



Научные обзоры / Scientific reviews

© ТРЕГУБ П. П., КУЛИКОВ В. П., МАЛИНОВСКАЯ Н. А.

УДК: 616-092:612.273.2:612.223.11-092.4

DOI: 10.20333/2500136-2018-3-5-13

МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО ЭФФЕКТА СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ГИПОКСИИ И ГИПЕРКАПНИИ

П. П. Трегуб^{1,2}, В. П. Куликов^{1,2}, Н. А. Малиновская²

¹Алтайский медицинский институт последипломного образования, Барнаул 656043, Российская Федерация

²Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск 660022, Российская Федерация

Резюме. Авторами показана максимальная нейропротекторная эффективность сочетанного воздействия гипоксии и гиперкапнии по сравнению с их изолированным использованием. Обсуждается роль в возможном механизме этой эффективности A1-рецепторов к аденозину, митохондриальных АТФ-зависимых калиевых каналов, апоптоза, клеточной синтетической активности, шаперонов, нейротрофического белка S-100b, стресса эндоплазматического ретикула, транскрипционного фактора HIF-1a. Сформулирована гипотеза о потенцировании углекислым газом нейропротекторной эффективности гипоксии. Рассмотрены перспективы клинического применения гиперкапнической гипоксии в неврологии.

Ключевые слова: гипоксия, гиперкапния, нейропротекция, механизмы, инсульт, мозг, ишемия, preconditioning.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Трегуб ПП, Куликов ВП, Малиновская НА. Механизмы нейропротекторного эффекта сочетанного воздействия гипоксии и гиперкапнии. *Сибирское медицинское обозрение*. 2018;(3): 5-13. DOI: 10.20333/2500136-2018-3-5-13

NEUROPROTECTIVE EFFECT MECHANISMS OF HYPOXIA AND HYPERCAPNIA COMBINED IMPACT

P. P. Tregub^{1,2}, V. P. Kulikov^{1,2}, N. A. Malinovskaya²

¹Altai medical Institute of Postgraduate Training, Barnaul 656043, Russian Federation

²Professor V. F. Voino-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk 660022, Russian Federation

Abstract. The authors show maximum neuroprotective efficacy of hypoxia and hypercapnia combined effect in comparison with their isolated use. They discuss the role of possible mechanism of this A-1 receptors efficacy to adenosine, mitochondrial ATP-sensitive potassium channels, apoptosis, cellular synthetic activity, chaperones, neurotrophic protein S-100b, stress of the endoplasmic reticulum, HIF-1a transcription factor. The hypothesis about carbon dioxide potentiation of neuroprotective efficacy of hypoxia is formulated. The prospects of clinical use of hypercapnic hypoxia in neurology are considered.

Key words: hypoxia, hypercapnia, neuroprotection, mechanisms, stroke, brain, ischemia, preconditioning.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Citation: Tregub PP, Kulikov VP, Malinovskaya NA. Neuroprotective effect mechanisms of hypoxia and hypercapnia combined impact. *Siberian Medical Review*. 2018;(3): 5-13. DOI: 10.20333/2500136-2018-3-5-13

Феномен максимальной нейропротекторной эффективности гиперкапнической гипоксии

Высокая эффективность гипоксических тренировок для повышения толерантности к ишемии головного мозга получила широкое признание [1, 2]. Группа исследователей из медицинского университета г. Харбин продемонстрировала, что и гиперкапния обладает выраженным нейропротекторным эффектом в условиях нормоксии [3].

В наших исследованиях было установлено, что при сочетанном воздействии гиперкапнии и гипоксии значительно увеличивается ишемическая и гипоксическая толерантность головного мозга, более

значимо по сравнению с их изолированным применением [4, 5].

Однако нейропротекторные механизмы сочетанного воздействия гиперкапнии и гипоксии по-прежнему мало изучены. В то же время, эти данные могут сформировать теоретическую базу для создания методов потенцирования положительных эффектов гиперкапнической гипоксии при помощи фармакологических препаратов. Кроме того, понимание сигнальных и эффекторных путей формирования ишемической толерантности является важным элементом представления о патогенезе ишемического/гипоксического повреждения нервной ткани.

Ключевыми механизмами повышения толерантности головного мозга к ишемическому повреждению являются: поддержание электролитного равновесия и митохондриального метаболизма нервных клеток, адаптивные эффекты митоK⁺_{АТФ}-каналов и аденозиновых рецепторов, торможение апоптоза, эффекты шаперонов, синапто- и нейрогенез, репарация ДНК и усиление транскрипции адаптивной части генома, провоспалительный цитокиновый ответ и мобилизация плазматического ретикулула, протекторные эффекты HIF-1a и защита клеток от свободных радикалов [6].

Основные сигнальные и эффекторные механизмы формирования ишемической толерантности головного мозга при воздействии гиперкапнической гипоксии.

