

# Перспективы кардиопротекции с помощью ишемического preconditionирования: гипоксия-индуцируемый фактор 1 — возможный молекулярный механизм и мишень для фармакотерапии

Любимов А. В., Черкашин Д. В., Аланичев А. Е.

ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ. Санкт-Петербург, Россия

Обзор посвящен анализу современных фундаментальных исследований феномена preconditionирования/предвоздействия в рамках ишемической болезни сердца и недостаточности кровообращения. Приведены краткие предпосылки к изучению этого феномена. Представлены молекулярно-генетические основы явления, результаты современных экспериментальных работ в области фундаментальной медицины и клинических наблюдений пациентов с различными сердечно-сосудистыми заболеваниями. Гипоксия-индуцируемый фактор 1 — основной генетический фактор адаптации к гипоксическому состоянию — играет критическую протекторную роль в патофизиологии ишемической болезни сердца и недостаточности кровообращения, контролируя и определяя доставку и использование кислорода, регулируя ангиогенез и сосудистое

ремоделирование, метаболизм глюкозы и окислительно-восстановительный обмен. Технология персонализированной медицины, основанная на фармакогеномике, фармакогенетике, фармакопротеомике, позволит внедрить фундаментальные открытия в медицину в клиническую практику.

**Ключевые слова:** гипоксия, кардиопротекция, профилактика, ишемическая болезнь сердца, персонализированная медицина.

Кардиоваскулярная терапия и профилактика, 2017; 16(6): 139–147  
<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2017-6-139-147>

Поступила 08/08-2017

Принята к публикации 02/11-2017

## Cardiocytoprotection perspectives with ischemic preconditioning: hypoxia-induced factor 1 — possible molecular mechanism and target for pharmacotherapy

Lyubimov A. V., Cherkashin D. V., Alanichev A. E.

FSBMEI HPE S. M. Kirov Military Medical Academy of MD RF. Saint-Petersburg, Russia

The article is focused on the analysis of modern fundamental studies of the preconditioning/preintervention phenomenon in coronary heart disease and heart failure. Brief prerequisites are given for the phenomenon assessment. Molecular and genetic base of the phenomenon presented, as the results of modern experimental works in the area of fundamental medicine and clinical observations of the patients with various cardiovascular diseases. Hypoxia-induced factor 1 — main pathogenetic adaptation factor for hypoxia — plays critical protection role in pathophysiology of coronary heart disease and heart failure, controlling and determining the supply and utilization of oxygen,

regulating angiogenesis and vascular remodelling, glucose metabolism and redox exchange. Personalized medicine technology, based on the pharmacogenomics, pharmacoproteomics, makes it to implement fundamental discoveries in medicine to clinical practice.

**Key words:** hypoxia, cardioprotection, prevention, ischemic heart disease, personalized medicine.

Cardiovascular Therapy and Prevention, 2017; 16(6): 139–147  
<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2017-6-139-147>

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИМ — инфаркт миокарда, ИПК — ишемическое preconditionирование (феномен, при котором воздействие на сердце коротких эпизодов ишемии-реперфузии защищает сердце от повреждений, вызванных последующим продолжительным эпизодом ишемии-реперфузии), мРНК — матричная рибонуклеиновая кислота, МЦ — миокардиальная цитопroteкция, РНК — рибонуклеиновая кислота, AdCA5 — разработанный для генной терапии рекомбинантный, репликационно-дефектный аденовирус, используемый для выявления структурно активной формы HIF-1α, ANGPT — ангиопоэтин, CXCL12 — стромальный фактор 1, HIF — Hypoxia-inducible factor (гипоксия-индуцируемый фактор), Nos2 — оксид азот-синтаза, PGF — плацентарный фактор роста, SNP — однонуклеотидный полиморфизм, VEGF — васкулярный эндотелиальный фактор роста, VP16 — транскриптор герпесвируса, WT — дикий тип (дикий), O<sub>2</sub> — кислород.

**Гипоксия — одна из центральных проблем медицины и основа патологических процессов и критических состояний**

Существующие в настоящее время тенденции свидетельствуют о значительном увеличении рей-

тинга для большинства неинфекционных заболеваний в общем количестве глобальной смертности. При этом во многих странах со средним и низким уровнями доходов прогнозируется увеличение смертности от сердечно-сосудистых заболеваний.

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

Тел.: +7 (904) 550-98-95

e-mail: lyubimov\_av@mail.ru

[Любимов А. В. — к. м. н., старший ординатор кафедры военно-морской терапии, Черкашин Д. В. — д. м. н., доцент, начальник кафедры военно-морской терапии, Аланичев А. Е. — к. м. н., старший преподаватель кафедры военно-морской терапии].

Среди основных причин смертности в мире к 2030г по прогнозам будут в т.ч. ишемическая болезнь сердца (ИБС) и цереброваскулярная болезнь [1].

ИБС — мультифакториальное заболевание, основным патофизиологическим механизмом развития которого является гипоксия. Известно, гипоксия представляет собой состояние, характеризующееся снижением уровня обеспечения организма молекулярным кислородом ( $O_2$ ) или же связанное с дефектом утилизации газа в ходе внутриклеточных окислительно-восстановительных реакций. В рамках ИБС гипоксия — это дисбаланс между доставкой оксигенированной крови к миокарду и его потребностью в кислороде. При отсутствии соответствия доставки кислорода потребностям кардиомиоцитов у пациентов с ИБС и здоровых людей в условиях избыточных физических и эмоциональных нагрузок; функциональное состояние клеток сердечной мышцы меняется, что способствует возникновению клинических проявлений [2].

