

РОЛЬ ИНДУЦИРУЕМОГО ГИПОКСИЕЙ ФАКТОРА-1 (HIF-1) В РЕАЛИЗАЦИИ ЦИТОПРОТЕКТИВНОГО ЭФФЕКТА ИШЕМИЧЕСКОГО И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ

Щербак Н. С.^{1,2}, Галагудза М. М.^{1,2}, Шляхто Е. В.^{1,2}

В обзоре проанализированы результаты экспериментальных исследований, направленных на изучение влияния ишемического и фармакологического посткондиционирования печени, головного мозга, миокарда и скелетной мышцы на экспрессию и активность индуцируемого гипоксией фактора-1α (HIF-1α) у различных видов лабораторных животных.

Российский кардиологический журнал 2014, 11 (115): 70–75
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2014-11-70-75>

Ключевые слова: посткондиционирование, индуцируемый гипоксией фактор (HIF), ишемия-реперфузия, сердце, печень, головной мозг.

¹ ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург; ² Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия.

Щербак Н. С.* — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории неотложной кардиологии Института сердечно-сосудистых заболеваний, Галагудза М. М. — д.м.н., профессор кафедры патофизиологии, руководитель Института экспериментальной медицины, Шляхто Е. В. — д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФГБУ, заведующий кафедрой факультетской терапии ГБОУ.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
 shcherbakns@yandex.ru

Рукопись получена 07.09.2013
 Рецензия получена 29.10.2013
 Принята к публикации 05.11.2013

THE ROLE OF HYPOXIA-INDUCED FACTOR-1 (HIF-1) IN CYTOPROTECTION EFFECT IN ISCHEMIC AND PHARMACOLOGIC POSTCONDITIONING

Shcherbak N. S.^{1,2}, Galagudza M. M.^{1,2}, Shlyakhto E. V.^{1,2}

The review concerns on the experimental studies results of the influence of ischemic and pharmacological post conditioning of the liver, brain, myocardium and skeletal muscle on the expression and activity of the hypoxia-induced factor-1α (HIF-1α) in various types of lab animals.

Russ J Cardiol 2014, 11 (115): 70–75
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2014-11-70-75>

Key words: postconditioning, hypoxia-induced factor (HIF), ischemia-reperfusion, heart, liver, brain.

¹ SBEI HPE The First Saint-Petersburg State Medical University n.a. Academician I. P. Pavlov, Saint-Petersburg; ² Federal Centre of the Heart, Blood and Endocrinology n.a. V. A. Almazov, Saint-Petersburg, Russia

Концепция ишемического посткондиционирования (ИПостК)

ИПостК — один из способов эндогенной цитопротекции, позволяющий защитить клетку от ишемического-реперфузионного повреждения. Протективный эффект ИПостК реализуется за счет выполнения коротких ишемических эпизодов, выполненных в реперфузионном периоде после продолжительной ишемии [1-4]. Впервые цитопротективный эффект ИПостК был обнаружен в экспериментальных исследованиях на сердце. Было установлено, что 3 эпизода ишемии по 30 секунд, разделенные 30-секундными эпизодами реперфузии, при выполнении непосредственно после 60-минутной ишемии позволяют уменьшить степень необратимого повреждения миокарда [4]. Позднее протективный эффект ИПостК был описан и при воспроизведении ишемии-реперфузии других органов, включая головной и спинной мозг, печень, почку, легкое, тонкую кишку [1, 3, 5-7]. При дальнейшем изучении феномена ИПостК было показано, что цитопротективным действием обладают ишемические стимулы различной кратности и длительности, выполненные в разные сроки после прекращения тестовой (продолжительной) ишемии.

При этом выраженность цитопротективного эффекта ИПостК во многом определяется видом экспериментального животного, а также зависит от экспериментальной модели или способа моделирования ишемии-реперфузии [8]. Несмотря на достаточное количество исследований, механизмы реализации протективного потенциала ИПостК в различных органах и тканях остаются малоизученными.