Электролитный гомеостаз и энергетический метаболизм

В устойчивых к ишемии гиппокампальных нейронах региона СА1 была обнаружена высокая активность Ca²⁺-АТФазы клеточной стенки и усиленное связывание Ca²⁺ в митохондриях [7]. Уровень внутриклеточного кальция в нейронах этой области гиппокампа у животных толерантных к ишемии, значительно снижался после эпизода аноксии-агликемии [8]. Так же показано, что после прекондиционирования 3-нитро-пропионовой кислотой, в цитоплазматической мембране нейронов гиппокампа усиливалась экспрессия Ca²⁺-АТФазы [9]. Важно подчеркнуть, что моделирование транзиторной глобальной ишемии в нейронах активирует экспрессию Na/Ca-обменника [10], которая зависит от изоформы и региона, вовлеченного в повреждение [11]. Na⁺/H⁺-обменник и Na⁺-K⁺-2Cl⁻-транспортер также являются важными ионными переносчиками, поскольку принимают участие в регуляции кислотно-щелочного равновесия и объема клеточной жидкости [12]. Руководствуясь этими данными, можно предположить, что эти мембранные структуры также будут вовлечены в процесс формирования ишемической толерантности, однако, подобные данные для центральной нервной системы пока не получены.

В эксперименте R. M. Brucklacher et al. были получены противоречивые результаты: уровень гликогена в головном мозге крыс повышался спустя 24 часа после гипоксического прекондиционирования, а уровень остаточной АТФ в конце 1,5-часовой гипоксии-ишемии был значительно выше, чем в группе контроля [13]. Такой быстрый рост уровня АТФ, наряду с увеличением концентрации внеклеточного лактата во время ишемии [14] и во время ишемии с периинфарктной деполяризацией [15], могут быть значимым

метаболическим адаптивным изменением в головном мозге, особенно, во время реперфузии.

Обратный захват глюкозы в тканях мозга и ее утилизация происходят преимущественно при участии белков-транспортеров GLUT₁ и GLUT₃ [16], модуляция которых может увеличивать толерантность мозга к ишемии. Кроме того, показано, что экспрессия GLUT₁ усиливается под влиянием HIF-1 [17] и ряда клеточных систем, ингибирующих апоптоз [18].

Сигнальные и эффекторные компоненты прекондиционирования

Известно, что гипоксическое прекондиционирование и гипоксические респираторные тренировки формируют ишемическую толерантность, воздействуя на сходные механизмы с разной интенсивностью [19], что дает основание отождествлять их при толковании протекторных эффектов воздействия гипоксии.

Важное значение в повышении толерантности головного мозга к ишемии при воздействии гипоксии имеет аденозин, активирующий митоK⁺_{АТФ}-каналы [20] и снижающий передачу синаптического возбуждения, сдвигая равновесие ЦНС в сторону торможения [21]. При этом, активация аденозиновых A1-рецепторов полностью моделирует эффект прекондиционирования [22].

Наряду с этим, конечным эффектором в феномене гипоксического прекондиционирования считаются митоK⁺_{АТФ}-каналы [23]. Активация АТФ-зависимых K⁺-каналов вызывает защитный эффект сходный с ишемическим прекондиционированием, а их ингибирование, напротив, усиливает последствия ишемии [24]. Кроме того, показано, что под влиянием гиперкапнии происходит активация Ca²⁺-активируемых и АТФ-зависимых калиевых каналов [25].

Аденозин, как один из ведущих клеточных триггеров, вместе с одноименными рецепторами играют важную роль в формировании ишемической толерантности головного мозга [26]. Ишемическое прекондиционирование повышает восприимчивость A1-рецепторов к аденозину в СА1 регионе гиппокампа у крыс на 1, 3 и 7 сутки после эпизода нейропротекции, т.е. в рамках временного окна ишемической толерантности [27].

В отношении митоK⁺_{АТФ}-каналов и A1-рецепторов к аденозину, являющихся ключевыми звеньями в феномене прекондиционирования, мы получили разнонаправленные данные относительно их роли в увеличении резистентности к острой гипоксии после сочетанного и изолированного воздействия гипоксии и гиперкапнии [28]. В эксперименте на мышах, под-

вергавшихся однократному гипоксическому, гиперкапническому и гиперкапнически-гипоксическому воздействию, мы обнаружили, что в механизме формирования ишемической толерантности мозга под влиянием гиперкапнической гипоксии задействованы A1-аденозиновые рецепторы и митоK⁺_{АТФ}-каналы. Однако, участие аденозиновых рецепторов в этом процессе стимулируется преимущественно дефицитом кислорода, вероятно без участия гиперкапнического компонента.

Ингибирование апоптоза, как аналог «охранительного торможения»

Одним из важнейших механизмов увеличения толерантности головного мозга к ишемии является торможение апоптоза [6]. Этот защитный механизм в период реперфузии предотвращает гибель частично поврежденных нейронов. В исследовании S. Cantagrel et al. [29] показано снижение апоптотических клеток в головном мозге, прекондиционированном гипоксическим воздействием, через 24 и 48 часов после экспериментального инсульта. Известно, что шаперон HSP70 ингибирует апоптоз через активацию транскрипционного фактора PKR/NFκB [30]. Кроме того, HSP70 тормозит реакции, способствующие повышению проницаемости митохондриальных мембран и высвобождению цитохрома C, блокируя Вах и повышая экспрессию антиапоптотического фактора Bcl-2 [31]. Активация митоK⁺_{АТФ}-каналов предотвращает активацию цитохрома C и, соответственно, также блокирует каспаза-зависимый путь апоптоза [32].

В последние годы исследователями из Китая были достаточно подробно раскрыты механизм ингибирования апоптоза при воздействии перmissive гиперкапнии во время реперфузии, следующей за транзиторной ишемией головного мозга [3]. Авторы продемонстрировали, что ингаляция CO₂ в умеренной концентрации (PaCO₂ = 60-100 мм рт. ст.) ингибирует активную форму основной эффекторной каспазы-3, снижает содержание в цитозоле цитохрома C проапоптотического белка Вах и увеличивает концентрацию в митохондриях антиапоптотического белка Bcl-2.

