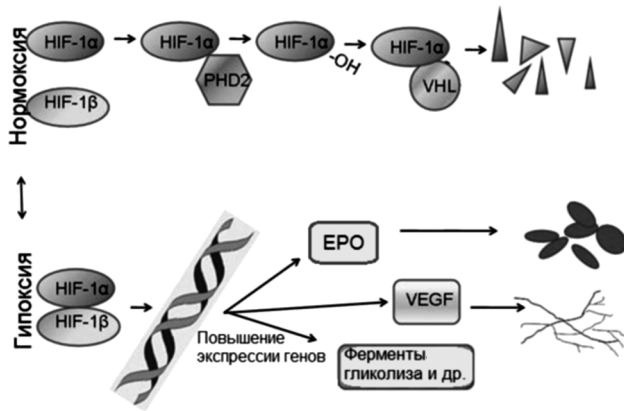


Рис. 2. Протеасомная деградация гипоксией индуцированного фактора в условиях нормоксии и его стабилизация в гипоксических условиях (по А. В. Мисюрину, 2009).

PHD2 — пролилгидроксилаза; VHL — белок фон Хиппель-Линдау; EPO — эритропоэтин; VEGF — фактор роста эндотелия сосудов.

докс-статусы, белки семейства Bcl-2, возбуждающие аминокислоты, некоторые жирные кислоты и др. [38].

Свойствами блокатора митохондриальной мегапоры обладают иммуносупрессор циклоспорин А и его аналоги. Говоря о mPTP как о потенциальной мишени для средств с антигипоксической активностью, следует отметить, что избирательные ингибиторы работы мегапоры могут быть эффективны в лечении ишемической болезни сердца, ишемии сосудов головного мозга, а также при нейродегенеративных заболеваниях (болезнь Альцгеймера, болезнь Хантингтона и др.). Возможно, влияя на конформацию белков митохондриальных мегапор, можно будет влиять на жизнь клеток и продолжительность жизни человека. Поскольку мегапора играет важную роль в запрограммированной смерти клетки, предполагается, что она может служить потенциальной мишенью для действия противоопухолевых средств, которые могли бы вызывать гибель пролиферирующих раковых клеток [19].

В настоящее время доказано, что убихинон (коэнзим Q<sub>10</sub>) проявляет свойства ингибитора открытия митохондриальной поры в миокарде животных в условиях ишемии-реперфузии [25]. Известно, что при ишемии миокарда и его последующей реперфузии кардиомиоциты гибнут апоптозом. В экспериментах CoQ<sub>10</sub> оказывал протекторное действие относительно кальций-индуцированного набухания митохондрий, причем эффект был более выражен в условиях угнетения функционирования дыхательной цепи. Авторы полагают, что в структуре самой поры содержатся убихинон-связывающие участки, регулируемые дыхательной цепью митохондрий. Механизм протекторного действия CoQ<sub>10</sub> может также заключаться в структурной перестройке компонентов-белков, входящих в состав митохондриальной поры. Таким образом, убихинон может оказывать своё антигипоксическое действие не только потому, что является кофактором в дыхательной цепи, но в связи с тем, что обладает свойствами ингибитора митохондриальной мегапоры [40].

**Митохондриальная синтаза окиси азота (mtNOS) и эндогенная окись азота.** В последние годы во внутрен-

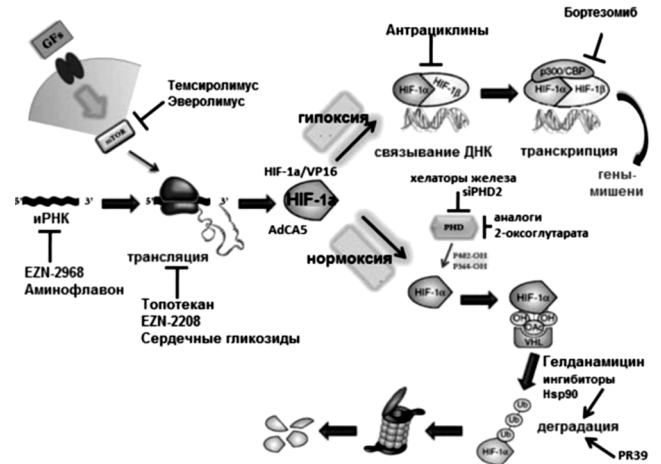


Рис. 3. Возможные механизмы действия HIF-активаторов и HIF-ингибиторов (по В. Onnis, A. Rapisarda, G. Melillo, 2009).