Гипоксия — универсальный патофизиологический механизм, нарушающий как общее, так и локальное кровоснабжение, инициирующий развитие тромбоза, нарушая механизмы свертывания крови, и запуская процессы ремоделирования миокарда и сосудов, и в первую очередь — микроциркуляторного русла. Гипоксия и кислородная недостаточность являются одной из центральных проблем медицины и в подавляющем большинстве клинических случаев рассматриваются в негативном плане в качестве основы патологических процессов и критических состояний [3]. Назначение препаратов гемодинамического действия —  $\beta$ -адреноблокаторов, антагонистов кальция, нитратов, обеспечивающих оптимизацию соотношения между потребностями сердечной мышцы в  $O_2$  и его доставкой, не всегда эффективно контролирует симптомы заболевания даже при использовании  $\geq 2$  препаратов. Результаты сравнительных исследований свидетельствуют об увеличении частоты побочных эффектов при приеме  $\geq 2$  препаратов гемодинамического действия [4, 5].

В связи с этим предотвращение и/или ослабление ишемического повреждения миокарда остается одной из наиболее актуальных задач современной кардиологии. Поэтому поиск принципиально новых путей в лечении сердечно-сосудистой патологии в связи с сущностью нарушений, происходящих в метаболизме кардиомиоцита при гипоксии, формирование новых представлений о патогенезе ИБС, описание новых адаптационных ишемических синдромов — “оглушенность”, гибернация и ишемическое прекондиционирование (ИПК) миокарда, позволяет развивать такое направление медикаментозного воздействия на ишемизированный миокард как миокардиальная цитопротекция (МЦ) или кардиопротекция.

### **Кардиопротекция: взгляд в прошлое, необходимость, компромисс или движение вперед?**

В настоящее время под кардиопротекцией понимают ограничение или профилактику необратимого клеточного повреждения сердечной мышцы в результате ишемии/гипоксии и реперфузии [6]. Метаболическая, или кардиопротекторная, или кардиоцитопротекторная терапия — это лечение, которое путем прямого влияния на кардиомиоцит способствует его выживаемости в условиях ишемии (гипоксии) [7].

Кардиопротекция включает все механизмы, которые способствуют сохранению сердца путем уменьшения или даже предотвращения ущерба миокарду: первичная и вторичная профилактика ИБС, кардиохирургические вмешательства, тромболизис и др.; таким образом, “кардиопротекция” включает все адаптивные и компенсационные механизмы, которые прямо или косвенно способствуют сохранению миокарда [8]. К настоящему времени существует устойчивое мнение, что метаболическая терапия в кардиологии — улучшение энергетического метаболизма кардиомиоцита, подразумевающее непосредственное воздействие на обменные процессы на тканевом и клеточном уровнях путем фармакологического управления процессами образования и переноса энергии на уровне самого кардиомиоцита, без влияния на перфузию сердечной мышцы и гемодинамические параметры: частота сердечных сокращений, пред- и постнагрузка.

В настоящее время отсутствует полная доказательная база по эффективности использования метаболических средств, пока только триметазидин и ранолазин рекомендованы Европейским обществом кардиологов к применению у больных ИБС; для некоторых не вполне ясны механизмы их антиишемического действия. Однако то обстоятельство, что эти препараты включены сегодня в Европейские рекомендации по лечению ИБС (Guidelines on the management of stable angina pectoris) является показателем их перспективности и актуальности, а значит, продолжение работ по формированию метаболических средств в качестве отдельного класса лекарственных препаратов актуально [9]. Дилемма метаболической терапии заключается в том, что, с одной стороны, доказательная база улучшения клинического прогноза при использовании этих препаратов недостаточна, а с другой, клинический эффект в отношении симптомов целого ряда заболеваний, обусловленных хронической гипоксией и ишемией, отчетливо фиксируется врачами.

Одним из наиболее эффективных механизмов эндогенной кардиопротекции в последнее время признан феномен ИПК миокарда, под которым понимают повышение устойчивости миокарда к продолжительной ишемии, возникающее после

короткого(их) эпизода(ов) ишемии-реперфузии. Дальнейшие исследования будут способствовать созданию фармакологических миметиков ИПК и посткондиционирования, индуцирующих воспроизводимый и стабильный кардиопротективный ответ и в то же время лишенных серьезных побочных эффектов.

#### **Место “ИПК” в кардиопротекции**

Кратковременная (преходящая) ишемия миокарда инициирует каскад определенных биохимических процессов в кардиомиоцитах. Эти процессы направлены на защиту миокарда от повреждений, связанных с его ишемизацией. Благодаря этому короткому, но эффективному “курсу закаливания” миокард становится подготовленным к последующей ишемии, в связи с чем он гораздо успешнее защищается от агрессивных факторов, обусловленных ухудшением питания и оксигенации сердца. Этот физиологический феномен, названный “ишемическим прекодиционированием” (ишемическая предподготовка), привлек к себе внимание со стороны ученых. В случае острой ишемии этот механизм может предотвратить развитие инфаркта миокарда (ИМ), а если последний все же происходит, ИПК обеспечивает меньшие размеры ИМ, уменьшает вероятность появления аритмии, предохраняет от значительных нарушений функций миокарда левого желудочка, а также уменьшает повреждения миокарда, связанные с реперфузией.

Такой эндогенный защитный механизм, повышающий резистентность сердца к серьезному ишемическому повреждению, можно использовать целенаправленно. Например, кратковременная ишемия с помощью внутрисосудистого баллона дает возможность провести последующее вмешательство на коронарных сосудах с меньшей степенью повреждения миокарда. Широкое внедрение методов реваскуляризации миокарда привело к существенному улучшению результатов лечения ИМ; в то же время активное применение тромболизиса и ангиопластики выявило проблему реперфузионного повреждения. Одним из самых серьезных проявлений реперфузионного повреждения является вызванный самой реперфузией некроз миокарда или летальное реперфузионное повреждение [6]. Ряд используемых медикаментозных препаратов также могут влиять на ИПК, и тем самым снижать его эффективность, блокировать его или, напротив, инициировать, увеличивать его продолжительность.