Индуцируемый гипоксией фактор-1 (HIF-1)

Гипоксия и связанный с ней клеточный энергетический дефицит являются главным звеном патогенеза необратимого ишемического повреждения клетки. Хорошо известно, что индуцируемый гипоксией фактор-1 (HIF-1) является важнейшим транскрипционным фактором, отвечающим за регуляцию экспрессии генов при гипоксии и ишемии. Поскольку уменьшение реперфузионного повреждения при ИПостК происходит за счет выполнения коротких ишемических стимулов, можно предполагать участие HIF-1 в реализации протективного эффекта ИПостК. К настоящему моменту существует достаточное количество исследований, в которых изучалось изменение экспрессии гена или белка HIF-1 при различных видах посткондиционирования (ПостК)

на различных экспериментальных моделях (табл. 1). Несмотря на то, что механизмы цитопротективного действия ПостК в целом наиболее интенсивно изучались при ишемии-реперфузии миокарда и головного мозга, наибольшее количество работ по оценке роли HIF-1 в механизмах ПостК на сегодняшний день выполнено на моделях ишемии-реперфузии печени и головного мозга (табл. 1).

Одним из наиболее хорошо изученных ключевых транскрипционных факторов, вовлеченных в формирование ишемической толерантности, является HIF-1. Впервые HIF-1 был выделен из опухолевых клеток печени человека в 1995 году [9]. Транскрипционный фактор HIF-1 — это фактор, регулирующий экспрессию более чем 200 генов, играющих важную роль в формировании устойчивости к ишемии и гипоксии [10]. Молекула транскрипционного фактора HIF-1 представляет собой гетеродимер, состоящий из двух субъединиц — α и β . При нормоксии ($pO_2 \sim 100$ мм рт.ст.) α -субъединица HIF-1 подвергается быстрой (в течение 26 секунд) деградации под действием убиквитин-протеасомной системы, что делает активацию HIF-1 α -зависимых генов невозможной. Однако при понижении напряжения кислорода в тканях происходит усиление синтеза шаперонов Hsp70 и Hsp90, которые защищают HIF-1 α от убиквитин-протеасомной деградации [10]. При достижении определенной концентрации в клетке, активный димер HIF-1 α транслоцируется в ядро, где активирует экспрессию целого ряда кислород-чувствительных генов [11–13]. Происходит повышение синтеза гликолитических ферментов, таких как фосфофруктокиназа, пируваткиназа, глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа, фосфоглицераткиназа и др., усиливается экспрессия мембранных транспортеров глюкозы (GLUT1 и GLUT3), генов индуцибельной NO-синтазы и циклооксигеназы-2, генов факторов роста, в частности, сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и многих других [10, 12–17]. Возможно, что посткондиционирующие ишемические стимулы, выполненные в реперфузионный период, способствуют изменению экспрессии генов, в результате чего уменьшается степень повреждения при действии ишемии-реперфузии. В данном обзоре мы подробно проанализируем исследования, в которых изучалось изменение активности HIF-1 α под действием различных режимов ПостК.

Участие HIF-1 α в защитном эффекте ПостК различных органов

Головной мозг. На модели постоянной фокальной ишемии головного мозга у крыс был изучен нейропротективный эффект применения фармакологического ПостК путем эндотрахеальной вентиляции с 1,4% изофлюраном в течение 30 минут с последую-