ней мембране митохондрий показано наличие конститутивной формы синтазы окиси азота (NOS) [38]. Вопрос о том, является ли митохондриальная NOS (mtNOS) отдельной изоформой фермента (среди NOS традиционно выделяют три изоформы: нейрональная (nNOS), или тип I, индуцибельная (iNOS), или тип II и эндотелиальная (eNOS), или тип III) или же представляет собой iNOS, содержащую посттрансляционные модификации, остается открытым и по-разному трактуется авторами [7, 36, 51]. В любом случае, открытие NOS в митохондриях ставит ряд вопросов и указывает новые возможные пути исследований (рис. 1). Поскольку mtNOS является Ca-кальмодулин-зависимой изоформой, внутримитохондриальное накопление ионов кальция во время гипоксии активирует mtNOS.

Интересным представляется вопрос о влиянии митохондриальной монооксида азота (NO) на апоптоз. Среднее время жизни NO *in vivo* составляет 5 – 30 с. За это время происходит ее взаимодействие со своими мишенями (в основном тиолами и переходными металлами) или же NO окисляется, в частности, цитохром-С-оксидазой до неактивных нитрата и нитрита или образует так называемые активные формы азота (нитрозоний, нитроксил, пероксинитрит). Среди факторов, влияющих на время жизни NO в условиях гипоксии можно выделить активацию процессов ПОЛ, что увеличивает дефицит эндогенной NO за счет ее ускоренной деградации активными формами кислорода. Известно, что немитохондриальная NO действует на клеточные структуры, в том числе на митохондрии, вызывая ряд явлений, приводящих к апоптозу.

Так как синтез NO из L-аргинина и O<sub>2</sub> с использованием НАДФ катализируется NOS, можно предположить участие mtNOS в регуляции апоптоза, особенно учитывая, что данный фермент может иметь отношение к производству активных форм кислорода (супероксиданиона), а значит — к различным биологическим повреждениям [2]. За последние 15 лет стало известно регуляторное действие окиси азота на митохондриальное дыхание как результат высокого аффинитета к железосодержащей

цитохромоксидазе — финальному акцептору в электрон-транспортной цепи.

С одной стороны, тканевая гипоксия замедляет NOS-зависимый синтез NO из L-аргинина и O<sub>2</sub>, так как O<sub>2</sub> одно из реагирующих веществ в реакции NOS-зависимого синтеза NO. С другой стороны, имеются сведения о повышении ферментной активности NOS под влиянием гипоксии [44]. Такие изменения зависят от степени выраженности гипоксического состояния. Умеренная гипоксия приводит к активации цикла NO, что лежит в основе компенсаторно-приспособительных изменений в ответ на гипоксию. Во время курса гипоксической тренировки повышение продукции NO задерживает необратимые повреждения из-за снижения митохондриальной активности. Окись азота, митохондриальное содержание которой увеличивается при гипоксии, приводит к открытию АТФ-зависимых калиевых каналов благодаря прямому воздействию или опосредованно через активацию протеинкиназы С пероксинитритом.

Среди факторов, влияющих на скорость NOS-зависимого синтеза NO можно назвать скорость транскрипции генов, ответственных за синтез NOS, содержание субстратов mtNOS (НАДФН, L-аргинина) и её кофакторов (ФАД, ФМН, ВН4). Кроме NO-синтазного механизма NO образуется в ходе нитрит-редуктазных реакций, роль которых возрастает в условиях гипоксии. Катализируются данные реакции восстановления, в частности, в митохондриях электронно-донорными системами с участием НАДН, НАДФН, флавопротеинов и цитохромоксидазы [12]. В эритроцитах данная реакция катализируется ещё и при участии дезоксигемоглобина, содержание которого повышается при внутриклеточном ацидозе, возникающем при гипоксии. В целом, при недостатке кислорода происходит активация ферментативных и неферментативных (восстановленный глутатион, аскорбиновая кислота) систем, участвующих в образовании NO из ионов NO<sub>2</sub>. Митохондриальная NOS может участвовать в образовании АФК вместо NO в условиях истощения L-аргинина, что приводит к открытию митохондриальной мегапоры. Ca<sup>2+</sup>-индуцированное открытие mPTP предотвращается в случае нейтрализации АФК-миметиками супероксиддисмутазы или при добавлении кофакторов mtNOS, таких как L-аргинин или тетрагидробиоптерин (ВН4). Поэтому поддержание физиологического уровня L-аргинина и ВН4 оказывает кардиопротекторное действие, что имеет большое значение при хронической сердечной недостаточности, операциях на сердце [35]. NO, полученный в результате синтазных реакций, тормозит открытие mPTP в том случае, когда наблюдается высокая перегрузка ионами Ca<sup>2+</sup>. Не до конца ясно, является ли этот эффект результатом непосредственного действия NO (например, прямого S-нитрозилирования тиоловых групп) в мегапоре или является результатом нейтрализации АФК [44].