В настоящее время большая часть сведений об ИПК в норме и патологии основана на экспериментальных исследованиях, при этом знания о молекулярных основах прекодиционирования пока ограничены. Однако некоторая клиническая информация, пригодная для использования в реальной практике, уже имеется, и она активно пополняется с каждым годом новыми доказательными дан-

ными. Современная кардиология немыслима без изучения процессов на молекулярном и субмолекулярном уровнях. Только благодаря современным тонким методам исследования стали возможны открытия в такой области, как биоэнергетика сердца.

#### **Необходимость трансляционных исследований в поиске защиты миокарда от ишемического повреждения**

Концепция трансляционных исследований предполагает максимально быстрое внедрение в практику достижений фундаментальной науки. Серьезную задачу представляет собой идентификация важнейших терапевтических мишеней, вовлеченных в патогенез сразу нескольких заболеваний, воздействие на которые может приводить к кардинальному улучшению прогноза. Гипоксия является примером такой терапевтической мишени.

На современном этапе отмечается расширение набора соединений, претендующих на роль перспективных фармацевтических субстанций, с включением в данный список аптамеров, пептоидов, замкнутых пептидов, антагомиров и др. Также происходит бурное развитие методов скрининга кандидатных молекул и разработка методов направленной доставки лекарственных препаратов [10].

Лидеры Всемирного экономического форума 2012г назвали 10 важнейших технологий, которым стоит уделить повышенное внимание. Персонализированная медицина, синтетическая биология, обработка информации представлены в этом списке и позволят разрабатывать новые биологические процессы и организмы, создавать новые терапевтические средства. Прорыв в таких областях как геномика, протеомика и метаболомика открывает возможности для создания “личной” медицины.

В Послании Президента РФ Федеральному Собранию (2013) в связи с этим отмечено: “Нельзя отставать и от мировых тенденций. Ведущие страны уже стоят на пороге внедрения лечебных технологий, построенных на био- и генной инженерии, на расшифровке генома человека. Это будет, действительно, революция в медицине. Считаю, что Минздрав и Российская академия наук должны сделать приоритетными фундаментальные и прикладные исследования в сфере медицины” [11].

Исследования, выполненные в последние годы, позволили существенно расширить понимание молекулярных мишеней для фармакологических воздействий, которые направлены на индукцию ИПК. С точки зрения клинического использования кардиопротективного потенциала концепция фармакологического прекодиционирования является, безусловно, заманчивой. А раскрытие механизмов метаболического прекодиционирования позволит подступить к созданию устойчивого и продолжительного состояния кардиопротекции.

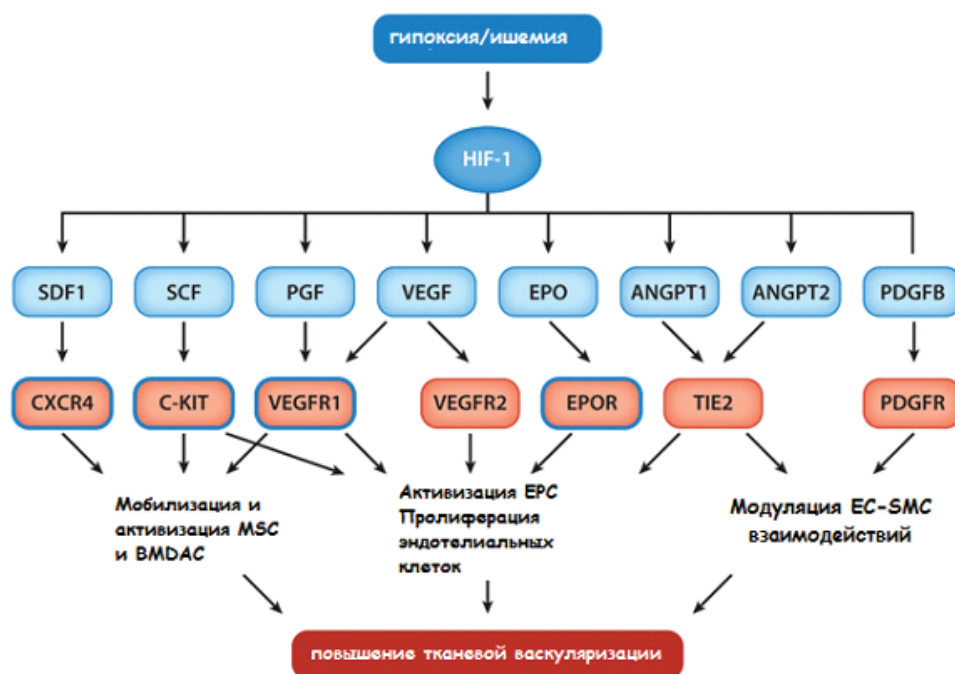


Рис. 1 Общий HIF-1-механизм регуляции ответа на гипоксию и ишемию. Адаптировано по Semenza GL, 2011.

Примечание: SDF1 — стромальный клеточный фактор 1, SCF — комплекс SCF, EPO — эритропоэтин, PDGFB — субъединица В тромбоцитарного фактора роста, CXCR4 — хемокиновый рецептор, C-KIT — рецептор тирозинкиназы c-kit, VEGFR2 — рецептор VEGF, EPOR — рецептор эритропоэтина, TIE2 — тирозинкиназный рецептор 2, PDGFR — рецептор тромбоцитарного фактора роста, MSC — миеоциты, BMDAC — миеоидные дендритные клетки, EPC — эндотелиальные прогениторные клетки, EC — энтерохромафинные клетки, SMC — васкулярные гладкомышечные клетки.

