

[https://doi.org/10.17116/jnevro2017117101?-](https://doi.org/10.17116/jnevro2017117101?)

## Влияние мексидола на экспрессию фактора, индуцируемого гипоксией HIF-1 $\alpha$ , в коре больших полушарий головного мозга крыс при ишемии

Е.Н. ЯКУШЕВА, П.Ю. МЫЛЬНИКОВ, И.В. ЧЕРНЫХ, А.В. ШУЛЬКИН\*

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова», Рязань, Россия

**Цель исследования.** Изучить влияние мексидола (этилметилгидроксипиридина сукцината) на экспрессию фактора, индуцируемого гипоксией (HIF-1 $\alpha$ ), в коре лобной доли больших полушарий головного мозга при его ишемии. **Материал и методы.** Работа выполнена на 64 половозрелых крысах-самцах линии Вистар. Экспрессию HIF-1 $\alpha$  определяли иммуногистохимически. **Результаты и обсуждение.** Установлено, что однократное внутривентральное введение мексидола в дозе 120 мг/кг массы и его курсовое пероральное введение в дозе 100 мг/кг массы 3 раза в день в течение 14 дней не влияет на экспрессию фактора HIF-1 $\alpha$ . Односторонняя окклюзия общей сонной артерии повышает экспрессию HIF-1 $\alpha$  через 4 ч от момента окклюзии. Пероральное введение мексидола в дозе 100 мг/кг массы 3 раза в день в течение 14 дней до и после моделирования ишемии повышает экспрессию HIF-1 $\alpha$  через 4 и 12 ч по сравнению с показателями нормы на 5-е сутки по сравнению со значениями контроля окклюзии. Таким образом, установлено, что мексидол увеличивает экспрессию HIF-1 $\alpha$  в лобной коре головного мозга крыс не в условиях нормы, а при односторонней окклюзии общей сонной артерии.

**Ключевые слова:** мексидол, этилметилгидроксипиридина сукцинат, ишемия, окклюзия общей сонной артерии.

### Mexidol effect on the factor induced by hypoxia HIF-1 $\alpha$ expression in the rat cerebral cortex in its ischemia

E.N. YAKUSHEVA, P.YU. MYLNIKOV, I.V. CHERNYKH, A.V. SHCHULKIN

Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia

**The aim of the research** – to study the Mexidol (ethylmethylhydroxypyridine succinate) effect on the factor induced by hypoxia (HIF-1 $\alpha$ ) expression in the frontal cortex of the brain in its ischemia. **Material and methods.** The work was performed on the 64 male Wistar rats. The expression of HIF-1 $\alpha$  was determined immunohistochemically. **Results and discussion.** It is determined that single intraperitoneal administration of Mexidol at a dose 120 mg/kg and oral administration at a dose 100 mg/kg three times a day for 14 days is not affected the expression of HIF-1 $\alpha$ . Unilateral occlusion of the common carotid artery increases the expression of HIF-1 $\alpha$  at 4 hours after the occlusion. Oral administration of Mexidol at a dose 100 mg/kg three times a day for 14 days before and after ischemia increases the expression of HIF-1 $\alpha$  after 4 and 12 hours in comparison with the norm, on the 5th day in comparison with occlusion control. Thus, it has been established that Mexidol increases the expression of HIF-1 $\alpha$  in the frontal cortex of rat brain not under normal conditions, but in unilateral occlusion of the common carotid artery.

**Keywords:** mexidol, ethylmethylhydroxypyridine succinate, ischemia, occlusion of common carotid artery.

Мексидол (этилметилгидроксипиридина сукцинат) — оригинальный отечественный лекарственный препарат, обладающий выраженным антигипоксическим и антиоксидантным действием. На протяжении 20 лет клинического использования он доказал свою высокую нейропротективную, антигипоксическую, антиоксидантную, анксиолитическую и ноотропную активность [1].