Поскольку различные механизмы, регулирующие апоптоз, очень тесно переплетены, то в действии какой-либо сигнальной молекулы часто трудно выделить про- или антиапоптотические составляющие. Так, нельзя однозначно указать роль митохондриального NO в функциональной активности клетки. Его действие не может ограничиваться только цитотоксичностью или, наоборот,

защитным эффектом, а определяется соотношением стрессовых факторов и факторов выживания клетки, что и направляет NO по тому или иному пути [7, 13]. Например, считается, что митохондриальный NO влияет на открытие мегапоры mPTP и выход цитохрома С. Однако эффект NO на проницаемость митохондриальных мембран, можно сказать, является дозозависимым. При малых концентрациях окись азота оказывает ингибирующее влияние на окислительное фосфорилирование митохондрий, обратимо связываясь с цитохромоксидазой электронтранспортной цепи. Существует представление, что блокада mPTP под действием NO объясняется именно ингибированием цитохромоксидазы. Большие концентрации окиси азота дают противоположный эффект — угнетение синтеза АТФ, нитрозолирование тиоловых групп митохондриальных белков, что ведет к открытию митохондриальных пор [30], высвобождению в цитозоль апоптогенных факторов, выходу цитохрома С и запуску каспазного каскада. Что же касается mtNOS, то известно, что при Ca<sup>2+</sup>-индуцированной активации mtNOS происходит усиление перекисного окисления липидов, выход цитохрома С в цитозоль и в конечном счете развивается картина типичного апоптоза, что связывают с образованием в митохондриях мощного оксиданта пероксинитрита ONOO<sup>-</sup> (продукт взаимодействия окиси азота с супероксидным радикалом), который подавляет ферменты дыхательной цепи уже необратимо, нитрозилируя их и отнимая железо [2]. Изменение транслокации и активности mtNOS под действием различных физиологических и патологических состояний представляет собой один из возможных адаптивных механизмов [36].

Фармакологическая регуляция активности mtNOS имеет большее значение и предполагает разработку лекарственных веществ избирательного действия, которые можно было бы использовать, в частности, при ишемии-реперфузии миокарда. В экспериментах продемонстрирована повышенная активность mtNOS при ишемической болезни сердца (особенно в случае тяжелой гипоксии) и гипертрофии правого желудочка при индуцированной гипоксией легочной гипертензии. Показано, что ингибирование mtNOS приводит к увеличению сократимости миокарда у мышей с кардиомиопатией [44].

Таким образом, NO является модулятором митохондриального дыхания, синтеза АТФ и активности митохондриальных К<sub>АТФ</sub>-зависимых каналов. Однако разнообразие эффектов митохондриального NO в опытах *in vitro* (исследования проведены на изолированных органах) не всегда позволяет предугадать их проявления *in vivo*, что затрудняет возможность использования лекарственных веществ подобного действия. Митохондриальная NOS также является привлекательной мишенью для лекарственных средств с антигипоксической активностью. Она является одним из наиболее регулируемых ферментов, но в тоже время и сложно устроенных, имеющих большое количество кофакторов.

**Гипоксией индуцированный фактор (HIF-1α).** Перспективным направлением в экспериментальной фармакологии является изыскание химических веществ, выступающих в роли индукторов генетического аппарата, ответственного за формирование структурной основы дол-

временной адаптации к гипоксии. Сегодня в свете проблемы гипоксии большое внимание уделяют специфическому белку — гипоксией индуцированному фактору (HIF-1 $\alpha$ ), активность которого увеличивается при снижении напряжения кислорода в крови. Этот фактор играет главную роль в системном ответе на гипоксию, синтезируется во многих тканях организма, в том числе в нервной ткани, где его экспрессия максимальна в нейронах [50].

HIF-1 $\alpha$  является субъединицей гетеродимерного белка HIF-1, бета-субъединица которого экспрессируется постоянно, альфа же субъединица регулируется кислородом, она уникальна для кислородного пути. При нормальной концентрации кислорода происходит гидроксирование аминокислотных остатков пролина свободно существующей молекулы HIF-1 альфа в результате активности Fe<sup>2+</sup> и/или O<sub>2</sub>-зависимого фермента пролилгидроксилазы (PHD), который является молекулярным сенсором кислорода. Измененная таким образом субъединица HIF-1 альфа через ряд стадий подвергается протеасомной деградации. В состоянии гипоксии белковая молекула HIF-1 альфа не гидроксится и остается стабильной (рис. 2). Субъединицы HIF-1 альфа и HIF-1 бета объединяются, и образовавшийся в результате этого белок HIF-1 направляется из цитоплазмы в ядро, где связывается с особыми последовательностями ДНК в генах, экспрессия которых индуцируется гипоксией [10, 18].