Предположение о возможности индукции preconditionирования с помощью определенных фармакологических препаратов возникло вскоре после его открытия. В экспериментальных исследованиях целый ряд препаратов при их введении вызывал кардиопротективный фенотип, аналогичный ИПК. Следует ожидать, что в ближайшее время список веществ или молекулярных субстратов, обладающих эффектами фармакологического preconditionирования, существенно расширится. После доклинического тестирования кардиопротективная эффективность некоторых из этих веществ потребует проспективных рандомизированных клинических исследований. К числу таких соединений относится гипоксия-индуцируемый фактор 1 (HIF-1).

#### Регулятор обмена кислорода HIF-1, его кардиопротективная роль в патофизиологии ИБС и сердечной недостаточности

Функционирование и жизнеспособность сердца непрерывно требуют систематической доставки  $O_2$  и постоянной циркуляции крови в его тканях. В то же время миокард сердца имеет собственные внутренние потребности в  $O_2$  для обеспечения главной функции сердца — насосной.

HIF-1 представляет собой фактор транскрипции, функционирующий в качестве главного регу-

лятора обмена  $O_2$  всех многоклеточных видов. HIF-1 контролирует доставку  $O_2$ , регулируя ангиогенез и ремоделирование сосудов, а также использование  $O_2$ , регулируя метаболизм глюкозы и окислительно-восстановительный потенциал общей внутриклеточной среды. Анализ моделей на животных показывает, что при активации этих гомеостатических механизмов, HIF-1 играет важнейшую защитную роль в патофизиологии ИБС и развитии сердечной недостаточности.

Как только эмбрион млекопитающего достигает определенного размера, получение  $O_2$  плацентарным кровообращением становится недостаточным. Дальнейшее нормальное развитие эмбриона невозможно без адекватного кровоснабжения. Важнейшей функциональной системой в ходе онтогенеза является сердечно-сосудистая система. HIF-1 является главным регулятором обмена  $O_2$  у всех видов многоклеточных организмов. HIF-1 представляет собой гетеродимер, состоящий из кислород ( $O_2$ )-зависимой субъединицы HIF-1 $\alpha$  и структурной субъединицы HIF-1 $\beta$  [12, 13].

В экспериментальной модели эмбрионы мышей, которые являются гомозиготными по блокированному аллелю в локусе HIF1A (отягощенная наследственность по обоим родителям), останавливаются в своем эмбриональном развитии на 8-9 сут.,

Таблица 1

## Гены-мишени HIF-1

Процесс на уровне организма	Тканевой и клеточный уровни	Ген-мишень HIF
Сердечно-сосудистая система	Ангиогенез	VEGF Рецептор VEGF Ингибитор активатора плазминогена 1 Трансформирующий ростовой фактор $\beta 3$
	Вазомоторный контроль	NO синтаза 2 (iNOS) Эндотелин-1 Гем-оксигеназа 1 $\alpha 1B$ -адренэргический рецептор Адреномедуллин
Созревание эритроцитов	Эритропоэз	ЭПО
Транспорт Железа	Трансферрин Рецептор трансферрина	ЦП
Энергетический метаболизм	Гликолиз и транспорт глюкозы	Лактатдегидрогеназа А Фосфоглицерат киназа 1 Альдолаза А и С Фосфофруктокиназа L Пируваткиназа М Энолаза 1 Гексокиназа 1 и 2 Глицеральдегид-3-фосфата дегидрогеназа Транспортер глюкозы 1 и 3
Рост и выживание клеток	Арест клеточного цикла и апоптоз	p21 Bcl2/E1B 19 кДа-связывающий белок 3 Nip3-подобный белок X
	Ростовые факторы	Инсулин-подобный ростовой фактор 1 Трансформирующий ростовой фактор Белки, связывающие инсулин-подобный ростовой фактор 1, 2 и 3
	Регуляция pH	Карбоновая ангидраза 9
Метаболизм	Обмен нуклеотидов	Аденилат киназа 3
	Обмен аминокислот	Тирозингидроксилаза Трансглутаминаза 2
	Синтез матрикса	Коллаген пролил-4-гидроксилаза $\alpha 1$

Примечание: iNOS — оксид азот-синтаза.

и погибают на 10-11 сут. из-за снижения производства эритроцитов и развития фатальных сосудистых и внутрисердечных дефектов. Таким образом, правильное развитие всех трех компонентов системы кровообращения непосредственно зависят от HIF-1 [14-16]. Имеющиеся наблюдения свидетельствуют о том, что развитие врожденных пороков сердца у человека также может быть связано с частичным дефицитом HIF-1 $\alpha$  [17].

Активность HIF-1 индуцируется гипоксией через изменения в уровнях матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) и белка HIF-1 $\alpha$  в головном мозге [18], сердце [19-21] почках [22, 23], легких [24, 25] и скелетных мышцах [26].

По результатам многочисленных исследований стало ясно, что HIF-1 непосредственно регулирует экспрессию >1 тыс. генов человека. Анализ только пяти генов, кодирующих такие факторы роста, как васкулярный эндотелиальный фактор роста (VEGF), ангиопоэтин 1 (ANGPT1), ангиопоэтин 2 (ANGPT2),

плацентарный фактор роста (PGF) и тромбоцитарный фактор роста В в четырех основных типах клеток: кардиомиоцитах, фибробластах, сосудистых эндотелиальных клетках и гладкомышечных клетках сосудов, показал, что в ответ на гипоксию каждый тип клеток проявляет свою индивидуальную картину экспрессии генов (рисунок 1). Таким образом, HIF-1 определяет транскрипционные ответы на гипоксию в зависимости от типа клетки (таблица 1).

В негипоксических условиях путем внедрения в клетку аденовируса, кодирующего структурно активную форму HIF-1 $\alpha$  (AdCA5) [27], был получен схожий транскрипционный ответ. HIF-1 является главным регулятором в этом процессе, т.к. он координирует экспрессию большого количества генов, белковые продукты которых играют важную роль в формировании сосудистого ответа на гипоксию и ишемию.

