

УДК 616-092.18:576.3

## ИЗМЕНЕНИЕ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ И ПОСЛЕДУЮЩЕЙ РЕОКСИГЕНАЦИИ

<sup>1</sup>Антонова Л.В., <sup>1</sup>Матвеева В.Г., <sup>1</sup>Понасенко А.В., <sup>1</sup>Головкин А.С., <sup>2</sup>Артымук Н.В.,  
<sup>2</sup>Тришкин А.Г., <sup>2</sup>Бикметова Е.С.

<sup>1</sup>НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН,  
Кемерово, e-mail: reception@cardio.kem.ru;

<sup>2</sup>ГОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Минздрава России,  
Кемерово, e-mail: kemsma@kemsma.ru.

Цель исследования – изучить динамику пролиферативной активности и апоптотических изменений эндотелиальных клеток (ЭК) человека в условиях гипоксии и последующей реоксигенации. Различные модели гипоксии ((10% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, 85% Ar) и (5% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, 90% Ar)) создавали в условиях мультигазового биореакторного комплекса в непрерывном 3-суточном режиме с использованием автоматической коррекции газового состава через каждые 2 мин и поддержанием температуры в колбах биореактора 37°C. Контролем для проводимых исследований явилось культивирование ЭК при 20% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub> и 37°C. В ходе эксперимента выявлено, что снижение концентрации кислорода с 20% до 5% привело к увеличению в 9 раз частоты возникавшего некроза ЭК. Через 2 сут культивирования ЭК при 10% O<sub>2</sub> и 5% O<sub>2</sub> коэффициенты клеточной пролиферации превысили таковые при стандартных условиях культивирования в 1,6 и 1,8 раза, соответственно. Увеличение сроков культивирования ЭК при 10% O<sub>2</sub> и 5% O<sub>2</sub> способствовало повышению коэффициентов пролиферации в период реоксигенации. Максимум подобных проявлений зафиксирован после 3-дневного культивирования ЭК при 5% O<sub>2</sub> и последующей 3-дневной реоксигенации. Коэффициент пролиферации при этом оказался в 1,8 раза выше по сравнению с 3-дневным культивированием ЭК в стандартных условиях.

**Ключевые слова:** эндотелиальные клетки, гипоксия, реоксигенация, коэффициент пролиферации, жизнеспособность

## CHANGE IN PROLIFERATIVE ACTIVITY AND VIABILITY OF HUMAN ENDOTHELIAL CELLS DURING HYPOXIA AND FURTHER REOXYGENATION

<sup>1</sup>Antonova L.V., <sup>1</sup>Matveeva V.G., <sup>1</sup>Ponassenko A.V., <sup>1</sup>Golovkin A.S., <sup>2</sup>Artyumuk N.V.,  
<sup>2</sup>Trishkin A.G., <sup>2</sup>Bikmetova E.S.

<sup>1</sup>NI «Complex problems of cardiovascular disease, SB RAMS, Kemerovo,  
e-mail: reception@cardio.kem.ru;

<sup>2</sup>GOU VPO «Kemerovo State Medical Academy of Health Ministry of Russia»,  
Kemerovo, e-mail: kemsma@kemsma.ru

The study was aimed at evaluating the dynamics of human endothelial proliferative activity and apoptotic changes during hypoxia and further reoxygenation. Different models of hypoxia ((10% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, 85% Ar) and (5% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, 90% Ar)) were created in a multi-gas bioreactor continuously during 3 days using automatic correction of gas composition every 2 minutes and keeping a stable temperature of 37°C in a bioreactor flask. The control was cultivating endothelial cells at 20% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub> and 37°C. The experiment showed that the decrease in O<sub>2</sub> concentrations from 20 to 5% resulted in a 9-fold increased endothelial cell necrosis. 2 days after cultivating endothelial cells at 10% O<sub>2</sub> and 5% O<sub>2</sub> the coefficients of cell proliferation were 1,6 and 1,8 times higher than those under standard cultivation conditions, respectively. The prolonged duration of endothelial cell cultivation at 10% O<sub>2</sub> and 5% O<sub>2</sub> allowed to increase the proliferation coefficient during reoxygenation. These changes reached their maximum after 3-day endothelial cell cultivation at 5% O<sub>2</sub> and further 3-day reoxygenation. The proliferation coefficient was 1,8 times higher compared with that during 3-day endothelial cell cultivation under standard conditions.