Известно, что увеличение уровня HIF-1 $\alpha$  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, фосфо-фруктокиназы, пируваткиназы и пр.). Кроме того, HIF-1 регулирует экспрессию генов, участвующих в обмене железа, регуляции сосудистого тонуса, клеточной пролиферации, апоптоза и др. [57].

Синтез HIF-1 $\alpha$  может реализовываться через кислород-независимые механизмы. Так, HIF-1 $\alpha$  синтезируется в реакциях, контролируемых такими сигнальными системами, как MAPK (mitogen activated proteinkinase — активируется на сигналы, способствующие пролиферации) и PI3K (фосфатидилинозитол-3киназа — 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 имеют 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 сукцинат-зависи-

мый рецептор GPR-91 и др. Агонистами рецепторов выступают тирозингидроксилаза, цитокины, факторы роста (например, инсулиноподобный фактор роста), сукцинат [11].

Гипоксия, как известно, является типовым патологическим процессом, сопровождающим и определяющим развитие многих патологических состояний [28]. 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 [37].

Принципиальным механизмом адаптации раковых клеток к гипоксии является активация HIF-1 фактора. Выяснение патогенетической роли фактора HIF-1 $\alpha$  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-1 $\alpha$ .

Сегодня, когда доказана роль гипоксии в развитии опухолей, исследователями всё больше обсуждается вопрос о значимости ингибиторов HIF-1 $\alpha$  в патогенетической терапии раковых опухолей. Многие современные лекарственные средства так называемой целенаправленной или таргетной терапии опосредованно блокируют функции HIF-1 $\alpha$  фактора и оказывают антиангиогенное действие: например, трастузумаб (герцептин) и gefitinib, цалфостин С (ингибитор протеинкиназы С), ворманнин (ингибитор PI3K), PD98095 (ингибитор MAPK), рапамицин (сиролимус, ингибитор FRAP/mTOR), сорафениб и сунитиниб (мультикиназные ингибиторы) [29, 47, 49].

Разработаны способы стабилизации HIF-1 $\alpha$  путем изменения скорости его метаболизма по одному из возможных механизмов (рис. 3).

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 эффективность, получены положительные результаты у пациентов с почечной карциномой с метастазами. Другим соединением, ингибирующим HIF-1 $\alpha$  РНК экспрессию, является аминифлаван. Второй подход — блокада синтеза HIF-1 $\alpha$  на рибосомах на матрице информационной РНК, т.е. блокада трансляции HIF-1 $\alpha$ . К препаратам с таким механизмом относят топотекан, его более активный и более удобный по фармакокинетическим характеристикам аналог под шифром EZN-2208. Угнетают образование HIF-1 $\alpha$  сердечные гликозиды, что открывает новые возможности старых препаратов. Обсуждается вопрос использования сердечных гликозидов в качестве

противораковых средств. Проводятся экспериментальные и клинические испытания некоторых из них [39].

В качестве ещё одного, возможно, перспективного средства, ингибирующего избыточную экспрессию HIF-1 альфа при некоторых солидных опухолях, рассматривается носкапин (наркотин — производное бензилизохинолина). Этот алкалоид опия применяется как противокашлевое средство. Экспериментальное изучение носкапина показало его антиангиогенное действие при глиомах (нейроэпителиальных опухолях) [46]. 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 [31].

2. *Ускорение распада HIF-1 альфа.* Усилить протеасомную деградацию HIF-1 $\alpha$  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-1 $\alpha$ . Связывание гелданамицина с Hsp90 нарушает взаимодействия Hsp90 с HIF-1 $\alpha$ , препятствуя его правильной укладке и подвергая разрушению, опосредуемому протеасомой.

Эхиномицин и антрациклиновые антибиотики (доксорубин, даунорубин) угнетают транскрипционную активность HIF-1 альфа, блокируя его связывания с компонентами транскрипционного активного комплекса (HRE). 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 [49].

Следует помнить, что стратегия использования ингибиторов HIF-1 $\alpha$  в онкологии может оказывать неблагоприятное воздействие при 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. RHD-2 является гидроксилазой, регулирующей HIF уровень и экспрессию ангиогенных генов в клетках фибробластоподобных синовиоцитов [43].

В противовес патогенетической необходимости угнетения активности фактора HIF-1 $\alpha$  в терапии раковых опухолей и ревматоидного артрита при ишемической болезни сердца и ишемии головного мозга значимую положительную роль может сыграть усиление активности

данного фактора. 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 [50].

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 [41, 43, 45, 55].

Известные HIF-1 активаторы разделяют на два основных класса в зависимости от их влияния на HIF-1 $\alpha$ : ингибиторы деградации и инактивации HIF-1 $\alpha$  (малые молекулы — ингибиторы HIF-гидроксилаз, пептиды — блокаторы деградации HIF-1 $\alpha$ ); активаторы транскрипции и трансляции HIF-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$  генотерапия).

