

РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

УДК 577.321

ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННЫЕ ПОРАЖЕНИЯ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА И СПОСОБЫ ИХ КОРРЕКЦИИ

© 2023 г. Р. Г. Гончаров^а, М. Г. Шарпов^а *

^а Институт биофизики клетки Российской академии наук “Федеральный исследовательский центр
“Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук”,
Пушино, Московская обл., 142290 Россия

*e-mail: sharapov.mg@yandex.ru

Поступила в редакцию 10.04.2023 г.

После доработки 09.05.2023 г.

Принята к публикации 10.05.2023 г.

Ишемия-реперфузия – каскад сложных и взаимосвязанных патологических процессов, лежащих в основе многих заболеваний человека, в том числе таких социально-значимых, как инсульт, инфаркт миокарда, острая почечная недостаточность и др. В представленном обзоре рассмотрены современные представления об основных биохимических и сигнально-регуляторных процессах, протекающих в клетке в условиях ишемии-реперфузии. Рассмотрены как общепринятые, так и новые способы коррекции ишемических-реперфузионных поражений, направленные на разные этапы этого патологического процесса.

Ключевые слова: ишемия, реперфузия, окислительный стресс, внутриклеточная сигнализация, HIF-1 α , NRF2, NF- κ B, PI3K/AKT/mTOR, гипотермия, ингибиторы оксидаз, H₂S, антиоксиданты, селен, ферменты-антиоксиданты

DOI: 10.31857/S0026898423060071, EDN: RASNDH

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день убедительно доказано, что окислительный стресс является неотъемлемой частью многих патологических состояний, одно из которых – поражение тканей и органов, подвергнутых ишемии-реперфузии (И-Р). В основе И-Р-повреждения лежит нарушение нормального притока крови к тканям (ишемия) в ре-

зультате сдавливания или закупоривания приводящих кровеносных сосудов с последующим восстановлением кровотока (реперфузия). Согласно одному из определений: “И-Р-повреждение – это парадоксальный и сложный процесс, возникающий после восстановления кровотока в ранее ишемизированной ткани, приводящий к возрастанию клеточной дисфункции и клеточной

Сокращения. И-Р – ишемия-реперфузия; АФК – активные формы кислорода; МДА – малоновый диальдегид; ЭТЦ – электрон-транспортная цепь; QH₂ – гидрохинон; XO – ксантиноксидаза; XDH – ксантиндегидрогеназа; LOOP – гидропероксиды липидов; NHE – белок-обменник Na⁺/H⁺ (Na⁺/H⁺ Exchanger); NCX – белок-обменник Na⁺/Ca²⁺ (Na⁺/Ca²⁺ Exchanger); Glut 1/4 – переносчик глюкозы типа 1 или 4 (Glucose transporter type 1 or 4); ЭПР/СР – эндоплазматический/саркоплазматический ретикулум; MCU – митохондриальный Ca²⁺-унипортер (Mitochondrial Ca²⁺ Uniporter); mPTP – Ca²⁺-зависимая митохондриальная пора (mitochondrial Permeability Transition Pore); DAMP – молекулярные паттерны, связанные с повреждением (Damage Associated Molecular Pattern); CypD – циклофилин D; NET – внеклеточные нейтрофильные ловушки (Neutrophils Extracellular Traps); SERCA – Ca²⁺-активируемая АТРаза сарко/эндоплазматического ретикулума (Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca²⁺-ATPase); SIRS – синдром системного воспалительного ответа (Systemic Inflammatory Response Syndrome); CARS – синдром компенсаторного противовоспалительного ответа (Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome); ПОН – полиорганная недостаточность; HIF – фактор, индуцируемый гипоксией (Hypoxia Inducible Factor); NRF2 – транскрипционный фактор, основной регулятор антиоксидантного ответа (nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2); ARE – элемент ответа на антиоксиданты (Antioxidant Response Element); KEAP1 – ингибитор NRF2 (Kelch-like ECH-associated protein); MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа; CBP – транскрипционный коактиваторный белок (CREB-binding protein); HDAC – гистондеацетилаза (Histone DeAcetylase); PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа; mTOR – протеинкиназа, мишень рапамицина млекопитающих (mammalian Target Of Rapamycin); AKT – серин/треониновая протеинкиназа В (RAC-alpha serine/threonine-protein kinase, protein kinase B alpha); NOX – NADPH-оксидазы; MAO – моноаминоксидаза; COX – цитохром-с-оксидаза; FoxO – транскрипционный фактор, мишень киназы AKT (forkhead box protein O); TLR – Toll-подобные рецепторы (Toll-Like Receptor); RTK – рецептор с тирозинкиназной активностью (Receptor Tyrosin Kinases); PDGF – фактор роста тромбоцитов (Platelet-Derived Growth Factor); SOD – супероксиддисмутаза; CAT – каталаза; GPx – глутатионпероксидаза; Trx – тиоредоксин; Prdx (Prx) – пероксиредоксин; RyR – рецептор рианодина; TNF α – фактор некроза опухоли α ; VEGF – фактора роста эндотелия сосудов; VEGFR – рецептор фактора роста эндотелия сосудов.

гибели” [1]. При ишемии происходит быстрое развитие взаимосвязанных патобиохимических процессов, сопряженных со снижением продукции АТФ и повреждением структурно-функциональной целостности метаболически активных тканей. Восстановление притока крови, насыщенной кислородом, к ишемизированным тканям (реперфузия) приводит к лавинообразному росту уровня активных форм кислорода (АФК) и развитию окислительного стресса, внося тем самым основной вклад в патогенез И-Р-поражения.

Патологии, связанные с И-Р-поражением, на сегодняшний день рассматриваются как одна из наиболее частых причин тяжелых заболеваний, не только ухудшающих качество жизни человека, но и приводящих к тяжелой инвалидизации и летальному исходу [2]. По данным Всемирной Организации Здравоохранения заболевания, связанные с И-Р, стали причиной смерти более 7 млн человек в мире. К числу таких социально значимых заболеваний относятся: ишемическая болезнь сердца, ишемическая острая почечная недостаточность, ишемия печени, ишемия кишечника, цереброваскулярные заболевания [3, 4]. И-Р-повреждения представляет серьезную проблему трансплантологии, кардиоторакальной, сосудистой и общей хирургии. Понимание молекулярных механизмов И-Р-поражения необходимо для разработки эффективных стратегий терапии патологических состояний, связанных с этим состоянием.

ОБЩИЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

И-Р представляет собой сложный многостадийный патобиохимический процесс. На сегодняшний день условно выделяют несколько взаимосвязанных механизмов развития И-Р-повреждения: 1) отсутствие кислорода и питательных веществ; 2) накопление токсичных метаболитов в ишемизированных тканях; 3) нарушение водно-электролитного гомеостаза; 4) развитие окислительного стресса; 5) нарушение функционирования компартментов клетки (в первую очередь, митохондрий); 6) развитие системной воспалительной реакции [5]. Далее мы подробно рассмотрим каждый из этапов И-Р-поражения.

Ишемия

Нарушение нормального притока и оттока крови к органам (вызванного тромбозом, атеросклерозом, передавливанием сосудов и т.д.) вызывает развитие патологического состояния — ишемии. Ишемия приводит к развитию кислородного голодания (гипоксия/аноксия), нарушению поступления питательных веществ и вывода клеточных метаболитов, провоцирующих интоксика-

цию пораженных тканей. Снижение уровня O_2 нарушает работу электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий (вследствие нехватки доноров электронов $NADH^+/NAD^+$ и QH_2) и подавляет окислительное фосфорилирование, что вызывает снижение уровня АТФ. Оставшиеся молекулы АТФ подвергаются катаболизму до гипоксантина, основного субстрата ксантиноксидазы (ХО) — патологической формы ксантиндегидрогеназы (ХДН), на стадии реперфузии. Кроме того, дефицит кислорода нарушает процесс β -окисления жиров и функционирования цитрат-малатного челнока. Все это приводит к энергетическому голоданию клетки и переходу на менее эффективный анаэробный способ извлечения энергии — гликолиз, в результате чего происходит накопление молочной кислоты и закисление внутриклеточной среды (ацидоз) [6]. Ацидоз, в свою очередь, приводит к ингибированию основных ферментов гликолиза и, в конечном счете, к еще большему дефициту АТФ. Снижение внутриклеточного рН вызывает дестабилизацию мембран лизосом и высвобождение гидролитических ферментов, разрушающих структурные компоненты клеток (рис. 1).

Энергетический дефицит приводит к снижению активности АТФ-зависимых Na^+/K^+ -каналов, накоплению в клетке избытка ионов Na^+ и H_2O и, как следствие, к нарушению электролитного и осмотического гомеостаза клеток [7]. Накопление ионов Na^+ в клетке нарушает функцию Na^+/Ca^{2+} -обменника, вызывая рост концентрации Ca^{2+} в цитозоле с последующей активацией фосфолипаз (фосфолипаза A_2) и протеаз (кальпаины), нарушающих целостность клеток, а также активирующих ряд оксидаз. Например, под действием кальпаинов происходит частичный протеолиз ХДН, что вместе с окислением остатков цистеина способствует превращению ХДН в ХО, которая играет важнейшую роль в патогенезе И-Р на стадии реперфузии.

В попытке снизить высокую концентрацию Ca^{2+} в цитозоле клетка увеличивает транспорт ионов Ca^{2+} через митохондриальный Ca^{2+} -унипортер МСУ (**M**itochondrial **C** Ca^{2+} **U**niporter). Используя отрицательный митохондриальный потенциал, МСУ обеспечивает движение положительно заряженных ионов Ca^{2+} в митохондрии. В результате происходит снижение концентрации Ca^{2+} в цитозоле и, напротив, повышение Ca^{2+} в матриксе митохондрий. Избыток Ca^{2+} в матриксе митохондрий инициирует открытие митохондриальной поры мРТР (**m**itochondrial **P**ermeability **T**ransition **P**ore) во внутренней мембране митохондрий, что приводит к стремительному проникновению воды и растворенных в ней веществ (размером ≤ 1.5 кДа) в матрикс митохондрий, вызывая тем самым отек и разрыв наружной мем-

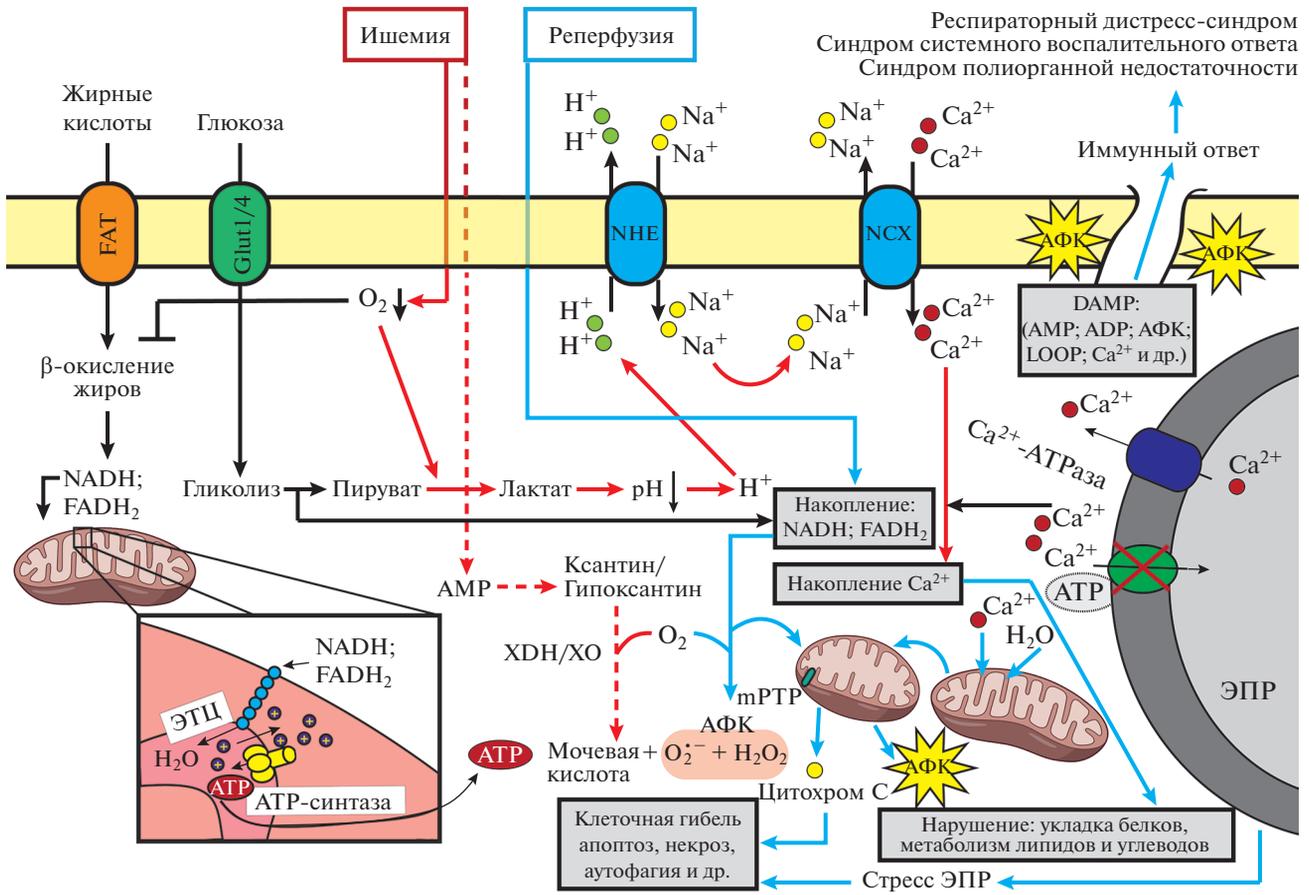


Рис. 1. Упрощенная схема ишемически-реперфузионного поражения. Красные сплошные и пунктирные стрелки относятся к ишемическим процессам; синие стрелки – к стадии реперфузии. XDH – ксантиндегидрогеназа; XO – ксантинооксидаза; mPTP – Ca^{2+} -зависимая митохондриальная пора; DAMP – сигнальные молекулы опасности, ассоциированные с повреждениями; LOOP – продукты перекисного окисления липидов. NHE – Na^+/H^+ -обменник; NCX – Na^+/Ca^{2+} -обменник; Glut 1/4 – переносчик глюкозы типа 1 или 4; FAT – переносчик жирных кислот.

браны. В результате активируется программируемая гибель клеток (митофагия, аутофагия, апоптоз) [8]. Увеличение содержания ионов Ca^{2+} в клетке приводит к образованию комплексов пирофосфата кальция и мочевой кислоты, которые относятся к DAMP – индукторам “стерильного воспаления” [9]. Повышенный уровень DAMP служит сигналом для формирования инфламасом, которые не только распознают DAMP с использованием NOD-подобных рецепторов (NRL), но и модулируют воспалительный ответ клетки, продуцируя ряд цитокинов: IL-1 β , IL-18, TNF- α , IL-18 и IL-6. Это может активировать различные факторы транскрипции, такие как NF- κ B, и увеличивать вероятность развития воспалительного ответа клетки. В конечном счете это активирует аутофагию – один из основных механизмов снижения уровня DAMP [10]. Если же процесс аутофагии не справляется с утилизацией DAMP, то это приводит к их выходу во внеклеточное пространство в результате некротической гибели клетки. Появление DAMP, провоспалительных цитокинов в

периферической крови вызывает реакцию сосудистого русла, связанную с активацией системы свертывания крови и образованием внеклеточных нейтрофильных ловушек – NET (Neutrophils Extracellular Traps) [11]. Образование NET индуцируется при непосредственном участии тромбоцитов. Появление NET в кровеносных сосудах способствует быстрой локальной реакции свертывания крови, предотвращающей системное распространение DAMP [12]. Сывороточные факторы (иммуноглобулины, антитела, коллектины, молекулы адгезии, опсонины) активно формируют иммунные комплексы с внеклеточными DAMP. В свою очередь, эти иммунные комплексы активируют систему комплемента и активно фагоцитируются прежде всего нейтрофилами. Нейтрофилы кооперируются с активированными тромбоцитами и эндотелиальными клетками кровеносных сосудов, активированными DAMP. Это обеспечивает выход нейтрофилов из сосудистого русла в очаг ишемического повреждения для ограничения патологического очага, тромбоза сосудов, фагоци-

тоза поврежденных молекул, клеточных органелл и их обломков. Важно отметить, что привлеченные в очаг ишемии нейтрофилы играют важную роль в развитии окислительного стресса на стадии реперфузии, благодаря эффекту кислородного взрыва, опосредованного оксидазами.