**Keywords:** endothelial cells, hypoxia, reoxygenation, proliferation coefficient, cell viability

Гипоксия представляет собой универсальный патологический процесс, который сопровождает и определяет возникновение большинства сердечно-сосудистых заболеваний. Развитие сердечно-сосудистых событий предусматривает как периоды кислородного голодания в ишемизированных участках тканей, так и последующее восстановление кровотока – реперфузию. При этом нарушение кровоснабжения в период гипоксии и последующая реоксигенация приводят к изменениям состояния эндоте-

лиальных клеток (ЭК), которые правильнее рассматривать как систему эндотелиальных клеток, способную к саморегуляции в ответ на изменения условий среды [5]. Известно, что временная гипоксия способна вызывать активацию эндотелия [4, 10], а резкое повышение содержания кислорода (реоксигенация), может оказывать как повреждающее [3, 9], так и активирующее [6, 10] действие на эндотелиальные и прочие типы клеток. Возможность стимуляции апоптотических изменений культивируемых эндотелиоци-

тов в ответ на гипоксию и реоксигенацию освещалась многими авторами. К сожалению, данные, получаемые при изучении влияния различных концентраций кислорода на пролиферативную активность и апоптоз эндотелиальных клеток малочисленны и противоречивы в силу отличия режимов проводимых экспериментов, что приводит к необходимости дальнейшего изучения данного вопроса.

**Цель исследования** – изучить динамику пролиферативной активности и апоптотических изменений эндотелиальных клеток человека в условиях гипоксии и последующей реоксигенации.

### Материал и методы исследования

Эндотелиальные клетки из пупочной вены человека (HUVES) выделяли согласно адаптированному протоколу Jaffe et al. (1973 г.) Последующее культивирование клеток проводили с использованием наборов Endothelial Cell Culture Medium Kit (BD Bioscience, США). В эксперименте использовали культуру HUVES 2 пассажа, предварительно протестированную на предмет присутствия бактериальных и вирусных ДНК, способных влиять на клеточную пролиферацию. Тестирование на микоплазму, уреоплазму, цитомегаловирус, вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска (тип 16, 18), вирус простого герпеса I и II типов проводили методом ПЦР на детекторе ДТ 96 (Россия) в режиме реального времени с использованием реагентов фирмы «Амплиценс» (Россия).

Различные модели гипоксии ((10% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, 85% Ar) и (5% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, 90% Ar)) создавали в условиях мультигазового биореакторного комплекса (ООО «Саяны», Россия) в непрерывном 3-суточном режиме с использованием автоматической коррекции газового состава через каждые 2 мин и поддержанием температуры в колбах биореактора 37 °С. Культуру HUVES для каждого эксперимента высевали в количестве 2·10<sup>5</sup> в три 6-луночные планшета, предварительно покрытые раствором коллагена I типа в концентрации 100 мкг/мл, и помещали их в первую колбу биореактора. Во вторую колбу помещали три 96-луночных планшета, лунки которых предварительно были покрыты коллагеном I типа в вышеуказанной концентрации и засеяны эндотелиальными клетками в количестве 0,1·10<sup>5</sup>. После герметизации колб запускали биореактор. Отсчет времени гипоксического воздействия начинали с момента стабилизации задаваемого газового состава (в среднем, через 1,5 часа). Через каждые сутки из колб биореактора изымали по одному 6-луночному и 96-луночному планшету для последующего подсчета клеток, их фенотипирования, определения жизнеспособности, пролиферативной активности как после проведенной гипоксии, так и в условиях последующей реоксигенации. Смену среды в оставшихся 96-луночных планшетах проводили ежедневно, в 6-луночных – 1 раз в 3 дня.