щим анализом через 24 часа [18]. Было показано, что ПостК изофлюран приводит к уменьшению зоны некроза головного мозга и уменьшению выраженности неврологического дефицита. При этом у животных с фокальной ишемией не было обнаружено изменения экспрессии мРНК гена HIF-1 α , но происходило увеличение экспрессии мРНК гена индуцибельной NO-синтазы (iNOS). Применение ПостК изофлюрана способствовало увеличению экспрессии мРНК генов HIF-1 α и iNOS. При проведении полуколичественного вестерн-блот анализа было обнаружено, что ишемия способствует увеличению экспрессии белков HIF-1 α и iNOS при сравнении с ложнооперированными животными. Применение изофлюрана после постоянной окклюзии средней мозговой артерии приводило к еще большему увеличению экспрессии белка HIF-1 α и iNOS, причем это увеличение было обнаружено как в ядре ишемии, так и в зоне пенумбры. Был сделан вывод о том, что ишемия регулирует HIF-1 α на посттрансляционном уровне, а применение изофлюрана регулирует HIF-1 α через механизмы транскрипции и трансляции. Двойное флуоресцентное окрашивание образцов головного мозга в группе с применением ПостК изофлюраном обнаружило совместную локализацию HIF-1 α и iNOS позитивных нейронов, как в зоне ядра ишемии, так и в перифокальной области. Был сделан вывод о том, что HIF-1 α участвует в регуляции iNOS при формировании толерантности к ишемии, индуцируемой ПостК изофлюраном [18]. Однако необходимо отметить, что в данном исследовании не было изучено влияние изофлюрана при реперфузионном повреждении, поскольку была использована модель постоянной фокальной ишемии. В другом исследовании изучались механизмы нейропротективного влияния ПостК севофлюраном на модели фокальной ишемии-реперфузии головного мозга крысы, индуцируемой 60-минутной окклюзией общих сонных артерий в комбинации с постоянной окклюзией средней мозговой артерии [19]. Применение ингаляционно 2,5% севофлюрана в течение 60 минут после моделирования постоянной окклюзии средней мозговой артерии и завершения 60-минутной окклюзии общих сонных артерий с последующим 24- и 72-часовым реперфузионным периодом приводило к достоверному уменьшению числа поврежденных нейронов в гистологических образцах ипсилатеральной области головного мозга, окрашенных по методу Ниссля, при сравнении с группой контроля [19]. Было установлено, что ПостК севофлюраном приводит к достоверному увеличению экспрессии мРНК генов HIF-1 α и гемоксигеназы-1 (HO-1) в пенумбре к 6 и 24 часам реперфузионного периода при сравнении с группой без применения ПостК севофлюраном. В то же время, к 72 часам реперфузионного периода различий в экспрессии мРНК генов HIF-1 α и HO-1 между группами

Таблица 1

Влияние ишемического и фармакологического посткондиционирования на экспрессию белка и мРНК гена HIF-1 α

Протокол посткондиционирования	Вид животных	Орган/ткань/клетки	Действие	Ссылка
Фармакологическое: 1,4% изофлюран	крысы линии Sprague–Dawley	головной мозг	увеличение экспрессии мРНК гена HIF-1 α ; увеличение экспрессии белка HIF-1 α ;	18
Фармакологическое: 2,5% севофлюран	крысы линии Sprague–Dawley	головной мозг	увеличение экспрессии мРНК гена HIF-1 α к 6 и 24 часам реперфузионного периода; увеличение синтеза белка HIF-1 α при длительности реперфузии 72 часа;	19
Ишемическое: 90 минут в течение 3-х дней	крысы линии Sprague–Dawley	нейроны гиппокампа	достоверное увеличение экспрессии белка HIF-1 α в поле CA3 гиппокампа;	23
Ишемическое: (0,1%, 1%, 2% O ₂) гипоксия в течение 1 часа	мыши	клеточная культура нейронов	увеличение экспрессии белка HIF-1 α при 0, 1% O ₂ ;	24
Ишемическое: 3 эпизода 10сек реперфузия/ 10сек реокклюзия	крысы линии Wistar	миокард	отсутствие изменения в экспрессии мРНК гена HIF-1 α ; увеличение экспрессии белка HIF-1 α ;	27
Ишемическое: 3 эпизода 30сек реперфузия/ 30сек ишемия	крысы линии Wistar	печень	тенденция к снижению экспрессии мРНК гена HIF-1 α ;	28
Ишемическое: 1) 3 эпизода 10сек реперфузия/ 10сек ишемия 2) 3 эпизода 30сек реперфузия/ 30сек ишемия 3) 3 эпизода 60сек реперфузия/ 60сек ишемия	мыши	печень	1) — 2) увеличение экспрессии гена HIF-1 α ; 3) —	29
Ишемическое: 3 эпизода 10сек реперфузия/ 10сек ишемия	мыши	печень	увеличение экспрессии белка HIF-1 α ;	30
Фармакологическое: гинзенозид РБ 1 в дозе 20 мг/кг	мыши	печень	увеличение синтеза белка HIF-1 α ;	31
Ишемическое: 3 эпизода 30сек реперфузия/ 30сек реокклюзия	крысы линии Wistar	желудок	уменьшение экспрессии белка HIF-1 α ;	38
Ишемическое: 3 эпизода 60сек реперфузия/ 60сек ишемия	кролики	скелетная мышца	уменьшение экспрессии мРНК HIF-1 α .	39