Как отмечалось ранее, при ишемии наблюдается нарушение работы ЭТЦ митохондрий, что приводит к повышенной утечке электронов на остаточный молекулярный кислород (O_2) и генерации супероксидного анион-радикала $O_2^{\cdot-}$, который вызывает перекисное окисление липидов и нарушение мембранного потенциала митохондрий. Известно, что при ишемии образуется относительно небольшое количество АФК, однако на фоне сниженной антиоксидантной защиты организма это приводит к развитию начальной стадии окислительного стресса [13, 14].

Реперфузия

Восстановление кровотока и поступление насыщенной кислородом крови к ишемизированным тканям индуцирует запуск свободнорадикальных реакций и лавинообразному росту уровня АФК, что индуцирует развитие окислительного стресса, который играет ключевую роль в патофизиологии И-Р-поражения. В ходе реперфузии O_2 проникает в ишемизированные ткани, в которых уже активированы различные оксидазы. В частности, ХО, образуемая при ишемии, участвует в катаболизме пуринов до мочевой кислоты и в сопряженной реакции восстанавливает поступивший молекулярный кислород O_2 (вместо NAD^+ в случае ХДН) до $O_2^{\cdot-}$, который затем спонтанно (или при действии SOD) дисмутирует в H_2O_2 , а также вступает в реакции с H_2O , H_2O_2 и другими молекулами, генерируя различные виды АФК ($O_2^{\cdot-} + H_2O \rightarrow \cdot HO + HO^-$; $O_2^{\cdot-} + H_2O_2 \rightarrow HO\cdot + HO^- + {}^1O_2$...). Интересно отметить, что еще на заре редокс-биологии, за год до открытия в 1968 году супероксид-дисмутазы, McCord и Fridovich предположили, что главным источником свободных радикалов при реперфузионном поражении служит ХО. Кроме ХО, источниками АФК на стадии реперфузии являются: ЭТЦ митохондрий, NADPH-оксидазы (Nox/Duox), NO-синтазы (NOS), цитохром P450, липоксигеназы (LOX), циклооксигеназы (COX) и моноаминоксидазы (MAO) [15, 16].

Следует также отметить, что в образовании АФК в области И-Р-поражения участвуют привлеченные провоспалительными цитокинами клетки иммунной системы. Например, NADPH-оксидазы полиморфноклеточных нейтрофилов вносят существенный вклад в генерацию супероксидного анион-радикала ($NADPH + 2O_2 \rightarrow 2O_2^{\cdot-} +$

$+ NADP^+ + H^+$) [17]. Вероятно, NOX играют важнейшую роль в образовании $O_2^{\cdot-}$ на стадии реперфузии, так как фармакологическое ингибирование этих ферментов или подавление экспрессии их генов снижает тяжесть И-Р-поражений [18, 19]. Миелопероксидаза лейкоцитов (привлеченных цитокинами в область И-Р) окисляет анионы Cl и Br с образованием активных форм: HOCl и HOBr, являющихся мощными окислителями. Индуцибельная NO-синтаза (iNOS) макрофагов при компенсаторной генерации NO (в области адгезии клеток к эндотелию сосудов) способна образовывать $O_2^{\cdot-}$, провоцируя таким образом рост АФК (особенно высокотоксичного пероксинитрита ONOO⁻) [20].

На стадии реперфузии источниками АФК могут быть не только оксидазы, но и железосодержащие белки (такие как гемоглобин, миоглобин, цитохром C, трансферрин и др.), высвобождающиеся во внеклеточную среду после повреждения клеток [21, 22]. Ионы железа в простетических группах этих белков могут участвовать в реакции Фентона с пероксидом водорода ($H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + \cdot OH + ^-OH$), что приводит к образованию высокореакционного гидроксильного радикала [23, 24]. Однако, по всей видимости, большая часть АФК продуцируется в реакциях, катализируемых указанными оксидазами.

В период реперфузии эффективность ННЕ-обменника возрастает за счет утилизации внеклеточных ионов H^+ , накопившихся во время ишемии. Это, в свою очередь, способствует избыточному накоплению ионов Ca^{2+} в клетке. В условиях реперфузии нарушается обратный захват Ca^{2+} эндоплазматическим/саркоплазматическим ретикулумом (ЭПР/СР) из цитозоля в связи с нарушением активности SERCA2b (Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca^{2+} -ATPase 2b), представленной преимущественно в гладкомышечных и немышечных тканях [25]. Это нарушение сопряжено с увеличением высвобождения Ca^{2+} из ЭПР/СР через рианодиновые рецепторы (Ryanodine Receptors, RyRs). Нарушения в обмене Ca^{2+} в ЭПР/СР приводят к увеличению концентрации Ca^{2+} в цитоплазме. Стремительное увеличение концентрации цитозольного Ca^{2+} приводит к активации различных гидролаз: фосфолипаз, протеаз и др., активность которых возрастает в период реперфузии, когда нормализуется уровень pH. Кроме того, рост концентрации ионов Ca^{2+} нарушает процесс сворачивания белков, метаболизма липидов и углеводов в ЭПР [26]. Рост количества неправильно свернутых/развернутых белков в просвете ЭПР приводит к развитию ЭПР-стресса, который может спровоцировать апоптоз клетки [27].

Как отмечалось ранее, уже на стадии ишемии в клетках накапливаются DAMP. Гибель клеток и выход DAMP в межклеточное пространство в ходе реперфузии индуцируют процессы острого воспаления. Воспалительные реакции, тромбозы и окислительный стресс, активируемые в период реперфузии, вызывают интерстициальный отек и развитие синдрома невосстановленного кровотока “no-reflow”, что оказывает дополнительное повреждающее действие [28]. Миграция провоспалительных нейтрофилов в очаг И-Р-повреждения приводит к развитию синдрома системного воспалительного ответа – SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome) с последующей полиорганной недостаточностью, которая является основной причиной высокой летальности при И-Р-поражениях [29]. Полиорганная недостаточность может возникать при И-Р-повреждении кишечника, легких, печени, почек, скелетных мышц и сердца. Описан синдром компенсаторного противовоспалительного ответа (CARS, Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome) [30], действие которого противоположно ответу на SIRS и приводит к восстановлению гомеостаза. Однако длительное действие CARS вызывает развитие глубокой иммунодепрессии, которая проявляется нарушением процесса репарации, неспособностью противостоять бактериальной инфекции и формированием поздней полиорганной недостаточности.

Таким образом, взрывной рост уровня АФК в ходе реперфузии способствует развитию окислительного стресса, внося существенный вклад в усиление патологических процессов, связанных с нарушением энергетического обмена, дисфункцией митохондрий, электролитным дисбалансом, осмотическим стрессом, ЭПР-стрессом, развитием синдрома “no-reflow” и острой воспалительной реакции (рис. 1). Все эти процессы приводят к быстрой клеточной гибели, нарушению функции тканей и органов, подверженных И-Р-поражению [21, 22]. Несмотря на то, что механизм И-Р-поражения практически везде одинаков, его последствия для различных органов и тканей могут различаться. Наиболее чувствительны к действию И-Р ткани с густой сосудистой сетью и активным потреблением кислорода [31].

РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ

Гиперпродукция АФК при И-Р-поражении, как и при других свободнорадикальных патологиях, приводит к адаптивной индукции антиоксидантной защиты клеток. Ведущая роль в этих процессах принадлежит транскрипционным факторам HIF-1 α , NF- κ B и NRF2 [32–34], которые координировано регулируют экспрессию генов многих антиоксидантных ферментов. Интересно

отметить, что промоторы этих генов часто имеют сайты связывания всех указанных транскрипционных факторов, что, вероятно, позволяет более тонко регулировать ответ клетки на изменение окислительно-восстановительного гомеостаза [35, 36]. Кроме того, антиоксидантный ответ при И-Р регулируется также с участием микроРНК [37–39]. Однако ведущая роль все же принадлежит аппарату транскрипции, который чутко реагирует на изменение окислительно-восстановительного гомеостаза клетки. Это возможно благодаря редокс-чувствительным элементам (преимущественно остаткам цистеина), окисление или восстановление которых влияет на активность и специфичность многих транскрипционных факторов. При И-Р-поражениях к таким ключевым факторам относятся HIF, NRF2, NF- κ B и сигнальный путь PI3K/АКТ/mTOR (рис. 2).

Транскрипционный фактор HIF

Основным регулятором экспрессии генов в условиях И-Р является фактор HIF. На сегодняшний день выделяют три изоформы HIF: HIF-1, HIF-2 и HIF-3, из которых основным регулятором клеточного и системного гомеостаза кислорода в клетках при И-Р считается HIF-1, состоящий из α - и β - субъединиц [40].

В качестве фактора транскрипции HIF-1 контролирует экспрессию более 100 генов, в число которых входят регуляторы ангиогенеза (фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и ангиопоэтин-2 (Ang2)), эритропоэза (эритропоэтин, EPO) и тонуса сосудов (гемоксигеназа-1, HO-1, iNOS, эндотелин-1 и др). Регуляция этих генов фактором HIF-1 увеличивает эффективность доставки кислорода к клеткам тканей, испытывающих гипоксию. Помимо этого, HIF-1 способен активировать транскрипцию генов, которые играют важную роль в регуляции пролиферации клеток (IGF-2, p21), в апоптозе (BNIP3 и BNIP3L), клеточной миграции и инвазии (виментин, матриксная металлопротеиназа-2, рецептор хемокина CXCR4), регуляции уровня pH (карбоангидраза-9). Отмечена важная роль HIF-1 в регуляции метаболизма глюкозы в процессе гликолиза путем увеличения экспрессии переносчиков глюкозы (Glut-1, 3) и ферментов гликолиза: гексокиназы 1 и 2 (HK-1, 2), фосфофруктокиназы-1 (PFK-1) и др. Важная роль HIF-1 в условиях И-Р показана на различных животных моделях [38, 39].

Механизм регуляции HIF-1 основан на ингибировании его транскрипционной активности в результате окисления в условиях нормальной концентрации кислорода в клетках. На первом этапе в результате воздействия O₂, Fe²⁺ и/или аскорбатзависимых пролилгидроксилаз-1-3 (PHD1-3) гидроксигированию подвергаются остатки про-

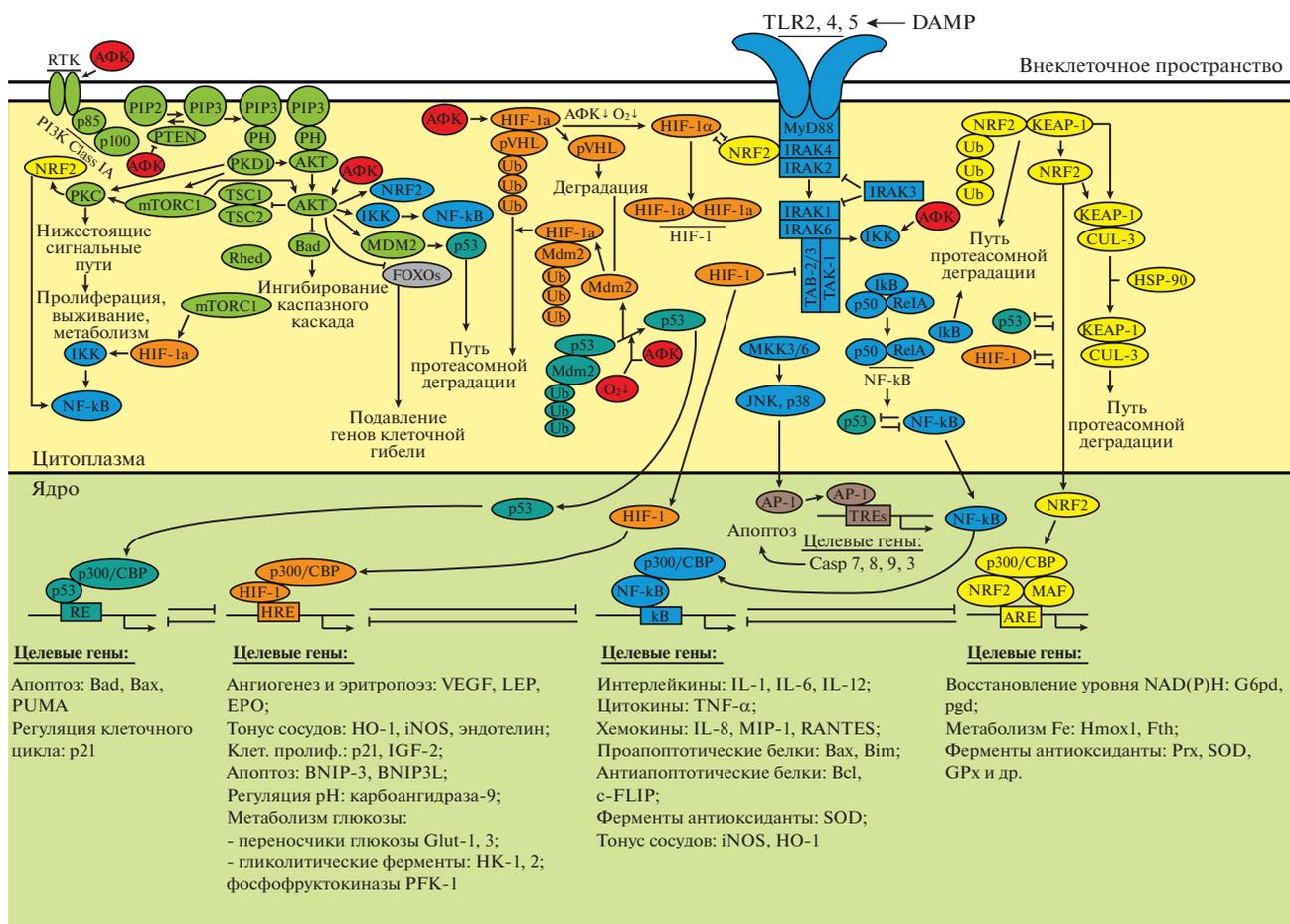


Рис. 2. Основные сигнально-регуляторные пути клетки и некоторые целевые гены, контролируемые транскрипционными факторами (HIF-1α, NF-κB, p53 и NRF2) при ишемии-реперфузии. Стрелки указывают на стимулирующий эффект. Линии с перпендикулярной черточкой – ингибирующий эффект.

лина в α-субъединице HIF-1. Гидроксилированные остатки пролина взаимодействуют с белком pVHL (von Hippel-Lindau tumor suppressor protein), который в составе комплекса с элонгинами C и B, куллином (CUL2) и активной убиквитинлигазой E3 участвует в убиквитинировании α-субъединицы HIF-1, подготавливая ее к деградации 26S протеасомой. Схожий механизм обнаружен и у белка FHN (Factor Inhibiting HIF), катализирующего реакцию гидроксилирования Asn803 в HIF-1α, однако этот белок (в отличие от PND) в малой степени зависит от концентрации кислорода, но в большей степени зависит от концентрации АФК. В результате указанных реакций подавляется транскрипционная активность HIF-1, который утрачивает способность взаимодействовать с коактиватором p300/CBP [43]. В условиях ишемии (со снижением парциального давления O₂) происходит стабилизация и накопление HIF-1α с последующей его димеризацией с HIF-1β, который постоянно синтезируется в клетке независимо от концентрации кислорода. Образовавшийся гетеро-

димер HIF-1α/β транслицируется в ядро клетки, где связывается с консенсусной последовательностью 5-(A/G)CGTG-3 внутри области HRE (Hypoxia-Response Element), что активирует транскрипцию целевых генов.

Фактор HIF-1 может регулироваться также посредством взаимодействия с различными киназами (MAPK, PI3K/AKT/mTOR) и другими транскрипционными факторами (p53, Мус, AP-1, NRF-2 и NF-κB) [43].

В ряде работ показано, что фактор NF-κB может быть прямым модулятором экспрессии HIF-1 не только в ответ на такие стимулы, как TNF-α и H₂O₂, но и на гипоксию [41, 42].

Взаимная регуляция факторов HIF-1α и p53 в условиях И-Р может осуществляться двумя способами: 1) посредством конкуренции p53 и HIF-1 за общий коактиватор транскрипции CBP/p300, присутствующей в ограниченном количестве (определяющим фактором при этом является тяжесть гипоксии); 2) посредством того, что субъ-

единица HIF-1 α может взаимодействовать с E3 убиквитин-лигазой Mdm2 и снижать протеасомную деградацию p53, увеличивая тем самым его транскрипционную активность. Стоит также отметить, что p53 регулирует содержание белка Mdm2 на уровне транскрипции по принципу обратной связи [46].