Подсчет эндотелиальных клеток после снятия с поверхности культурального пластика 0,5% раствором трипсина (Sigma Aldrich, США) проводили в камере Горяева. Фенотип снятых HUVES определяли методом проточной цитофлуориметрии на цитофлуориметре FACS Calibur (Becton Dickinson, США)

с использованием моноклональных антител CD146 и CD34 (BD Biosciences, США), меченных флуорохромами. Жизнеспособность HUVES оценивали методом проточной цитофлуориметрии по содержанию клеток в состоянии апоптоза и некроза относительно всей популяции. Для этой цели использовали комбинированную окраску: Annexin V, меченый PE, и ДНК-связывающий краситель 7AAD (BD Biosciences, США). Клетки в состоянии апоптоза определялись за счет высокоаффинного связывания Annexin V-PE с фосфатидилсеринном, появляющегося на внешнем монослое цитоплазматической мембраны. Дополнительная окраска 7-AAD позволила выделить раннюю и позднюю стадию клеточного апоптоза и идентифицировать некроз.

Оставшуюся часть снятой после гипоксии культуры HUVES высевали в три покрытых коллагеном I типа 96-луночных планшета для проведения МТТ-теста колориметрическим способом с оценкой результатов через 24, 48 и 72 часа после культивирования в условиях CO<sub>2</sub>-инкубатора при 20% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub> и 37 °С. МТТ-тест проводили с использованием МТТ Cell Proliferation Assay Kit (Invitrogen, США). Для определения пролиферативной активности эндотелиальных клеток в условиях гипоксии через 1, 2 и 3 сут из второй колбы биореактора вынимали по одному 96-луночному планшету с HUVES и проводили МТТ-тест. Один стрип выступал в качестве контроля культуральной среды и не содержал HUVES. Оценку результатов МТТ-теста осуществляли с помощью вычисления коэффициента пролиферации (КП) по формуле:

$$КП = \frac{ОП_{\text{опыт}}}{ОП_{\text{контроль}}}$$

где ОП<sub>опыт</sub> – это оптическая плотность экстракта красителя, поглощенного эндотелиальными клетками в ходе МТТ-теста; ОП<sub>контроль</sub> – это оптическая плотность красителя, содержащегося после МТТ-теста в лунках с культуральной средой без клеток.

Анализируемые показатели имели ненормальное распределение, поэтому достоверность различий определяли с помощью непараметрических критериев. Для оценки достоверности различий трех и более показателей внутри одной группы использовали критерий Фридмана, при проведении попарных сравнений – критерий Вилкоксона с поправкой Бонферрони. При сравнении двух несвязанных групп (показатели при нормоксии и гипоксии) использовали U-критерий Манна-Уитни, при сравнении трех несвязанных групп (эффекты гипоксии и реоксигенации по сравнению с нормоксией) – критерий Крискала – Уоллеса. Данные представляли как медиана и квартильный размах (Ме (25%; 75%)). При всех видах статистического анализа учитывался уровень статистической значимости 95% ( $p < 0,05$ ). Статистическую обработку данных проводили с помощью программы «Statistica 6.0».

### Результаты исследования и их обсуждение

Используемая в эксперименте культура HUVES была свободна от бактериальных и вирусных ДНК, что подтверждено методом ПЦР. Перед культивированием в условиях гипоксии и нормоксии количество жизнеспособных эндотелиальных клеток составило 93,5%, в раннем апоптозе пребывали 3,15%

клеток, в позднем апоптозе – 2,79%, в некрозе – 0,56% HUVEC. Из числа жизнеспособных ЭК 97,7% имели фенотип CD 146<sup>+</sup>, CD 34<sup>-</sup>. В процессе 3-дневного культивирования HUVEC при 20% O<sub>2</sub> клеточный фенотип и количество жизнеспособных клеток достоверно не менялись. Снижение концентрации кислорода от 10 до 5% в процессе культивирования

также не привело к изменению клеточного фенотипа и процента жизнеспособных эндотелиоцитов (93,5% при 20% O<sub>2</sub> до 92,9% – при 5% O<sub>2</sub>), однако способствовало увеличению процента клеток, пребывавших в состоянии некроза за счет практически полного исчезновения HUVEC в состоянии раннего апоптоза (рис. 1).