с применением ПостК и без него обнаружено не было. Уровень белков HIF-1 α и HO-1 в группах с применением и без применения ПостК севофлюраном был достоверно выше к 6, 24 и 72 часам реперфузионного периода, с максимальным увеличением при 24-часовой реперфузии при сравнении с ложнооперированными животными. Однако статистически более высокий уровень экспрессии белков HIF-1 α и HO-1 обнаруживался в группе с применением ПостК севофлюраном при длительности реперфузии 72 часа при сравнении с группой без ПостК [19]. Известно, что HO-1 превращает гем в биливердин, причем

в результате этого превращения высвобождается железо и монооксид углерода [20–22]. Основываясь на полученных результатах, авторы исследования предположили, что ПостК севофлюраном регулирует HIF-1 α и HO-1 как на уровне транскрипции, так и на уровне трансляции [19]. Применение эпизодов нормобарической гипоксии (9% кислорода, 91% азота) длительностью 90 минут в течение 3-х дней после моделирования экспериментальной эпилепсии у крыс приводило к достоверному увеличению экспрессии белка HIF-1 α в зоне CA3 гиппокампа при выраженном уменьшении морфологического повре-

ждения нейронов зоны СА3 гиппокампа и улучшении физиологических функций [23]. Авторы исследования предложили рассматривать мягкую, непродолжительную гипоксию как перспективный способ лечения эпилепсии [23]. На клеточной культуре нейронов в качестве тестового повреждающего воздействия применяли депривацию кислорода/глюкозы, а в качестве посткондиционирующего стимула — часовую гипоксию различной степени (0,1%, 1%, 2% кислорода). При проведении количественного колориметрического иммунологического анализа было обнаружено увеличение уровня белка HIF-1 α в ядрах нейронов после применения ПостК 0,1% O₂, в то время как в контроле не наблюдалось увеличения экспрессии белка HIF-1 α . Был сделан вывод о том, что, несмотря на повреждающее действие депривации, нейроны еще сохраняют достаточный потенциал, чтобы изменить паттерн экспрессии HIF-1 α в ответ на действие гипоксии [24]. Таким образом, в указанном исследовании умеренная гипоксия, выступающая в качестве посткондиционирующего фактора, стимулировала нейропротективный ответ.

Миокард. Сегодня существует единственная экспериментальная работа, посвященная изучению HIF-1 α при ИПостК миокарда. Основываясь на результатах исследований, демонстрирующих увеличение экспрессии гена HIF-1 α в миокарде при атеросклерозе и гиперхолестеринемии [25, 26], было изучено влияние гиперлипидемии на экспрессию гена HIF-1 α при экспериментальном инфаркте миокарда у крыс [27]. Детекцию экспрессии белка HIF-1 α проводили при помощи вестерн-блоттинга, при котором было установлено, что ишемическое и реперфузионное повреждение миокарда приводит к увеличению экспрессии белка HIF-1 α при сравнении с ложнооперированными животными, а применение ИПостК способствует увеличению HIF-1 α при сравнении с животными без применения ИПостК. В группах животных с гиперлипидемией экспрессия белка HIF-1 α была существенно выше, чем в соответствующих экспериментальных группах без гиперлипидемии. Однако при проведении анализа экспрессии мРНК гена HIF-1 α методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), различий между ложнооперированной группой, группой с ишемией-реперфузией, а также с применением ИПостК, у интактных животных и у животных с гиперлипидемией обнаружено не было [27].