Первоначально предполагалось, что антиоксидантная активность мексидола связана с наличием в его молекуле гидроксильной группы, способной связывать свободные радикалы, а антигипоксическое действие обусловлено присутствием остатка янтарной кислоты, обеспечивающего восстановление окислительного фосфорилирования, нарушенного в условиях недостатка кислорода [1, 2]. Однако в дальнейшем было показано, что мексидол способен также повышать активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, глутатион-

пероксидазы), увеличивать соотношение липид/белок в цитоплазматической мембране, оказывая модулирующее влияние на активность мембраносвязанных ферментов и рецепторных комплексов (ГАМК-бензодиазепиновый, ацетилхолиновый), подавлять развитие глутаматной эксайтотоксичности [1, 3].

За формирование долговременной адаптации к гипоксии отвечает HIF-1, транскрипционный фактор. Известно, что увеличение уровня HIF-1 приводит к повышению экспрессии генов, которые обеспечивают адаптацию клетки к недостатку кислорода и стимулируют эритропоэз (гены эритропоэтина), ангиогенез (ген фактора роста эндотелия сосудов VEGF), ферменты гликолиза (ген альдолазы, лактатдегидрогеназы, фосфофруктокиназы, пируваткиназы и пр.). Кроме того, HIF-1 регулирует экспрессию генов, участвующих в обмене железа, регуляции со-

судистого тонуса, клеточной пролиферации, апоптоза, липогенеза и др. [4].

Учитывая многообразие эффектов мексидола, можно предположить, что одним из возможных дополнительных механизмов действия препарата является его воздействие на  $\alpha$ -субъединицу транскрипционного фактора HIF-1.

Цель настоящего исследования — изучение влияния мексидола на экспрессию HIF-1 $\alpha$  в коре лобной доли больших полушарий головного мозга крыс при односторонней окклюзии общей сонной артерии.

## Материал и методы

Исследование выполнено на 64 половозрелых крысах-самцах линии Вистар (Wistar) массой 220—300 г. Работа с животными проводилась в соответствии с правилами лабораторной практики (приказ МЗ РФ №199н от 01.04.16).

Все животные были распределены на 5 групп. Животным 1-й группы (норма,  $n=6$ ) вводили дистиллированную воду 3 раза в день в течение 14 дней. Крысам 2-й группы ( $n=5$ ) вводили мексидол *per os* в дозе 100 мг/кг массы 3 раза в день в течение 14 дней [5]. Животным 3-й группы ( $n=5$ ) однократно внутривентриально вводили мексидол в дозе 120 мг/кг массы [6]. Крысам 4-й группы (контроль окклюзии,  $n=24$ ) в течение 14 дней вводили дистиллированную воду 3 раза в день, а затем моделировали окклюзию общей сонной артерии и продолжали вводить дистиллированную воду в том же режиме. В 5-ю группу вошли крысы ( $n=24$ ), которым на протяжении 14 дней до и после окклюзии общей сонной артерии вводили мексидол *per os* в дозе 100 мг/кг массы 3 раза в день; 4-я и 5-я группы включали по 4 серии — 4 и 12 ч, 5 и 12 сут после окклюзии сонной артерии (6 животных на каждую временную точку).

Окклюзию общей сонной артерии моделировали под эфирным наркозом. После вскрытия мягких тканей шеи животных выделяли правую общую сонную артерию и накладывали на нее лигатуру с последующим ушиванием раны. В конце эксперимента (через 30 мин после последнего введения мексидола или воды) животных эвтаназируют декапитацией под эфирным наркозом. Для оценки экспрессии HIF-1 $\alpha$  и биохимических исследований забирали образцы коры лобной доли правого полушария головного мозга.