Приведенные выше данные свидетельствуют о высокой роли в нейропротекции ингибирования запрограммированной гибели клеток и существенном влиянии на этот процесс как гипоксии, так и гиперкапнии. Поэтому мы решили провести сравнительную оценку интенсивности апоптоза в клетках перифарктной зоны головного мозга при изолированном и сочетанном воздействии гипоксии и гиперкапнии, предшествующих фокальному ишемическому инсульту [33]. В результате было продемонстрировано,

что максимальный эффект торможения апоптотических механизмов гибели клеток достигается при сочетанном воздействии гипоксии и гиперкапнии. Изолированные гиперкапния и гипоксия в меньшей степени, но так же ингибируют апоптоз, без значимых взаиморазличий между собой.

Активация шаперонов

Повышенная экспрессия генов белков теплового шока является универсальным клеточным ответом на повреждение, а их шаперонная активность обеспечивает цитопротекцию во время стресса [34]. Исследования *in vivo* показали, что ишемическая толерантность головного мозга непосредственно связана с индукцией неконститутивного HSP-70 и других шаперонов [35].

В одном из наших экспериментальных исследований изучалась роль группы молекулярных протекторных факторов в механизме нейропротекторного эффекта гиперкапнической гипоксии [36]. Было показано, что нейропротекторные эффекты шаперона HSP-70 обусловлены в большей степени гипоксическим компонентом, но сочетанное воздействие гипоксии и гиперкапнии дает значительное увеличение синтеза HSP-70. Это свидетельствует о потенцировании гиперкапнией протекторных эффектов гипоксии, реализуемых посредством шаперона HSP-70.

Значительный интерес, на наш взгляд, представляет адаптивная реакция эндоплазматического ретикула во время стресса нервных клеток, регулируемая за счет шаперонового каскада [37]. Важными сигнальными механизмами каскада считаются шаперон GRP-78 [37] и транскрипционный фактор NF-κB [38]. В ходе определения интенсивности экспрессии этих сигнальных молекул при формировании ишемической толерантности головного мозга мы установили, что ее максимальное увеличение наблюдается при сочетанном воздействии гипоксии и гиперкапнии [39]. При этом установлено, что гиперкапния, а не гипоксия является приоритетным фактором для активации GRP-78 и NF-κB.

Пролиферация, нейрогенез и синтетическая активность

Потенциальная пролиферация стволовых клеток-предшественниц обеспечивает зрелый мозг гибкостью и самовосстановлением путем нейрогенеза, который происходит в ответ на внешние стимулы и повреждения [40]. В толерантном к ишемии мозге феномен нейрогенеза был изучен Naylor et al. [41] на модели окклюзии средней мозговой артерии у крыс. Было показано, что пролиферация клеток-предшественниц возрастала после создания фокальной ишемии, а также после прекондиционирования.

При сравнительной оценке синтетической и пролиферативной активности клеток головного мозга [42] после изолированного и сочетанного воздействия гипоксии и гиперкапнии, предшествующих к фокальному ишемическому инсульту, нами было показано, что повышенный уровень CO_2 во вдыхаемом воздухе приводит к увеличению среднего количества участков ядрышкового организатора в нервных клетках из околоинфарктной области. В то время как при воздействии нормобарической гипоксии этот параметр не изменялся. Аналогичными были данные, полученные нами в отношении нейротрофического белка S-100b, экспрессия которого в большей мере была обусловлена повышенным уровнем CO_2 [36].

Накопление фактора HIF-1a и ангиогенез

Белок HIF-1a считается ведущим транскрипционным фактором, ответственным за адаптивную реакцию на дефицит кислорода в тканях [43]. HIF-1a активирует гены, усиливающие синтез фактора роста эндотелия сосудов и эритропоэтина, ремоделирует легочные капилляры [44], ингибирует апоптоз [45] и активирует синтез гликолитических ферментов [46].

Эритропоэтин, помимо стимуляции ангиогенеза и синтеза эритроцитов, является также и мощным нейропротекторным гликопротеидом [47]. Данный эффект является следствием двух процессов: прямого защитного действия на нейроны и поддержания ангиогенного эффекта VEGF [47].

Достаточно неожиданными для нас были результаты изучения роли гиперкапнического компонента в активации HIF-1a и увеличении синтеза эритропоэтина. Вопреки традиционному представлению о преимущественно гипоксической индукции HIF-1a и эритропоэтина было установлено, что содержание исследуемых белков значимо повышается не только при изолированном воздействии гипоксии, но и гиперкапнии, а так же при их сочетанном воздействии [48]. Особенно примечательно, что гиперкапническая гипоксия вызывает максимальную активацию синтеза эритропоэтина и накопления HIF-1a, а перmissive гиперкапния способствует повышению их содержания даже в большей степени, чем гипоксическое воздействие.

Антиоксидантный клеточный сигналинг

Существует множество свидетельств того, что свободно-радикальные механизмы принимают участие в процессе повреждения головного мозга, вызванного ишемией/реперфузией [49]. Во время восстановления кровотока происходит чрезмерный выброс оксида азота, что также может способствовать ишемическому повреждению нервной ткани посредством

формирования активных форм азота, таких как пероксинитрит [50]. Имеются данные о том, что генерация супероксидного аниона в процессе прекодиционирования, необходима для последующего развития ишемической толерантности [51]. К примеру, внутривенное введение крысам рекомбинантной супероксиддисмутазы перед ишемическим прекодиционированием исключало формирование толерантности к последующей транзиторной ишемии, так же как и усиление экспрессии HSP-70 [52]. Существуют аналогичные данные о защитных свойствах NO° , включающих индукцию экспрессии генов, лежащих в основе прекодиционирования мозга [53,54].