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 вызывает экспрессию многих генов, обеспечивающих выживание клетки в условиях гипоксии. Дефероксамин впервые был идентифицирован как сидерохром из *Streptomyces pilosus*. Являясь хелатирующим веществом, он образует комплексы путем присоединения ионов трехвалентного железа. Используется клинически, как антагонист тяжелых металлов, прежде всего, для лечения отравлений железом и алюминием. Показано, что дефероксамин индуцирует ДНК-связывающую активность HIF-1 и увеличивает уровень эритропоэтина мРНК в культуре клеток [45]. Кроме дефероксамина, свойствами хелатора железа обладает диметилксалилглицин (DMOG) — малая молекула, которая ингибирует оксоглутарат-зависимые дегидрогеназы и тем самым индуцирует стабилизацию HIF-1 $\alpha$  снижением экспрессии мРНК HIF-1 $\alpha$ . Диметилксалилглицин значительно повышает экспрессию HIF-1 $\alpha$  и VEGF в культуре клеток эндотелия и увеличивает выживаемость кожного лоскута *in vivo* на модели у крыс [54].

Дихлорид кобальта (CoCl<sub>2</sub>) оказывает аналогичное гипоксии, а также дефероксамину и диметилксалилглицину 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. Показано, также что кобальт активирует HIF-1 за счет истощения внутриклеточного содержания аскорбиновой кислоты, ко-фактора для HIF-гидроксилазы, который дестабилизирует и инактивирует HIF-1 $\alpha$  [45]. CoCl<sub>2</sub> используется преимущественно *in vitro* для индукции и оценки гипоксии в культурах клеток млекопитающих.

К конкурентным ингибиторам пролилгидроксилазы, действующим не через железо, а через другой 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, диметилосалилглицин и L-мимозин ингибировали PHD, что увеличивало васкуляризацию и размер костной мозоли [55].

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 дозо-зависимое антигипоксическое действие апо-формы ЛФ человека (апоЛФ). Показано, что у мышей, получавших апоЛФ происходит накопление HIF-1 $\alpha$  во многих тканях. Обнаружено повышение концентрации эритропоэтина в сыворотке крови мышей, получавших апоЛФ внутривенно. 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 [27].

Существуют и другие хелаторы железа, проникающие через ГЭБ, например, вещества M30 и HLA20, которые продемонстрировали нейропротекторную активность *in vitro* и *in vivo* в эксперименте на животных при повреждениях, применимых к различным нейродегенеративным заболеваниям, таким как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, боковой амиотрофический склероз. При этом исследователи делают акцент на способности соединений M30 and HLA20 активировать HIF-1-сигнальный путь [33, 58].

Идентифицирован и в разной степени исследован ряд других ингибиторов HIF-пролилгидроксилаз, например, N-оксалил-2S-аланин, 3-карбоксиметил-N-гидрокси-сукцинимид, 3-карбокси-N-гидрокси-пирролидон и др. [45]. 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 [45].

В нашей стране в качестве лекарственных средств с антигипоксическим действием распространено применение различных органических сукцинатсодержащих соединений (этилметилгидрокси-пиридина сукцинат, меглюмина натрия сукцинат и др). Возможно, цитопротекторная активность антигипоксантов прямого энергизирующего действия связана и со способностью влиять на активность HIF-пролилгидроксилаз. Интересный факт обнаружен в отношении биофлавоноида кверцетина, ко-

торый, как оказывается, в условиях нормоксии активирует HIF-1 в различных клеточных культурах, увеличивает экспрессию в них VEGF и GLUT-1. Кверцетин блокирует фактор, ингибирующий HIF (аспарагинилгидроксилазу), который инактивирует HIF-1 $\alpha$  в условиях нормоксии [45]. 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.

Спорным до некоторых пор был вопрос о влиянии окиси 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 [45, 52]. 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, что в условиях нормоксии разная пороговая концентрация NO активирует различные сигнальные пути [57].

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 [42].

Ещё одним подходом для стабилизации HIF-1 $\alpha$  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 т. н. “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 [41].