Экспрессию HIF-1 $\alpha$  определяли иммуногистохимически. Образцы коры фиксировали в 10% растворе забуференного нейтрального формалина, обезвоживали в растворах этилового спирта возрастающей концентрации, просветляли ксилолом и заключали в парафин. Перед реакцией иммунного окрашивания производили демаскировку антигенов тканей нагреванием на водяной бане в 10 мМ цитратном буфере (рН 6,0). Эндogenous пероксидазу блокировали 3% раствором пероксида водорода. Затем срезы инкубировали с первичными антителами к HIF-1 $\alpha$  (моноклональные антитела мыши HIF1 $\alpha$ /HIF1 Alpha (aa432-528) (Unconjugated) (H1alpha67), 50 мкл (LifeSpan LS-B110)) в разведении 1:50 по стандартной методике. Для иммунного окрашивания использовали полимерную систему детекции с пероксидазной меткой Novolink («Leica microsystems», Германия). Микропрепарат фотографировали с помощью цифровой камеры ТС-500 «ЛОМО» при увеличении в 400 раз.

В каждом гистологическом препарате оценивали 10 репрезентативных участков (10 фотографий). В дальнейшем изображения анализировали с помощью медицинской программы для анализа и обработки цифровых изображений ImageJ. Определяли общее количество HIF-1 $\alpha$ -позитивных ядер в поле зрения. Дополнительно гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином.

В гомогенате лобной коры головного мозга крыс также определяли концентрацию ТБК-реактивных продуктов [7], уровень небелковых SH-групп [8], активность глутатионпероксидазы (G-per) [9] и активность глутатион-S-трансферазы (G-tr) [10].

Полученные результаты обрабатывали с помощью программ Statistica 7.0 «StatSoft» и SPSS Statistics ver. 20 («IBM»). Для оценки статистической значимости различий между показателями использовали критерий Крускала—Уоллиса. Парные сравнения выполняли с помощью критерия Манна—Уитни. Для анализа корреляции между экспрессией HIF-1 $\alpha$  и показателями свободнорадикального статуса ткани головного мозга использовали коэффициент корреляции Спирмена. Результаты представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей.

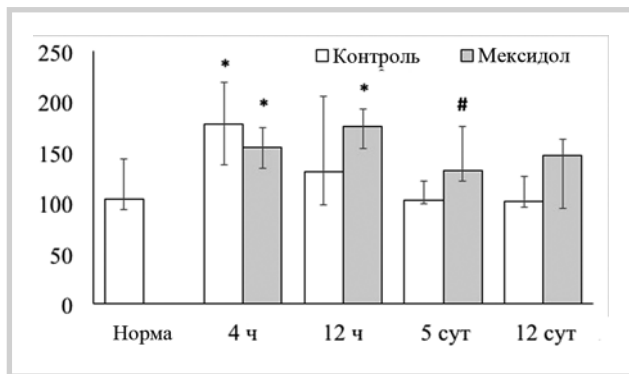
## Результаты

В коре лобной доли головного мозга крыс HIF-1 $\alpha$ -позитивно окрашивались ядра клеток. В исследовании не проводили дифференцировку клеток на нейроны и клетки глии, а подсчитывали общее число иммунопозитивных ядер клеток в 4-м слое коры лобной доли головного мозга.

Однократное внутривентриальное введение мексидола и курсовое пероральное использование тестируемого препарата в течение 14 дней не влияло на количество HIF-1 $\alpha$ -позитивных ядер, а также на концентрацию ТБК-реактивных продуктов, уровень небелковых SH-групп, активность G-tr и G-per в гомогенате коры головного мозга крыс. Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение мексидола интактным животным, не находящимся в условиях гипоксии, не влияет на экспрессию HIF-1 $\alpha$  и оксидативный статус клеток коры головного мозга.

При моделировании окклюзии общей сонной артерии через 4 ч от момента ее пережатия в клетках лобной коры головного мозга крыс отмечалось увеличение количества HIF-1 $\alpha$ -позитивных ядер на 71,2% ( $p=0,052$ ) по сравнению с показателем нормы. В более поздние сроки эксперимента количество HIF-1 $\alpha$ -позитивных ядер клеток головного мозга приходило в норму и статистически значимо от данных интактных крыс не отличалось (**см. рисунок**).