Примечательным является то, что в умеренной концентрации CO_2 стимулирует антиоксидантную активность [55], активируя супероксиддисмутазу (рис. 1), стабилизируя железо-трансферриновый комплекс, нейтрализуя активные формы кислорода, соединяясь с пероксинитритом, а затем переходя в нитрокарбонат, и при соединении с водой, образуя карбокси-анион и нитроксид-анион [56-58].

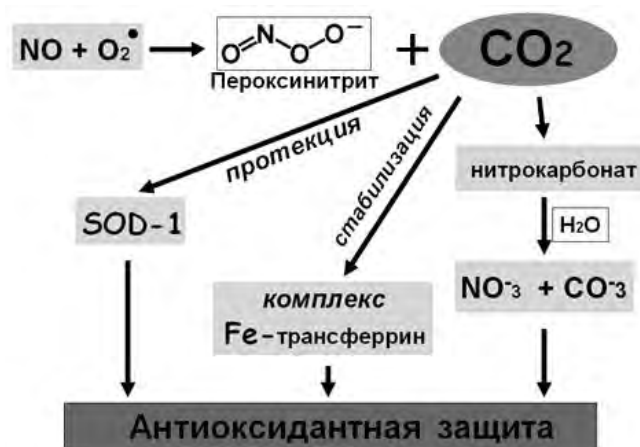


Рисунок 1. Схема участия углекислоты в механизме антиоксидантной защиты клетки.

Figure 1. Scheme of carbon dioxide participation in the mechanism of antioxidant cells' protection.

В эксперименте, моделирующем воздействие гипоксии и гиперкапнии на беспозвоночных животных [59] было показано, что эти два фактора в умеренном режиме способствуют активации антиоксидантной системы при повреждении, увеличивая экспрессию генов цитоплазматической Mn-супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и пептид-метионин-оксид-редуктазы.

Гипотеза о потенцировании протекторной эффективности гипоксии избытком CO_2 при формировании ишемической толерантности головного мозга



Рисунок 2. Взаимодействие гиперкапнии и гипоксии при активации сигнальных и эффекторных механизмов формирования ишемической толерантности.

Figure 2. Interaction of hypercapnia and hypoxia during activation of signalling and effector mechanisms of ischemic tolerance formation.

Существующие в настоящее время данные о протекторных механизмах изолированного и сочетанного воздействия гипоксии и гиперкапнии не позволяют однозначно оценить степень взаимного влияния избытка CO_2 и дефицита кислорода на сигнальные пути формирования ишемической толерантности. Однако на основании серии проведенных нами экспериментальных исследований можно наблюдать определенную закономерность (рис. 2): сочетанное воздействие гиперкапнии и гипоксии оказывает максимальное влияние на большинство нейропротекторных механизмов, а их изолированное воздействие в ряде случаев взаимно потенцирует эффекты друг друга. Так, гипоксия, в отличие от гиперкапнии, активирует шапероны и аденозиновый механизм. При этом, гиперкапния для реализации проекторного эффекта в нервной ткани максимально задействует синтетическую, пролиферативную и провоспалительную активность. В то же время, оба этих фактора значительно ингибируют апоптотические процессы в околоинсультной зоне, стимулируют митохондриальные АТФ-зависимые калиевые каналы, вызывают накопление транскрипционного фактора HIF-1 α и усиление эритропоэза. Причем, заметна тенденция к задействованию гипоксическим компонентом большего числа основных механизмов, что позволяет считать его

доминирующим, а гиперкапнию – потенцирующим фактором.

Представленные данные позволяют на наш взгляд сформулировать заключение о том, что и гипоксия и гиперкапния имеют как самостоятельные, так и общие точки приложения на сигнальные и эффекторные пути нейропротекции. Именно этот факт делает их сочетание максимально эффективным для формирования ишемической толерантности головного мозга и перспективным для использования в качестве средства профилактики ишемического повреждения.

Направления будущих исследований

Очевидно, что имеющиеся данные не характеризуют полный каскад нейропротекторных путей и не описывают все главные звенья формирования ишемической толерантности головного мозга после сочетанного воздействия гиперкапнии и гипоксии. В дальнейших исследованиях важно определить главные механизмы потенцирования гиперкапнией нейропротекторного эффекта гипоксии. Претендентами на эту роль могут быть: ингибирование каспаз-зависимого/-независимого эффекторных путей апоптоза в околоинсультной области; адаптивная гипертрофия органелл на ультраструктурном уровне; накопление HIF-1 α в гиппокампальных нейронах, верифицированное Western-Blot анализом; активация аденозиновых рецепторов и митоK⁺_{АТФ}-ка-

налов оцененная на культуральной модели; повышение экспрессии основных факторов ангиогенеза; усиление перфузии головного мозга, описанное при помощи фМРТ. Раскрытие механизмов потенцирования гиперкапнией протекторной эффективности гипоксии может помочь в разработке эффективных клинических способов их сочетанного воздействия в профилактике и лечении инсульта и сосудистой деменции.