Для активации HIF-1 $\alpha$  транскрипции и трансляции используется генноинженерный метод — генотерапия с использованием вирусных векторов для доставки генетической информации в геном клеток. Так, показано, что введение животным HIF1 $\alpha$ /VP16 гибрида увеличивает ангиогенез и уменьшает размеры инфаркта миокарда в эксперименте [45]. HIF1 $\alpha$ /VP16 гибрид представляет собой ДНК-связывающий и димеризационный домен от HIF1 $\alpha$  и трансактивационный домен белка VP16 вируса герпеса. Кроме того, HIF-1 $\alpha$ /VP16 увеличивает образова-



ние коллатеральных сосудов и кровотоков на модели ишемии задних конечностей. В результате 1-й фазы клинических испытаний у пациентов с критической ишемией нижних конечностей HIF-1 $\alpha$ /VP16 показал себя как безопасное лекарственное средство, уменьшающее боль в покое и способствующее заживлению язв у некоторых пациентов. Однако при проведении рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования был сделан вывод, что генотерапия с внутримышечным введением HIF-1 $\alpha$  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 HIF-1 $\alpha$  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 задней конечности, мышам с моделью диабетической ишемии нижних конечностей стимулировало процесс восстановления кровообращения в конечностях путем возрастания плотности капиллярной сети и увеличения просвета артерий [37, 45].

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 [58]. Постоянный уровень HIF1 отвечает за синтез эритропоэтина, в том числе в головном мозге при гипоксии. Эритропоэтин оказывает положительный протекторный эффект у больных паркинсонизмом. В эксперименте показано, что введение эритропоэтина в паренхиму мозга предупреждает гибель дофаминергических нейронов [26]. 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 [48]. В исследованиях *in vitro* и на различных моделях нейродегенеративных заболеваний у животных подтверждено нейропротекторное действие указанного выше вещества M30 и его способность регулировать уровень предшественника бета-амилоида (APP) и самого бета-амилоида. M30 представляет собой комбинацию особого хелатора железа с ингибитором MAO-B разагилином. Показано, что M30 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, M30 увеличивает экспрессию нейротрофического фактора мозга (BDNF) и нейромодулина (GAP-43). Что касается аспектов, непосредственно имеющих отношение к болезни Альцгеймера, то

выявлено, что M30 ослабляет фосфорилирование тау-белка, оказывает протекторное действие на культуры корковых нейронов против токсичности бета-амилоида (A $\beta$ 25 – 35) [33].

Обобщая информацию о целесообразности поиска и применения имеющихся активаторов HIF-1 $\alpha$ , следует отметить их эффективность при ишемии тканей и связанных с ней заболеваний. К состояниям, когда индукторы HIF-1 $\alpha$  могут оказаться полезны, следует отнести ишемическую болезнь сердца, ишемию сосудов головного мозга, период реперфузии после инфаркта миокарда или инсульта, некоторые нарушения периферического кровообращения. Особенно перспективным может оказаться их применение при острой предсказуемой ишемии, например, ишемии миокарда при операциях на сердце или сосудах (аортокоронарное шунтирование) или при трансплантации органов, поскольку обсуждается возможность запуска феномена preconditionирования с помощью индукторов HIF-1 $\alpha$ . 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-1 $\alpha$ , который стимулирует ангиогенез через экспрессию многих ангиогенных факторов, может оказаться более эффективной, чем воздействие одним каким-либо ангиогенным фактором. Однако системная активация ангиогенеза вызывает побочные эффекты у больных с ангиомой, раком, артритом, ретинопатиями, атеросклерозом в фазу прогрессирования. Поэтому к использованию активаторов HIF-1 $\alpha$  следует подходить осторожно, тем более, что общий результат зависит от состояния больного и характера стимула. В некоторых моделях присутствие HIF-1 $\alpha$  только ухудшает эффект ишемии. Наличие пролиферативных заболеваний служит противопоказанием для активаторов HIF-1 $\alpha$ .

Множественность эффектов HIF-1 $\alpha$  приводит к увеличению его нежелательных побочных явлений. 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.

Активаторы HIF-1 $\alpha$  могут быть эффективными для стимуляции заживления ран, ожогов, регенерации костной ткани после переломов [56]. Поэтому поиск активаторов экспрессии HIF-1 $\alpha$  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 гидроксилровании HIF-1 $\alpha$  [1].

Представленные в обзоре мишени для действия лекарственных средств тесно переплетены, функционально

взаимосвязаны, и участвуют в реализации компенсаторно-адаптационных реакций на гипоксию.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ экспериментальных и клинических исследований свидетельствует о том, что состояние гипоксии сопровождается и определяет развитие многих заболеваний, поскольку почти все они прямо или косвенно связаны с нарушением “кислородного бюджета” организма. Современный уровень знаний патофизиологических и патобиохимических процессов, индуцируемых гипоксией, позволяет проводить патогенетическую коррекцию метаболических и функциональных изменений с помощью лекарственных средств с антигипоксическим действием.

В последние годы обнаружен ряд новых молекулярных факторов, регулирующих процессы адаптации организма к гипоксии (например, митохондриальный АТФ-зависимый калиевый канал, митохондриальная мегалопора, гипоксией индуцированный фактор-1 $\alpha$ ). Эти факторы можно использовать в качестве специфических мишеней для фармакологического воздействия. Открываются новые направления поиска эффективных лекарственных средств с антигипоксическим действием, а также направленного регулирования процессов срочной и долговременной адаптации организма к гипоксии. Актуальным является изучение влияния известных антигипоксантов на уровень HIF-1 $\alpha$ . Можно предположить, что 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, повышать резистентность организма к последующему гипоксическому воздействию.