Применение мексидола в течение 14 дней до и после моделирования окклюзии общей сонной артерии приводило к увеличению количества HIF-1 $\alpha$ -позитивных ядер клеток лобной доли коры головного мозга крыс через 4 ч после окклюзии на 49,0% ( $p=0,032$ ), через 12 ч — на 69,2% ( $p=0,016$ ), в остальные сроки исследования достоверно не отличалось от показателей нормы (животные 1-й группы). При введении мексидола на 5-е сутки окклюзии количество HIF-1 $\alpha$ -позитивных ядер на 28,2% ( $p=0,017$ ) превышало данный показатель животных группы контроля окклюзии (4-я группа) (**см. рисунок**).



**Влияние мексидола на экспрессию NIF-1α в коре лобной доли головного мозга крыс при односторонней окклюзии общей сонной артерии.**

\* — достоверные различия с показателями нормы на уровне  $p < 0,05$ ; # — достоверные различия с показателями контроля на уровне  $p < 0,05$ . По оси ординат — количество NIF-1α-позитивных ядер; по оси абсцисс — серии эксперимента.

Концентрация ТБК-реактивных продуктов по сравнению с показателями нормы (животные 1-й группы) увеличивалась в гомогенате коры через 4 ч от момента окклюзии на 30,4% ( $p=0,052$ ), приходила в норму через 12 ч от момента пережатия артерии и вновь повышалась на 5-е и 12-е сутки на 50,8% ( $p=0,004$ ) и 60,6% ( $p=0,002$ ) соответственно. Концентрация небелковых SH-групп в гомогенате

головного мозга снижалась по сравнению с показателями нормы через 4 ч и на 5-е сутки окклюзии на 28,1% ( $p=0,017$ ) и 39,8% ( $p=0,004$ ) соответственно. Активность G-рег снижалась через 4 ч пережатия сонной артерии на 18,9% ( $p=0,065$ ), через 12 ч — на 22,9%, активность G-tr повышалась на 35,8% ( $p=0,009$ ) через 4 ч от момента окклюзии по отношению к уровню нормы (см. таблицу).

Применение мексидола до и после моделирования окклюзии общей сонной артерии с профилактической и лечебной целями оказывало нейропротективное действие, о чем свидетельствует снижение выраженности окислительного стресса в гомогенате коры лобной доли головного мозга крыс. На фоне мексидола происходила нормализация уровня ТБК-реактивных продуктов и небелковых SH-групп, на протяжении всего эксперимента эти показатели статистически значимо не отличались от значений у нормы (животные 1-й группы). Активность G-рег по сравнению с нормой снижалась через 12 ч и на 5-е сутки после пережатия общей сонной артерии на 26,8% ( $p=0,004$ ) и 19,8% ( $p=0,03$ ) соответственно, активность G-tr уменьшалась через 12 ч на 17,6% ( $p=0,052$ ). Концентрация ТБК-реактивных продуктов у животных, получавших мексидол, была достоверно ниже значений контроля окклюзии (4-я группа) на 5-е и 12-е сутки на 31,9% ( $p=0,082$ ) и 24,3% ( $p=0,002$ ) соответственно. Уровень небелковых SH-групп у подопытных животных превышал значения контроля окклюзии через 4 ч на 81,2% ( $p=0,032$ ), через 5 сут — на 72,8% ( $p=0,004$ ) и через 12 сут — на 49,7% ( $p=0,004$ ). Активность G-рег у крыс, получавших мексидол, была ниже показателей 4-й группы на 5-е

**Влияние мексидола на свободнорадикальный статус коры лобной доли головного мозга крыс при односторонней окклюзии общей сонной артерии**