Клиническое применение гиперкапнической гипоксии остается важнейшей целью и приоритетом исследований. Уже показана феноменальная нейропротекторная эффективность сочетанного эффекта гиперкапнии и гипоксии при экспериментальном инсульте [4]. Перспективным могло бы быть ее использование для профилактики интраоперационных повреждений мозга при каротидной хирургии и при операциях на сердце. Однако существующая методика терапевтического применения гиперкапнической гипоксии остается сложной для использования с этой целью, т.к. требует относительно длительного времени. В эксперименте была показана эффективность даже однократного 20-30 минутного сеанса гиперкапнической гипоксии, но относительно гарантированный минимальный эффект дает 3-х кратное воздействие с интервалами по 24 часа, а надежный - 7-10 кратное. В идеале, клиницисты хотели бы иметь эффективное средство для однократного применения. Для его разработки перспективным может быть, основанное на изложенных выше механизмах, применение известных и создание новых фармакологических модуляторов нейропротекторной эффективности гиперкапнической гипоксии.

Существующая методика гиперкапнической гипоксии не ограничивается возможностью клинического применения в раннем восстановительном периоде после ишемического инсульта и продемонстрировала существенную эффективность в реабилитации после экспериментального инсульта [59]. Существуют единичные наблюдения высокой эффективности гиперкапнической гипоксии в восстановлении двигательных нарушений у людей даже в позднем восстановительном периоде после инсульта. Однако практическое внедрение требует проведения клинического испытания гиперкапнической гипоксии, основанного на принципах доказательной медицины, что подразумевает объединение усилий нескольких исследовательских и клинических коллективов.

Литература / References

1. Rybnikova E, Gluschenko T, Tulkova E, Churilova A, Jaroshevich O, Baranova K, Samoilov M. Preconditioning induces prolonged expression of transcription factor pCREB and NF- κ B in the neocortex of rats before and following severe hypobaric hypoxia. *Journal of Neurochemistry*. 2008;106(3):1450-8. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2008.05516.x
2. Zhan L, Wang T, Li W, Xu ZC, Sun W, Xu E. Activation of Akt/FoxO signaling pathway contributes to induction of neuroprotection against transient global cerebral ischemia by hypoxic pre-conditioning in adult rats. *Journal of Neurochemistry*. 2010;114(3):897-908. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2010.06816.x
3. Tao T, Liu Y, Zhang J, Xu Y, Li W, Zhao M. Therapeutic hypercapnia improves functional recovery and attenuates injury via antiapoptotic mechanisms in a rat focal cerebral ischemia/reperfusion model. *Brain Research*. 2013;(1533):52-62. DOI: 10.1016/j.brainres.2013.08.014
4. Tregub P, Kulikov V, Bernalov A. Tolerance to acute hypoxia maximally increases in case of joint effect of normobaric hypoxia and permissive hypercapnia in rats. *Pathophysiology*. 2013;20(3):165-70. DOI: 10.1016/j.pathophys.2013.09.001
5. Tregub P, Kulikov V, Motin Y, Bernalov A, Osipov I. Combined exposure to hypercapnia and hypoxia provides its maximum neuroprotective effect during focal ischemic injury in the brain. *Journal of Stroke & Cerebrovascular Diseases*. 2015;24(2):381-7. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2014.09.003
6. Obrenovitch TP. Molecular Physiology of Preconditioning-Induced Brain Tolerance to Ischemia. *Physiological Reviews*. 2008;88(1):211-47. DOI: 10.1152/physrev.00039.2006
7. Ohta S, Furuta S, Matsubara I, Kohno K, Kumon Y, Sakaki S. Calcium movement in ischemia-tolerant hippocampal CA1 neurons after transient forebrain ischemia in gerbils. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 1996;16(5):915-22. DOI: 10.1097/00004647-199609000-00015
8. Shimazaki K, Nakamura T, Nakamura K, Oguro K, Masuzawa T, Kudo Y, Kawai N. Reduced calcium elevation in hippocampal CA1 neurons of ischemia-tolerant gerbils. *Neuroreport*. 1998;9(8):1875-8
9. Kato K, Shimazaki K, Kamiya T, Amemiya S, Inaba T, Oguro K, Katayama Y. Differential effects of sublethal ischemia and chemical preconditioning with 3-nitropropionic acid on protein expression in gerbil hippocampus. *Life Sciences*. 2005;77(23):2867-78. DOI: 10.1016/j.lfs.2005.01.037