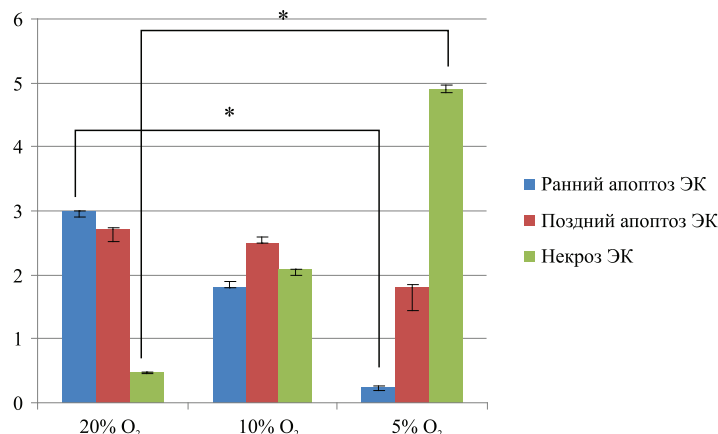


Рис. 1. Изменение частоты клеточного апоптоза и некроза в зависимости от условий культивирования эндотелиальных клеток:  
\* –  $p < 0,05$  – достоверность различий показателей

Так, частота возникновения раннего апоптоза среди ЭК, культивированных при 5% O<sub>2</sub>, сократилась в 13 раз по сравнению с таковой при использовании 20% O<sub>2</sub> ( $p < 0,01$ ). Однако доля некротизированных ЭК нарастала при снижении концентрации кислорода, достигнув максимума в процессе культивирования клеток при 5% O<sub>2</sub>, когда относительное число эндотелиоцитов в некрозе было в 9 раз больше, чем при стандартных условиях культивирования ( $p < 0,01$ ). При этом относительное число ЭК в позднем апоптозе при различных режимах оксигенации оставалось практически неизменным. Полученные результаты согласуются с данными других исследователей, демонстрировавших подавление процессов апоптоза в условиях гипоксии как на модели эндотелиоцитов, так и на примере

других типов клеток [1, 2, 6], который может быть связан с активацией синтеза ряда антиапоптотических белков [7, 8]. Превалирование процессов некроза над процессами апоптоза при усугублении гипоксии можно объяснить тем, что процесс запрограммированной гибели клеток в отличие от некроза сопровождается энергетическими затратами, что является в условиях гипоксии нерациональным либо невозможным за счет существующего у ЭК энергодифицита.

При изучении динамики клеточной пролиферации в различных режимах оксигенации выявлено, что общее количество HUVEC, культивированных при 20% O<sub>2</sub>, увеличилось в 1,5, 1,8 и 2,9 раза через 1, 2 и 3 сут соответственно. При этом КП достоверно вырос лишь через 3 сут, превысив в 1,5 раза таковой через сутки (таблица).

Общее количество HUVEC и коэффициенты пролиферации (КП) в различные временные интервалы культивирования при 20% O<sub>2</sub>, 10% O<sub>2</sub> и 5% O<sub>2</sub>

	Через 1 сутки (n = 6)		Через 2 сут (n = 6)		Через 3 сут (n = 6)	
	Количество HUVEC, ·10 <sup>5</sup> Ме(25%;75%)	КП Ме (25%;75%)	Количество HUVEC, ·10 <sup>5</sup> Ме(25%;75%)	КП Ме (25%;75%)	Количество HUVEC, ·10 <sup>5</sup> Ме(25%;75%)	КП Ме (25%;75%)
20% O <sub>2</sub>	3,0(3,0; 3,1)	2,2(2,1; 2,2)	5,5(5,0; 6,0)*	1,9(1,9; 2,2)	15,8(15,3;16,3)*	2,8(2,4; 3,1)*
10% O <sub>2</sub>	3,0(2,9; 3,1)	2,0(1,9; 2,0)	7,9(7,8; 8,0)*	3,0(2,9; 3,0)*/**	17,9(17,2; 18,5)*	3,5(2,2; 3,5)
5% O <sub>2</sub>	2,6(2,5; 2,7)	1,8(1,5; 1,9)	10,3(8,8; 11,8)*/**	3,5(3,0; 3,9)*/**	14,1(13,3; 15,0)	3,4(3,4; 3,6)

Примечания:

\* – достоверность отличий показателя с предшествующим значением в одной группе,  $p < 0,05$ ;  
\*\* – достоверность отличий с подобным показателем в группе с 20% O<sub>2</sub>;  $p < 0,05$ .