Взаимодействие между HIF-1 и NRF2 зависит не только от АФК, но и от сложной сети передачи сигналов, точный механизм которой установлен не полностью [47]. Показано также, что ингибитор NRF2 – брусатол, подавляет HIF-1 α в клетках рака толстой кишки, способствуя его деградации в протеасомах [48]. Стоит отметить, что эти сигнальные пути не всегда работают согласованно. На культуре эндотелиальных клеток показано, что стабилизация HIF-1 α подавляет передачу сигналов NRF2 через транскрипционный фактор Bach1, тогда как индукция NRF2 андрографолидом снижает экспрессию HIF-1 α [49].

Взаимодействие между HIF-1 α и сигнальным путем PI3K/Akt/mTOR осуществляется главным образом через комплекс mTORC1. mTORC1 регулирует HIF- α преимущественно за счет повышения фосфорилирования белка 4E-BP1, а также трансляцию HIF-1 α , действуя через киназу S6K1 [50].

Транскрипционный фактор NRF2

Помимо HIF, особое место в регуляции клеточного гомеостаза в условиях И-Р отводится транскрипционному фактору NRF2, который регулирует экспрессию более 1000 генов, участвующих в клеточной пролиферации, метаболизме, иммунном ответе и передаче сигналов. NRF2 играет ключевую роль в регуляции экспрессии генов, связанных с окислительно-восстановительным гомеостазом [51], таких как гены, ответственные за восстановление уровня NADPH (*G6pd*, *Pgd*, *Idh1*, *Me1*), метаболизм железа (*Hmox1*, *Ftl*, *Fth*), нейтрализацию свободнорадикальных и пероксидных АФК (*PRDX*, *SOD*, *GPX*) и т.д. [52].

Важность защитного действия NRF2 показана на модели И-Р сердца [53]. Обнаружено значительное снижение степени повреждения миокарда и сокращение восстановительного периода в группе мышей, получавших сероводород или 4-гидрокси-2-ноненаль для активации NRF2 перед этапом реперфузии [54].

NRF2 контролирует различные клеточные процессы, поэтому в зависимости от конкретных условий регуляция NRF2 может осуществляться на разных этапах сигнальных каскадов с участием множества киназ и других транскрипционных факторов. Например, транскрипционная активность NRF2 может регулироваться такими факторами, как Ahr, PPAR γ , Sp-1, p53, MEF2D, c-Jun, c-Myc, BRCA1, HIF-1 и NF- κ B [52, 53].

Важнейшую роль в регуляции транскрипционной активности NRF2 играет NF- κ B, который конкурентно взаимодействует с их общим коактиватором – CBP/p300. В результате увеличение уровня NF- κ B подавляет экспрессию гена *NRF2* и наоборот [52]. Помимо этого, в комплексе с белком HDAC (**H**istone **D**e**A**cetylase) NF- κ B может регулировать транскрипцию генов, контролируемых NRF2, путем деацетилирования гистонов в области ARE (**A**ntioxidant **R**esponse **E**lement), препятствуя связыванию NRF2 и запуску экспрессии целевых генов [57]. Обратным примером является ситуация, когда NRF2 при участии белка RAC1 (GTPase **R**as-related **C**3 botulinum toxin substrate 1) ингибирует NF- κ B, снижая тем самым его провоспалительную активность [58].

Регулировать NRF2 может также белок p53, который функционирует в качестве репрессора транскрипции генов, содержащихся в области ARE, что приводит к снижению транскрипционной активности NRF2. Кроме того (как и в случае с NF- κ B), взаимная регуляция NRF2 и p53 может происходить в результате конкуренции за общий коактиваторный белок CBP/p300 [56, 57].

NRF2-ARE-зависимые антиоксидантные функции могут регулироваться с помощью сигнального пути PI3K/AKT. На культуре эпителиальных клеток сетчатки (ARPE-19) показано, что ингибирование сигнального пути PI3K/AKT вортманнином и LY294002 приводит к снижению транскрипционной активности NRF2. Кроме того, NRF2 способен регулировать собственную экспрессию через ARE-подобный элемент, расположенный в проксимальной области его промотора, приводя к “затяжной” индукции его целевых генов [61]. Показано также, что в регуляции транскрипции NRF2 участвуют различные эпигенетические механизмы, такие как метилирование промотора *NRF2* в островках CpG, метилирование гистонов H3 и ацетилирование гистонов H4 [62].

На посттрансляционном уровне NRF2 регулируется путем протеасомной деградации его главного ингибитора – KEAP1 (**K**elch-like **E**CH-**a**ssociated **p**rotein 1). В нормальных условиях одна молекула NRF2 ассоциирована с двумя молекулами ингибитора KEAP1. Комплекс NRF2-KEAP1 подвергается убиквитинированию, что приводит к его быстрой деградации в протеасомах. В условиях повышенного уровня АФК в клетке остатки цистеина в молекулах KEAP1 окисляются, что приводит к изменению их конформации и диссоциации комплекса KEAP1-NRF2. Освободившаяся молекула NRF2 стабилизируется и транслируется в ядро, где связывается с элементами ARE в геномной ДНК и запускает транскрипцию целевых генов. Помимо KEAP1, активность NRF2 может регулироваться такими белками, как β TrCP, CRIF1 (CR6-interacting Factor 1), HRd1 и

WDR23. Кроме того, в условиях окислительного стресса активность NRF2 может регулироваться путем посттрансляционной модификации – фосфорилированием Ser40 в домене Neh2 протеинкиназой С (PKC) [52].

Транскрипционный фактор NF-κB

Важную роль в регуляции клеточных процессов в условиях окислительного стресса играют не только факторы HIF-1 и NRF2, но и семейство фактора NF-κB. Этот фактор способен регулировать экспрессию более 100 генов, ответственных за иммунные реакции, пролиферацию и регенерацию. К числу генов, наиболее значимых в условиях И-Р, относятся гены цитокинов (IL-1, IL-6, IL-12, TNF-α/β), хемокинов (IL-8, MIP1, RANTES), проапоптотических белков (Bax, Vim), антиапоптотических белков (Bcl, c-FLIP, TRAF), ферментов антиоксидантной защиты (SOD), регуляторов тонуса сосудов (iNOS, HO-1, адреномодулин, эндотелин-1) и молекул клеточной адгезии (E-селектин, VCAM-1) [63].

Семейство NF-κB состоит из пяти белков: p50 (и его предшественник p105), p52 (и его предшественник p100), p65 (RelA), c-Rel и RelB, образующих до 15 комбинаций различных димеров. Гомодимеры p50 и p52 подавляют экспрессию генов, тогда как p65, c-Rel и RelB в любых сочетаниях (в том числе и с p50, и с p52) активируют транскрипцию [64]. Белки семейства Rel содержат домен RHD (Rel Homology Domain) – высококонсервативную N-концевую последовательность из ~300 аминокислотных остатков, необходимую для образования белковых димеров, связывания NF-κB с IκB, а также для транслокации в ядро клетки. Кроме RHD, эти белки содержат сигнал ядерной локализации NLS (Nuclear Localizing Signal), необходимые для ядерной транслокации [65].

Основными регуляторами NF-κB в нормальных условиях являются его ингибиторы – белки семейства IκB (IκB-α, IκB-β, IκB-γ, IκB-δ, IκB-ε и Bcl-3), все члены которого содержат от пяти до семи анкириновых повторов (Ankyrin Repeat Domain – ARD), которые опосредуют взаимодействие с областью RHD в NF-κB, обеспечивая тем самым его цитоплазматическую локализацию [66].

В условиях И-Р наблюдается увеличение содержания различных клеточных индукторов, таких как АФК, TNF-α, IL-1, способных (например, посредством сигнального пути TLR (Toll-like receptor)) активировать специфические IκB-киназы (IKK), катализирующие реакцию фосфорилирования остатков серина в области SRR (Signal Responsive Regions) IκB (например, Ser32 и Ser36 в IκBα). После этого фосфорилированные IκB модифицируются убиквитинлигазами семейства SCF или SCRF и направляются, в конечном сче-

те, на деградацию в 26S протеасому. В результате высвобожденный NF-κB транслоцируется в ядро, где связывается с консенсусной последовательностью (5'-GGGRNNYYCC-3', где R – пурин, Y – пиримидин, а N – любое основание) в области κB, стимулируя тем самым транскрипцию целевых генов [67].

Фактор NF-κB может регулироваться такими транскрипционными факторами, как AP-1, p53, NRF2, HIF-1, PI3K/Akt/mTOR и др. NF-κB взаимодействует с транскрипционным фактором AP-1 с помощью киназы ASK-1 с последующей активацией нижестоящих сигнальных каскадов (МКК4, МКК3/6, p38, JNK), в результате чего осуществляется регуляция роста, дифференцировки и апоптоза [68]. В свою очередь, ASK-1 активируется при окислении остатков цистеина под действием АФК [69]. Аналогичным образом происходит опосредованная АФК активация AP-1 – посредством окисления остатков цистеина с последующей активацией протеинкиназ (PTK, PKC, MAPK), фосфорилирующих c-Fos и c-Jun. AP-1 модулируется также путем окисления с последующим глутатионилированием остатков цистеина в семи субъединицах c-Fos и c-Jun. В свою очередь, AP-1 оказывает влияние на NF-κB [67, 68].

В регуляции NF-κB по эволюционно-консервативному механизму отрицательной обратной связи могут участвовать также киназы IKK/ТАК-1 и HIF-1. В ряде случаев HIF-1 регулирует NF-κB с помощью циклинзависимой киназы-6 (CDK-6) совместно с ингибитором p21, а также посредством активации TNF-α и IL-1β, мощных индукторов NF-κB [72].

Взаимная регуляция факторов NF-κB и p53 в условиях И-Р может осуществляться в результате конкуренции за общий коактиватор p300/CBP, причем эта конкуренция определяется тяжестью гипоксического состояния клетки. Стоит отметить, что способность p53 связываться с ДНК (консенсусная последовательность 5'-PuPuPuC(A/T)(A/T)GPyPyPy-3') и активировать транскрипцию жестко регулируется посттрансляционными модификациями, важная роль среди которых принадлежит редокс-регуляции [73, 74]. NF-κB/RelA и p53 могут ингибировать активность друг друга путем прямого взаимодействия, в ходе которого образуются гетеродимеры/тетрамеры. Показано, что обработка культуры клеток индуктором p53 подавляет экспрессию генов-мишеней NF-κB [75, 76].

Регулировать NF-κB может также киназа АКТ – ключевой компонент сигнального пути PI3K/AKT/mTOR: АКТ фосфорилирует киназы IKKα и IKKβ, индуцируя тем самым их взаимодействие с IκB, что приводит к активации и ядерной транслокации NF-κB [77].

Сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR

Важным регулятором внутриклеточных процессов в условиях И-Р является сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR, центральные компоненты которого – фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K), киназы AKT и mTOR, регулируют клеточные процессы настолько взаимосвязанно, что их рассматривают как единый сигнальный путь. Взаимная связанность этих процессов имеет решающее значение для осуществления различных функций клетки, таких как регуляция метаболизма, пролиферация и репарация [78].

PI3K (фосфатидилинозитол-3-киназа) – первый основной элемент сигнального пути PI3K/AKT/mTOR, входит в семейство липидкиназ, способных катализировать перенос γ -фосфатной группы от АТФ в положение D3 фосфоинозитидов. Выделяют три класса PI3K, которые различаются строением, субстратной специфичностью и функциям в клетке [79]. Киназы PI3K класса I изучены наиболее полно и представляют наибольший интерес в этом сигнальном пути. Отличительная особенность киназ данного класса состоит в том, что они представляют собой гетеродимеры, содержащие две субъединицы – каталитическую (p110) и регуляторную (p85). В составе PI3K класса I выделяют два подкласса: IA и IB. Киназа подкласса IA состоит из одной регуляторной субъединицы, представленной пятью изоформами (p85 α , p55 α , p50 α , p85 β или p55 γ), и одной каталитической, имеющей три изоформы (p110 α , p110 β или p110 δ). PI3K подкласса IB – это гетеродимерный белок, состоящий из регуляторного белка p101 (или p84) и связанной с ним каталитической субъединицы p110 γ . PI3K активируется в результате взаимодействия с АФК и мембранной рецепторной тирозинкиназой (RTK, **R**ecptor **T**yrosine **K**inases) или PDGFR (**P**latelet **D**erived **G**rowth **F**actor **R**ecptor). На внутренней поверхности мембраны клеток происходит активация субъединицы p100, которая катализирует реакцию образования ключевого вторичного посредника фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфата (PtdIns(3,4,5)P₃) из фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата (PtdIns(4,5)P₂). Образовавшийся PtdIns(4,5)P₃ взаимодействует с плекстрин-гомологичным (PH) доменом сигнальных киназ, таких как AKT и PDK1 (**P**hosphoinositide-**D**ependent **K**inase) [79–81].

AKT – это серин/треониновая протеинкиназа, второй ключевой элемент сигнального пути PI3K/AKT/mTOR, активация которой инициируется транслокацией в цитоплазматическую мембрану. Эта транслокация опосредована взаимодействием PH-домена AKT (находящегося в N-концевой области) с PtdIns(4,5)P₃ на мембране клетки. В мембране AKT фосфорилируется по двум аминокислотным остаткам – Thr308 в киназном до-

мене (киназой PDK-1) и Ser473 в гидрофобном мотиве (комплексом mTORC2) [78]. Активированный фосфорилированием AKT перемещается из мембраны в цитоплазму и ядро клетки, приобретает способность взаимодействовать с различными транскрипционными факторами, такими как FoxO (**F**orkhead **b**ox protein **O**), HIF-1, NRF2, NF- κ B, mTOR и др. и регулировать широкий спектр клеточных процессов: синтез белка, репарацию, пролиферацию и др. [82]. Так, показано [83], что путь PI3K/AKT/FoxO3a участвует в регуляции апоптоза нейронов в развивающемся мозге крысы. Активированный AKT фосфорилирует FoxO3a, что приводит к локализации FoxO3a в цитоплазме и ингибированию апоптоза [84]. Показано, что активаторы сигнального пути PI3K/AKT/FoxO3a: STS (**S**odium **T**anshinone **I**A **S**ulfonate) и бромелаин защищают сердце крысы от И-Р-поражения [85]. Уровни белков AKT и HIF-1 α увеличиваются в ответ на гипоксию в мезенхимальных стволовых клетках человека, где уровень фосфорилированного AKT достигал пика раньше, чем HIF-1 α [86]. Установлено [87, 88], что ингибитор PI3K (LY294002) и двойной ингибитор PI3K/mTOR (NVP-BEZ235) могли подавлять активацию AKT, экспрессию HIF-1 α и VEGF при ишемии. В свою очередь, это увеличивает тяжесть заболевания. Подавлять экспрессию HIF-1 α может также вортманнин – ингибитор AKT [86].

mTOR – третий ключевой компонент сигнального пути PI3K/AKT/mTOR, играет важную роль в регуляции роста и пролиферации клеток. mTOR участвует в мониторинге доступности питательных веществ, уровней клеточной энергии, кислорода и митогенных сигналов [89]. mTOR принадлежит к группе Ser/Thr-протеинкиназ суперсемейства PI3K класса IV. mTOR входит в состав двух разных комплексов – mTORC1 и mTORC2. Комплекс mTORC1 состоит из каталитической субъединицы mTORC1, Raptor (**r**egulatory **a**ssociated **p**rotein of **mTOR**), PRAS40 (proline-rich AKT substrate 40 kDa), mLST8 (mammalian lethal with Sec13 protein 8), или G β L и PRAS40 (proline-rich PKB/AKT substrate 40 kDa). Этот комплекс является основным нижестоящим эффектором передачи сигналов от AKT и активируется посредством AKT-опосредованного ингибирования PRAS40 и TSC1-TSC2. В зависимости от условий mTORC1 контролирует широкий перечень клеточных процессов, фосфорилируя белки S6K, 4E-BP1, IKK, а также усиливая экспрессию фактора HIF-1 α [90, 91]. Комплекс mTORC2 состоит из субъединицы mTOR, Rictor (**r**apamycin **i**nsensitive **c**ompanion of **mTOR**), mSIN1 (mammalian stress-activated protein kinase (SAPK)-interacting protein 1), Protor (protein observed rictor) и mLST8/G β L. Регуляторная активность mTORC2 не зависит от mTORK1. Считается, что mTORC2 опосредует

пролиферацию, выживание, организацию актинового скелета и метаболизм липидов путем фосфорилирования белков-мишеней, которые включают в себя АКТ, SGK (*serum-/glucocorticoid-induced protein kinase*) и некоторые виды РКС [92].