Печень. Изучению действия посткондиционирующих стимулов на HIF-1 α в ткани печени посвящен ряд экспериментальных исследований, но полученные результаты весьма противоречивы. На модели ишемии-реперфузии печени крысы изучали влияние ИПостК на экспрессию генов HIF-1 α , сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и трансформирующего фактора роста β 1 (TGF- β 1) [28]. Приме-

нение трех ишемических стимулов по 30 секунд реперфузии/реокклюзии приводило к некоторому снижению экспрессии мРНК гена HIF-1 α , однако достоверных различий с группой без применения ИПостК обнаружено не было. Также не было обнаружено достоверных различий в экспрессии генов VEGF и TGF- β 1 между группами с применением и без применения ИПостК. Длительность ишемического повреждения печени составляла 30 минут, и анализ экспрессии генов проводился через 30 минут реперфузионного периода. Авторы исследования предположили, что в реализацию эффекта ИПостК не вовлекается HIF-1 α , и что, в то же время, уровень ответа HIF-1 α может быть маркером степени повреждения печени при ишемии-реперфузии различной длительности [28]. В аналогичном исследовании, после 30-минутной ишемии печени у мышей применяли три различных варианта протокола ИПостК: 3 эпизода по 10, 30 либо 60 секунд реперфузии/ишемии с последующим реперфузионным периодом длительностью 1 час [29]. Результаты показали, что протективным эффектом обладают протоколы, включавшие 30- и 60-секундные эпизоды реперфузии/ишемии, с максимально выраженным положительным эффектом при 30-секундных ишемических стимулах. Методом ПЦР было установлено, что при протоколе ИПостК, включавшем 3 эпизода 30-секундной ишемии, достоверно увеличивается экспрессия генов HIF-1 α , VEGF и пролингидроксилазы, а также происходит увеличение общей антиоксидантной активности, повышение активности супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, каталазы, разных изоформ синтазы оксида азота и, в частности, iNOS, а также понижение концентрации малонового диальдегида, регистрируемого в сыворотке крови после 1 часа реперфузии [29]. В другом исследовании изучали влияние 10-секундных ишемических стимулов, выполненных после моделирования 60-минутного ишемического повреждения печени. Анализ функциональных и морфологических повреждений оценивали спустя 2, 4 и 12 часов реперфузии [30]. Было показано, что ИПостК обладает протективным эффектом, который ассоциируется с повышением NO, эндотелиальной NO-синтазы (eNOS), супероксиддисмутазы, с увеличением экспрессии белков p-Akt и HIF-1 α в ткани печени, а также с понижением активных форм кислорода (АФК) и уменьшением экспрессии фактора некроза опухоли (TNF- α) и молекул клеточной адгезии (ICAM-1). Авторы следующим образом сформулировали выводы произведенного исследования: ИПостК в период реперфузии приводит к повышению продукции NO и экспрессии белка HIF-1 α с последующей активацией p-Akt и ингибированием образования АФК [30]. При фармакологическом ПостК гинзенозидом РБ 1 (20 мг/кг внутривенно), было обнаружено уменьшение

морфологического и функционального повреждения печени мышей, вызванного 60-минутной ишемией с последующим 2-х часовым реперфузионным периодом. Также в ткани печени было обнаружено увеличение концентрации белка HIF-1 α , увеличение продукции NO и повышение фосфорилирования Akt при сравнении с тканью печени без фармакологического ПостК. В исследовании было выдвинуто предположение, что повышенная экспрессия белка HIF-1 α связана с концентрацией NO [31]. Известно, что при повышении концентрации NO в аэробных условиях происходит блокирование активности пролилгидроксилазы, ведущее к стабилизации HIF-1 α и его аккумуляции, сопровождающейся повышением его функциональной активности [32–34]. В свою очередь, хорошо известно, что HIF-1 α увеличивает активность индуцибельной NO синтазы [35]. Авторами исследования было выдвинуто предположение, что повышенная продукция NO, индуцируемая введением гинзенозида РБ1 к концу 2-х часового реперфузионного периода, может способствовать увеличению стабильности HIF-1 α , что, в свою очередь, также приводит к увеличению уровня iNOS и NO [31]. Кроме того, известно, что NO может регулировать уровень синтеза HIF-1 α путем активации сигнального пути “фосфатидилинозитол-3 киназа (PI3K) — митоген-активируемая протеинкиназа” [36]. Также известно, что NO индуцирует фосфорилирование Akt, экспрессию HIF-1 α , а также транскрипционную активность HIF-1 α [37]. Авторы предположили, что ПостК гинзенозидом РБ1 индуцирует повышение NO, что может увеличивать экспрессию p-Akt, а далее происходит повышение уровня синтеза HIF-1 α . Таким образом, реализация протективного эффекта фармакологического ПостК печени гинзенозидом РБ1 реализуется через PI3K/Akt путь [31].