В процессе культивирования HUVEC в условиях 10% O<sub>2</sub> общее количество клеток увеличивалось пропорционально времени культивирования и через каждые сутки превышало предыдущее значение в среднем в 2,5 раза ( $p < 0,05$ ). При этом нарастание клеточной массы коррелировало с увеличением коэффициентов пролиферации лишь до 2-дневного срока, когда КП в 1,5 раза превысил предыдущий аналогичный показатель ( $p < 0,05$ ).

При культивировании HUVEC в присутствии 5% O<sub>2</sub> максимальное увеличение числа клеток отмечено к окончанию 2 сут, превысив в 4 раза количество ЭК, полученное спустя 1 сутки ( $p < 0,05$ ). Однако через 3 сут культивирования HUVEC при 5% O<sub>2</sub> клеточная пролиферация заметно снизилась, превысив предыдущие значения всего на 40%. Эта динамика сопровождалась увеличением в 2 раза КП к концу 2 сут ( $p < 0,05$ ) с последующим отсутствием изменений данного показателя.

Как видно из полученных результатов, общее количество ЭК в разные периоды используемых режимов культивирования не всегда коррелировало с динамикой соответствующих КП. Диссонанс между полученными результатами можно объяснить тем, что МТТ-тест больше отражает метаболическую активность митохондриальных ферментов популяции клеток, которая может хорошо соотноситься с их количеством. При культивировании клеток в «гипоксических» условиях весьма вероятно значительная перестройка метаболизма и в первую очередь его «энергетической составляющей». Представляется возможным,

что одинаковое количество HUVEC, являющихся высокофункциональным типом клеток, может демонстрировать различную активность митохондриальных ферментов при разной концентрации кислорода.

При сравнении пролиферативной активности ЭК, культивируемых в разных режимах оксигенации, выявлено, что 2-суточное пребывание клеток как при 10% O<sub>2</sub>, так и при 5% O<sub>2</sub> способствовало достоверному увеличению их КП (в 1,6 и 1,8 раза, соответственно;  $p < 0,05$ ) в сравнении с КП HUVEC, культивируемых в стандартных условиях (20% O<sub>2</sub>), с нивелированием достоверных отличий между группами к окончанию 3 сут. Подобное стимулирование пролиферативного ответа клеток в условиях гипоксии может быть связано со снижением окислительного стресса, в котором оказываются клетки в процессе культивирования при 20% O<sub>2</sub>. Известно, что концентрации кислорода меньше 10% являются наиболее приближенными к таковым *in vitro*, способствуют меньшему напряжению антиоксидантных механизмов и, как следствие, способны приводить к стимуляции клеточной пролиферации на начальных этапах культивирования.

Отмечено, что увеличение сроков культивирования ЭК в условиях гипоксии стимулировало пролиферацию данной культуры при последующей реоксигенации. Так, максимальная и достоверная активация пролиферативной активности ЭК при реоксигенации в течение 72 ч наблюдалась только после 3-дневного предварительного воздействия на клетки 10% O<sub>2</sub>, тогда как схожий результат после воздействия 5% O<sub>2</sub> был получен уже после 1 сут (рис. 2).