Передача сигналов в пути PI3K/АКТ/mTOR негативно регулируется с помощью опухолевых супрессорных фосфатаз, инозитолполифосфат-4-фосфатазы типа 2 (INPP4B) и гомолога тензина (PTEN), способных превращать PtdIns(3,4,5)P₃ в PtdIns(3)P. Известно также, что PTEN может окисляться и ингибироваться H₂O₂, приводя к активации PI3K/АКТ/mTOR. Показано, что PTEN может взаимодействовать с пероксиредоксином 1 (Prx1), защищая таким образом свой липидфосфатазный участок, локализованный в N-концевом домене, от инактивирующего действия H₂O₂ [93]. Установлено также, что активированная S6K (Ribosomal S6 Kinase p70, p70S6K) способна негативно регулировать PI3K/АКТ/mTOR путем фосфорилирования mTORC2, что приводит к снижению mTORC2-зависимого фосфорилирования Ser472 в составе АКТ [94].

СПОСОБЫ КОРРЕКЦИИ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННЫХ ПАТОЛОГИЙ

Гипотермия

Понижение температуры органа, подверженного И-Р, является одним из наиболее действенных подходов к снижению поражения тканей. Этот прием используется в трансплантологии еще с середины 20 века. Гипотермия обеспечивает обратимое снижение активности ферментных систем (особенно это важно в случае оксидаз) и скорости клеточного метаболизма в целом, а также минимизирует потребность тканей в кислороде [95]. Например, при снижении температуры до +4°C активность ферментов составляет всего 10% от исходных значений, а потребность тканей в кислороде снижается на 80–90%, что позволяет уменьшить тем самым энергетический дефицит [96]. Снижение активности оксидаз при гипотермии снижает продукцию АФК на стадии ишемии, а также тяжесть реперфузионного периода. Кроме того, гипотермия замедляет процессы деградации клеточных компонентов (активации протеаз и т.д.), стабилизирует мембрану клеток и снижает развитие острых воспалительных процессов на стадии реперфузии [97, 98]. Гипотермия оказалась эффективным нейрозащитным подходом при моделируемом на животных ишемическом инсульте [99]. Клинические исследования показали также лучшие неврологические исходы у пациентов с риском ишемического поражения головного мозга при использовании лечебной гипотермии [100]. Важно отметить, что применение

гипотермии недостаточно для эффективного сохранения ишемизированных органов, так как И-Р-поражение развивается также при восстановлении кровотока по мере согревания тканей. Кроме того, при гипотермии нарушается работа ионных каналов. Например, нарушение функции Ca²⁺-каналов вызывает перегрузку внутриклеточного кальция, что приводит к нарушению многих внутриклеточных процессов и развитию серьезных клеточных повреждений. Подавление активности АТР-зависимых Na⁺/K⁺-каналов приводит к перетоку ионов Na⁺ и Cl⁻ вместе с водой из внеклеточного пространства во внутриклеточное, что может вызывать клеточный отек. Проблему отека изолированных органов при гипотермии отчасти решают добавлением в перфузирующий раствор сахаров (глюкоза, трегалоза, раффиноза) или маннитола, которые не проникают пассивно в клетки и удерживают внеклеточную воду, предотвращая тем самым отек клеток [101]. В качестве примера можно привести кардиоплегический раствор Кустадиол (Custodiol, или НТК – *Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate*), который нашел широкое применение при холодовой консервации донорских органов (сердце, почки, печень). Кустадиол, благодаря высокой концентрации калия (9 мМ), вызывает остановку сердца за счет деполяризации мембраны кардиомиоцитов, что снижает расход АТР и потребность клеток в кислороде. Высокое содержание гистидина (198 мМ) снижает ацидоз, вызванный накоплением анаэробных метаболитов во время длительного ишемического периода; кетоглутарат (1 мМ) способствует синтезу АТР на стадии реперфузии; триптофан (2 мМ) стабилизирует клеточную мембрану, а маннитол (30 мМ) уменьшает клеточный отек и нейтрализует свободные радикалы [102].

Интересно отметить, что гибернирующие млекопитающие (такие, как суслики) испытывают экстремальное понижение температуры тела (от 2 до 10°C) и проявляют высокую устойчивость к И-Р-поражению печени, сердца и тонкого кишечника во время зимней спячки. Потребление кислорода в тканях таких животных снижается до 2–3% от нормальных значений, при этом происходит переключение с углеводного обмена на липидный для обеспечения клеток энергией [103–105]. Такое метаболическое переключение снижает активность гликолиза и образование лактата, препятствуя тем самым развитию ацидоза (см. выше). Кроме того, увеличение метаболизма липидов приводит к образованию кетоновых тел и активации рецепторов PPAR (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptors*), которые защищают от И-Р-повреждения, модулируя экспрессию многих генов [106].

В настоящее время ведется поиск веществ, способных вызвать гипотермию, для клинического применения. Например, гипотермию могут

вызывать гормон желудка грелин, 5'-AMP, 3-йодтирозамин (Т1АМ) и газ H₂S. Механизмы действия таких соединений до конца не изучены, однако нет сомнений, что глубокое понимание этих механизмов позволит разработать новые медицинские стратегии [105].

Ишемическое пре- и посткондиционирование

Кроме гипотермии, одним из эффективных методов защиты тканей от И-Р-поражений является впервые испытанное в 1986 г. ишемическое прекондиционирование (ИПК), которое позволяет активировать эндогенную систему антиоксидантной защиты (в первую очередь, ферменты-антиоксиданты), способствуя увеличению устойчивости клеток к АФК на стадии реперфузии [107]. Методологически ИПК представляет собой серию (3–4 цикла) коротких этапов ишемии (3–5 мин) с последующей реперфузией (5 мин). На различных животных моделях И-Р-поражения сердца, почек, печени, легких, кишечника, мозга убедительно показано, что такая “подготовка” к более длительной ишемии способствует существенному сохранению тканей. Например, четыре коротких эпизода окклюзии коронарной артерии, чередующиеся с пятиминутными периодами реперфузии перед длительной (40 мин) ишемией сердца, уменьшали зону инфаркта на 70–80% [108]. ИПК может осуществляться с применением как физиологических приемов (кратковременная окклюзия сосудов), так и с помощью фармакологических препаратов. Среди препаратов, вызывающих эффект прекондиционирования, можно отметить аденозин, агонисты рецепторов аденозина, препараты, открывающие K⁺АТР-каналы (никорандил), доноры оксида азота (нитриты), агонисты РКС (кальфостин С), соединения лития (ингибиторы киназы гликогенсинтазы-3β (GSK-3β)), ингаляционные анестетики (изофлюран) и др. [103, 105, 106].

Однако применение ИПК не всегда возможно, так как этот подход работает только непосредственно перед ишемией, при развитии окислительного стресса после реперфузии он неэффективен. Отчасти эта проблема решается с помощью ишемического посткондиционирования (ИПостК) – метода, успешно примененного на миокарде крыс в 2003 г. [111]. ИПостК представляет собой серию коротких ишемических стимулов (например, три цикла: 30 с ишемия, 30 с реперфузия), выполненных в раннем реперфузионном периоде, что, как и в случае ИПК, запускает, вероятно, эндогенные защитные механизмы [108, 109]. ИПостК более привлекателен для клинического применения, поскольку его можно быстро вызвать в начале реперфузии с помощью серии коротких циклов И-Р после серьезного ишемического события. На сегодняшний день изучены различные

способы фармакологического ИПостК, а также проведены доклинические испытания некоторых препаратов на животных моделях. К таким препаратам относятся агенты, воздействующие на различные рецепторы (аденозиновые, α-адренергические, опиоидные, брадикининовые, эстрогеновые) или активирующие различные сигнальные пути клетки PI3K/AKT (GY4137, генистеин), N1F-1α (севофлуран), GSK3β (сфингозин-1-фосфат – S1P), JNK (морфин, налоксон) [113].

Ингибиторы оксидаз

Одним из наиболее эффективных подходов к предотвращению И-Р-поражений принято считать ингибирование некоторых ключевых оксидаз, таких как ХО, NADPH-оксидазы (NOX/DUOX) и моноаминоксидазы (МАО). Эти оксидазы провоцируют стремительный рост уровня АФК в ишемизированных тканях на стадии реперфузии, причем не только в месте развития ишемии. Например, ХО может попадать в плазму крови и связываться с поверхностью эндотелия сосудов органов, не подверженных ишемии, вызывая тем самым системное повреждение. Показано, что иммуноблокада с помощью антител к циркулирующей в плазме ХО защищает легочное сосудистое русло от пагубного воздействия И-Р-поражения кишечника [114]. Как отмечено ранее, ХО – патологический вариант ХДН, образующийся либо в результате окисления остатков цистеина, либо частичного протеолиза кальпаинами. ХО – гомодимерная молибден-содержащая оксидоредуктаза, содержащая дополнительные кофакторы: железосерный кластер ферредоксина (2Fe-2S) и FAD. ХО окисляет пурины (гипоксантин и ксантин) до мочевой кислоты, используя при этом в сопряженной реакции вместо NAD⁺ (как и ХДН) молекулярный кислород O₂, который окисляет до O₂⁻. Показано, что применение ингибиторов ХО позволяет существенно снизить индуцированную И-Р проницаемость сосудов и снизить тяжесть И-Р-повреждений [115]. При этом эффективность таких ингибиторов зависит как от их природы, так и от патологии, при которой их применяют. Например, пуриновые ингибиторы (неокисляемые аналоги гипоксантина – аллопуринол и оксипуринол) более эффективно предотвращают развитие сердечно-сосудистых патологий, чем непуринные (фебуксостат и топироксостат) [116].

Ингибиторы NADPH-оксидаз относятся к наиболее перспективным терапевтическим средствам при заболеваниях, связанных с окислительным стрессом. В норме NADPH-оксидазы (преимущественно NOX2) участвуют в иммунной защите организма в случае так называемого кислородного взрыва в фагоцитах, при котором в 10–20 раз увеличивается потребление O₂ и его

окисление до супероксидного анион-радикала ($\text{NADPH} + 2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{O}_2^- + \text{NADP}^+ + \text{H}^+$). NADPH-оксидаза (NOX) состоит из цитозольных (p47phox, p67phox, p40phox и Rac) и мембранных субъединиц (gp91phox и p22phox). Во время активации NOX (в том числе при ишемии) цитозольные субъединицы фосфорилируются киназами, мигрируют к плазматической мембране для “стыковки” с мембранными субъединицами и образуют многокомпонентный фермент, генерирующий O_2^- [117]. Следует также отметить, что в области ишемии развиваются провоспалительные процессы, которые способствуют активации NOX в полиморфноядерных нейтрофилах. Таким образом, NOX играют ключевую роль в генерации O_2^- на стадии реперфузии [118, 119]. Первые ингибиторы NADPH-оксидаз (апоцинин и дифенилениодоний) не проявляли достаточной селективности к различным изоформам NOX. Новые селективные ингибиторы NOX, такие как GKT137831, ML171 и VAS2870, более специфичны и селективны в отношении различных изоформ NADPH-оксидаз. С помощью рационального дизайна разработан селективный ингибитор NOX2 — 18-членный пептид NOX2ds-tat, содержащий последовательность из 9 аминокислотных остатков внутриклеточной В-петли NOX2, которая связывает белок-организатор p47phox, тем самым предотвращая сборку активного комплекса NOX2 [120]. Вторая часть пептида (TAT-фрагмент трансактиватора транскрипции ВИЧ) обеспечивает проникновение всего пептида в клетку. NOX2ds-tat показал свою эффективность в условиях *in vivo* на животных моделях [119]. Таким образом, разработка изоформ-специфичных ингибиторов NOX позволит избирательно подавлять изоформы NOX, активация которых выявлена при определенных патологиях. На сегодняшний день препарат GKT137831 (специфический ингибитор NOX1/4) является первым ингибитором NOX, проходящим клинические испытания в качестве средства для лечения идиопатического легочного фиброза [115, 117].

Еще один важный источник АФК при И-Р-поражениях — флавоферменты MAO, расположенные на внешней мембране митохондрий, которые катализируют окислительное дезаминирование катехоламинов, серотонина и биогенных аминов. В ходе дезаминирования, катализируемого MAO, образуется соответствующий альдегид, а также H_2O_2 и аммиак или замещенный амин, в зависимости от субстрата. Гиперактивация MAO и рост количества продуктов их катализа негативно влияют на функцию митохондрий и жизнеспособность клетки в целом. Избыточную активность MAO связывают с различными патологическими состояниями [122, 123]. Важная роль MAO в мета-

болизме нейротрансмиттеров сделала их терапевтическими мишенями при глубокой депрессии и болезни Паркинсона, а также при других нейродегенеративных заболеваниях. Уже в конце 1950-х годов было одобрено применение первых ингибиторов MAO при глубокой депрессии. Обнаружение двух изоферментов MAO (MAO-A и MAO-B) с различной субстратной избирательностью и тканевой экспрессией привело к новым терапевтическим подходам и разработке новых классов ингибиторов (обратимых/необратимых). В настоящее время различные ингибиторы MAO проходят испытания в качестве средств для лечения болезни Альцгеймера, бокового амиотрофического склероза и сердечно-сосудистых заболеваний [124].

Доноры сероводорода

Долгое время сероводород (H_2S) считали токсичным газом, который обратимо ингибирует цитохром-*c*-оксидазу (COX) ЭТЦ митохондрий, тем самым подавляя окислительные фосфорилирование и снижая уровень АТФ. В настоящее время H_2S рассматривается как третий сигнальный газотрансмиттер (после NO и CO), выполняющий широкий спектр физиологических и патофизиологических функций в организме. Сегодня убедительно показано, что применение H_2S и его предшественников может оказывать защитный эффект при реперфузионном повреждении.

В норме H_2S вырабатывается различными типами клеток и может легко диффундировать (как и в случае с NO и CO) во внутриклеточном и межклеточном пространстве, не нуждаясь в транспортерах. Снижение уровня H_2S в организме связывают с развитием целого ряда патологических состояний, таких как гипертония, сахарный диабет, атеросклероз, сердечная недостаточность, сепсис, воспаление, катаракта, астма и нейродегенеративные заболевания [125]. Напротив, при избыточной продукции H_2S (например, при трисомии хромосомы 21) прогрессирование таких свободнорадикальных патологий, как атеросклероз, происходит медленнее [126]. H_2S снижает образование окисленных липопротеинов низкой плотности (oxLDL), подавляет экспрессию сквенджер-рецепторов (ответственных за накопление oxLDL), препятствуя тем самым образованию пенных клеток из макрофагов и прогрессированию атеросклероза [125].

В низких концентрациях H_2S стимулирует деятельность митохондрий, выступая в качестве донора электронов с эффектом, сравнимым с работой NADH или FADH_2 . На стадии ишемии H_2S может способствовать поддержанию энергетического гомеостаза, снижая негативное влияние гипоксии [127], участвуя в регуляции активности

нейронов, вазодилатации сосудов, регуляции уровня глюкозы [128]. Кроме того, благодаря беспрепятственной диффузии, H_2S влияет и на другие регуляторные молекулы [129]. В частности, взаимодействуя с остатками цистеина, H_2S влияет на активность важнейшего регулятора антиоксидантного ответа NRF2 [130], АТР-чувствительные калиевые каналы митохондрий (КАТР) [131], рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) [132] и рецептор фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR) [133]. Показано, что H_2S увеличивает экспрессию VEGF, действуя через сигнальный путь PI3K/АКТ и активацию HIF-1 α , стимулируя тем самым ангиогенез [134]. H_2S способствует повышению уровня глутатиона (GSH) и антиоксидантных белков (гемоксигеназа-1, глутатион-S-трансферазы и тиоредоксин-1) в клетке. Кроме того, через опосредованные АКТ сигнальные пути H_2S подавляет открытие митохондриальной поры (mPTP), высвобождение цитохрома c и активацию каспаз, тем самым препятствуя развитию апоптоза [135].

Появляется все больше доказательств того, что H_2S может защищать от И-Р-повреждения различные органы и ткани (сердце, печень, почки, мозг, легкие, кишечник и др.) [136]. Газ H_2S достаточно сложно дозировать из-за его летучести, высокой растворимости и скорости диффузии, что может привести к токсическому действию. В этой связи разработаны соединения, которые постепенно высвобождают H_2S . На сегодняшний день известно более 60 таких веществ, которые можно разделить на два основных типа: 1) истинные доноры H_2S и 2) гибридные препараты, содержащие другое действующее вещество [128]. В качестве доноров H_2S широко используются неорганические соли: сульфиды (Na_2S , CaS), гидросульфиды ($NaHS$) и тиосульфаты ($Na_2S_2O_3$). При этом максимальная концентрация H_2S , высвобождаемого из таких солей, достигается за несколько секунд—минут, следовательно, эффективное время пребывания H_2S в пораженных тканях очень короткое. Идеальные доноры H_2S для терапевтических целей должны генерировать H_2S с относительно медленным высвобождением и более длительным временем пребывания в организме. За последнее время разработаны и синтезированы различные гибридные препараты, медленно высвобождающие H_2S и при этом оказывающие антиапоптотическое, противовоспалительное и антиоксидантное действие [128, 136].