Желудок. В исследовании на желудке крыс было установлено, что три эпизода по 30 секунд реперфузии/реокклюзии, выполненные после 30-минутной ишемии, приводят к уменьшению повреждения слизистой оболочки желудка. В группе без применения посткондиционирующих стимулов отмечалось повышение малонового диальдегида (MDA), ксантиноксидазы (XOD), миелопероксидазы (MPO), экспрессии белка HIF-1 α , и понижение образования АФК. При этом в группе с применением ИПостК наблюдалось понижение MDA, XOD, MPO, экспрессии белка HIF-1 α и повышение АФК. Авторы предположили, что ИПостК уменьшает постишемический оксидативный стресс и экспрессию белка HIF-1 α в ткани

желудка. Предположительно, АФК могут модулировать экспрессию белка HIF-1 α в ткани желудка в зависимости от ишемического состояния через активацию путей PI3K/Akt и p42/p44MAPK [38]. Принимая во внимание результаты других исследований и полученные результаты, был сделан вывод о том, что эффекты АФК на HIF-1 α могут зависеть от трех моментов: степени гипоксии, внутриклеточной локализации продукции АФК и молекулярного микроокружения клеток [38].

Скелетная мышца. Ишемическое повреждение скелетной мышцы у кроликов в течение 5 часов с последующим реперфузионным периодом длительностью 12 часов приводило к морфологическим изменениям в скелетной мышце, характеризующимся рабдомиолизом и некрозом, а также к увеличению мРНК гена HIF-1 α , определенного при помощи ПЦР. Применение трех посткондиционирующих стимулов длительностью 60 сек реперфузии/реокклюзии приводило к уменьшению повреждения скелетной мышцы, а также к уменьшению экспрессии в ней мРНК гена HIF-1 α [39].

Заключение

Таким образом, проанализировав ряд экспериментальных исследований, можно сделать вывод о том, что изменение экспрессии белка и мРНК гена HIF-1 α под действием различных посткондиционирующих стимулов носит разнонаправленный характер. Это явление может объясняться различной степенью ишемического и реперфузионного повреждения, видоизменениями особенностями экспериментальной модели, а также способом ПостК, использованного в исследовании. Тем не менее, в подавляющем большинстве проведенных исследований было отмечено увеличение экспрессии белка HIF-1 α , которое может частично объяснять цитопротективный эффект ПостК, реализующийся в позднем реперфузионном периоде. Дальнейшее исследование и понимание механизмов вовлеченности HIF-1 α в ИПостК поможет в разработке новых лекарственных препаратов, направленных на борьбу с реперфузионным повреждением, а также широкому внедрению различных видов ПостК в клиническую практику в рамках трансляционной медицины.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ по государственной поддержке ведущих научных школ (НШ-2359.2012.7) и гранта РФФИ № НК 13-04-00793/13.

Литература

1. Shlyakhto EV, Galagudza MM, Syrenskij AV, et al. Ischemic postconditioning infarction: a new way to protect the heart from reperfusion injury. *Terapevticheskij arhiv*. 2005; 77(5): 77–80. Russian (Шляхто Е.В., Галагудза М.М., Сыренский А.В. и др. Ишемическое посткондиционирование миокарда: новый способ защиты сердца от реперфузионного повреждения. *Терапевтический архив*. 2005; 77(5): 77–80).
2. Maslov LN, Mrochek AG, Hanush L, et al. The phenomenon of ischemic postconditioning of the heart. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2012; 98(8): 943–61. Russian (Маслов Л.Н., Мрочек А.Г., Хануш Л., и соавт. Феномен ишемического посткондиционирования сердца. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2012; 98(8): 943–61).