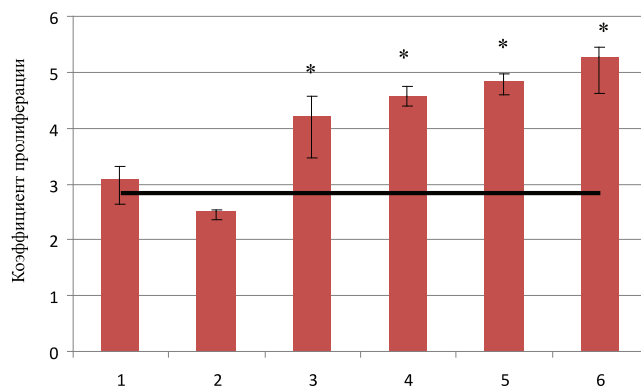


Рис. 2. Изменение пролиферативных индексов эндотелиальных клеток при реоксигенации, предварительно культивированных в разных режимах гипоксии; горизонтальная черта – контрольный уровень, за который принят КП HUVEC после 3 суток культивирования при 20% O<sub>2</sub>;

- 1 – КП HUVEC через 72 часа реоксигенации после 1 суток культивирования при 10% O<sub>2</sub>;
- 2 – КП HUVEC через 72 часа реоксигенации после 2 суток культивирования при 10% O<sub>2</sub>;
- 3 – КП HUVEC через 72 часа реоксигенации после 3 суток культивирования при 10% O<sub>2</sub>;
- 4 – КП HUVEC через 72 часа реоксигенации после 1 суток культивирования при 5% O<sub>2</sub>;
- 5 – КП HUVEC через 72 часа реоксигенации после 2 суток культивирования при 5% O<sub>2</sub>;
- 6 – КП HUVEC через 72 часа реоксигенации после 3 суток культивирования при 5% O<sub>2</sub>;

\* – достоверность различий между показателями и контролем,  $p < 0,05$

При этом коэффициенты пролиферации эндотелиоцитов через 72 часа реоксигенации были в 1,5 раза выше ((4,22(3,46; 4,58)) после 3 суток 10% O<sub>2</sub> и ((4,34(4,16; 4,51)) после 1 суток 5% O<sub>2</sub>), чем КП HUVES, культивируемых в течение 3 суток при 20% O<sub>2</sub> (2,84(2,4; 3,09)),  $p < 0,05$ . Предшествующая 3-дневная гипоксия с использованием 5% O<sub>2</sub> увеличила КП HUVES в условиях 72-часовой реоксигенации в 1,8 раза по сравнению с 3-дневным культивированием в стандартных условиях ((5,26(4,63; 5,44)) после 3 суток 5% O<sub>2</sub> в сравнении с (2,84(2,4; 3,09)) после 3 суток 20% O<sub>2</sub>;  $p < 0,05$ ).

### Заключение

Суммируя полученные результаты, следует отметить, что снижение содержания кислорода до 5% при 3-дневном культивировании эндотелиальных клеток увеличивает их пролиферативную активность и не снижает количества жизнеспособных клеток, однако способствует переключению клеточной гибели с апоптоза на некроз. Отмечено стимулирующее влияние предшествующей гипоксии на пролиферативную активность HUVES в условиях реоксигенации. При этом максимальный эффект получен при использовании 5% O<sub>2</sub>.

### Список литературы

1. Буравкова Л.Б., Анохина Е.Б. Влияние гипоксии на стромальные клетки-предшественники из костного мозга крыс на ранних этапах культивирования // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т.143, №4. – С. 386–389.
2. Влияние гипоксии на длительно культивируемые стромальные клетки-предшественники, выделенные из костного мозга крыс / Е.Б. Анохина, Л.В. Буравкова, А.И. Воложин, О.В. Григорьев // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2006. – Т.4. – С. 26–28.
3. Действие гипоксии и реоксигенации на культивируемые эндотелиальные клетки человека / О.А. Антонова, С.А. Локтионова, О.Н. Шустова, Н.В. Голубева, А.В. Мазуров // Кардиологический вестник. – 2009. – Т. IV (XVI), № 2. – С. 12–18.
4. Повреждение и активация эндотелиальных клеток при гипоксии in vitro / О.А. Антонова, С.А. Локтионова, Н.В. Голубева, Ю.А. Романов, А.В. Мазуров // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – №144. – С. 384–386.
5. Попова Л.А., Ваизова О.Е. Современные представления о сосудистом эндотелии с позиции общей теории систем // Фундаментальные исследования. – 2012. – №2(2). – С. 328–332.
6. Hypoxia induces the activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt cell survival pathway in PC12 cells: protective role in apoptosis / M. Alvarez-Tejado, S. Naranjo-Suarez, C. Jimenez, A. C. Carrera, M.O. Landazuri, L. del Peso // J. Biol. Chem. – 2001. – V. 276, №25. – P. 22368–22374.
7. Hypoxia-induced apoptosis in endothelial cells and embryonic stem cells / C.N. Lee, W.F. Cheng, Chang M.C.,