10. Majda BT, Meloni BP, Rixon N, Knuckey NW. Suppression subtraction hybridization and Northern analysis reveal upregulation of heat shock, *trkB*, sodium calcium exchanger genes following global cerebral ischemia in the rat. *Molecular Brain Research*. 2001;93(2):173-9.
11. Pignataro G, Gala R, Cuomo O, Tortiglione A, Giaccio L, Castaldo P, Sirabella R, Matrone C, Canitano A, Amoroso S, Di Renzo G, Annunziato L. Two sodium/calcium exchanger gene products, NCX1 and NCX3, play a major role in the development of permanent focal cerebral ischemia. *Stroke*. 2004;35(11):2566-70. DOI:10.1161/01.STR.0000143730.29964.93
12. Pedersen SF, O'Donnell ME, Anderson SE, Cala PM. Physiology and pathophysiology of Na⁺/H⁺ exchange and Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransport in the heart, brain, blood. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2006;291(1):R1-25. DOI: 10.1152/ajpregu.00782.2005
13. Brucklacher RM, Vannucci RC, Vannucci SJ. Hypoxic preconditioning increases brain glycogen and delays energy depletion from hypoxia-ischemia in the immature rat. *Developmental Neuroscience*. 2002;24(5):411-7.
14. Frykholm P, Hillered L, Långström B, Persson L, Valtysson J, Enblad P. Relationship between cerebral blood flow and oxygen metabolism, extracellular glucose and lactate concentrations during middle cerebral artery occlusion and reperfusion: a microdialysis and positron emission tomography study in nonhuman primates. *Journal of Neurosurgery*. 2005;102(6):1076-84. DOI: 10.3171/jns.2005.102.6.1076
15. Hopwood SE, Parkin MC, Bezzina EL, Boutelle MG, Strong AJ. Transient changes in cortical glucose and lactate levels associated with peri-infarct depolarizations, studied with rapid-sampling microdialysis. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2005;25(3):391-401. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600050
16. Yamada T, Kawahara K, Kosugi T, Tanaka M. Nitric oxide produced during sublethal ischemia is crucial for the preconditioning-induced down-regulation of glutamate transporter GLT-1 in neuron/astrocyte co-cultures. *Neurochemical Research*. 2006;31:49-56. DOI: 10.1007/s11064-005-9077-4
17. Sharp FR, Ran R, Lu A, Tang Y, Strauss KI, Glass T, Ardizzone T, Bernaudin M. Hypoxic preconditioning protects against ischemic brain injury. *NeuroRX* 2004;1(1):26-35. DOI: 10.1602/neurorx.1.1.26
18. Russo VC, Kobayashi K, Najdovska S, Baker NL, Werther GA. Neuronal protection from glucose deprivation via modulation of glucose transport and inhibition of apoptosis: a role for the insulin-like growth factor system. *Brain Research*. 2004;1009(1-2):40-53. DOI: 10.1016/j.brainres.2004.02.042
19. Bernaudin M, Sharp FR. Methods to detect hypoxia-induced ischemic tolerance in the brain. *Methods in Enzymology*. 2004;(381):399-416. DOI: 10.1016/S0076-6879(04)81027-9
20. Kulinski VI, Gavrulina TV, Minakina LN, Kovtun VIu. Biochemical and pharmacological mechanisms of different types of hypoxic preconditioning in cerebral ischemia in mice. *Biomeditsinskaja khimii*. 2006;52(3):309-16.
21. Ilie A, Ciocan D, Zagrean AM, Nita DA, Zagrean L, Moldovan M. Endogenous activation of adenosine A(1) receptors accelerates ischemic suppression of spontaneous electrocortical activity. *Journal of Neurophysiology*. 2006;96(5):2809-14. DOI: 10.1152/jn.00466.2006
22. Yellon DM, Downey JM. Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiological Reviews*. 2003;83(4):1113-51. DOI: 10.1152/physrev.00009.2003
23. Mayanagi K, Gáspár T, Katakam PV, Kis B, Busija DW. The mitochondrial K(ATP) channel opener BMS-191095 reduces neuronal damage after transient focal cerebral ischemia in rats. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2007;27(2):348-55. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600345
24. Ahmet I, Krawczyk M, Heller P, Moon C, Lakatta EG, Talan MI. Beneficial effects of chronic pharmacological manipulation of beta-adrenoreceptor subtype signaling in rodent dilated ischemic cardiomyopathy. *Circulation*. 2004;110(9):1083-90. DOI: 10.1161/01.CIR.0000139844.15045.F9
25. Lindauer U, Vogt J, Schuh-Hofer S, Dreier JP, Dirnagl U. Cerebrovascular vasodilation to extraluminal acidosis occurs via combined activation of ATP-sensitive and Ca²⁺-activated potassium channels. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2003;23(10):1227-38. DOI: 10.1097/01.WCB.0000088764.02615.B7
26. Heurteaux C, Lauritzen I, Widmann C, Lazdunski M. Essential role of adenosine, adenosine A1 receptors, ATP-sensitive K⁺ channels in cerebral ischemic preconditioning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1995;92(10):4666-70.
27. Zhou AM, Li WB, Li QJ, Liu HQ, Feng RF, Zhao HG. A short cerebral ischemic preconditioning up-regulates adenosine receptors in the hippocampal CA1 region of rats. *Neuroscience Research*. 2004;48(4):397-404. DOI: 10.1016/j.neures.2003.12.010
28. Трегуб ПП, Куликов ВП, Степанова ЛА, Забродина АС, Нагибаева МЕ. Роль аденозиновых А1-рецепторов и митохондриальных К⁺АТФ-каналов в механизме увеличения резистентности к острой гипоксии при сочетанном воздействии гипоксии и гиперкапнии. *Патологическая физиология и эксперимен-*

ральная терапия. 2014;58(4):48-52. [Tregub PP, Kulikov VP, Stepanova LA, Zabrodina AS, Nagibaeva ME. The role of adenosine A1 receptors and mitochondrial K⁺ATP channels in the mechanism of increasing the resistance to acute hypoxia in the combined effects of hypoxia and hypercapnia. *Pathological Physiology and Experimental Therapy*. 2014;(4):48-52. (in Russian)]

29. Cantagrel S, Krier C, Ducrocq S, Bodard S, Payen V, Laugier J, Guilloteau D, Chalon S. Hypoxic preconditioning reduces apoptosis in a rat model of immature brain hypoxia-ischemia. *Neuroscience Letters*. 2003;347(2):106-10.