Помимо обеспечения доставки O<sub>2</sub>, HIF-1 также активирует транскрипцию генов, кодирующих фер-



менты, переносчики и митохондриальные белки, и снижающих использование  $O_2$ , таким образом вновь выступая в роли основного регулятора перехода клеток от окислительного метаболизма к гликолитическому.

#### Экспериментальные доказательства и молекулярно-генетические механизмы участия HIF-1 в ИПК

После перевязки бедренной артерии в эксперименте у животных в течение нескольких нед. кровоток восстанавливался. С возрастом скорость и степень восстановления постепенно снижаются, что влечет за собой прогрессивное и более серьезное повреждение тканей в случае ишемии [26, 28]. Выведенные экспериментальные животные (мыши Вистер) с искусственным полным блоком HIF-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha^{-/-}$ ) были нежизнеспособны. Животные же с частичной блокадой HIF-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha^{+/-}$ ) развивались нормально, не отличаясь от обычного помета дикого типа (WT) [29]. В каждой возрастной группе, в сравнении с контролем по помету, у животных HIF-1 $\alpha^{+/-}$  после перевязки бедренной артерии отмечалось снижение восстановления кровотока и увеличение степени повреждения тканей. И возрастные изменения, и HIF-1 $\alpha^{+/-}$ -генотип ассоциированы со снижением множественных мРНК, кодирующих ангиогенные факторы роста, включая VEGF, ANGPT1, ANGPT2, PGF, стромальный фактор 1 (CXCL12) и фактор стволовых клеток (известный как KIT-лиганд), а также со снижением экспрессии белка HIF-1 $\alpha$ . С увеличением возраста снижаются возможности ишемического сосудистого ремоделирования именно путем ингибирования индукции HIF-1 и его нижестоящих генов-мишеней, тем самым блокируется производство ангиогенных сигналов.

В экспериментальной модели коронарного стеноза удалось достичь увеличения числа коллатеральных сосудов, определяемых по результатам ангиографии, и повышения функций миокарда с помощью инфузии раствора, содержащего аденовирус, кодирующий сложный белок, состоящий из аминотерминальной половины HIF-1 $\alpha$  (содержащей димеризационные и дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК)-связывающие домены) и транса-активатора герпесвируса (VP16) по большой коронарной вене [30]. Тем не менее, сопоставимое клиническое исследование не продемонстрировало увеличение перфузии миокарда у пациентов, которым выполнено аортокоронарное шунтирование, в сравнении с соответствующей генной терапией [31].

Возможно ли результаты, полученные в экспериментальных моделях ишемии миокарда или конечностей, сопоставлять с ИБС? Существует ли влияние генетических вариаций HIF1 $\alpha$  человека на развитие коллатеральных сосудов при стенозе коронарной артерии, стенокардии или ИМ?

Анализ на однонуклеотидный полиморфизм (SNP), определяющий переход аминокислотной последовательности HIF1A от пролина к серину в кодоне 582 (P582S), показал, что частота варианта аллеля была в 5 раз выше у больных ИБС с имеющейся развитой по результатам ангиографии сетью коллатерального кровоснабжения по сравнению с пациентами, чья коллатеральная сосудистая сеть была развита недостаточно хорошо [32]. Работа по исследованию на однонуклеотидный полиморфизм, целью которого было выявление генетических маркеров, указывающих на вероятность возникновения стабильной стенокардии в сравнении с ИМ, показала увеличение частоты P582S и двух других SNP в локусе HIF1A у пациентов, со стабильной стенокардией, по сравнению с пациентами с ИМ [33]. В другом исследовании по результатам ангиографии была выявлена взаимосвязь между распространенностью аллеля P582S и снижением ветвления коронарной артерии [34], что в очередной раз подтверждает ведущую роль HIF-1 в регуляции коронарной сосудистой сети.

Разрыв бляшки при атеросклеротическом поражении коронарной артерии является катастрофическим событием, которое с высокой долей вероятности приводит к полной окклюзии артериального русла, результатом чего является прогрессирующая гибель клеток миокарда из-за кислородной недостаточности в течение 20 мин [35]. Реперфузия после ишемии при тромболитической терапии или чрескожном коронарном вмешательстве в течение этого времени является самым эффективным способом, ограничивающим размер ИМ. Однако существует информация, что само явление реперфузии способствует повреждению тканей путем увеличения классов внутриклеточного реактивного  $O_2$  (reactive oxygen species) и ионов кальция  $Ca^{2+}$  [36]. Воздействие на сердце короткими (<5 мин) эпизодами ишемии и реперфузии обладает протективным эффектом и защищает миокард от повреждений, вызванных последующим продолжительным 30-минутным эпизодом ишемии-реперфузии. Это явление известно, как ИПК [37].

Защита миокарда, осуществляемая ИПК, проходит в два этапа: начальный этап начинается сразу после стимула ИПК и продолжается несколько часов, поздний этап начинается через ~24 ч после стимула ИПК и длится в течение нескольких сут. [38, 39]. Кардиопротективный эффект от ишемии-реперфузионного повреждения также может быть индуцирован фармакологически, например, с помощью аденозина [40].