## ЛИТЕРАТУРА

- А. Е. Александрова, *Психофармакология и биологическая наркология*, 7(Ч. 1), спец. вып., 1580 – 1581 (2007).
- И. Ф. Беленичев, В. И. Черный, Ю. М. Колесник и др., *Рациональная нейропротекция*, Издатель Заславский А. Ю., Донецк (2009).
- М. М. Галагудза, *Автореф. дис. докт. мед. наук*, СПб (2007).
- О. С. Горбачева, Н. И. Венедиктова, Г. Д. Миронова, *Патогенез*, 9(3), 26 – 27 (2011).
- И. В. Зарубина, П. Д. Шабанов, *Молекулярная фармакология антигипоксантов*, “Из-во Н-Л”, СПб (2004).
- И. В. Зарубина, *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*, 9(3), 31 – 48 (2011).
- В. Т. Ивашкин, О. М. Драпкина, *Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока*, ГЭОТАР-Медиа, Москва (2011).
- Н. П. Катунина, *Автореф. дис. докт. биол. наук*, СПб (2012).
- Е. В. Качаева, *Автореф. дис. канд. биол. наук*, Пушкино (2007).
- А. А. Левина, А. Б. Макешова, Ю. И. Мамукова и др., *Педиатрия*, 87(4), 92 – 98 (2009).
- Л. Д. Лукьянова, *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*, № 1, 3 – 19 (2011).
- В. А. Малахов, А. Н. Завгородняя, В. С. Лычко и др., *Проблема оксида азота в неврологии*, СумДПУ ім. А. С. Макаренка, Харьков (2009).
- Е. Б. Манухина, Х. Ф. Дауни, Р. Т. Маклет, И. Ю. Мальшев, *Вестник РАМН*, № 2, 25 – 34 (2007).
- Е. О. Маркова, В. Е. Новиков, Э. А. Парфенов, *Медицинские вести регионов*, № 1, 15 – 18 (2011).
- С. С. Маскин, Э. А. Пономарев, К. Э. Пчелинцев и др., *Журн. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова*, № 6, 70 – 72 (2011).
- Г. Д. Миронова, *Патогенез*, 9(3), 47 (2011).
- Г. Д. Миронова, М. И. Шигаева, Е. Н. Гриценко и др., *Бюл. экспер. биол.*, 151(1), 30 – 36 (2011).
- А. В. Мисюрин, *Клин. онкогематол.*, 2(3), 211 – 219 (2009).
- С. В. Мураков, Н. Д. Воспелников, *Вопр. биол. мед. и фармацевтич. химии*, № 2, 44 – 50 (2006).
- В. Е. Новиков, О. С. Левченкова, *Фармакология гипоксии*, СГМА, Смоленск (2007).
- В. Е. Новиков, Н. О. Крюкова, А. С. Новиков, *Экспер. и клин. фармакол.*, 73(5), 15 – 18 (2010).
- В. Е. Новиков, Е. О. Маркова, М. Ю. Дьяков, Э. А. Парфенов, *Обзоры по клин. фармакологии и лек. терапии*, 9(2), 35 – 41 (2011).
- Э. А. Парфенов, *Дис. докт. хим. наук в форме научного доклада*, Москва (2000).
- О. М. Родионова, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, СПб (2007).
- В. Ф. Сагач, Г. Л. Вавилова, Е. В. Рудык и др., *Актуальные проблемы транспортной медицины*, 1, 63 – 71 (2009).
- Т. В. Серебровская, *Вестн. международной академии наук*, 1, 29 – 31 (2006).
- А. В. Соколов, Е. Т. Захарова, В. А. Костевич и др., *Патогенез*, 9(3), 61 – 62 (2011).
- П. Д. Шабанов, И. В. Зарубина, В. Е. Новиков, В. Н. Цыган, *Метаболические корректоры гипоксии*, Информ-Навигатор, СПб (2010).
- Н. Л. Шимановский, М. А. Епинетов, М. Я. Мельников, *Молекулярная нанофармакология*, ФИЗМАТЛИТ, Москва (2010).
- Т. В. Шиманская, Ф. В. Добровольский, В. Ф. Сагач, *Актуальные проблемы транспортной медицины*, № 3, 121 – 126 (2007).
- С. Ю. Цибульников, *Патогенез*, 9(3), 69 (2011).
- R. Amorati, F. Ferroni, G. F. Pedulli, *J. Org. Chem.*, 68(25), 9654 – 9658 (2003).
- Y. Avramovich-Tirosh, O. Bar-Am, T. Amit, et al., *Current Alzheimer Research*, 7(4), 300 – 306 (2010).
- L. Bouchier-Hayes, L. Lartigue, D. D. Newmeyer, *The Journal of Clinical Investigation*, 115(10), 2640 – 2647 (2005).
- E. N. Dedkova, L. A. Blatter, *J. Physiol.*, 587(4), 851 – 872 (2009).
- P. V. Finocchietto, M. C. Franco, S. Holod, et al., *Exp. Biol. Med.*, 234, 1020 – 1028 (2009).
- Gregg L. Semenza, *DrugDiscovToday*, 12(19 – 20), 853 – 859 (2007).
- A. P. Halestrap, *J. Mol. Cell Cardiol.*, 46(6), 821 – 31 (2009).
- Z. Huafeng, Z. Qian David, Tan Yee Sun, et al., *PNAS*, 105(50), 19579 – 19586 (2008).
- G. Li, L. Y. Zou, C. M. Cao, E. S. Yang, *Biofactors*, 25(1/4), 97 – 107 (2005).
- C. Loinard, A. Ginouvès, J. Vilar, et al., *Circulation*, 7, 50 – 59 (2009).
- E. D. Muinck, N. Nagy, N. Tirziu N, M. Murakami, *Antioxid. Redox Signal.*, 9(4), 437 – 45 (2007).
- B. Muz, H. Larsen, L. Madden, et al., *Arthritis Rheum.*, 64(9), 2856 – 67 (2012).