Показатель	Норма	Окклюзия 4 ч	Окклюзия 12 ч	Окклюзия 5-е сутки	Окклюзия 12-е сутки
ТБК-реактивные продукты, нмоль/мг белка:	9,11 [7,77; 10,72]				
контроль		11,88 [10,49; 13,13]*	9,32 [8,39; 11,72]	13,74 [13,39; 14,84]*	14,63 [13,15; 16,03]*
мексидол		12,95 [9,29; 14,81]	10,27 [9,29; 10,46]	9,35 [8,05; 12,82]#	11,07 [10,73; 12,24]#
Небелковые SH-группы, мкмоль/мг белка:	4,88 [4,26; 5,34]				
контроль		3,51 [2,88; 4,14]*	4,14 [3,54; 4,78]	2,94 [2,48; 3,49]*	3,84 [2,68; 4,55]
мексидол		6,36 [4,61; 9,95]#	5,52 [4,37; 6,34]	5,08 [4,88; 7,42]#	5,75 [5,32; 6,45]#
G-рег, нмоль НАДФН/мин×мг белка:	20,48 [18,6; 22,76]				
контроль		16,61 [13,91; 20,04]*	15,79 [15,11; 16,39]*	21,13 [19,49; 23,01]	19,84 [16,84; 21,36]
мексидол		15,99 [11,55; 20,69]	14,99 [9,37; 15,55]*	16,43 [14,27; 18,81]*, #	16,39 [13,4; 19,86]
G-tr, нмоль ХДНБ/мин×мг белка:	82,32 [70,55; 91,17]				
контроль		111,82 [93,71; 132,84]*	76,54 [70,17; 88,15]	82,31 [70,59; 158,66]	69,22 [61,70; 83,13]
мексидол		81,55 [57,56; 99,74]#	67,82 [52,66; 70,81]*	75,76 [68,38; 89,41]	65,28 [61,07; 84,23]

Примечание. \* — достоверные различия с показателями нормы на уровне  $p < 0,05$ ; # — достоверные различия с показателями контроля на уровне  $p < 0,05$ . Результаты представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей.

сутки окклюзии на 22,2% ( $p=0,016$ ), активность G-tr — через 4 ч после пережатия артерии на 27,1% ( $p=0,03$ ) (см. таблицу).

У животных группы контроля окклюзии наблюдалась прямо пропорциональная зависимость между количеством HIF-1 $\alpha$ -позитивных ядер клеток головного мозга и концентрацией ТБК-реактивных продуктов  $R_s=0,48$  ( $p=0,043$ ). У животных, получавших мексидол на фоне окклюзии общей сонной артерии, наблюдалась прямо пропорциональная зависимость между количеством HIF-1 $\alpha$ -позитивных ядер клеток головного мозга и уровнем небелковых SH-групп  $R_s=0,506$  ( $p=0,023$ ).

## Обсуждение

HIF-1 — транскрипционный фактор, ответственный за формирование основы долговременной адаптации к гипоксии. HIF-1 состоит из двух субъединиц  $\alpha$  и  $\beta$ .  $\beta$ -Субъединица экспрессируется постоянно, экспрессия  $\alpha$ -субъединицы контролируется уровнем кислорода. В присутствии кислорода и 2-оксоглутарата HIF-1 $\alpha$  гидроксимирируется, ацетируется, перемещается в протеосому и разрушается [11]. При стабилизации субъединицы HIF-1 $\alpha$  в условиях гипоксии она связывается с HIF-1 $\beta$ . Образовавшийся в результате этого транскрипционный белок HIF-1 в ядре клетки соединяется с особыми последовательностями ДНК в генах, экспрессия которых индуцируется гипоксией [4].

В настоящем исследовании установлено, что однократное внутрибрюшинное и курсовое (в течение 14 дней) пероральное введение мексидола не изменяет количество HIF-1 $\alpha$ -позитивных ядер в коре лобной доли больших полушарий головного мозга интактных (не подвергавшихся патологическим воздействиям) крыс. Полученные результаты свидетельствуют, что мексидол не влияет на экспрессию HIF-1 $\alpha$  у интактных животных. Курсовое и однократное введение мексидола животным, не подвергшимся патологическим воздействиям, также не оказало существенного влияния на свободнорадикальный статус клеток коры лобной доли больших полушарий головного мозга крыс — концентрацию ТБК-реактивных продуктов, уровень небелковых SH-групп, активность G-tr и G-per.