В экспериментальной модели после воздействия ИПК на миокард с последующим длительным воздействием ишемии-реперфузии, размер ИМ был значительно меньше, при этом кардиопротективный эффект от использования метода

Влияние HIF-1 на энергетический метаболизм

Процесс на уровне организма	Тканевой и клеточный уровни	Ген-мишень HIF
Энергетический метаболизм	Гликолиз и транспорт глюкозы	Лактатдегидрогеназа А Фосфоглицерат киназа 1 Альдолаза А и С Фосфофруктокиназа L Пируваткиназа М Энолаза 1 Гексокиназа 1 и 2 Глицеральдегид-3-фосфата дегидрогеназа Транспортер глюкозы 1 и 3

ИПК у животных с частичной блокадой HIF-1 $\alpha^{+/-}$  отсутствовал. В противоположность этому, введение аденозина вызывало высокий кардиопротективный эффект как у обычных мышей WT, так и HIF-1 $\alpha^{+/-}$ , указывая на конкретный недостаток ИПК [41]. Эти результаты были неожиданными, поскольку считалось, что ранняя фаза кардиопротекции включает в себя или метаболические изменения, или посттрансляционную модификацию существующих белков, тогда как в поздней фазе кардиопротекции осуществляется только синтез уже новых белков.

Дальнейшие исследования показали, что условный нокаут экспрессии HIF-1 $\alpha$  или HIF-1 $\beta$  в эндотелиальных клетках сердца также способствует отсутствию быстрого кардиопротективного эффекта после стимуляции ИПК. При внутрисердечном введении акрифлавина, ингибитора димеризации HIF-1 $\alpha$  и HIF-1 $\beta$ , непосредственно перед стимулом ИПК кардиопротективный эффект также блокируется [42]. Это в свою очередь указывает на необходимость острой индукции активности HIF-1 и, таким образом, показывает не тривиальную роль HIF-1 в исходной экспрессии белков, которые изменяются в ответ на стимул ИПК.

В ответ на гипоксию или ишемию HIF-1 индуцирует экспрессию сотен генных продуктов и запускает другие каскадные механизмы, играющие определенную роль в прекондиционировании, особенно в поздней фазе. Использование хлорида кобальта на грызунах, десферриоксамина или диметилноксалилглицина, которые служат химическими индукторами HIF-1-транскрипционной активности [43], или воздействие циклов внешней гипоксии и реоксигенации индуцируют позднюю фазу кардиопротекции [44–46]. Кардиозащитное действие хлорида кобальта у мышей, лишенных экспрессии индуцируемой оксид азот-синтазы (Nos2), являющейся известным медиатором поздней фазы кардиопротекции, индуцированной ИПК, отсутствовало [45]. Стимуляция Nos2 наблюдалась в изолированных кардиомиоцитах и в структурно неповрежденном сердце животных, подвергнутых гипоксии, под влиянием HIF-1 [47].

Другим механизмом, с помощью которого HIF-1 может опосредовать кардиопротекцию, является изменение баланса между гликолизом и окислительным обменом [48] (таблица 2).

Усиление гликолиза в гипоксических условиях позволяет клеткам поддерживать необходимый уровень аденозинтрифосфата. HIF-1 также тормозит митохондриальный окислительный метаболизм, тем самым уменьшая образование активных форм O<sub>2</sub> в условиях гипоксии или гипоксии-реоксигенации.

## Заключение

Нет сомнений, что феномен ИПК заслуживает самого детального изучения. Внедрение в практику подходов, способствующих активации и продлению действия этого естественного защитного механизма, позволит значительно снизить сердечно-сосудистую заболеваемость и смертность. Некоторые из таких подходов в современной науке уже известны, они подразумевают фармакологические препараты, физические факторы и метаболические расстройства.

Вероятно, в ближайшем будущем оценка способности миокарда к ИПК и перспективность целенаправленного стимулирования этого механизма может стать одной из важных составляющих кардиологической медицинской помощи в первичной и вторичной профилактике сердечно-сосудистых заболеваний и в неотложных ситуациях. Не меньший интерес при этом вызывает влияние ИПК на реперфузионные повреждения миокарда (“посткондиционирование”), что обозначает возможность запустить кардиопротекцию даже после состоявшейся критической ишемии.

Таким образом, внедрение новых методов кардиопротекции в клиническую практику может способствовать кардинальному улучшению прогноза, но требует дальнейшего доклинического и клинического тестирования с использованием оптимизированных протоколов.

ИБС — многофакторное заболевание, для лечения которого используются множество классов фармакологических препаратов:  $\beta$ -адреноблокаторы, ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, блокаторы рецепторов к ангиотен-

зину II, блокаторы кальциевых каналов, мочегонные, антикоагулянты, антиагреганты, гиполипидемические средства и др. Анализ генетических факторов до назначения лекарственной терапии и экспрессии генов после позволит приблизить внедрение персонализированной медицины в клиническую практику.

Основываясь на фармакогеномике, фармакогенетике, фармакопротеомике персонализированная медицина имеет несколько преимуществ перед стандартизированным подходом: сниженный риск нежелательных эффектов от воздействия препаратов, экономия времени вследствие исключения применения неэффективных лекарственных средств, снижение стоимости лечения, развитие профилактической медицины.

Феномен ИПК, понимание клеточных механизмов адаптации кардиомиоцитов к воздействию подпорогового уровня гипоксии, запуск каскадных

защитных реакций на тканевом уровне, активаторов ангиогенеза оставляют широкое поле для исследователей. Использование подпороговых, неповреждающих уровней экзогенной гипоксической гипоксии в качестве прекондиционирующего агента требует дальнейших экспериментальных и клинических исследований. Гипоксия-индуцируемый фактор — универсальный механизм, регулирующий доставку и утилизацию кислорода, синтез форменных элементов крови, энергетический обмен, ангиогенез. Использование HIF в качестве маркера гипоксического состояния открывает перспективы по диагностике и профилактике ИБС. Методы ИПК требуют дальнейшего изучения и совершенствования с целью разработки показаний к применению, выделения целевых групп пациентов, внедрения в клиническую практику кардиохирургической и кардиологической помощи, определения отдаленных последствий их применения.