30. Frémont M, Vaeyens F, Herst CV, De Meirleir KL, Englebienne P. Double-stranded RNA-dependent protein kinase (PKR) is a stress-responsive kinase that induces NFκB-mediated resistance against mercury cytotoxicity. *Life Sciences*. 2006;78(16):1845-56. DOI: 10.1016/j.lfs.2005.08.024

31. Stankiewicz AR, Lachapelle G, Foo CP, Radicioni SM, Mosser DD. Hsp70 inhibits heat-induced apoptosis upstream of mitochondria by preventing Bax translocation. *Journal of Biological Chemistry*. 2005;280(46):38729-39. DOI: 10.1074/jbc.M509497200

32. Liu Y, Sato T, O'Rourke B, Marban E. Mitochondrial ATP-dependent potassium channels: novel effectors of cardioprotection. *Circulation*. 1998;97(24):2463-9.

33. Трегуб ПП, Малиновская НА, Куликов ВП, Салмина АБ, Нагибаева МЕ, Забродина АС, Герцог ГЕ, Антонова СК. Ингибирование апоптоза - потенциальный механизм повышения ишемической толерантности мозга при сочетанном воздействии гиперкапнии и гипоксии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2016;5:606-9. [Tregub PP, Malinovskaya NA, Kulikov VP, Salmina AB, Nagibaeva ME, Zabrodina AS, Gertsog GE, Antonova SK. Inhibition of apoptosis - a potential mechanism for the increased tolerance of brain ischemia with combination of hypercapnia and hypoxia. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2016;(5):606-9. (in Russian)]

34. Franklin TB, Krueger-Naug AM, Clarke DB, Arrigo AP, Currie RW. The role of heat shock proteins Hsp70 and Hsp27 in cellular protection of the central nervous system. *International Journal of Hyperthermia*. 2005;21(5):379-92. DOI: 10.1080/02656730500069955

35. Currie RW, Ellison JA, White RE, Feuerstein GZ, Wang X, Barone FC. Benign focal ischemic preconditioning induces neuronal Hsp70 and prolonged astrogliosis with expression of Hsp27. *Brain Research*. 2000;863(1-2):169-81.

36. Беспалов АГ, Трегуб ПП, Куликов ВП, Пиянзин АИ, Белоусов АА. Роль VEGF, HSP-70 и белка S-100B в механизмах потенцирования гиперкапнии

нейропротекторного эффекта гипоксии. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2014;(2):24-7. [Bespalov AG, Tregub PP, Kulikov VP, Pijanin AI, Belousov AA. The role of VEGF, HSP-70 and protein S-100B in the potentiation effect of the neuroprotective effect of hypercapnic hypoxia. *Pathological Physiology and Experimental Therapy*. 2014;(2):24-7. (in Russian)]

37. Ostergaard L, Simonsen U, Eskildsen-Helmond Y, Vorum H, Uldbjerg N, Honoré B, Mulvany MJ. Proteomics reveals lowering oxygen alters cytoskeletal and endoplasmic stress proteins in human endothelial cells. *Proteomics. Practical Proteomics*. 2009;9(19):4457-67. DOI: 10.1002/pmic.200800130

38. Kaneko M, Niinuma Y, Nomura Y. Activation signal of nuclear factor-κB in response to endoplasmic reticulum stress is transduced via IRE1 and tumor necrosis factor receptor-associated factor 2. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2003;26(7):931-5.

39. Трегуб ПП, Куликов ВП, Мотин ЮГ, Нагибаева МЕ, Забродина АС. Стресс эндоплазматического ретикулума нейронов при инсульте максимально ограничивается сочетанием гиперкапнии и гипоксии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2016;4:457-61. [Tregub PP, Kulikov VP, Motin YG, Nagibaeva ME, Zabrodina AS. Stress of the Endoplasmic Reticulum of Neurons in Stroke Can Be Maximally Limited by Combined Exposure to Hypercapnia and Hypoxia. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2016;161(4):472-5. (in Russian)]

40. Lichtenwalner RJ, Parent JM. Adult neurogenesis and the ischemic forebrain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2006;26(1):1-20. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600170

41. Naylor M, Bowen KK, Sailor KA, Dempsey RJ, Ve-muganti R. Preconditioning-induced ischemic tolerance stimulates growth factor expression and neurogenesis in adult rat hippocampus. *Neurochemistry International*. 2005;47(8):565-72. DOI: 10.1016/j.neuint.2005.07.003

42. Трегуб ПП, Куликов ВП, Ручейкин НЮ, Белова ЕВ, Мотин ЮГ. Пролиферативная и синтетическая активность нервных клеток после сочетанного и изолированного воздействия гипоксией и гиперкапнией. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2015;159(3):311-3. [Tregub PP, Kulikov VP, Rucheikin NY, Belova EV, Motin YG. Proliferative and Synthetic Activity of Nerve Cells after Combined or Individual Exposure to Hypoxia and Hypercapnia. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015;159(3):334-6. (in Russian)]

43. Semenza GL. Oxygen-regulated transcription factors and their role in pulmonary disease. *Respiratory Research*. 2000;1(3):159-62. DOI: 10.1186/rr27