При моделировании окклюзии общей сонной артерии через 4 ч от момента ее пережатия в лобной коре головного мозга крыс отмечалось увеличение количества HIF-1 $\alpha$ -позитивных ядер клеток по сравнению с показателями нормы. Полученные результаты согласуются с данными литературы. В исследовании G. Kalesnykas и соавт. [12] показано, что экспрессия HIF-1 $\alpha$  увеличивается в нейронах крыс после окклюзии общей сонной артерии. Авторы предположили, что снижение кровотока и ишемия приводят к клеточной гипоксии, что в свою очередь вызывает стабилизацию HIF-1 $\alpha$ . Аналогичные по дизайну исследования показали, что уровень HIF-1 $\alpha$  повышается сразу после гипоксического воздействия, достигая максимума через 3—4 ч и сохраняется до 24 ч после инсульта [13, 14].

Применение мексидола в течение 14 дней до и после моделирования окклюзии общей сонной артерии приводило к повышению количества HIF-1 $\alpha$ -позитивных ядер клеток коры лобной доли головного мозга крыс через 4 и 12 ч после окклюзии по сравнению с показателями нормы. На 5-е сутки окклюзии при введении мексидола ко-

личество HIF-1 $\alpha$ -позитивных ядер превышало таковой показатель животных группы контроля окклюзии.

Мексидол способен повысить экспрессию HIF-1 $\alpha$  в условиях гипоксии за счет нескольких механизмов. Сукцинат, входящий в состав мексидола, является агонистом сукцинатзависимого рецептора (GPR-91), стимулирующего митоген-активированную протеинкиназу (МАРК), которая фосфорилирует HIF-1 $\alpha$  и таким образом стабилизирует ее молекулу [15]. Кроме того, предполагается, что сукцинат непосредственно может ингибировать HIF-пролилгидроксилазу в цитозоле, таким образом стабилизируя субъединицу HIF-1 [15].

Показано, что дыхательная цепь митохондрий вовлечена в регуляцию экспрессии HIF-1 $\alpha$ . Блокада комплекса I электронотранспортной цепи приводит к практически полному устранению гипоксической индукции экспрессии HIF-1. Сукцинат, являясь субстратом комплекса II, может восстанавливать работу дыхательной цепи и таким образом способствовать индукции экспрессии HIF-1 [16].

Моделирование окклюзии общей сонной артерии сопровождалось развитием окислительного стресса, о чем свидетельствовало повышение концентрации ТБК-реактивных продуктов, уменьшение уровня SH-групп и активности G-per в ткани головного мозга. Прямо пропорциональная зависимость между количеством HIF-1 $\alpha$ -позитивных ядер и концентрацией ТБК-реактивных продуктов подтверждает взаимосвязь окислительного стресса и ишемии.

Повышенная экспрессия HIF-1 $\alpha$  при введении мексидола на фоне односторонней окклюзии общей сонной артерии сопровождалась антиоксидантным действием изучаемого препарата. Концентрация ТБК-реактивных продуктов у животных, получавших мексидол, была достоверно ниже значений контроля окклюзии на 5-е и 12-е сутки, уровень небелковых SH-групп превышал значения контроля окклюзии через 4 ч, 5 и 12 сут. Наблюдалась прямо пропорциональная зависимость между количеством HIF-1 $\alpha$ -позитивных ядер клеток и уровнем небелковых SH-групп, отражающим концентрацию восстановленного глутатиона. Глутатион играет важную роль в поддержании внутриклеточного редокс-гомеостаза, необходимого для экспрессии ряда транскрипционных факторов и развития репаративных процессов. Видимо, установленная корреляционная зависимость показывает, что экспрессия HIF-1 $\alpha$  при введении мексидола на фоне окклюзии общей сонной артерии связана не с выраженностью окислительного стресса (отражением которого является уровень ТБК-реактивных продуктов), а с активацией репаративных процессов.