Возможность использования H_2S и его предшественников при И-Р-повреждениях нуждается в дальнейшем изучении, так как до сих пор известны не все молекулярные мишени H_2S , а долгосрочные последствия применения доноров H_2S не исследованы. Вероятно, создание новых эф-

фективных доноров H_2S , подбор оптимальных способов их применения (способы введения, временной диапазон применения, эффективные концентрации и т.д.) позволит внедрить их в клиническую практику.

Препараты, направленные на митохондрии

Как отмечалось ранее, митохондрии — основной источник АФК в клетке. При И-Р роль митохондрий как источника энергии, АФК и важнейшего регулятора программируемой клеточной гибели (митофагии, аутофагии и апоптоза) многократно возрастает. Хорошо известно, что в гибели клеток с участием митохондрий ведущую роль играет mPTP [8]. Избыток Ca^{2+} в матриксе митохондрий, возникающий при дисфункции ионных каналов, инициирует открытие mPTP и гибель клеток. При этом открытие mPTP является мощным стимулом образования митохондриальных АФК, которые, в свою очередь, усиливают открытие mPTP и провоцируют взрывной рост АФК [137]. Таким образом, открытие mPTP приводит к митохондриальной дисфункции и, в конечном счете, к гибели клетки. Поэтому mPTP, как объект фармакологического воздействия, представляет значительный интерес [138]. Следует отметить, что точная структура mPTP до сих пор не определена. Не вызывает сомнений, что mPTP — это комплекс белков внешней и внутренней мембраны митохондрий. При этом единственным точно установленным компонентом, входящим в mPTP, является циклофилин D (CypD), который в присутствии ионов Ca^{2+} стимулирует перестройку комплекса белков, ответственных за формирование канала mPTP [139], поэтому большинство известных ингибиторов mPTP нацелены на CypD. Современные ингибиторы mPTP можно разделить на две большие категории: 1) ингибирующие CypD и 2) ингибирующие mPTP через CypD-независимые механизмы [140].

Одним из первых обнаруженных ингибиторов CypD был циклоспорин А (CsA). Первые клинические испытания CsA показали, что его введение в ходе чрескожного коронарного вмешательства приводит к 40%-ному уменьшению размера инфаркта у пациентов с реперфузионным повреждением [141]. Однако более масштабные и детальные клинические исследования не позволили выявить статистически значимой разницы между контрольной (плацебо) и экспериментальной группами с применением CsA, что может быть связано с узким терапевтическим окном и побочным иммуносупрессивным действием CsA. Создание полусинтетических модифицированных форм CsA (NIM-811, Debio025/alisporivir), не обладающих иммуносупрессивными свойствами, отчасти решает эту проблему и позволяет наде-

яться на появление новых эффективных ингибиторов mPTP.

Первым SupD-независимым ингибитором, который связывается с белком-транслокаторм TSP0 (известным также как периферический бензодиазепиновый рецептор – PBR), находящимся на внешней мембране митохондрий, стал TRO-40303. Однако в дальнейшем установили, что TSP0 не участвует в образовании mPTP, а клинические испытания предсказуемо показали его неэффективность. В настоящее время активно изучают другие SupD-независимые ингибиторы mPTP (ER-000444793, GNX-4975, GNX-4728 и др.), которые, возможно, будут более эффективно подавлять открытие mPTP [140, 142].

Сегодня развиваются также альтернативные подходы к ингибированию открытия mPTP, направленные на процессы (сигнальные пути), предшествующие открытию mPTP. К таким подходам относятся модуляция окислительно-восстановительного состояния митохондрий, коррекция/защита функции ЭТЦ митохондрий, а также регуляция концентрации внутриклеточного и митохондриального Ca^{2+} [140].

Антиоксиданты

Как отмечено ранее, в основе патогенеза И-Р-поражения лежит гиперпродукция АФК на стадии реперфузии и развитие окислительного стресса. С помощью электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) показано, что образование свободнорадикальных форм АФК (в первую очередь O_2^-) в ишемизированных тканях миокарда начинается уже в первые секунды реперфузии [143]. На более поздних стадиях реперфузии в тканях, подверженных И-Р-поражению, детектируются характерные продукты свободнорадикального окисления липидов (МДА, 4-гидроксиноненаль, акролеин), белков (карбонильные модификации) и нуклеиновых кислот (8-оксо-dG) [31]. Такие окислительные модификации приводят к дисфункции биологических макромолекул, накоплению мутаций и, в конечном счете, к гибели клетки.

В многочисленных экспериментах показано, что животные, имеющие дефицит антиоксидантов (как низкомолекулярных, так и ферментов), более чувствительны к действию И-Р. Напротив, животные с суперэкспрессией ферментов-антиоксидантов (SOD, GPx, Prx) проявляют устойчивость к И-Р [144].

Низкомолекулярные антиоксиданты. Одними из первых соединений, изученных в начале 50-х годов 20 века в качестве антиоксидантов и радиопротекторов, в частности, были цистеин, глутатион, цистамин и их аналоги. Самыми эффективными оказались соединения, содержащие сульфгид-

рильную и аминогруппу, из которых наиболее известны N-ацилцистеин, цистамин, меркаптопропионилглицин, производные тиомочевины, бигуаниды, диэтилдитиокарбамат и 2-меркаптоэтансульфонат натрия [145]. Приведем несколько примеров применения низкомолекулярных антиоксидантов при И-Р-поражениях.

Внутривенное введение N-ацетилцистеина при аортокоронарном шунтировании приводило к почти двукратному снижению уровня супероксидного анион-радикала (O_2^-), H_2O_2 и гипохлорита ($HOCl^-$) в пробах крови пациентов [146]. Кроме того, применение N-ацетилцистеина в период реперфузии статистически значимо снижало уровень МДА в крови, тогда как уровень активности антиоксидантных ферментов (SOD и GPx) при этом значимо повышался [147].

Метформин, изначально применяемый при сахарном диабете типа 2, проявляет плеiotропный эффект [148]. В частности, в серии исследований показано, что метформин может предотвращать реперфузионное повреждение сердца. Оказалось, что метформин ингибирует комплекс I в ЭТЦ митохондрий, подавляя тем самым производство АФК и оказывая антиоксидантный эффект, способствуя снижению повреждений в реперфузионный период [149]. Кроме того, кардио-защитный эффект метформина при ишемии опосредован активацией протеинкиназы AMPK (5'-AMP-активируемая киназа) [150].

На сегодняшний день одобрено клиническое применение мощного антиоксиданта – эдаравона, который подавляет образование АФК, открытие mPTP и запуск ферроптоза [151]. Эдаравон проявил высокую эффективность в различных моделях И-Р-поражения: мозга, сердца, печени, почек и легких [140, 152–154].

Особое место среди низкомолекулярных антиоксидантных препаратов занимают митохондриально-направленные соединения. К таким препаратам относятся хиноны: MitoQ10 (на основе убихинона), SkQ и его производные (на основе пластохинона), подавляющие генерацию O_2^- в ЭТЦ митохондрий [151, 152]. Защитный эффект этих веществ показан на различных клеточных и животных моделях патологических состояний, связанных с окислительным стрессом (И-Р-поражения, сахарный диабет, нейродегенеративные заболевания, старение и т.д.). Например, обнаружен защитный эффект SkQR1 при И-Р-поражении почек и мозга лабораторных животных [155–159].

Селен-содержащие соединения. Изучение селен-содержащих соединений выявило перспективность их применения при И-Р-повреждениях. Использование селен-содержащих продуктов позволяет повысить активность ферментов (в первую очередь, селен-содержащих глутатионпе-

роксидаз), содержащих селеноцистеин, что особенно важно в условиях хронического окислительного стресса (например, при воспалительных процессах). Однако важно отметить достаточно узкий диапазон допустимой концентрации селена, который, с одной стороны, покрывает дефицит селена, а с другой — не оказывает токсического действия. В этой связи для терапевтического применения селена очень важно подобрать оптимальную дозу препарата [160]. По-видимому, наибольший интерес представляет селен в форме наночастиц, учитывая их большую биодоступность и безопасность. Высокая эффективность наночастиц селена показана на моделях И-Р-поражения мозга [161].

Миметики антиоксидантных ферментов. Миметики ферментов, представляют собой низкомолекулярные соединения, имитирующие активность ферментов. В настоящее время известны миметики SOD, CAT и GPx. Одними из первых были синтезированы миметики SOD — комплексы органических соединений с ионами железа, меди, цинка, никеля и марганца. Комплексы марганца более предпочтительны, поскольку марганец лучше переносится клетками и не катализирует реакции Фентона и Габера—Вейса, генерирующие образование высокорекрационного и токсичного гидроксильного радикала HO[•]. Известные миметики MnSOD включают комплексы марганца с такими соединениями, как порфирины, салены, циклические полиамины, фталоцианины или пептидные лиганды [162]. Некоторые миметики SOD обладают несколькими антиоксидантными активностями. Например, EUK-134, комплекс ароматического соединения с марганцем, проявляет не только супероксид-дисмутазную активность, но и пероксидазную, оказывая тем самым мощный антиоксидантный эффект [163, 164]. В настоящее время ведутся активные работы по синтезу новых миметиков SOD [165].

На сегодняшний день известно более 70 селен-содержащих органических соединений, которые обладают антиоксидантными свойствами. Эбселен, имитирующий активность GPx, показал многообещающие результаты в ряде исследований [166]. Показано, что эбселен эффективно восстанавливает пероксид водорода и пероксинитрит, благодаря чему защищает почки от окислительного повреждения после ишемии. Кроме того, применение эбселена улучшает состояние головного мозга пациентов, перенесших окклюзионную ишемию [167]. Ведутся работы по получению аналогов эбселена с новыми фармакологическими свойствами [168].

Некоторые наночастицы оксидов металлов, таких как CeO₂, TiO₂ и Fe₃O₄, проявляют антиоксидантные свойства, имитируя ферменты-антиоксиданты. Простой способ получения таких со-

единений, относительно низкая токсичность, гибкость в их модификации возможность делает их привлекательными для применения в различных областях, в том числе в биомедицине [169].

Миметики представляют значительный интерес для применения в лечении патологий, связанных с окислительным стрессом, так как, обладая схожими каталитическими свойствами с имитируемыми ферментами-антиоксидантами, они имеют относительно малые размеры и благодаря этому легче проникают в клетки. Однако, несмотря на ряд преимуществ миметиков по сравнению с исходными ферментами, в условиях *in vivo* они оказываются малостабильными. Кроме этого, миметики все же уступают исходным ферментам по активности, а в ряде случаев могут проявлять токсичность [170].

Экзогенные ферменты-антиоксиданты. Несомненно, наиболее эффективным способом элиминации АФК является ферментативный катализ. Среди ферментов-антиоксидантов наиболее известны SOD, CAT, (GPx), глутатион-S-трансферазы (GST), тиоредоксины (Trx), пероксиредоксины (Prdx) и др. Несмотря на широкий спектр известных ферментов антиоксидантного действия, лишь немногие из них нашли практическое применение.

SOD относится к важнейшим антиоксидантным ферментам, осуществляющим дисмутацию супероксид анион-радикала в менее опасный пероксид водорода: $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ (SOD). Уже спустя 5 лет после открытия SOD (1969 г.) и понимания их важнейшей функции в клетке, были предприняты попытки их применения для коррекции лучевой болезни. Применение экзогенных SOD для коррекции И-Р-поражений началось значительно позже (1987 г.). Эксперименты на животных моделях И-Р показали, что применение экзогенной Cu/Zn-содержащей SOD уменьшает реперфузионное повреждение тканей: желудка [171], сердца [172], почек [173] и головного мозга [174]. В связи с тем, что время полужизни экзогенной Cu/Zn-SOD в крови животных составляет всего около 6 мин, первые результаты хоть и обнадеживали исследователей, но зачастую были противоречивыми. Модификация SOD с помощью ковалентной сшивки с полиэтиленгликолем (PEG) увеличивала период полураспада до 25–36 ч [175]. PEG-модифицированные Cu/Zn-SOD были успешно испытаны в экспериментальных моделях И-Р мышц [176], сердца [177], мозга [178, 179], печени [180] и почек [173]. Применение PEG-Cu/Zn-SOD существенно снизило уровень перекисного окисления липидов, способствовало сохранению нормальной морфологии тканей и функции ишемизированных органов. Аналогичные эксперименты проведены с Mn-содержащей SOD. На животной модели остро-

го почечного поражения показана нефропротекторная активность рекомбинантной Mn-SOD человека [181]. Разработка новых подходов и способов применения SOD остается перспективным направлением для профилактики/лечения И-Р-поражений [182].

Уже в ранних работах по применению SOD в качестве антиоксидантов при И-Р-поражениях было предложено одновременно применять каталазу [183], которая нейтрализует образующийся пероксид водорода: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ (CAT). Позднее были проведены испытания как исходных форм SOD и CAT, так и их конъюгированных и модифицированных форм, которые показали высокую эффективность химерных ферментов (SOD и CAT) [184].

Пероксиредоксины (Prdx) – сравнительно недавно открытые ферменты, относятся к эволюционно древней группе тиоредоксин-подобных пероксидаз. Для катализа Prdx используют консервативный остаток Cys в активном центре. Эффективность катализа Prdx ниже, чем у CAT или селен-содержащих GPx, однако Prdx проявляют максимальную активность при физиологически допустимых микромолярных (до 200 мкМ) концентрациях гидропероксидов, в отличие от CAT и GPx (проявляют активность в миллимолярных концентрациях, которые практически не встречаются в живой клетке) [144]. При этом Prdx обладают наиболее широкой среди всех известных пероксидаз субстратной специфичностью. Prdx способны восстанавливать различные неорганические (H_2O_2 , пероксинитрит) и органические (алкилгидропероксиды, пероксиды фосфолипидов и т.д.) гидропероксиды, тем самым играя важную роль в регуляции редокс-гомеостаза клетки. Кроме пероксидазной функции, Prdx проявляют шаперонную, фосфолипазную, сигнально-регуляторную и иммуномодулирующую активность [144, 185, 186]. Учитывая вышесказанное, применение Prdx для нейтрализации окислительного стресса представляется перспективным подходом. Действительно, на животных моделях И-Р-поражения было показано, что введение пероксиредоксинов и их модифицированных форм (в том числе химерный белок, содержащий MnSOD и Prdx6) [187–189] до реперфузионного периода существенно снижает ишемическое поражение сердца [184, 185], кишечника [186, 187] и почек [190–192]. Экзогенные Prdx подавляют окислительные процессы и способствуют сохранению морфофункционального состояния ишемизированных тканей, увеличивая выживаемость экспериментальных животных. Помимо нейтрализации гидропероксидов, экзогенные Prdx вызывают индукцию экспрессии NO-синтаз в ишемизированных тканях и последующий рост уровня NO в крови, что приводит к вазодилата-

ции сосудов, подавлению тромбообразования и быстрой нормализации микроциркуляции кровотока при И-Р [193, 194].

Активному внедрению ферментов-антиоксидантов препятствует их ограниченная биодоступность и недостаточная стабильность. Однако генно-инженерные и биохимические методы модификации белков позволяют успешно решить эти проблемы. Генно-инженерные подходы позволяют получать ферменты с РТD-пептидами (РТD – Protein Transduction Domain), которые обеспечивают их проникновение в клетки и тем самым расширяют биодоступность [195]. Конъюгирование ферментов с полиэтиленгликолем или сахарами (галактозой или маннозой) позволяет существенно повысить устойчивость к действию протеаз и в несколько раз увеличить время их действия в организме [171, 192]. Инкапсуляция ферментов в наночастицы, гидрогели или липосомы позволяет защитить их от действия протеаз и увеличить время полужизни белков [196, 197]. Помимо инкапсуляции, эффективным способом доставки ферментов-антиоксидантов является их сорбция на поверхности наночастиц, которые сами могут обладать антиоксидантным потенциалом (наночастицы оксида/фторида церия, селена и т.д.), что может оказывать синергичный эффект [198]. Имобилизация ферментов-антиоксидантов на суперпарамагнитных наночастицах оксида железа (SPION) позволяет значительно повысить эффективность их терапевтического действия при последующем их введении в организм и удержании с помощью внешнего магнитного поля в зоне ишемического поражения, [199].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, И-Р-поражение представляет собой сложный каскад взаимосвязанных патологических молекулярно-клеточных событий, включающий нарушения аэробного метаболизма, осмотического, ионного и окислительно-восстановительного гомеостаза, а также развитие острых иммунных реакций.