Y.N. Su, C.A. Chen, F.J. Hsieh // J. Apoptosis. – 2005. – V. 10, №4. – P. 887–894.

8. Mechanisms of hypoxia-induced endothelial cell death: role of p53 in apoptosis / A. Stempien-Otero, A. Karsan, C.J. Cornejo, H. Xiang, T. Eunson, R.S. Morrison, M. Kay, R. Winn, J. Harlan // J. Biol. Chem. – 1999. – V.274, №12. – P. 8039–8045.

9. Oxidative stress in cultured cerebral endothelial cells induces chromosomal aberrations, micronuclei, and apoptosis / N. Bresgen, G. Kahlhuber, I. Krizbai et al. // J. Neurosci. Res. – 2003. – № 72. – P. 327–333.

10. Ziegelstein R.C., He C., Hu Q. Hypoxia/reoxygenation stimulates Ca<sup>2+</sup>-dependent ICAM-1 mRNA expression in human aortic endothelial cells // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2003. – V. 322. – P. 68–73.

### References

1. Buravkova L.B., Anokhina E.B. *Bulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*, 2007, Vol. 143, no. 4, pp. 386–389.
2. Anokhina E.B., Buravkova L.V., Volozhin A.I., Grigor'ev O.V. *Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija*, 2006, Vol. 4, pp. 26–28.
3. Antonova O.A., Loktionova S.A., Shustova O.N., Golubeva N.V., Mazurov A.V. *Kardiologicheskij vestnik*, 2009. Vol. IV (XVI), no. 2, pp. 12–18.
4. Antonova O.A., Loktionova S.A., Golubeva N.V., Romanov Ju.A., Mazurov A.V. *Bulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*, 2007, no. 144, pp. 384–386.
5. Popova L.A., Vaizova O.E. *Fundamental'nye issledovanija*, 2012, no. 2(2), pp. 328–332.
6. Hypoxia induces the activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt cell survival pathway in PC12 cells: protective role in apoptosis / Alvarez-Tejado M., Naranjo-Suarez S., Jimenez C., Carrera A.C., Landazuri M.O., del Peso L. // J. Biol. Chem. 2001. Vol. 276, no. 25, pp. 22368–22374.
7. Hypoxia-induced apoptosis in endothelial cells and embryonic stem cells / Lee C.N., Cheng W.F., Chang M.C., Su Y.N., Chen C.A., Hsieh F.J. // J. Apoptosis. 2005. Vol. 10, no. 4, pp. 887–894.
8. Mechanisms of hypoxia-induced endothelial cell death: role of p53 in apoptosis / Stempien-Otero A., Karsan A., Cornejo C.J., Xiang H., Eunson T., Morrison R.S., Kay M., Winn R., Harlan J. // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274, no. 12, pp. 8039–8045.
9. Oxidative stress in cultured cerebral endothelial cells induces chromosomal aberrations, micronuclei, and apoptosis / Bresgen N., Kahlhuber G., Krizbai I. et al. // J. Neurosci. Res. 2003, no. 72, pp. 327–333.
10. Ziegelstein R.C., He C., Hu Q. Hypoxia/reoxygenation stimulates Ca<sup>2+</sup>-dependent ICAM-1 mRNA expression in human aortic endothelial cells // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2003. Vol. 322, pp. 68–73.

### Рецензенты:

Лисаченко Г.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой патологической физиологии ГОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, г. Кемерово;

Будаев А.В., д.м.н., доцент кафедры патологической физиологии ГОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, г. Кемерово.

Работа поступила в редакцию 03.07.2012.