Таким образом, в настоящем исследовании установлено, что мексидол увеличивает экспрессию HIF-1 $\alpha$  в клетках коры лобной доли больших полушарий головного мозга не в условиях нормы, а при односторонней окклюзии общей сонной артерии, что, вероятно, является одним из механизмов, обеспечивающих репарацию и переносимость гипоксии. Однократное внутрибрюшинное введение мексидола в дозе 120 мг/кг массы и его курсовое пероральное введение в дозе 100 мг/кг массы 3 раза в день в течение 14 дней не влияет на экспрессию транскрипционного фактора HIF-1 $\alpha$  в клетках коры лобной доли головного мозга крыс. При односторонней окклюзии общей сонной артерии происходит повышение экспрессии HIF-1 $\alpha$  в клетках коры лобной доли головного мозга крыс через 4

ч от момента пережатия артерии по сравнению с показателями нормы. Пероральное введение мексидола в дозе 100 мг/кг массы 3 раза в день в течение 14 дней до и после моделирования односторонней окклюзии общей сонной артерии приводит к повышению экспрессии HIF-1 $\alpha$  в клетках коры лобной доли головного мозга крыс через 4 и

12 ч после окклюзии по сравнению с показателями нормы, на 5-е сутки по сравнению со значениями контроля окклюзии.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Воронина Т.А. Мексидол: спектр фармакологических эффектов. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2012;112(12):86-90. Ссылка активна на 23.06.17. [Voronina TA. Mexidol: the spectrum of pharmacological effects. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2012;112(12):86-90. Accessed June 23, 2017.] <https://www.mediasphera.ru/issues/zhurnal-nevrologii-i-psikiatrii-im-s-s-korsakova/2012/12/031997-729820121215>
2. Лукьянова Л.Д. Сигнальная роль митохондрий при адаптации к гипоксии. *Физиологический журнал*. 2013;59(6):141-154. Ссылка активна на 23.06.17. [Lukyanova LD. Mitochondria signaling in adaptation to hypoxia. *Physiological magazine*. 2013;59(6):141-154. Accessed June 23, 2017.] [http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis\\_nbuv/cgiirbis\\_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP\\_meta&C21COM=S&2\\_S21P03=FILE=&2\\_S21STR=Fiziol\\_2013\\_59\\_6\\_20](http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILE=&2_S21STR=Fiziol_2013_59_6_20)
3. Шулькин А.В. Влияние мексидола на развитие феномена эксайтотоксичности нейронов *in vitro*. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2012;112(2):35-39. Ссылка активна на 23.06.17. [Shchulkin AV. Effect of mexidol on the development of the phenomenon of the neuronal excitotoxicity *in vitro*. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2012;112(2):35-39. Accessed June 23, 2017.] <https://www.mediasphera.ru/issues/zhurnal-nevrologii-i-psikiatrii-im-s-s-korsakova/2012/2/031997-7298201226>
4. Semenza GL. O<sub>2</sub> regulated gene expression: transcriptional control of cardiorespiratory physiology by HIF1. *Journal of Applied Physiology*. 2004; 96(3):1173-1177. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00770.2003>
5. Воронина Т.А., Молодавкин Г.М., Бабаев И.И., Смирнов Л.Д., Яснецов В.В., Шашков В.С. Изучение антистрессорного и анальгетического эффектов Мексидола, диазепама, парацетамола и их комбинаций. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2006;69(4):6-9. Ссылка активна на 23.06.17. [Voronina TA, Molodavkin GM, Babaev II, Smirnov LD, Yasnetsov VV, Shashkov VS. Antistressor and analgesic effects of mexidol, diazepam, paracetamol, and their combinations. *Ėksperimentalnaya i klinicheskaya Farmakologiya*. 2006;69(4):6-9. Accessed June 23, 2017.] <http://ekf.folium.ru/index.php/ekf/article/view/1028>