## Литература

1. The global burden of disease: 2004 update. World Health Organization 2008. 146 p.
2. Amosova EN. Metabolic therapy of myocardial damage caused by ischemia. A new approach to the treatment of coronary heart disease and heart failure. Ukr Kard J 2000; 4: 86-8. (in Russ.) Амосова Е. Н. Метаболическая терапия повреждений миокарда, обусловленных ишемией. Новый подход к лечению ишемической болезни сердца и сердечной недостаточности. Укр Кард Журнал 2000; 4: 86-8.
3. Lyubimov AV, Cherkashin DV. Cardioprotective possibilities pro-hypoxic preconditioning. Morskaya Medicina 2016; 2 (4): 20-9. (in Russ.) Любимов А. В., Черкашин Д. В. Кардиопротекторные возможности прогипоксического преко-ндиционирования. Морская медицина 2016; 2 (4): 20-9.
4. Oganov RG, Lepakhin VK, Fitlev SB, et al. Diagnosis and Therapy of Stable Angina in Russian Federation (International Study ATP — Angina Treatment Pattern). Kardiologiya 2003; 5: 9-15. (in Russ.) Оганов Р. Г., Лепехин В. К., Фитилев С. Б. и др. Особенности диагностики и терапии стабильной стенокардии в Российской Федерации (международное исследование ATP — Angina Treatment Pattern). Кардиология 2003; 5: 9-15.
5. Fox KM, Mulcahy D, Findlay I, et al. On behalf of the TIBET Study Group. The Total Ischaemic Burden European Trial (TIBET). Effects of atenolol, nifedipine SR and their combination on the exercise test and total ischaemic burden in 608 patients with stable angina. Eur Heart J 1996; 17: 96-103.
6. Shlyakhto EV, Nifontov EM, Galagudza MM. Limitation of ischemic and reperfusion injury of the myocardium by pre- and post-coding: molecular mechanisms and targets for pharmacotherapy. Creative Cardiology 2007; 1-2: 75-101. (in Russ.) Шляхто Е. В., Нифонтов Е. М., Галагудза М. М. Ограничение ишемического и реперфузионного повреждения миокарда с помощью пре- и посткондиционирования: молекулярные механизмы и мишени для фармакотерапии. Креативная кардиология 2007; 1-2: 75-101.
7. Ferrari R. Metabolic treatment of myocardial ischaemia. Eur Heart J 1999; 20: 1144-5.
8. Kuibler W. Cardioprotection: definition, classification, and fundamental principles Markus Haass Heart 1996; 75: 330-3.
9. Teslev AA, Sorokin VV, Minina SA, et al. Modern metabolic cardioprotectors. Technological aspects of the development of drugs on their basis. Belgorod State University Scientific bulletin Series Medicine. Pharmacy 2014; 4 (175,25): 188-95. (in Russ.) Теслев А. А., Сорокин В. В., Минина С. А. и др. Современные метаболические кардиопротекторы. Технологические аспекты разработки лекарственных препаратов на их основе. Научные ведомости БелГУ Серия Медицина. Фармация 2014; 4 (175,25): 188-95.
10. Shlyakhto EV, Konradi AO, Galagudza MM. Translational medicine: yesterday, today, tomorrow. Vestnik Roszdraznadvzora 2016; 1: 47-51. (in Russ.) Шляхто Е. В., Конради А. О., Галагудза М. М. Трансляционная медицина: вчера, сегодня, завтра. Вестник Росздравнадзора 2016; 1: 47-51.
11. Message of the President of the Russian Federation to the Federal Assembly of December 12, 2013. Moscow, Kremlin. 2013. (in Russ.) Послание Президента РФ Федеральному Собранию от 12.12.2013 "Послание Президента РФ Владимира Путина Федеральному Собранию". Москва, Кремль. 2013.
12. Wang GL, Semenza GL. Purification and characterization of hypoxia-inducible factor 1. J Biol Chem 1995; 270: 1230-7. [PubMed: 7836384].
13. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix heterodimer regulated by cellular O<sub>2</sub> tension. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92: 5510-4. [PubMed: 7539918].
14. Iyer NV, Kotch LE, Agani F, et al. Cellular and developmental control of O<sub>2</sub> homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ . Genes Dev 1998; 12: 149-62. [PubMed: 9436976].
15. Compennolle V, Brusselmans K, Franco D, et al. Cardiac bifida, defective heart development and abnormal neural crest migration in embryos lacking hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ . Cardiovasc Res 2003; 60: 569-79. [PubMed: 14659802].
16. Yoon D, Pastore YD, Divoky V, et al. Hypoxia-inducible factor 1 deficiency results in dysregulated erythropoiesis signaling and iron homeostasis in mouse development. J Biol Chem 2006; 281: 25703-11. [PubMed: 16787915].
17. Lage K, Greenway SC, Rosenfeld JA, et al. Genetic and environmental risk factors in congenital heart disease functionally converge in protein networks driving heart development. Proc Natl Acad Sci USA 2012; 109: 14035-40. [PubMed: 22904188].
18. Bergeron M, Yu AY, Solway KE, et al. Induction of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) and its target genes following focal ischaemia in rat brain. Eur J Neurosci 1999; 11: 4159-70. [PubMed: 10594641].
19. Martin C, Yu AY, Jiang BH, et al. Cardiac hypertrophy in chronically anemic fetal sheep: Increased vascularization is associated with increased myocardial expression of vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible factor 1. Am J Obstet Gynecol 1998; 178: 527-34. [PubMed: 9539521].
20. Lee SH, Wolf PL, Escudero R, et al. Early expression of angiogenesis factors in acute myocardial ischemia and infarction. N Engl J Med 2000; 342: 626-33. [PubMed: 10699162].
21. Jürgensen JS, Rosenberger C, Wiesener MS, et al. Persistent induction of HIF-1 $\alpha$  and -2 $\alpha$  in cardiomyocytes and stromal cells of ischemic myocardium. FASEB J 2004; 18: 1415-7. [PubMed: 15247145].
22. Wiener CM, Booth G, Semenza GL. In vivo expression of mRNAs encoding hypoxia-inducible factor 1. Biochem Biophys Res Commun 1996; 225: 485-88. [PubMed: 8753788].
23. Rosenberger C, Mandriota S, Jürgensen JS, et al. Expression of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  and 2 $\alpha$  in hypoxic and ischemic rat kidneys. J Am Soc Nephrol 2002; 13: 1721-32. [PubMed: 12089367].
24. Wiener CM, Booth G, Semenza GL. In vivo expression of mRNAs encoding hypoxia-inducible factor 1. Biochem Biophys Res Commun 1996; 225: 485-8. [PubMed: 8753788].
25. Yu AY, Frid MG, Shimoda LA, et al. Temporal, spatial, and oxygen-regulated expression of hypoxia-inducible factor 1 in the lung. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 1998; 275: L818-26.
26. Bosch-Marce M, Okuyama H, Wesley JB, et al. Effects of aging and hypoxia-inducible factor 1 activity on angiogenic cell mobilization and recovery of perfusion after limb ischemia. Circ Res 2007; 101: 1310-8. [PubMed: 17932327].
27. Kelly BD, Hackett SF, Hirota K, et al. Cell type-specific regulation of angiogenic growth factor gene expression and induction of angiogenesis in nonischemic tissue by a constitutively active form of hypoxia-inducible factor 1. Circ Res 2003; 93: 1074-81. [PubMed: 14576200].