3. de Rougemont O, Lehmann K, Clavien PA. Preconditioning, organ preservation, and postconditioning to prevent ischemia-reperfusion injury to the liver. *Liver Transpl.* 2009; 15(10): 1172-82. doi: 10.1002/lt.21876.
4. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003; 285: 579-88.
5. Huang H, Zhang L, Wang Y, et al. Effect of ischemic post-conditioning on spinal cord ischemic-reperfusion injury in rabbits. *Can J Anaesth.* 2007; 54: 42-8.
6. Santos CHM, Gomes OM, Pontes JCDV, et al. The ischemic preconditioning and postconditioning effect on the intestinal mucosa of rats undergoing mesenteric ischemia/reperfusion process. *Acta Cir Bras.* 2008; 23: 22-8.
7. Zhang WL, Zhao YL, Liu XM, et al. Protective role of mitochondrial K-ATP channel and mitochondrial membrane transport pore in rat kidney ischemic postconditioning. *Chin Med J (Engl).* 2011; 124(14): 2191-5.
8. Shcherbak N, Popovetsky M, Galagudza M, et al. The infarct-limiting effect of cerebral ischemic postconditioning in rats depends on the middle cerebral artery branching pattern. *Int J Exp Pathol.* 2013; 94(1): 34-8.
9. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, et al. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995; 92(5): 510-4.
10. Loor G, Schumacker PT. Role of hypoxia-inducible factor in cell survival during myocardial ischemia-reperfusion. *Cell Death Differ.* 2008; 15(4): 686-90.
11. Correia SC, Carvalho C, Cardoso S, et al. Mitochondrial preconditioning: a potential neuroprotective strategy. *Front Aging Neurosci.* 2010; 2(2): 138.
12. Hollmann M, Hartley M, Heinemann S. Ca²⁺ permeability of KA-AMPA-gated glutamate receptor channels depends on subunit composition. *Science.* 1991; 252(5007): 851-3.
13. Iyer NV, Kotch LE, Agani F, et al. Cellular and developmental control of O₂ of hypoxia-inducible factor 1. *Genes & Dev.* 1998; 12: 149-62.
14. Masson N, Ratcliffe PJ. HIF prolyl and asparaginyl hydroxylases in the biological response to intracellular O₂ levels. *J Cell Sci.* 2003; 116(Pt 15): 3041-9.
15. Plamondon H, Blondeau N, Heurteaux C, et al. Mutually protective actions of kainic acid epileptic preconditioning and sublethal global ischemia on hippocampal neuronal death: involvement of adenosine A₁ receptors and KATP channels. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1999; 19: 1296-308.
16. Pugh CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nat Med.* 2003; 9(6): 677-84.
17. Tanaka H, Grooms SY, Bennett MV, et al. The AMPAR subunit GluR2: still front and center-stage. *Brain Res.* 2000; 886(1-2): 190-207.
18. Fang LQ, Xu H, Sun Y, et al. Induction of inducible nitric oxide synthase by isoflurane post-conditioning via hypoxia inducible factor-1 α during tolerance against ischemic neuronal injury. *Brain Res.* 2012; 1451: 1-9. doi: 10.1016/j.brainres.2012.02.055.
19. Ye Z, Guo Q, Xia P, et al. Sevoflurane postconditioning involves an up-regulation of HIF-1 α and HO-1 expression via PI3K/Akt pathway in a rat model of focal cerebral ischemia. *Brain Res.* 2012; 1463: 63-74. doi: 10.1016/j.brainres.2012.04.050.
20. Panahian N, Yoshiura M, Maines MD. Overexpression of heme oxygenase-1 is neuroprotective in a model of permanent middle cerebral artery occlusion in transgenic mice. *J. Neurochem.* 1999; 72: 1187-203.
21. Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, et al. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science.* 1987; 235: 1043-6.