6. Яснецов В.В., Воронина Т.А. Действие семакса и Мексидола на моделях ишемии мозга у крыс. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2009;72(1):68-70. Ссылка активна на 23.06.17. [Yasnetsov VV, Voronina. Effect of semax and mexidol on brain ischemia models in rats. *Ėksperimentalnaya i klinicheskaya Farmakologiya*. 2009;72(1):68-70. Accessed June 23, 2017.] <http://ekf.folium.ru/index.php/ekf/article/view/676>
7. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой. *Вопросы медицинской химии*. 1987;33(1):118-122. Ссылка активна на 23.06.17. [Gavrilov VB, Gavrilova AR, Mazhul' LM. Methods of determining lipid peroxidation products in the serum using a thiobarbituric acid test. *Voprosy meditsinskoj khimii*. 1987;33(1):118-122. Accessed June 23, 2017.] <http://pbmc.ibmc.msk.ru/index.php/ru/article/PBMC-1987-33-1-118-ru>
8. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1959;82(1):70-77. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
9. Ланкин В.З., Гуревич С.М. Ингибирование перекисления липидов и детоксикация липоперекисей защитными ферментативными системами (супероксиддисмутазы, глутатион-пероксидазы, глутатион-редуктазы) при экспериментальном злокачественном росте. *Доклады академии наук СССР*. 1976;226(3):705-708. [Lankin VZ, Gurevich SM. Ingibirovanie pereokisleniya lipidov i detoksikatsiya lipoperekisei zashchitnymi fermentativnymi sistemami (superoksidismutaza, glutation-peroksidaza, glutation-reduktaza) pri eksperimental'nom zlokachestvennom roste. *Doklady akademii nauk SSSR*. 1976;226(3):705-708. (In Russ.)]
10. Keen JH, Jakoby WB. Glutathione transferases. Catalysis of nucleophilic reactions of glutathione. *Journal of Biological Chemistry*. 1978;253(16):5654-5857.
11. Ran R, Xu H, Lu A, Bernaudin M, Sharp FR. Hypoxia preconditioning in the brain. *Developmental Neuroscience*. 2005;27:87-92. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
12. Kalesnykas G, Tuulos T, Uusitalo H, Jolkkonen J. Neurodegeneration and cellular stress in the retina and optic nerve in rat cerebral ischemia and hypoperfusion models. *Neuroscience*. 2008;155(3):937-947. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.06.038>
13. van den Tweel ER, Kavelaars A, Lombardi MS, Nijboer CH, Groenendaal F, van Bel F, Heijnen CJ. Bilateral molecular changes in a neonatal rat model of unilateral hypoxic-ischemic brain damage. *Pediatric Research*. 2006;59(3):434-439. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000200799.64038.19>
14. Calvert JW, Cahill J, Yamaguchi-Okada M, Zhang JH. Oxygen treatment after experimental hypoxia-ischemia in neonatal rats alters the expression of HIF-1 $\alpha$  and its downstream target genes. *Journal of Applied Physiology*. 2006;101(3):853-865. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00268.2006>
15. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени для их действия. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2013;76(5):37-47. Ссылка активна на 23.06.17. [Novikov VE, Levchenkova OS. Promising directions of search for antihypoxants and targets of their action. *Ėksperimentalnaya i klinicheskaya Farmakologiya*. 2013;76(5):37-47. Accessed June 23, 2017.] <http://ekf.folium.ru/index.php/ekf/article/view/73>
16. Agani FH, Pichinle P, Chavez JC, Manna JC. The role of mitochondria in the regulation of hypoxia-inducible factor 1 expression during hypoxia. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(46):35863-35867. <https://doi.org/10.1074/jbc.M005643200>