28. Rivard A, Fabre JE, Silver M, et al. Age-dependent impairment of angiogenesis. *Circulation* 1999; 99: 111-20. [PubMed: 9884387].
29. Iyer NV, Kotch LE, Agani F, et al. Cellular and developmental control of O<sub>2</sub> homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ . *Genes Dev* 1998; 12: 149-62. [PubMed: 9436976].
30. Hinkel R, Lebherz C, Fydanaki M, et al. Angiogenetic potential of Ad2/ Hif-1 $\alpha$ /VP16 after regional application in a preclinical pig model of chronic ischemia. *Curr Vasc Pharmacol* 2013; 11: 29-37. [PubMed: 23391420].
31. Kilian EG, Sadoni S, Vicol C, et al. Myocardial transfection of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  via an adenoviral vector during coronary artery bypass grafting. A multicenter phase I and safety study. *Circ J* 2010; 74: 916-24. [PubMed: 20215699].
32. Resar JR, Roguin A, Voner J, et al. Hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  polymorphism and coronary collaterals in patients with ischemic heart disease. *Chest* 2005; 128: 787-91. [PubMed: 16100168].
33. Hlatky MA, Quertermous T, Boothroyd DB, et al. Polymorphisms in hypoxia inducible factor 1 and the initial clinical presentation of coronary disease. *Am Heart J* 2007; 154: 1035-42. [PubMed: 18035072].
34. Duran J, Gotzens V, Carballo J, et al. The HIF1A C85T polymorphism influences the number of branches of the human coronary tree. *Cardiology* 2012; 121: 156-9. [PubMed: 22441426].
35. Nallamothu BK, Bradley EH, Krumholz HM. Time to treatment in primary percutaneous coronary intervention. *N Engl J Med* 2007; 357: 1631-8. [PubMed: 17942875].
36. Braunwald E, Kloner RA. Myocardial reperfusion: a double-edged sword? *J Clin Invest* 1985; 76: 1713-9. [PubMed: 4056048].
37. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-36. [PubMed: 3769170].
38. Kuzuya T, Hoshida S, Yamashita N, et al. Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance to ischemia. *Circ Res* 1993; 72: 1293-9. [PubMed: 8495557].
39. Marber MS, Latchman DS, Walker JM, Yellon DM. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation* 1993; 88: 1264-72. [PubMed: 8353888].
40. Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, et al. Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A<sub>1</sub> adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation* 1991; 84: 350-6. [PubMed: 2060105].
41. Cai Z, Zhong H, Bosch-Marcé M, et al. Complete loss of ischaemic preconditioning-induced cardioprotection in mice with partial deficiency of HIF-1 $\alpha$ . *Cardiovasc Res* 2008; 77: 463-70. [PubMed: 18006459].
42. Sarkar K, Cai Z, Gupta R, et al. Hypoxia-inducible factor 1 transcriptional activity in endothelial cells is required for acute phase cardioprotection induced by ischemic preconditioning. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109: 10504-9. [PubMed: 22699503].
43. Jiang BH, Zheng JZ, Leung SW, et al. Transactivation and inhibitory domains of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ . Modulation of transcriptional activity by oxygen tension. *J Biol Chem* 1997; 272: 19253-60. [PubMed: 9235919].
44. Cai Z, Manalo DJ, Wei G, et al. Hearts from rodents exposed to intermittent hypoxia or erythropoietin are protected against ischemia-reperfusion injury. *Circulation* 2003; 108: 79-85. [PubMed: 12796124].
45. Xi L, Taher M, Yin C, et al. Cobalt chloride induces delayed cardiac preconditioning in mice through selective activation of HIF-1 $\alpha$  and AP-1 and iNOS signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287: H2369-75. [PubMed: 15284066].
46. Ockaili R, Natarajan R, Salloum F, et al. HIF-1 activation attenuates postischemic myocardial injury: role for heme oxygenase-1 in modulating microvascular chemokine generation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289: H542-8. [PubMed: 15805230].
47. Jung F, Palmer LA, Zhou N, Johns RA. Hypoxic regulation of inducible nitric oxide synthase via hypoxia-inducible factor 1 in cardiac myocytes. *Circ Res* 2000; 86: 319-25. [PubMed: 10679484].
48. Semenza GL. Regulation of metabolism by hypoxia-inducible factor 1. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2011; 76: 347-53. [PubMed: 21785006].