22. Volti GL, Sacerdoti D, Sangras B, et al. Carbonmonoxide signaling in promoting angiogenesis in human microvessel endothelial cells. *Antioxid. Redox Signal.* 2005; 7: 704-10.
23. Yang Y, Chen J, Li L, et al. Effect of different mild hypoxia manipulations on kainic acid-induced seizures in the hippocampus of rats. *Neurochem Res.* 2013; 38(1): 123-32. doi: 10.1007/s11064-012-0899-6.
24. Leconte C, Tixier E, Freret T, et al. Delayed hypoxic postconditioning protects against cerebral ischemia in the mouse. *Stroke.* 2009; 40(10): 3349-55.
25. Lee M, Ryu JK, Piao S, et al. Efficient gene expression system using the RTP801 promoter in the corpus cavernosum of high-cholesterol diet-induced erectile dysfunction rats for gene therapy. *J Sex Med.* 2008; 5: 1355-64.
26. Zhu XY, Rodriguez-Porcel M, Bentley MD, et al. Antioxidant intervention attenuates myocardial neovascularization in hypercholesterolemia. *Circulation* 2004; 109: 2109-15.
27. Zhao H, Wang Y, Wu Y, et al. Hyperlipidemia does not prevent the cardioprotection by postconditioning against myocardial ischemia/reperfusion injury and the involvement of hypoxia inducible factor-1 α upregulation. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2009; 41(9): 745-53.
28. Knudsen AR, Kannerup AS, Grønbaek H, et al. Effects of ischemic pre- and postconditioning on HIF-1 α , VEGF and TGF- β expression after warm ischemia and reperfusion in the rat liver. *Comp Hepatol.* 2011; 10(1): 3. doi: 10.1186/1476-5926-10-3.
29. Song X, Zhang N, Xu H, et al. Combined preconditioning and postconditioning provides synergistic protection against liver ischemic reperfusion injury. *Int J Biol Sci.* 2012; 8(5): 707-18. doi: 10.7150/ijbs.4231.
30. Guo JY, Yang T, Sun XG, et al. Ischemic postconditioning attenuates liver warm ischemia-reperfusion injury through Akt-eNOS-NO-HIF pathway. *J Biomed Sci.* 2011; 18: 79. doi: 10.1186/1423-0127-18-79.
31. Yingjia G, Tong Y, Jun L, et al. Rb1 postconditioning attenuates liver warm ischemia-reperfusion injury through ROS-NO-HIF pathway. *Life Sciences.* 2011; 88: 598-605.
32. Li F, Sonveaux P, Rabbani ZN, et al. Regulation of HIF-1 α stability through S-nitrosylation. *Mol Cell.* 2007; 26: 63-74.
33. Mateo J, Garcia-Lecea M, Cadenas S, et al. Regulation of hypoxia-inducible factor-1 and independent pathways. *Biochem J* 2003; 376: 537-44.
34. Metzzen E, Zhou J, Jelkmann W, et al. Nitric oxide impairs normoxic degradation of HIF-1 α by inhibition of prolyl hydroxylases. *Mol Biol Cell.* 2003; 14: 3470-81.
35. Lefer DJ. Induction of HIF-1 α and iNOS with siRNA: a novel mechanism for myocardial protection. *Circ Res.* 2006; 98: 10-1.
36. Kasuno K, Takabuchi S, Fukuda K, et al. Nitric oxide induces hypoxia-inducible factor 1 activation that is dependent on MAPK and phosphatidylinositol 3-kinase signaling. *J Biol Chem.* 2004; 279: 2550-8.
37. Sandau KB, Faus HG, Brune B. Induction of hypoxia-inducible-factor 1 by nitric oxide is mediated via the PI 3 K pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000; 278: 263-7.
38. Wang T, Leng YF, Zhang Y, et al. Oxidative stress and hypoxia-induced factor 1 α expression in gastric ischemia. *World J Gastroenterol.* 2011; 17(14): 1915-22.
39. Liang H, Yu F, Tong Z, et al. Effect of ischemia post-conditioning on skeletal muscle oxidative injury, mTOR, Bax, Bcl-2 proteins expression, and HIF-1 α / β -actin mRNA, IL-6/ β -actin mRNA and caveolin-3/ β -actin mRNA expression in ischemia-reperfusion rabbits. *Mol Biol Rep.* 2013; 40(1): 507-14. doi: 10.1007/s11033-012-2087-9.