44. Pugh, CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nature Medicine*.2003;9(6):677-84. DOI: 10.1038/nm0603-677
45. Murphy BJ. Regulation of malignant progression by the hypoxia-sensitive transcription factors HIF-1 α and MTF-1. *Comparative Biochemistry & Physiology*.2004;139(3):495-507.
46. Chavez JC, LaManna JC. Activation of hypoxia-inducible factor-1 in the rat cerebral cortex after transient global ischemia: Potential role of insulin-like growth factor-1. *Journal of Neuroscience*. 2002;(22):8922-31.
47. Marti HH, Bernaudin M, Petit E, Bauer C. Neuroprotection and angiogenesis: a dual role of erythropoietin in brain ischemia. *News in Physiological Sciences*.2000;(15):225-229.
48. Куликов ВП, Трегуб ПП, Ковзелев ПД, Дорохов ЕА, Белоусов АА. Гиперкапния – альтернативный гипоксии сигнальный стимул для повышения HIF-1 α и эритропоэтина в головном мозге. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*.2015;(3):34-7. [Kulikov VP, Tregub PP, Kovzelev PD, Dorokhov EA, Belousov AA. Hypercapnia--alternative hypoxia signal incentives to increase HIF-1 α and erythropoietin in the brain. *Pathological Physiology and Experimental Therapy*.2015;(3):34-7. (in Russian)]
49. Moro MA, Almeida A, Bolaños JP, Lizasoain I. Mitochondrial respiratory chain and free radical generation in stroke. *Free Radical Biology & Medicine*. 2005;39(10):1291-304. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.07.010
50. Keynes RG, Garthwaite J. Nitric oxide and its role in ischemic brain injury. *Current Molecular Medicine*. 2004;4(2):179-91.
51. Furuichi T, Liu W, Shi H, Miyake M, Liu KJ. Generation of hydrogen peroxide during brief oxygen-glucose deprivation induces preconditioning neuronal protection in primary cultured neurons. *Journal of Neuroscience Research*. 2005;79(6):816-24. DOI: 10.1002/jnr.20402
52. Mori T, Muramatsu H, Matsui T, McKee A, Asano T. Possible role of the superoxide anion in the development of neuronal tolerance following ischemic preconditioning in rats. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. 2000;26(1):31-40.
53. Cho S, Park EM, Zhou P, Frys K, Ross ME, Iadecola C. Obligatory role of inducible nitric oxide synthase in ischemic preconditioning. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2005;25(4):493-501. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600058
54. Zakynthinos S, Katsaounou P, Karatza MH, Roussos C, Vassilakopoulos T. Antioxidants increase the ventilatory response to hyperoxic hypercapnia. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2007;175(1):62-8. DOI: 10.1164/rccm.200606-842OC
55. Barth A, Bauer R, Gedrange T, Walter B, Klinger W, Zwiener U. Influence of hypoxia and hypoxia/hypercapnia upon brain and blood peroxidative and glutathione status in normal weight and growth-restricted newborn piglets. *Experimental And Toxicologic Pathology*. 1998;50(4-6):402-10. DOI: 10.1016/S0940-2993(98)80026-2
56. Zhao ZS, Khan S, O'Brien PJ. Catecholic iron complexes as cytoprotective superoxide scavengers against hypoxia:reoxygenation injury in isolated hepatocytes. *Biochemical Pharmacology*. 1998;56(7):825-30.
57. Goss SP. Bicarbonate enhances the peroxidase activity of Cu,Zn-superoxide dismutase. Role of carbonate anion radical. *Biochemical Pharmacology*. 1998;56(7):825-30.
58. Kniffin CD, Burnett LE, Burnett KG. Recovery from hypoxia and hypercapnic hypoxia: impacts on the transcription of key antioxidants in the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 2014;(170):43-9. DOI: 10.1016/j.cbpb.2014.01.006
59. Куликов ВП, Беспалов АГ, Якушев НН. Эффективность тренировок с гиперкапнической гипоксией в реабилитации ишемического повреждения головного мозга в эксперименте. *Вестник восстановительной медицины*.2008;(2):59-61. [Kulikov VP, Bespalov AG, Yakushev NN. The effectiveness of training with hypercapnic hypoxia in the rehabilitation of ischemic brain damage in an experiment. *Journal of Restorative Medicine and Rehabilitation*.2008;(2):59-61. (in Russian)]

Сведения об авторах

Трегуб Павел Павлович, к.м.н., Алтайский медицинский институт последипломного образования; адрес: Российская Федерация, 656043, г. Барнаул, ул. Пушкина, д.70; тел.: +7(906)9426467; e-mail: pfiza_astmi@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3650-6121>

Куликов Владимир Павлович, д.м.н., профессор, Алтайский медицинский институт последипломного образования; адрес: Российская Федерация, 656043, г. Барнаул, ул. Пушкина, д.70; тел.: +7(903)9102369; e-mail: kulikov57@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4869-5465>

Малиновская Наталия Александровна, д.м.н., профессор, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел.: +7(963)3637925; e-mail: konsuelo81@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0033-3804>

Author information

Pavel P. Tregub, Cand.Med.Sci., Altai medical Institute of Postgraduate Training; Address: 70, Pushkin Str., Barnaul, Russian Federation 656043; Phone: +7(906)9426467; e-mail: pfiza_astmi@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3650-6121>

Vladimir P. Kulikov, Dr.Med.Sci., Professor, Altai medical Institute of Postgraduate Training; Address: 70, Pushkin Str., Barnaul, Russian Federation 656043; Phone: +7(903)9102369; e-mail: kulikov57@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4869-5465>

Natalia A. Malinovskaya, Dr.Med.Sci., Professor, Professor V. F. Voyno-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(963)3637925; e-mail: konsuelo81@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0033-3804>

Поступила 04.05.2017 г.
Принята к печати 05.04.2018 г.

Received 04 May 2017
Accepted 05 April 2018