Несмотря на длительное и всестороннее исследование патогенеза И-Р-поражений, очевидно, что многие молекулярные механизмы еще ждут своего открытия. Глубокое понимание этих механизмов позволит более точно прогнозировать течение заболеваний, патогенез которых связан с И-Р-поражением, а также будет способствовать поиску новых эффективных стратегий лечения.

Рассмотренные современные подходы к предупреждению и лечению И-Р-поражений не позволяют в должной мере защитить пораженные ткани и органы. Наиболее перспективным представляется использование комбинации препара-

- lik T.M., Murphy M.P., Heger M. (2019) The damage-associated molecular pattern HMGB1 is released early after clinical hepatic ischemia/reperfusion. *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Basis Dis.* **1865**, 1192–1200.
10. Gong L., Pan Q., Yang N. (2020) Autophagy and inflammation regulation in acute kidney injury. *Front. Physiol.* **11**, 576463.
 11. Воробьева Н.В. (2020) Нейтрофильные внеклеточные ловушки: новые аспекты. *Вестн. Моск. ун-та Сер. 16 Биология.* **75**, 210–225.
 12. Kim S.W., Lee H., Lee H.K., Kim I.D., Lee J.K. (2019) Neutrophil extracellular trap induced by HMGB1 exacerbates damages in the ischemic brain. *Acta Neuropathol. Commun.* **7**, 94.
 13. Raedschelders K., Ansley D.M., Chen D.D.Y. (2012) The cellular and molecular origin of reactive oxygen species generation during myocardial ischemia and reperfusion. *Pharmacol. Ther.* **133**, 230–255.
 14. Zhou T., Chuang C.C., Zuo L. (2015) Molecular characterization of reactive oxygen species in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Biomed. Res. Int.* **2015**, 864946.
 15. Bugger H., Pfeil K. (2020) Mitochondrial ROS in myocardial ischemia reperfusion and remodeling. *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Basis Dis.* **1866**, 165768.
 16. Matsushima S., Sadoshima J. (2022) Yin and Yang of NADPH oxidases in myocardial ischemia–reperfusion. *Antioxidants.* **11**, 1069.
 17. Lambeth J.D., Krause K.H., Clark R.A. (2008) NOX enzymes as novel targets for drug development. *Semin. Immunopathol.* **30**, 339–363.
 18. Loukogeorgakis S.P., Van Den Berg M.J., Sofat R., Nitsch D., Charakida M., Haiyee B., De Groot E., MacAllister R.J., Kuijpers T.W., Deanfield J.E. (2010) Role of NADPH oxidase in endothelial ischemia/reperfusion injury in humans. *Circulation.* **121**, 2310–2316.
 19. Nakagiri A., Sunamoto M., Murakami M. (2007) NADPH oxidase is involved in ischaemia/reperfusion-induced damage in rat gastric mucosa via ROS production – role of NADPH oxidase in rat stomachs. *Inflammopharmacology.* **15**, 278–281.
 20. Förstermann U., Sessa W.C. (2012) Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur. Heart J.* **33**, 829–837.
 21. Xu F., Mack C.P., Quandt K.S., Schlafer M., Massey V., Hultquist D.E. (1993) Pyrroloquinoline quinone acts with flavin reductase to reduce ferryl myoglobin *in vitro* and protects isolated heart from reoxygenation injury. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **193**, 434–439.
 22. McLeod L.L., Alayash A.I. (1999) Detection of a ferrylhemoglobin intermediate in an endothelial cell model after hypoxia-reoxygenation. *Am. J. Physiol – Heart Circ. Physiol.* **277**, H92–H99.
 23. Ruan Y., Zeng J., Jin Q., Chu M., Ji K., Wang Z., Li L. (2020) Endoplasmic reticulum stress serves an important role in cardiac ischemia/reperfusion injury (Review). *Exp. Ther. Med.* **20**, 260.
 24. Zhou H., Toan S. (2020) Pathological roles of mitochondrial oxidative stress and mitochondrial dynamics in cardiac microvascular ischemia/reperfusion injury. *Biomolecules.* **10**, 85.
 25. Lipskaia L., Keuylia Z., Blirando K., Mougnot N., Jacquet A., Rouxel C., Sghairi H., Elaib Z., Blaise R., Adnot S., Hajjar R.J., Chemaly E.R., Limon I., Bobe R. (2014) Expression of Sarco (Endo) plasmic reticulum calcium ATPase (SERCA) system in normal mouse cardiovascular tissues, heart failure and atherosclerosis. *Biochim. Biophys. Acta.* **1843**, 2705.
 26. Wang R., Wang M., He S., Sun G., Sun X. (2020) Targeting calcium homeostasis in myocardial ischemia/reperfusion injury: an overview of regulatory mechanisms and therapeutic reagents. *Front. Pharmacol.* **11**, 1–14.
 27. Adams C.J., Kopp M.C., Larburu N., Nowak P.R., Ali M.M.U. (2019) Structure and molecular mechanism of ER stress signaling by the unfolded protein response signal activator IRE1. *Front. Mol. Biosci.* **6**, 1–12.
 28. Kaul S., Methner C., Cao Z., Mishra A. (2022) Mechanisms of the “No-Reflow” phenomenon after acute myocardial infarction. *JACC Basic to Transl. Sci.* **8**, 204–220.
 29. Edwards N.J., Hwang C., Marini S., Pagani C.A., Spreadborough P.J., Rowe C.J., Yu P., Mei A., Visser N., Li S., Hespe G.E., Huber A.K., Strong A.L., Shelef M.A., Knight J.S., Davis T.A., Levi B. (2020) The role of neutrophil extracellular traps and TLR signaling in skeletal muscle ischemia reperfusion injury. *FASEB J.* **34**, 15753–15770.
 30. Arlati S. (2019) Pathophysiology of acute illness and injury. In *Operative Techniques and Recent Advances in Acute Care and Emergency Surgery*. Cham: Springer Internat. Publ., 11–42.
 31. Granger D.N., Kvietys P.R. (2015) Reperfusion injury and reactive oxygen species: the evolution of a concept. *Redox Biol.* **6**, 524–551.
 32. Tennant D., Howell N.J. (2014) The role of HIFs in ischemia-reperfusion injury. *Hypoxia.* **2**, 107–115.
 33. Silva-Islas C.A., Maldonado P.D. (2018) Canonical and non-canonical mechanisms of Nrf2 activation. *Pharmacol. Res.* **134**, 92–99.
 34. Toth R., Warfel N. (2017) Strange bedfellows: nuclear factor, erythroid 2-like 2 (Nrf2) and hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) in tumor hypoxia. *Antioxidants.* **6**, 27.
 35. Gallagher B.M., Phelan S.A. (2007) Investigating transcriptional regulation of Prdx6 in mouse liver cells. *Free Radic. Biol. Med.* **42**, 1270–1277.
 36. Park Y.-H., Kim S.-U., Kwon T.-H., Kim J.-M., Song I.-S., Shin H.-J., Lee B.-K., Bang D.-H., Lee S.-J., Lee D.-S., Chang K.-T., Kim B.-Y., Yu D.-Y. (2016) Peroxiredoxin II promotes hepatic tumorigenesis through cooperation with Ras/Forkhead box M1 signaling pathway. *Oncogene.* **35**, 3503–3513.
 37. Guo Q.J., Mills J.N., Bandurraga S.G., Nogueira L.M., Mason N.J., Camp E.R., Larue A.C., Turner D.P.,

- Findlay V.J. (2013) MicroRNA-510 promotes cell and tumor growth by targeting peroxiredoxin1 in breast cancer. *Breast Cancer Res.* **15**, R70.
38. Hopkins B.L., Nadler M., Skoko J.J., Bertomeu T., Pelosi A., Shafaei P.M., Levine K., Schempf A., Penarun B., Yang B., Datta D., Bucur O., Ndebele K., Oesterreich S., Yang D., Rizzo M.G., Khosravi-Far R., Neumann C.A. (2018) A peroxidase peroxiredoxin 1-specific redox regulation of the novel FOXO3 microRNA target let-7. *Antioxid. Redox Signal.* **28**, 62–77.
39. Joris V., Gomez E.L., Menchi L., Lobysheva I., Di Mauro V., Esfahani H., Condorelli G., Balligand J.-L., Catalucci D., Dessy C. (2018) MicroRNA-199a-3p and microRNA-199a-5p take part to a redundant network of regulation of the NOS (NO synthase)/NO pathway in the endothelium. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **38**, 2345–2357.
40. Zheng J., Chen P., Zhong J., Cheng Y., Chen H., He Y., Chen C. (2021) HIF-1 α in myocardial ischemia-reperfusion injury (Review). *Mol. Med. Rep.* **23**, 1–9.
41. Schellinger I.N., Cordasic N., Panesar J., Buchholz B., Jacobi J., Hartner A., Klanke B., Jakubiczka-Smorag J., Burzlaff N., Heinze E., Warnecke C., Raaz U., Willam C., Tsao P.S., Eckardt K.U., Amann K., Hilgers K.F. (2017) Hypoxia inducible factor stabilization improves defective ischemia-induced angiogenesis in a rodent model of chronic kidney disease. *Kidney Int.* **91**, 616–627.
42. Wigerup C., Pahlman S., Bexell D. (2016) Therapeutic targeting of hypoxia and hypoxia-inducible factors in cancer. *Pharmacol. Ther.* **164**, 152–169.
43. Koyasu S., Kobayashi M., Goto Y., Hiraoka M., Harada H. (2018) Regulatory mechanisms of hypoxia-inducible factor 1 activity: two decades of knowledge. *Cancer Sci.* **109**, 560–571.
44. BelAiba R.S., Bonello S., Zahringer C., Schmidt S., Hess J., Kietzmann T., Gorchach A. (2007) Hypoxia up-regulates hypoxia-inducible factor-1 transcription by involving phosphatidylinositol 3-kinase and nuclear factor B in pulmonary artery smooth muscle cells. *Mol. Biol. Cell.* **18**, 4691–4697.
45. van Uden P., Kenneth N.S., Webster R., Müller H.A., Mudie S., Rocha S. (2011) Evolutionary conserved regulation of HIF-1 β by NF- κ B. *PLoS Genet.* **7**, e1001285.
46. Zhang C., Liu J., Wang J., Zhang T., Xu D., Hu W., Feng Z. (2021) The interplay between tumor suppressor p53 and hypoxia signaling pathways in cancer. *Front. Cell Dev. Biol.* **9**, 648808.
47. Potteti H.R., Noone P.M., Tamatam C.R., Ankireddy A., Noel S., Rabb H., Reddy S.P. (2021) Nrf2 mediates hypoxia-inducible HIF1 α activation in kidney tubular epithelial cells. *Am. J. Physiol. Am. J. Physiol – Heart Circ. Physiol. Ren. Physiol.* **320**, F464–F474.
48. Cai S.J., Liu Y., Han S., Yang C. (2019) Brusatol, an NRF2 inhibitor for future cancer therapeutic. *Cell Biosci.* **9**, 9–11.
49. Burgos R.A., Alarcón P., Quiroga J., Manosalva C., Hancke J. (2021) Andrographolide, an anti-inflammatory multitarget drug: all roads lead to cellular metabolism. *Molecules.* **26**, 5.
50. Lin J., Fan L., Han Y., Guo J., Hao Z., Cao L., Kang J., Wang X., He J., Li J. (2021) The mTORC1/eIF4E/HIF-1 α pathway mediates glycolysis to support brain hypoxia resistance in the Gansu Zokor, *Eospalax cansus*. *Front. Physiol.* **12**, 626240.
51. Zang H., Mathew R.O., Cui T. (2020) The dark side of Nrf2 in the heart. *Front. Physiol.* **11**, 1–8.
52. He F., Ru X., Wen T. (2020) NRF2, a transcription factor for stress response and beyond. *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 1–23.
53. Calvert J.W., Jha S., Gundewar S., Elrod J.W., Ramachandran A., Pattillo C.B., Kevil C.G., Lefer D.J. (2009) Hydrogen sulfide mediates cardioprotection through Nrf2 signaling. *Circ. Res.* **105**, 365–374.
54. Howden R. (2013) Nrf2 and cardiovascular defense. *Oxid. Med. Cell Longev.* **2013**, 1–10.
55. Chen Q.M. (2021) Nrf2 for cardiac protection: pharmacological options against oxidative stress. *Trends Pharmacol. Sci.* **42**, 729–744.
56. Bardallo G.R., Panisello-Roselló A., Sanchez-Nuno S., Alva N., Roselló-Catafau J., Carbonell T. (2022) Nrf2 and oxidative stress in liver ischemia/reperfusion injury. *FEBS J.* **289**, 5463–5479.
57. Arfin S., Jha N.K., Jha S.K., Kesari K.K., Ruokolainen J., Roychoudhury S., Rathi B., Kumar D. (2021) Oxidative stress in cancer cell metabolism. *Antioxidants.* **10**, 167–197.
58. Saha S., Buttari B., Panieri E., Profumo E., Saso L. (2020) An overview of Nrf2 signaling pathway and its role in inflammation. *Molecules.* **25**, 1–31.
59. Wu J., Sun X., Jiang Z., Jiang J., Xu L., Tian A., Sun X., Meng H., Li Y., Huang W., Jia Y., Wu H. (2020) Protective role of NRF2 in macrovascular complications of diabetes. *J. Cell. Mol. Med.* **24**, 8903–8917.
60. Ganner A., Pfeiffer Z.C., Wingendorf L., Kreis S., Klein M., Walz G., Neumann-Haefelin E. (2020) The acetyltransferase p300 regulates NRF2 stability and localization. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **524**, 895–902.
61. Kim M.J., Jeon J.H. (2022) Recent advances in understanding Nrf2 agonism and its potential clinical application to metabolic and inflammatory diseases. *Int. J. Mol. Sci.* **23**, 2846.
62. Zhang J., Pan W., Zhang Y., Tan M., Yin Y., Li Y., Zhang L., Han L., Bai J., Jiang T., Li H. (2022) Comprehensive overview of Nrf2-related epigenetic regulations involved in ischemia-reperfusion injury. *Theranostics.* **12**, 6626–6645.
63. Ngo K.A., Kishimoto K., Davis-Turak J., Pimplaskar A., Cheng Z., Spreafico R., Chen E.Y., Tam A., Ghosh G., Mitchell S., Hoffmann A. (2020) Dissecting the regulatory strategies of NF- κ B RelA target genes in the inflammatory response reveals differential transactivation logics. *Cell Rep.* **30**, 2758–2775. e6.

64. Naguib S., Backstrom J.R., Gil M., Calkins D.J., Rex T.S. (2021) Retinal oxidative stress activates the NRF2/ARE pathway: an early endogenous protective response to ocular hypertension. *Redox Biol.* **42**, 101883.
65. Lu J., Wu T., Zhang B., Liu S., Song W., Qiao J., Ruan H. (2021) Types of nuclear localization signals and mechanisms of protein import into the nucleus. *Cell Commun. Signal.* **19**, 1–10.
66. Mulero M.C., Wang V.Y., Huxford T., Ghosh G. (2019) Genome reading by the NF- κ B transcription factors. *Nucl. Acids Res.* **47**, 9967–9989.
67. Albeni B.C. (2019) What is nuclear factor kappa B (NF- κ B) Doing in and to the mitochondrion? *Front. Cell. Dev. Biol.* **7**, 1–7.
68. Oeckinghaus A., Hayden M.S., Ghosh S. (2011) Crosstalk in NF- κ B signaling pathways. *Nat. Immunol.* **12**, 695–708.
69. Jarvis R.M., Hughes S.M., Ledgerwood E.C. (2012) Peroxiredoxin 1 functions as a signal peroxidase to receive, transduce, and transmit peroxide signals in mammalian cells. *Free Radic. Biol. Med.* **53**, 1522–1530.
70. Howell J.A., Bidwell G.L. (2020) Targeting the NF- κ B pathway for therapy of ischemic stroke. *Ther. Deliv.* **11**, 113–123.
71. Hasan A.A., Kalinina E., Tatarskiy V., Shtil A. (2022) The thioredoxin system of mammalian cells and its modulators. *Biomedicines.* **10**, 1757.
72. Ghosh R., Samanta P., Sarkar R., Biswas S., Saha P., Hajra S., Bhowmik A. (2022) Targeting HIF-1 α by natural and synthetic compounds: a promising approach for anti-cancer therapeutics development. *Molecules.* **27**, 1–37.
73. Shi T., Dansen T.B. (2020) Reactive oxygen species induced p53 activation: DNA damage, redox signaling, or both? *Antioxidants Redox Signal.* **33**, 839–859.
74. Eriksson S.E., Ceder S., Bykov V.J.N., Wiman K.G. (2019) P53 as a hub in cellular redox regulation and therapeutic target in cancer. *J. Mol. Cell. Biol.* **11**, 330–341.
75. Konrath F., Mittermeier A., Cristiano E., Wolf J., Loewer A. (2020) A systematic approach to decipher crosstalk in the p53 signaling pathway using single cell dynamics. *PLoS Comput. Biol.* **16**, 1–27.
76. Pan M., Blattner C. (2021) Regulation of P53 by E3S. *Cancers (Basel).* **13**, 1–43.
77. Ghoneum A., Said N. (2019) PI3K-AKT-mTOR and NF κ B pathways in ovarian cancer: implications for targeted therapeutics. *Cancers (Basel).* **11**, 1757.
78. Xu F., Na L., Li Y., Chen L. (2020) Roles of the PI3K/AKT/mTOR signalling pathways in neurodegenerative diseases and tumours. *Cell Biosci.* **10**, 1–12.
79. Yoshioka K. (2021) Class II phosphatidylinositol 3-kinase isoforms in vesicular trafficking. *Biochem. Soc. Trans.* **49**, 893–901.
80. Khan H., Singh A., Thapa K., Garg N., Grewal A.K., Singh T.G. (2021) Therapeutic modulation of the phosphatidylinositol 3-kinases (PI3K) pathway in cerebral ischemic injury. *Brain Res.* **1761**, 147399.
81. Walkowski B., Kleibert M., Majka M., Wojciechowska M. (2022) Insight into the role of the PI3K/Akt pathway in ischemic injury and post-infarct left ventricular remodeling in normal and diabetic heart. *Cells.* **11**, 1553.
82. Tsai P.J., Lai Y.H., Manne R.K., Tsai Y.S., Sarbassov D., Lin H.K. (2022) Akt: a key transducer in cancer. *J. Biomed. Sci.* **29**, 1–17.
83. Li D., Qu Y., Mao M., Zhang X., Li J., Ferriero D., Mu D. (2009) Involvement of the PTEN-AKT-FOXO3a pathway in neuronal apoptosis in developing rat brain after hypoxia-ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **29**, 1903–1913.
84. Yang S., Pang L., Dai W., Wu S., Ren T., Duan Y., Zheng Y., Bi S., Zhang X., Kong J. (2021) Role of forkhead box O proteins in hepatocellular carcinoma biology and progression (Review). *Front. Oncol.* **11**, 1–15.
85. Wu P., Du Y., Xu Z., Zhang S., Liu J., Aa N., Yang Z. (2019) Protective effects of sodium tanshinone IIA sulfonate on cardiac function after myocardial infarction in mice. *Am. J. Transl. Res.* **11**, 351–360.
86. Zhang Z., Yao L., Yang J., Wang Z., Du G. (2018) PI3K/Akt and HIF-1 signaling pathway in hypoxia-ischemia (Review). *Mol. Med. Rep.* **18**, 3547–3554.
87. Yang X.M., Wang Y.S., Zhang J., Li Y., Xu J.F., Zhu J., Zhao W., Chu D.K., Wiedemann P. (2009) Role of PI3K/Akt and MEK/ERK in mediating hypoxia-induced expression of HIF-1 α and VEGF in laser-induced rat choroidal neovascularization. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **50**, 1873–1879.
88. Karar J., Cerniglia G.J., Lindsten T., Koumenis C., Maity A. (2012) Dual PI3K/mTOR inhibitor NVP-BEZ235 suppresses hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α expression by blocking protein translation and increases cell death under hypoxia. *Cancer Biol. Ther.* **13**, 1102–1111.
89. Deng H., Chen Y., Li P., Hang Q., Zhang P., Jin Y., Chen M. (2023) PI3K/AKT/mTOR pathway, hypoxia, and glucose metabolism: potential targets to overcome radioresistance in small cell lung cancer. *Cancer Pathog. Ther.* **1**, 56–66.
90. Bouyahya A., El Allam A., Aboulaghra S., Bakrim S., El Menyiy N., Alshahrani M.M., Al Awadh A.A., Benali T., Lee L.-H., El Omari N., Goh K.W., Ming L.C., Mubarak M.S. (2022) Targeting mTOR as a cancer therapy: recent advances in natural bioactive compounds and immunotherapy. *Cancers (Basel).* **14**, 5520.
91. Kierans S.J., Taylor C.T. (2021) Regulation of glycolysis by the hypoxia-inducible factor (HIF): implications for cellular physiology. *J. Physiol.* **599**, 23–37.
92. Fu W., Hall M.N. (2020) Regulation of MTORC2 signaling. *Genes (Basel).* **11**, 1–19.

93. Huu T.N., Park J., Zhang Y., Park I., Yoon H.J., Woo H.A., Lee S.R. (2021) Redox regulation of PTEN by peroxiredoxins. *Antioxidants*. **10**, 1–14.
94. Wang Y., Zhang X., ling B., He C., Xia Q., Chen F., Miyamori I., Yang Z., Fan C. (2013) Molecular detection of trisomy 21 by bicolor competitive fluorescent PCR. *J. Clin. Lab. Anal.* **27**, 245–248.
95. Olthof P.B., Reiniers M.J., Dirkes M.C., Van Gulik T.M., Heger M., Van Golen R.F. (2015) Protective mechanisms of hypothermia in liver surgery and transplantation. *Mol. Med.* **21**, 833–846.
96. Jaeschke H., Woolbright B.L. (2012) Current strategies to minimize hepatic ischemia-reperfusion injury by targeting reactive oxygen species. *Transplant. Rev.* **26**, 103–114.
97. Deng H., Han H.S., Cheng D., Sun G.H., Yenari M.A. (2003) Mild hypothermia inhibits inflammation after experimental stroke and brain inflammation. *Stroke*. **34**, 2495–2501.
98. Sangaletti R., Tamames I., Yahn S.L., Choi J.S., Lee J.K., King C., Rajguru S.M. (2023) Mild therapeutic hypothermia protects against inflammatory and proapoptotic processes in the rat model of cochlear implant trauma. *Hear Res.* **428**, 108680.
99. Yanamoto H., Hong S.C., Soleau S., Kassell N.F., Lee K.S. (1996) Mild postischemic hypothermia limits cerebral injury following transient focal ischemia in rat neocortex. *Brain Res.* **718**, 207–211.
100. Polderman K.H. (2008) Induced hypothermia and fever control for prevention and treatment of neurological injuries. *Lancet*. **371**, 1955–1969.
101. Chen-Yoshikawa T.F. (2021) Ischemia–reperfusion injury in lung transplantation. *Cells*. **10**, 1333.
102. Edelman J.J.B., Seco M., Dunne B., Matzelle S.J., Murphy M., Joshi P., Yan T.D., Wilson M.K., Bannon P.G., Vallely M.P., Passage J. (2013) Custodiol for myocardial protection and preservation: a systematic review. *Ann. Cardiothorac. Surg.* **2**, 717–728.
103. Kurtz C.C., Lindell S.L., Mangino M.J., Carey H.V. (2006) Hibernation confers resistance to intestinal ischemia-reperfusion injury. *Am. J. Physiol. – Gastrointest. Liver Physiol.* **291**, 895–901.
104. Dark J. (2005) Annual lipid cycles in hibernators: Integration of physiology and behavior. *Annu. Rev. Nutr.* **25**, 469–497.
105. Andrews M.T. (2007) Advances in molecular biology of hibernation in mammals. *BioEssays*. **29**, 431–440.
106. Zingarelli B., Hake P.W., O'Connor M., Burroughs T.J., Wong H.R., Solomkin J.S., Lentsch A.B. (2009) Lung injury after hemorrhage is age dependent: role of peroxisome proliferator-activated receptor γ . *Crit. Care Med.* **37**, 1978–1987.
107. Plotnikov E.Y. (2021) Ischemic preconditioning of the kidney. *Bull. Exp. Biol. Med.* **171**, 567–571.
108. Kloner R.A., Jennings R.B. (2001) Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications. Part 1. *Circulation*. **104**, 2981–2989.
109. Yoon Y.E., Lee K.S., Choi K.H., Kim K.H., Yang S.C., Han W.K. (2015) Preconditioning strategies for kidney ischemia reperfusion injury: implications of the “time-window” in remote ischemic preconditioning. *PLoS One*. **10**, e0124130.
110. Lang J.A., Kim J. (2022) Remote ischaemic preconditioning – translating cardiovascular benefits to humans. *J. Physiol.* **600**, 3053–3067.
111. Zhao Z.Q., Corvera J.S., Halkos M.E., Kerendi F., Wang N.P., Guyton R.A., Vinten-Johansen J. (2003) Inhibition of myocardial injury by ischemic preconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am. J. Physiol. – Heart Circ. Physiol.* **285**, 579–588.
112. Sengul D. (2021) Connection of reactive oxygen species as an essential actor for the mechanism of phenomena; ischemic preconditioning and postconditioning: come to age or ripening? *North Clin. Istanbul*. **8**, 644–649.
113. Khan H., Kashyap A., Kaur A., Singh T.G. (2020) Pharmacological postconditioning: a molecular aspect in ischemic injury. *J. Pharm. Pharmacol.* **72**, 1513–1527.
114. Terada L.S., Guidot D.M., Leff J.A., Willingham I.R., Hanley M.E., Piermattei D., Repine J.E. (1992) Hypoxia injures endothelial cells by increasing endogenous xanthine oxidase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **89**, 3362–3366.
115. Cantu-Medellin N., Kelley E.E. (2013) Xanthine oxidoreductase-catalyzed reactive species generation: a process in critical need of reevaluation. *Redox Biol.* **1**, 353–358.
116. Bredemeier M., Lopes L.M., Eisenreich M.A., Hickmann S., Bongiorno G.K., D’Avila R., Morsch A.L.B., da Silva Stein F., Campos G.G.D. (2018) Xanthine oxidase inhibitors for prevention of cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Cardiovasc. Disord.* **18**, 1–11.
117. Rastogi R., Geng X., Li F., Ding Y. (2017) NOX activation by subunit interaction and underlying mechanisms in disease. *Front. Cell Neurosci.* **10**, 1–13.
118. Brandes R.P., Weissmann N., Schröder K. (2014) Nox family NADPH oxidases: molecular mechanisms of activation. *Free Radic. Biol. Med.* **76**, 208–226.
119. Waghela B.N., Vaidya F.U., Agrawal Y., Santra M.K., Mishra V., Pathak C. (2021) Molecular insights of NADPH oxidases and its pathological consequences. *Cell Biochem. Funct.* **39**, 218–234.
120. Csányi G., Cifuentes-Pagano E., Al Ghoulh I., Ranayhossaini D.J., Egaña L., Lopes L.R., Jackson H.M., Kelley E.E., Pagano P.J. (2011) Nox2 B-loop peptide, Nox2ds, specifically inhibits Nox2 oxidase. *Free Radic. Biol. Med.* **51**, 1116–1125.
121. Altenhöfer S., Radermacher K.A., Kleikers P.W.M., Wingler K., Schmidt H.H.H.W. (2015) Evolution of NADPH oxidase inhibitors: selectivity and mecha-

- nisms for target engagement. *Antioxid. Redox Signal.* **23**, 406–427.
122. Kaludercic N., Mialet-Perez J., Paolocci N., Parini A., Di Lisa F. (2014) Monoamine oxidases as sources of oxidants in the heart. *J. Mol. Cell Cardiol.* **73**, 34–42.
 123. Duicu O.M., Lighezan R., Sturza A., Ceausu R.A., Borza C., Vaduva A., Noveanu L., Gaspar M., Ionac A., Feier H., Muntean D.M., Mornos C. (2015) Monoamine oxidases as potential contributors to oxidative stress in diabetes: time for a study in patients undergoing heart surgery. *Biomed. Res. Int.* **2015**, 515437.
 124. Duarte P., Cuadrado A., León R. (2021) Monoamine oxidase inhibitors: from classic to new clinical approaches. *Handb Exp. Pharmacol.* **264**, 229–259.
 125. Stein A., Bailey S.M. (2013) Redox biology of hydrogen sulfide: Implications for physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Redox Biol.* **1**, 32.
 126. Kamoun P., Belardinelli M.-C., Chabli A., Lallouchi K., Chadefaux-Vekemans B. (2003) Endogenous hydrogen sulfide overproduction in Down syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* **116A**, 310–311.
 127. Szabo C., Ransy C., Módis K., Andriamihaja M., Murghes B., Coletta C., Olah G., Yanagi K., Bouillaud F. (2014) Regulation of mitochondrial bioenergetic function by hydrogen sulfide. Part I. Biochemical and physiological mechanisms. *Br. J. Pharmacol.* **171**, 2099.
 128. Wu D., Wang J., Li H., Xue M., Ji A., Li Y. (2015) Role of hydrogen sulfide in ischemia-reperfusion injury. *Oxid. Med. Cell Longev.* **2015**, 1–16.
 129. Szabo C., Papapetropoulos A. (2017) International union of basic and clinical pharmacology. CII: pharmacological modulation of H₂S levels: H₂S donors and H₂S biosynthesis inhibitors. *Pharmacol. Rev.* **69**, 497–564.
 130. Meng W., Pei Z., Feng Y., Zhao J., Chen Y., Shi W., Xu Q., Lin F., Sun M., Xiao K. (2017) Neglected role of hydrogen sulfide in sulfur mustard poisoning: Keap1 S-sulfhydration and subsequent Nrf2 pathway activation. *Sci. Rep.* **7**, 9433.
 131. Jiang B., Tang G., Cao K., Wu L., Wang R. (2010) Molecular mechanism for H₂S-induced activation of K(ATP) channels. *Antioxid. Redox Signal.* **12**, 1167–1178.
 132. Ge S.N., Zhao M.M., Wu D.D., Chen Y., Wang Y., Zhu J.H., Cai W.J., Zhu Y.Z., Zhu Y.C. (2014) Hydrogen sulfide targets EGFR Cys797/Cys798 residues to induce Na(+)/K(+)-ATPase endocytosis and inhibition in renal tubular epithelial cells and increase sodium excretion in chronic salt-loaded rats. *Antioxid. Redox Signal.* **21**, 2061–2082.
 133. Tao B.B., Liu S.Y., Zhang C.C., Fu W., Cai W.J., Wang Y., Shen Q., Wang M.J., Chen Y., Zhang L.J., Zhu Y.Z., Zhu Y.C. (2013) VEGFR2 functions as an H₂S-targeting receptor protein kinase with its novel Cys1045-Cys1024 disulfide bond serving as a specific molecular switch for hydrogen sulfide actions in vascular endothelial cells. *Antioxid. Redox Signal.* **19**, 448–464.
 134. Kai S., Tanaka T., Daijo H., Harada H., Kishimoto S., Suzuki K., Takabuchi S., Takenaga K., Fukuda K., Hirota K. (2012) Hydrogen sulfide inhibits hypoxia-but not anoxia-induced hypoxia-inducible factor 1 activation in a von Hippel-Lindau-and mitochondria-dependent manner. *Antioxid. Redox Signal.* **16**, 203–216.
 135. Wang D., Ma Y., Li Z., Kang K., Sun X., Pan S., Wang J., Pan H., Liu L., Liang D., Jiang H. (2012) The role of AKT1 and autophagy in the protective effect of hydrogen sulphide against hepatic ischemia/reperfusion injury in mice. *Autophagy.* **8**, 954–962.
 136. Wolfschmitt E.M., Hogg M., Vogt J.A., Zink F., Wachter U., Hezel F., Zhang X., Hoffmann A., Gröger M., Hartmann C., Gässler H., Datzmann T., Merz T., Hellmann A., Kranz C., Calzia E., Radermacher P., Messerer D.A.C. (2023) The effect of sodium thiosulfate on immune cell metabolism during porcine hemorrhage and resuscitation. *Front. Immunol.* **14**, 1–16.
 137. Zorov D.B., Juhaszova M., Sollott S.J. (2014) Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiol. Rev.* **94**, 909–950.
 138. Kent A.C., El Baradie K.B.Y., Hamrick M.W. (2021) Targeting the mitochondrial permeability transition pore to prevent age-associated cell damage and neurodegeneration. *Oxid. Med. Cell Longev.* **2021**, 6626484.
 139. Белослудцев К.Н., Дубинин М.В., Белослудцева Н.В., Миронова Г.Д. (2019) Транспорт ионов Ca²⁺ митохондриями: механизмы, молекулярные структуры и значение для клетки. *Биохимия.* **84**, 759–775.
 140. Briston T., Selwood D.L., Szabadkai G., Duchon M.R. (2019) Mitochondrial permeability transition: a molecular lesion with multiple drug targets. *Trends Pharmacol. Sci.* **40**, 50–70.
 141. Piot C., Croisille P., Staat P., Thibault H., Rioufol G., Mewton N., Elbelghiti R., Cung T.T., Bonnefoy E., Angoulvant D., Macia C., Raczka F., Sportouch C., Gahide G., Finet G., André-Fouët X., Revel D., Kirkorian G., Monassier J.-P., Derumeaux G., Ovize M. (2008) Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* **359**, 473–481.
 142. Rottenberg H., Hoek J.B. (2021) The mitochondrial permeability transition: nexus of aging, disease and longevity. *Cells.* **10**, 1–23.
 143. Zweier J.L., Flaherty J.T., Weisfeldt M.L. (1987) Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **84**, 1404–1407.
 144. Шарапов М.Г., Гудков С.В., Ланкин В.З. (2021) Гидропероксид-восстанавливающие ферментные системы в регуляции свободнорадикальных процессов. *Биохимия.* **86**, 1479–1501.

145. Гудков С.В., Попова Н.Р., Брусков В.И. (2015) Радиозащитные вещества: история, тенденции и перспективы. *Биофизика*. **60**, 801–811.
146. Orhan G., Yapici N., Yuksel M., Sargin M., Şenay Ş., Yalçın A.S., Aykaç Z., Aka S.A. (2006) Effects of N-acetylcysteine on myocardial ischemia-reperfusion injury in bypass surgery. *Heart Vessels*. **21**, 42–47.
147. Prabhu A., Sujatha D.I., Kanagarajan N., Vijayalakshmi M.A., Ninan B. (2009) Effect of N-acetylcysteine in attenuating ischemic reperfusion injury in patients undergoing coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass. *Ann. Vasc. Surg.* **23**, 645–651.
148. Karmanova E.E., Chernikov A.V., Popova N.R., Sharapov M.G., Ivanov V.E., Bruskov V.I. (2023) Metformin mitigates radiation toxicity exerting antioxidant and genoprotective properties. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol. AOP*, 1–12.
149. Mohsin A.A., Chen Q., Quan N., Rousselle T., Mac-eyka M.W., Samidurai A., Thompson J., Hu Y., Li J., Lesnefsky E.J. (2019) Mitochondrial complex I inhibition by metformin limits reperfusion injury. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **369**, 282–290.
150. Bu Y., Peng M., Tang X., Xu X., Wu Y., Chen A.F., Yang X. (2022) Protective effects of metformin in various cardiovascular diseases: clinical evidence and AMPK-dependent mechanisms. *J. Cell. Mol. Med.* **26**, 4886–4903.
151. Liu W., Wang L., Liu C., Dai Z., Li T., Tang B. (2022) Edaravone ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury by downregulating ferroptosis via the Nrf2/FPN pathway in rats. *Biol. Pharm. Bull.* **45**, 1269–1275.
152. Bailly C. (2019) Potential use of edaravone to reduce specific side effects of chemo-, radio- and immunotherapy of cancers. *Int. Immunopharmacol.* **77**, 105967.
153. Kassab A.A., Aboregela A.M., Shalaby A.M. (2020) Edaravone attenuates lung injury in a hind limb ischemia-reperfusion rat model: a histological, immunohistochemical and biochemical study. *Ann. Anat.* **228**, 151433.
154. Chen C., Li M., Lin L., Chen S., Chen Y., Hong L. (2021) Clinical effects and safety of edaravone in treatment of acute ischaemic stroke: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Clin. Pharm. Ther.* **46**, 907–917.
155. Fock E.M., Parnova R.G. (2021) Protective effect of mitochondria-targeted antioxidants against inflammatory response to lipopolysaccharide challenge: a review. *Pharmaceutics*. **13**, 1–24.
156. Skulachev V.P. (2013) Cationic antioxidants as a powerful tool against mitochondrial oxidative stress. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **441**, 275–279.
157. Plotnikov E.Y., Chupyrkina A.A., Jankauskas S.S., Pevzner I.B., Silachev D.N., Skulachev V.P., Zorov D.B. (2011) Mechanisms of nephroprotective effect of mitochondria-targeted antioxidants under rhabdomyolysis and ischemia/reperfusion. *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Basis. Dis.* **1812**, 77–86.
158. Silachev D.N., Isaev N.K., Pevzner I.B., Zorova L.D., Stelmashook E.V., Novikova S.V., Plotnikov E.Y., Skulachev V.P., Zorov D.B. (2012) The mitochondria-targeted antioxidants and remote kidney preconditioning ameliorate brain damage through kidney-to-brain cross-talk. *PLoS One*. **7**, e51553.
159. Plotnikov E.Y., Zorov D.B. (2019) Pros and cons of use of mitochondria-targeted antioxidants. *Antioxidants*. **8**, 4–9.
160. Venardos K., Kaye D. (2007) Myocardial ischemia-reperfusion injury, antioxidant enzyme systems, and selenium: a review. *Curr. Med. Chem.* **14**, 1539–1549.
161. Turovsky E.A., Mal'tseva V.N., Sarimov R.M., Simakin A.V., Gudkov S.V., Plotnikov E.Y. (2022) Features of the cytoprotective effect of selenium nanoparticles on primary cortical neurons and astrocytes during oxygen-glucose deprivation and reoxygenation. *Sci. Rep.* **12**, 1710.
162. Schanne G., Zoumpoulaki M., Gazzah G., Vincent A., Preud'Homme H., Lobinski R., Demignot S., Seksik P., Delsuc N., Policar C. (2022) Inertness of superoxide dismutase mimics Mn(ii) complexes based on an open-chain ligand, bioactivity, and detection in intestinal epithelial cells. *Oxid. Med. Cell Longev.* **2022**, 3858122.
163. Batinic-Haberle I., Tovmasyan A., Spasojevic I. (2015) An educational overview of the chemistry, biochemistry and therapeutic aspects of Mn porphyrins – from superoxide dismutation to H₂O₂-driven pathways. *Redox Biol.* **5**, 43–65.
164. Ching H.Y.V., Kenkel I., Delsuc N., Mathieu E., Ivanović-Burmazović I., Policar C. (2016) Bioinspired superoxide-dismutase mimics: the effects of functionalization with cationic polyarginine peptides. *J. Inorg. Biochem.* **160**, 172–179.
165. Policar C., Bouvet J., Bertrand H.C., Delsuc N. (2022) SOD mimics: from the tool box of the chemists to cellular studies. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **67**, 102109.
166. Wang J., Wang P., Dong C., Zhao Y., Zhou J., Yuan C., Zou L. (2020) Mechanisms of ebselen as a therapeutic and its pharmacology applications. *Future Med. Chem.* **12**, 2123–2142.
167. Azad G.K., Tomar R.S. (2014) Ebselen, a promising antioxidant drug: mechanisms of action and targets of biological pathways. *Mol. Biol. Rep.* **41**, 4865–4879.
168. Santi C., Scimmi C., Sancineto L. (2021) Ebselen and analogues: pharmacological properties and synthetic strategies for their preparation. *Molecules*. **26**, 4230.
169. Ge X., Cao Z., Chu L. (2022) The antioxidant effect of the metal and metal-oxide nanoparticles. *Antioxidants*. **11**, 791.
170. Friedel F.C., Lieb D., Ivanović-Burmazović I. (2012) Comparative studies on manganese-based SOD mimetics, including the phosphate effect, by using global spectral analysis. *J. Inorg. Biochem.* **109**, 26–32.
171. Yoshikawa T., Naito Y., Ueda S., Oyamada H., Takemura T., Yoshida N., Sugino S., Kondo M. (1990) Role of oxygen-derived free radicals in the

- pathogenesis of gastric mucosal lesions in rats. *J. Clin. Gastroenterol.* **12** (Suppl 1), S65–S71.
172. Ambrosio G., Flaherty J.T. (1992) Effects of the superoxide radical scavenger superoxide dismutase, and of the hydroxyl radical scavenger mannitol, on reperfusion injury in isolated rabbit hearts. *Cardiovasc. Drugs Ther.* **6**, 623–632.
173. Morpurgo E., Cadrobbi R., Morpurgo M., Rigotti P., Schiavon F., Schiavon O., Caliceti P., Ancona E., Veronese F.M. (1996) Protective effect of superoxide dismutase and polyethylene glycol-linked superoxide dismutase against renal warm ischemia/reperfusion injury. *Transplantation.* **62**, 1221–1223.
174. Kinouchi H., Epstein C.J., Mizui T., Carlson E., Chen S.F., Chan P.H. (1991) Attenuation of focal cerebral ischemic injury in transgenic mice overexpressing CuZn superoxide dismutase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **88**, 11158–11162.
175. Valdivia A., Pérez-Álvarez S., Aroca-Aguilar J.D., Ikuta I., Jordán J. (2009) Superoxide dismutases: a physiopharmacological update. *J. Physiol. Biochem.* **65**, 195–208.
176. Giardino R., Giavaresi G., Fini M., Torricelli P., Guzzardella G.A. (2002) The role of different chemical modifications of superoxide dismutase in preventing a prolonged muscular ischemia/reperfusion injury. *Artif. Cells Blood Substit. Immobil. Biotechnol.* **30**, 189–198.
177. Galinanes M., Qiu Y., Ezrin A., Hearse D.J. (1992) PEG-SOD and myocardial protection. Studies in the blood- and crystalloid-perfused rabbit and rat hearts. *Circulation.* **86**, 672–682.
178. Muizelaar J.P. (1993) Cerebral ischemia-reperfusion injury after severe head injury and its possible treatment with polyethyleneglycol-superoxide dismutase. *Ann. Emerg. Med.* **22**, 1014–1021.
179. Jiang Y., Arounleut P., Rheiner S., Bae Y., Kabanov A.V., Milligan C., Manickam D.S. (2016) SOD1 nanozyme with reduced toxicity and MPS accumulation. *J. Control. Release.* **231**, 38–49.
180. Cosenza C., Wu G.H., Tusio P.J., Cramer D.V., Makowka L. (1993) Protective effect of polyethylene glycol-conjugated superoxide dismutase for cold ischemia-reperfusion damage in isolated pig livers. *Transplant. Proc.* **25**, 1881–1882.
181. Pisani A., Sabbatini M., Riccio E., Rossano R., Andreucci M., Capasso C., De Luca V., Carginale V., Bizzarri M., Borrelli A., Schiattarella A., Santangelo M., Mancini A. (2014) Effect of a recombinant manganese superoxide dismutase on prevention of contrast-induced acute kidney injury. *Clin. Exp. Nephrol.* **18**, 424–431.
182. Bonetta R. (2018) Potential therapeutic applications of MnSODs and SOD-mimetics. *Chem. – A Eur. J.* **24**, 5032–5041.
183. Ambrosio G., Weisfeldt M.L., Jacobus W.E., Flaherty J.T. (1987) Evidence for a reversible oxygen radical-mediated component of reperfusion injury: reduction by recombinant human superoxide dismutase administered at the time of reflow. *Circulation.* **75**, 282–291.
184. Maksimenko A.V., Vavaev A.V. (2012) Antioxidant enzymes as potential targets in cardioprotection and treatment of cardiovascular diseases. enzyme antioxidants: the next stage of pharmacological counterwork to the oxidative stress. *Heart Int.* **7**, hi.2012.e3.
185. Шарапов М.Г., Гудков С.В., Ланкин В.З., Новоселов В.И. (2021) Роль глутатионпероксидаз и пероксиредоксинов при свободнорадикальных патологиях. *Биохимия.* **86**, 1635–1653.
186. Sharapov M.G., Goncharov R.G., Parfenyuk S.B., Glushkova O.V., Novoselov V.I. (2022) The role of phospholipase activity of peroxiredoxin 6 in its transmembrane transport and protective properties. *Int. J. Mol. Sci.* **23**, 15265.
187. Шарапов М.Г., Новоселов В.И., Равин В.К. (2016) Получение химерного фермента, совмещающего активность супероксиддисмутазы и пероксидазы. *Биохимия.* **81**, 571–579.
188. Карадулева Е.В., Мубаракшина Э.К., Шарапов М.Г., Волкова А.Е., Пименов О.Ю., Равин В.К., Кокос Ю.М., Новоселов В.И. (2015) Кардиопротективный эффект модифицированных пероксиредоксинов при ретроградной перфузии изолированного сердца крысы в условиях окислительного стресса. *Бюлл. Эксп. Биол. Мед.* **160**, 584–588.
189. Грудинин Н.В., Богданов В.К., Шарапов М.Г., Буненков Н.С., Можейко Н.П., Гончаров Р.Г., Фесенко Е.Е., Новоселов В.И. (2020) Применение пероксиредоксина для прекондиционирования трансплантата сердца крысы. *Вестн. трансплантологии и искусственных органов.* **22**, 158–164.
190. Палутина О.А., Шарапов М.Г., Темнов А.А., Новоселов В.И. (2015) Нефропротективный эффект экзогенных ферментов-антиоксидантов при ишемически-реперфузионном повреждении ткани почки. *Бюлл. Эксп. Биол. Мед.* **160**, 305–310.
191. Goncharov R.G., Rogov K.A., Temnov A.A., Novoselov V.I., Sharapov M.G. (2019) Protective role of exogenous recombinant peroxiredoxin 6 under ischemia-reperfusion injury of kidney. *Cell Tissue Res.* **378**, 319–332.
192. Sharapov M.G., Goncharov R.G., Filkov G.I., Trofimenko A.V., Boyarintsev V.V., Novoselov V.I. (2020) Comparative study of protective action of exogenous 2-Cys peroxiredoxins (Prx1 and Prx2) under renal ischemia-reperfusion injury. *Antioxidants.* **9**, 1–23.
193. Gordeeva A.E., Temnov A.A., Charnagalov A.A., Sharapov M.G., Fesenko E.E., Novoselov V.I. (2015) Protective effect of peroxiredoxin 6 in ischemia/reperfusion-induced damage of small intestine. *Dig. Dis. Sci.* **60**, 3610–3619.
194. Шарапов М.Г., Гордеева А.Е., Гончаров Р.Г., Тихонова И.В., Равин В.К., Темнов А.А., Фесенко Е.Е., Новоселов В.И. (2017) Влияние экзогенного пероксиредоксина 6 на состояние мезентеральных сосу-

- дов и тонкого кишечника при ишемически-реперфузионном поражении. *Биофизика*. **62**, 1208–1220.
195. Новоселов В.И., Равин В.К., Шарапов М.Г., Софин А.Д., Кукушкин Н.И., Фесенко Е.Е. (2011) Модифицированные пероксиредоксины как прототипы лекарственных препаратов мощного антиоксидантного действия. *Биофизика*. **56**, 873–880.
196. Simone E.A., Dziubla T.D., Arguiri E., Vardon V., Shuvaev V.V., Christofidou-Solomidou M., Muzykantov V.R. (2009) Loading PEG-catalase into filamentous and spherical polymer nanocarriers. *Pharm. Res.* **26**, 250–260.
197. Li Z., Wang F., Roy S., Sen C.K., Guan J. (2009) Injectable, highly flexible, and thermosensitive hydrogels capable of delivering superoxide dismutase. *Bio-macromolecules*. **10**, 3306–3316.
198. Gil D., Rodriguez J., Ward B., Vertegel A., Ivanov V., Reukov V. (2017) Antioxidant activity of SOD and catalase conjugated with nanocrystalline ceria. *Bioengineering*. **4**, 18.
199. Lacramioara L., Diaconu A., Butnaru M., Verestiuc L. (2016) Biocompatible SPIONs with superoxid dismutase/catalase immobilized for cardiovascular applications. *IFMBE Proc.* **55**, 323–326.

Ischemia-Reperfusion Injury: Molecular Mechanisms of Pathogenesis and Methods of Their Correction

R. G. Goncharov¹ and M. G. Sharapov^{1, *}

¹*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

**e-mail: sharapov.mg@yandex.ru*

Ischemia-reperfusion is a cascade of complex and interrelated pathological processes underlying many human diseases, including such socially significant as stroke, myocardial infarction, acute renal failure, etc. The present review considers modern ideas about the main biochemical and signal-regulatory processes occurring in the cell under conditions of ischemia-reperfusion. Both generally accepted and newly developed ways of ischemia-reperfusion lesion correction aimed at different chains of this pathological process are considered.

Keywords: ischemia-reperfusion, oxidative stress, intracellular signaling, HIF, NRF2, NF-κB, PI3K/AKT/mTOR, hypothermia, oxidase inhibitors, H₂S, antioxidants, selenium, mimetics, antioxidant enzymes