44. J. Nagendran, E. D. Michelakis, *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **2**, 1723 – 1726 (2009).
45. D. G. Nagle, Yu-Dong Zhou, *Curr. Pharm. Des.*, **12**(21), 2673 – 2688 (2006).
46. E. W. Newcomb, Y. Lukyanov, T. Schnee, et al., *Int. J. Oncol.*, **28**(5), 1121 – 1130 (2006).
47. M. B. Nilsson, P. E. Zage, L. Zeng, et al., *Oncogene*, **29**(20), 2938 – 2949 (2010).
48. O. Ogunshola, X. Antoniou, *Cell Mol. Life Sci.*, **66**(22), 3555 – 63 (2009).
49. B. Onnis, A. Rapisarda, G. Melillo, *J. Cell Mol. Med.*, **13**(9A), 2780 – 2786 (2009).
50. QingdongKe and Max Costa, *Molecular pharmacology*, **70**(5), 1469 – 1480 (2006).
51. N. A. Riobo, M. Melani, N. Sanjua, et al., *The journal of biological chemistry*, **277**(45), 42447 – 42455 (2002).
52. K. B. Sandau, J. Fandrey, B. Brune, *Blood*, **97**(4), 1009 – 1015 (2001).
53. C. K. Sen, *Biochem. Pharmacol.*, **55**(11), 1747 – 1758 (1998).
54. M. Shafiqhi, R. Olariu, A. Fathi R, et al., *Plast. Reconstr. Surg.*, **128**(2), 415 – 22 (2011).
55. X. Shen, C. Wan, G. Ramaswamy, et al., *J. Orthop. Res.*, **27**(10), 1298 – 305 (2009).
56. C. Wan, S. R. Gilbert, Y. Wang, et al., *PNAS*, **105**(2), 686 – 691 (2008).
57. A. Zagorska, J. Dulak, *Acta Biochimica Polonica*, **51**(3), 563 – 585 (2004).
58. Z. Zhang, J. Yan, Y. Chang, et al., *Current Medicinal Chemistry*, **18**(18), 4335 – 4343 (2011).
59. Z. Q. Zhao, J. S. Corvera, M. E. Halkos, et al., *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **2**, 579 – 588 (2003).

Поступила 03.10.12

## PROMISING DIRECTIONS OF SEARCH FOR ANTIHYPOXANTS AND TARGETS OF THEIR ACTION

V. E. Novikov and O. S. Levchenkova

Smolensk State Medical Academy, ul. Krupskoi 28. Smolensk, 214019, Russia

The modern notions about mechanisms of the organism adaptation to hypoxia are reviewed. Promising new directions in the search for effective medicinal agents with antihypoxant action are proposed. Probable targets for antihypoxant action, including mitochondrial ATP-dependent potassium channel (mitoK<sub>ATP</sub>), mitochondrial megapore (mPTP), and hypoxia-inducible factor-1alpha (HIF-1 $\alpha$ ) are discussed.

**Keywords:** hypoxia; physiologically compatible antioxidants (PCAO); mitochondrial ATP-dependent potassium channel (mitoK<sub>ATP</sub>); mitochondrial permeability transition pore (mPTP); hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )