

О. Г. Алієва<sup>1</sup>, І. Ф. Бєленічев<sup>1</sup>, С. М. Тишкін<sup>2</sup>, О. І. Риженко<sup>3</sup>**Фармакологічна корекція HSP70-залежної системи ендогенної нейропротекції після хронічної пренатальної гіпоксії**<sup>1</sup>Запорізький державний медико-фармацевтичний університет<sup>2</sup>Державна установа «Інститут фармакології та токсикології Національної академії медичних наук України», м. Київ<sup>3</sup>ЗКНП «Міська дитяча лікарня № 5», м. Запоріжжя

*Ключові слова: хронічна пренатальна гіпоксія, білок теплового шоку HSP70, нейропротекція, фармакологічна корекція*

Онтогенез є періодом найінтенсивніших морфогенетичних процесів, що відіграють ключову роль у розвитку організму. У цей період плід виявляє найбільшу вразливість і чутливість до негативних впливів, і серед цих факторів на особливу увагу заслуговує гіпоксія. Багато наслідків пренатальної гіпоксії можуть бути незворотними, їхні прояви можуть тривати довгий час або з'являтися зі значною затримкою після впливу [1, 2]. Хронічна пренатальна гіпоксія (ХПГ) часто призводить до уражень нервової системи та неврологічних порушень у дітей раннього віку, а також збільшує ризик розвитку психічних і нейродегенеративних захворювань на пізніших етапах життя [3]. ХПГ може викликати патологічні структурні зміни в головному мозку, порушуючи функції та зв'язки між нейронами, що може призвести до їхньої загибелі. Тривала дія ХПГ на незрілий мозок може порушити його подальший розвиток і сприяти виникненню стійкої патології [4, 5]. Розуміння механізмів впливу ХПГ на організм, що розвивається, і механізмів ендогенної нейропротекції, що еволюційно сформувалися та спрямовані на

підвищення стійкості нейронів до негативної дії несприятливих чинників середовища, необхідне для пошуку ефективних шляхів корекції постгіпоксичних станів у новонароджених.

Останніми роками активно проводять дослідження, спрямовані на вивчення ролі білка теплового шоку HSP70 у нейропротекції за умов гіпоксії й ішемії [6, 7]. На моделях гострої ішемії було встановлено прямий зв'язок між рівнем концентрації HSP70 і ступенем неврологічних порушень [8]. Білки теплового шоку діють як внутрішньоклітинні шаперони, виконуючи важливу функцію в захисті клітин від стресу, відновлюючи пошкоджені білки, забезпечуючи правильне складання, стабілізацію та транспортування знову синтезованих білків. Крім того, HSP70 також бере участь у регуляції експресії генів [7, 9, 10]. Сучасні дослідження підтверджують пряму цитопротекторну дію HSP70, яка відбувається через контроль апоптозу та некрозу клітин. HSP70 також здатний стабілізувати HIF-1 $\alpha$  і пролонгує його дію під час і після гіпоксії [11, 12]. Дефіцит кисню призводить до збільшення концентрації HSP70 як усередині клітини, так і в позаклітинному просторі, звідки вони потрапляють у тканинну рідину та плазму крові й вільно циркулюють в організмі. Позаклітинні білки HSP70 потенціюють

посилення деструктивних процесів у тканинах, а внутрішньоклітинні – уповільнюють патологічні процеси [13–15]. Тому за оцінки стану HSP70-системи необхідно враховувати експресію HSP70 усередині та поза клітиною (у плазмі крові). Оскільки HSP70 є однією з ключових молекул у реалізації механізмів нейропластичності та нейропротекції клітин головного мозку в умовах гіпоксії, то це дає підставу розглядати HSP70 як перспективну мішень для нейропротекторних препаратів. Тому актуальним є вивчення впливу нейропротекторних препаратів з різними механізмами дії на експресію HSP70 після пренатального гіпоксичного впливу. Також цікавим видалося оцінити вплив препаратів на виживання потомства після ХПГ.

*Мета дослідження* – оцінити вплив таких засобів, як ангіолін, пірацетам, тіотриазолін, нікомекс, цереброкурин, тамоксифен, L-аргінін, глутаредоксин, HSF-1 і мілдронат на експресію білка HSP70 та виживання потомства після ХПГ.

**Матеріали та методи.** Експериментальне дослідження було проведено на 50 білих самицях і 10 самцях щурів масою 220–240 г та віком 4,5 місяця, які були отримані з віварію ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». Тварини утримувались в стандартних умовах віварію. Дослідження на тваринах проводили відповідно до Національного законодавства України та Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986 р.).

В експерименті було використано модель хронічної гемічної нітритіндукованої пренатальної гіпоксії, яку відтворювали щоденним внутрішньоочеревинним (в/о) введенням розчину нітриту натрію вагітним

самицям щурів з 16-го по 21-й день вагітності в дозі 50 мг/кг [5]. Контрольна група вагітних самиць отримувала фізіологічний розчин у тому самому режимі. Потомство було поділено на групи: 1 група – здорові тварини від самиць з фізіологічною (нормальною) вагітністю, яким вводили в/о фізіологічний розчин у дозі 5 мкл/г; 2 група – контрольна, після ХПГ отримували в/о фізіологічний розчин у дозі 5 мкл/г; 3 група – після ХПГ отримували в/о ангіолін у дозі 50 мг/кг; 4 група – після ХПГ отримували в/о пірацетам у дозі 500 мг/кг; 5 група – після ХПГ отримували в/о тіотриазолін у дозі 50 мг/кг; 6 група – після ХПГ отримували в/о нікомекс у дозі 100 мг/кг; 7 група – після ХПГ отримували в/о цереброкурин у дозі 150 мкл/кг; 8 група – після ХПГ отримували тамоксифен (інтраназальний гель, 1 мг/1 мл) у дозі 0,1 мг/кг; 9 група – після ХПГ отримували в/о L-аргінін у дозі 200 мг/кг; 10 група – після ХПГ отримували в/о глутаредоксин у дозі 200 мкг/кг; 11 група – після ХПГ отримували в/о HSF-1 у дозі 50 мг/кг; 12 група – після ХПГ отримували в/о мілдронат у дозі 50 мг/кг.

Для розрахунку смертності/виживаності враховували всіх щурят у виводках. Для дослідження матеріал брали від 10 тварин кожної групи. При підборі дозування керувалися інструкціями до застосування препаратів і даними попередніх досліджень [16–18]. Лікарські засоби вводили новонародженим щурам з 1 по 30 добу життя.

Матеріал для дослідження брали на 30 та 60 добу життя під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг). Для дослідження брали кров з черевної артерії та мозок. Концентрацію білка теплового шоку HSP70 у гомогенаті мозку та плазмі крові визначали методом

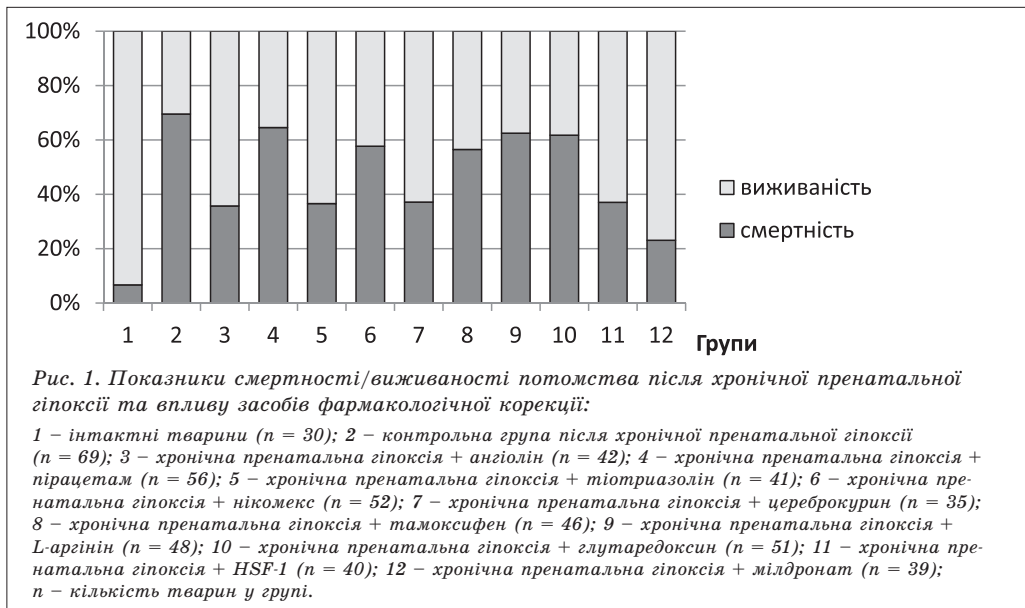
твердофазного імуноферментного аналізу ELISA з використанням тест-системи «AMP'D HSP70 highsensitivity» («Enzo», Швеція).

Статистичну обробку одержаних результатів проведено з використанням пакетів прикладних програм Statistica® для Windows 6.0 (Stat-SoftInc., No AXXR712D833214-FAN5), а також Microsoft Office Excel 2010. Достовірність різниці між показниками визначали в разі нормального розподілу – за параметричним t-критерієм Стьюдента, у разі відхилення від нормального – за непараметричним U-критерієм Манна-Уїтні. Для порівняння незалежних змінних у більш ніж двох вибірках застосовували дисперсійний аналіз (ANOVA). Для аналізу закономірностей зв'язку між окремими показниками проведено кореляційний аналіз з використанням коефіцієнта кореляції Пірсона та Спірмена. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності в разі  $P < 0,05$  (надійність 95 %).

**Результати та їх обговорення.** Встановлено, що після нормальної фізіологічної вагітності смертність

потомства становить 6,67 % ( $n = 30$ ), водночас щурята, які народжені з малою вагою, гинули в перші доби життя (рис. 1). Гемічна ХПГ середньої тяжкості спричиняє збільшення смертності потомства в 10,5 разу, причому більшість щурят гинули у віці 9–12 днів. У перший тиждень життя вони нормально набирали вагу та зовні не відрізнялися від щурят інтактної групи, а після 7–8 дня відзначалося зниження ваги, зневоднення, зниження рухової активності та рефлексів, у деяких з'являлися судомні реакції.

Однією з головних причин порушень у постнатальній період розвитку тварин, які перенесли ХПГ, може бути зміна морфофункціональної організації центральної нервової системи, що спричиняється порушенням процесів проліферації та міграції нейробластів тих відділів мозку, що закладаються або інтенсивно розвиваються під час дії патологічного фактору. І ці зміни проявляються віддалено від дії тригерного чинника. Згідно з отриманими результатами дослідження, застосування з першої доби життя відібраних препаратів з



доведеним і потенційним нейропротективним ефектом збільшувало виживаність потомства. Найнижчі показники смертності потомства зареєстровано в групах щурят, яким проводили курсове лікування мілдронатом (23,07 %,  $n = 39$ ), ангіоліном (35,71 %,  $n = 42$ ), тіотриазоліном (36,59 %,  $n = 41$ ), HSF-1 (37,04 %,  $n = 40$ ) і цереброкурином (37,14 %,  $n = 35$ ). У групах щурят, яким вводили пірацетам, нікомекс, тамоксифен, L-аргінін і глутаредоксин, виживання було несуттєво вищим за контрольну групу.

Наведені в таблиці 1 дані демонструють, що в щурів, які перенесли ХПГ, концентрація HSP70 майже в 10 разів є нижчою в гомогенаті мозку і в 5,6 разу – у плазмі крові порівняно з інтактною групою. Курсове 30-добове лікування відібраними лікарськими препаратами мало різний за вираженістю вплив на концентрацію HSP70 у головному мозку та плазмі крові щурів, які перенесли ХПГ. Так, усі препарати, крім пірацетаму, збільшували концентрацію HSP70 у тканинах мозку до 30 доби життя. Найактивнішими модуляторами HSP70 були цереброкурин, ангіолін і HSF-1, які сприяли збільшенню вмісту HSP70 у мозку в 5,5 разу, у 4,2 разу і 3,7 разу відповідно.

Концентрація HSP70 у плазмі крові, у цілому, корелює з даним показником у тканині мозку (табл. 2). В інтактних тварин, а також у групах тварин, яким вводили ангіолін, цереброкурин, HSF-1, тіотриазолін, тамоксифен і глутаредоксин, рівень HSP70 у крові нижчий, ніж у гомогенаті мозку (на 32 % в інтактній групі, на 42 % після лікування ангіоліном, на 45,2 % – цереброкурином, на 26,6 % – HSF-1, у 2,4 разу – тіотриазоліном, на 26,5 % – тамоксифеном і на 29,3 % – глутаредоксином).

Однак у деяких групах на 30 добу життя вміст HSP70 у плазмі перевищує аналогічний показник у мозку: у контрольній групі – на 15 %, після курсового введення нікомексу – на 69,4 %, L-аргініну – у 2 рази та мілдронату – на 20 %.

До кінця другого місяця життя концентрація HSP70 у гомогенаті головного мозку суттєво збільшується в усіх групах, окрім інтактної, в якій вона зберігається на рівні 30 доби (табл. 1). Причому, у тварин після ХПГ, які не одержували лікування, цей показник зростає в 4,5 разу, у 3 групі (ангіолін) і 11 групі (HSF-1) наближається до значень інтактної групи, а в 7 групі (цереброкурин) незначно перевищує інтактні значення. Цікавим є факт, що в групах препаратів-аутсайдерів за результатами, отриманими на 30 добу життя, концентрація HSP70 різко зростає на 60 добу життя: 4 група (пірацетам) – майже у 8 разів, 6 група (нікомекс) – у 2,5 разу, 9 група (L-аргінін) – у 3,9 разу та в 12 групі (мілдронат) – у 3,6 разу.

Рівень HSP70 у плазмі крові протягом другого місяця життя переважно зростає, але не так суттєво, як у тканині мозку, а в групах після лікування препаратами нікомекс, тамоксифен і L-аргінін знижується (на 47 %, 27 % і 22 % відповідно) (табл. 2). Причому рівень HSP70 у плазмі крові на кінець спостережень (60-та доба) в експериментальних тварин залишається в 2–3 рази нижчим від інтактних значень, що свідчить про пролонгований ефект дії ХПГ.

Кореляційний аналіз рівнів концентрації HSP70 у тканині мозку та плазмі крові свідчить про позитивний зв'язок між цими величинами ( $R = 0,87$  на 30 добу життя та  $R = 0,62$  на 60 добу життя) (рис. 2). Зниження коефіцієнта кореляції з віком

**Концентрація HSP70 у головному мозку тварин за умов хронічної пренатальної гіпоксії та курсового застосування засобів фармакологічної корекції ( $M \pm m, n = 10$ )**

| Група тварин                                     | HSP70, нг/мл<br>30-та доба життя | HSP70, нг/мл<br>60-та доба життя |
|--|----------------------------------|----------------------------------|
| Інтактні тварини                                 | 21,40 ± 0,21                     | 21,40 ± 0,21                     |
| Хронічна пренатальна гіпоксія (контрольна група) | 2,22 ± 0,11**                    | 10,10 ± 1,40**                   |
| Хронічна пренатальна гіпоксія + ангіолін         | 9,30 ± 0,11*, **                 | 19,30 ± 2,30*                    |
| Хронічна пренатальна гіпоксія + пірацетам        | 2,05 ± 0,15*, **                 | 18,10 ± 0,30*                    |
| Хронічна пренатальна гіпоксія + тіотриазолін     | 6,60 ± 0,21*, **                 | 16,10 ± 0,70*, **                |
| Хронічна пренатальна гіпоксія + нікомекс         | 3,60 ± 0,14*, **                 | 12,60 ± 0,10**                   |
| Хронічна пренатальна гіпоксія + цереброкурин     | 12,10 ± 0,19*, **                | 22,10 ± 0,50*                    |
| Хронічна пренатальна гіпоксія + тамоксифен       | 5,72 ± 0,16*, **                 | 14,70 ± 0,16*, **                |
| Хронічна пренатальна гіпоксія + L-аргінін        | 2,79 ± 0,17**                    | 10,90 ± 0,17**                   |
| Хронічна пренатальна гіпоксія + глутаредоксин    | 7,12 ± 0,12*, **                 | 14,10 ± 0,12*, **                |
| Хронічна пренатальна гіпоксія + HSF-1            | 8,27 ± 0,36*, **                 | 18,70 ± 0,36*, **                |
| Хронічна пренатальна гіпоксія + мілдронат        | 3,11 ± 0,11**                    | 11,10 ± 0,11**                   |

Примітка. Тут і в табл. 2: \*P < 0,05 порівняно з контролем; \*\*P < 0,05 порівняно з інтактною групою.

пояснюється багатофакторністю впливу на показник концентрації HSP70 у плазмі, оскільки HSP70 потрапляє в тканинну рідину, а потім і в плазму з великої кількості клітин, що реагують на стресові фактори (лейкоцити, гепатоцити тощо).

Результати кореляційного аналізу показників виживаності потомства та рівня HSP70 для першого місяця життя показали високий позитивний взаємозв'язок ( $R = 0,75$ ) з показником у тканині мозку і менший з показниками концентрації HSP70 у плазмі крові ( $R = 0,63$ ). Ми розуміємо, що це є не пряма залежність, а

опосередкована ефективністю комплексної дії ендогенних механізмів нейропротекції.

Результати дослідження показали, що гіпоксичний вплив пригнічує синтез HSP70, знижуючи його як внутрішньо- так і позаклітинну концентрацію. При відновленні, особливо в разі застосування засобів фармакологічної корекції, спостерігається збільшення концентрації HSP70 протягом досить тривалого часу після гіпоксичного впливу, коли організм перебуває в нормоксичних умовах.

Підвищення рівня HSP70 у тканинах головного мозку означає актива-

*Концентрація HSP70 у плазмі крові тварин за умов хронічної пренатальної гіпоксії та курсового застосування засобів фармакологічної корекції  
( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )*

| Група тварин  | HSP70, нг/мл<br>30-та доба життя | HSP70, нг/мл<br>60-та доба життя |
|---|----------------------------------|----------------------------------|
| Інтактні тварини                                    | 14,42 ± 0,21                     | 14,90 ± 0,37                     |
| Хронічна пренатальна гіпоксія<br>(контрольна група) | 2,57 ± 0,12**                    | 4,33 ± 0,11**                    |
| Хронічна пренатальна гіпоксія +<br>ангіолін         | 5,37 ± 0,17*, **                 | 8,07 ± 0,15*, **                 |
| Хронічна пренатальна гіпоксія +<br>пірацетам        | 2,07 ± 0,17*, **                 | 3,50 ± 0,10**                    |
| Хронічна пренатальна гіпоксія +<br>тіотриазолін     | 2,27 ± 0,12**                    | 6,63 ± 0,13*,**                  |
| Хронічна пренатальна гіпоксія +<br>нікомекс         | 6,10 ± 0,18*, **                 | 3,23 ± 0,14**                    |
| Хронічна пренатальна гіпоксія +<br>цереброкурин     | 6,63 ± 0,19*, **                 | 8,17 ± 0,22*, **                 |
| Хронічна пренатальна гіпоксія +<br>тамоксифен       | 4,20 ± 0,16*, **                 | 3,07 ± 0,10**                    |
| Хронічна пренатальна гіпоксія +<br>L-аргінін        | 5,76 ± 0,19*, **                 | 4,50 ± 0,19**                    |
| Хронічна пренатальна гіпоксія +<br>глутаредоксин    | 5,03 ± 0,10*, **                 | 7,87 ± 0,19*, **                 |
| Хронічна пренатальна гіпоксія +<br>HSF-1            | 6,07 ± 0,28*, **                 | 7,0 ± 0,15*, **                  |
| Хронічна пренатальна гіпоксія +<br>мілдронат        | 3,73 ± 0,15**                    | 6,33 ± 0,13*, **                 |

цію внутрішніх механізмів нейропротекції [6, 7, 18]. Відповідно його недостатність свідчить про переважання механізмів, пов'язаних із нейродегенерацією. HSP70 чинить антиоксидантну дію за рахунок підвищення активності антиоксидантних ферментів, бере участь у стабілізації білкових молекул під час дії окисного стресу й ініціює згортання функціонально активних макромолекул, модифікованих під дією окиснювальних чинників, відіграє регулювальну роль у внутрішньому та зовнішньому шляхах апоптозу [7, 10]. Останніми роками з'явилися дані про функцію HSP70 у стабілізації HIF-1, який регулює транскрипцію різноманітних генів-мішеней, відповідальних за

енергетичний обмін, проліферацію клітин, апоптоз в умовах дефіциту кисню [6, 11, 12]. З огляду на дані, що свідчать про властивість HSP70 підвищувати життєздатність нейронів в умовах гіпоксії, поряд з послідовною зміною рівнів білків HSP у тканині головного мозку, можна зробити висновок, що HSP70 бере участь у регуляції сигнальних шляхів клітинної відповіді на гіпоксичний стрес.

Введення досліджуваних засобів експериментальним тваринам з ХПГ протягом перших 30 днів після народження призводило до підвищення концентрації HSP70 у тканині мозку та плазмі крові (порівняно з контролем). Ці зміни зберігалися протягом

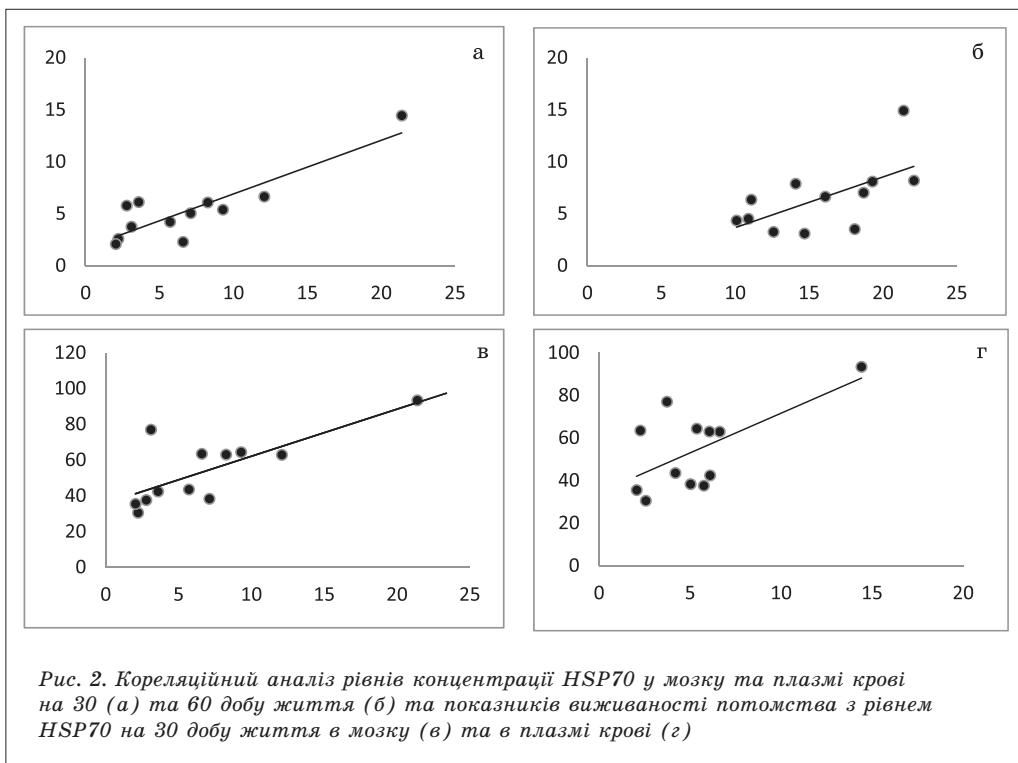


Рис. 2. Кореляційний аналіз рівнів концентрації HSP70 у мозку та плазмі крові на 30 (а) та 60 добу життя (б) та показників виживаності потомства з рівнем HSP70 на 30 добу життя в мозку (в) та в плазмі крові (г)

другого місяця життя, так і не досягнувши значень інтактної групи. Слід зазначити, що ангіолін, цереброкурин і HSF-1 виявляли найбільшу ефективність як на 30, так і на 60 добу життя тварин.

Ангіолін демонструє нейропротективний ефект завдяки своїм антиоксидантним властивостям, здатності посилювати афінність ГАМК-бензодіазепінового рецепторного комплексу, активізувати глутатіонову ланку тіол-дисульфідної системи, підвищувати активність глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази. Водночас показано в дослідженнях на моделях ішемії здатність ангіоліну позитивно впливати на експресію HSP70 [6].

Цереброкурин має в своєму складі активні нейропептиди, що позитивно впливають на стан нейронів шляхом активації енергопродукції в нервових клітинах, підвищення активності синтетичного апарату

нейронів, поліпшення роботи синапсів. Також є дані про його антиоксидантні властивості, мітопротективний ефект, активацію синтезу HSP та HIF-білків [19].

HSF-1 є основним регулятором систем HSP у клітинах як у нормі, так і за умов різноманітних стресових станів [4]. Він контролює основні функції, такі як вуглеводний обмін, сплайсинг РНК, апоптоз, деградація шляхом убіквітинування в клітинах, детоксикація, транспортування малих молекул і внутрішньоклітинна передача сигналів. Численними роботами показано, що за гіпоксії HSF-1 захищає нейрони від загибелі, яка спричинена накопиченням неправильно згорнутих білків, шляхом стимуляції транскрипції генів, що кодують білки HSP. Також останні дослідження демонструють нові мішені HSF-1, що включають незалежні від шаперонів механізми нейропротекції [20–22].

## Висновки

ХПГ викликає зниження рівня HSP70 у мозку та плазмі крові, збільшує смертність потомства. Встановлено пряму кореляцію між рівнем HSP70 і виживанням потомства.

Застосування ангіоліну, пірацетаму, тіотриазоліну, нікомексу, L-аргініну, глутаредоксину, тамоксифену, мілдронату, HSF-1 і цереброкуруину протягом перших 30 днів життя щурів після впливу ХПГ призводить до збільшення концентрації HSP70, що демонструє нейропротекторні властивості цих препаратів.

Найефективнішими препаратами за впливом на HSP70-залежні механізми ендогенної нейропротекції серед досліджуваних засобів в умовах моделювання ХПГ є ангіолін (50 мг/кг), цереброкуруин (150 мг/кг) і HSF-1 (50 мг/кг), які перевершують інші досліджувані препарати за рівнем підвищення концентрації HSP70 у головному мозку та плазмі крові, а також за рівнем виживаності потомства.

Ангіолін, цереброкуруин і HSF-1 можуть розглядатися як найперспективніші засоби з точки зору нейропротекції для фармакологічної корекції наслідків ХПГ.

1. Brain-immune interactions in perinatal hypoxic-ischemic brain injury. B. Li et al. *Neurobiol.* 2017. V. 159. P. 50–68.
2. Перинатальні ураження нервової системи. Ю. Г. Резниченко та ін. Запоріжжя : Просвіта, 2020. 364 с.
3. Giussani D. A. The fetal brain sparing response to hypoxia: physiological mechanisms. *J. Physiol.* 2016. V. 594, No. 5. P. 1215–1230.
4. Oxidative stress in hypoxic-ischemic encephalopathy: molecular mechanisms and therapeutic strategies. M. Zhao et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2016. V. 17, No. 12. P. 2078.
5. Aliyeva O. G. The effect of chronic prenatal hypoxia on the postnatal development of the CA1 zone of the rat brain hippocampus. Proceedings of the Intern. scient. conf. «New trends and unsolved issues in medicine»; 2022 Jul 29–30. Riga, Latvia : Baltija Publ. 2022. P. 238–242.
6. Involvement of heat shock proteins HSP70 in the mechanisms of endogenous neuroprotection: the prospect of using HSP70 modulators. I. F. Belenichev et al. *Front. Cell. Neurosci.* 2023. V. 17. P. 1131683.
7. Heat shock protein 70 (HSP70) induction: chaperonotherapy for neuroprotection after brain injury. J. Y. Kim et al. *Cells.* 2020. V. 9. P. 2020.
8. Expression of HSP70 in the brain of rats during experimental cerebral ischemia modeling and on the background of neuroprotection. I. F. Belenichev et al. *Biol. Mark. Guid. Ther.* 2017. V. 4. P. 105–111.
9. Kaur P., Asea A. «The Chaperokine Activity of Heat Shock Proteins», in Chaperokine activity of heat shock proteins. *Heat shock proteins. Springer, Cham.* 2019. V. 16. P. 3–22.
10. The HSP70 chaperone network. R. Rosenzweig et al. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2019. V. 20. P. 665–680.
11. Hypoxia-inducible factors HIF1- $\alpha$  and HSP70 and the response to hypoxic stress in myocardial ischemia. A. Tsipis et al. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2022. V. 173. P. S68.
12. Majmudar A. J., Wong W. J., Simon M. C. Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress. *Mol. Cell.* 2010. V. 40, No. 2. P. 294–309.
13. Circulating heat shock protein 70 (HSPA1A) in normal and pathological pregnancies. A. Molvarec et al. *Cell stress & chaperones.* 2010. V. 15, No. 3. P. 237–247.
14. The chaperone balance hypothesis: the importance of the extracellular to intracellular HSP70 ratio to inflammation-driven type 2 diabetes, the effect of exercise, and the implications for clinical management. M. Krause et al. *Mediators Inflamm.* 2015. P. 249205.
15. Increased eHSP70-to-iHSP70 ratio in prediabetic and diabetic postmenopausal women: a biomarker of cardiometabolic risk. P. Seibert et al. *Cell Stress Chaperones.* 2022.V. 27. P. 523–534.
16. Belenichev I., Bila Y. The effect of the heat shock protein HSP70 modulators on the energy metabolism of the rats brain in acute cerebral ischemia. *Biol. Mark. Guid. Ther.* 2019. V. 6. P. 51–62.
17. Belenichev I. F., Aliyeva E. G., Popazova O. O. Experimental substantiation of new target links in complex therapy of prenatal CNS damage. Pharmacological modulation of HSP70 – dependent mechanisms of endogenous neuroprotection. *Neuro therapeutics.* 2022. V. 19. P. 1414–1431.
18. Positive pharmacological modulation of HSP70 in recovery of brain energy metabolism in various models of cerebral ischemia. I. F. Belenichev et al. *Biol. Life Sci. Forum.* 2022. V. 20 (1), 24.



19. Nootropics in complex therapy of chronic brain ischemia. I. S. Chekman, I. F. Belenichev, A. V. Demchenko et al. *Sci. Innovat.* 2014. V. 10 (4). P. 61–75.
20. Neuroprotection by heat shock factor-1 (HSF1) and trimerization-deficient mutant identifies novel alterations in gene expression. Z. Qu, ASCLS Titus, Z. Xuan, S. R. D'Mello. *Sci. Rep.* 2018. V. 8 (1). P. 17255.
21. Hif-1 $\alpha$ /Hsf1/Hsp70 signaling pathway regulates redox homeostasis and apoptosis in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) under environmental hypoxia. S. Y. Luo, J. Q. Wang, C. Liu et al. *Zool. Res.* 2021. V. 42 (6). P. 746–760.
22. Neuroprotection by heat shock factor-1 (HSF1) and trimerization-deficient mutant identifies novel alterations in gene expression. Z. Qu, ASCLS Titus, Z. Xuan, S. R. D'Mello. *Sci. Rep.* 2018. V. 8 (1). P. 17255.

**О. Г. Алієва, І. Ф. Беленічев, С. М. Тишкін, О. І. Риженко**

### **Фармакологічна корекція HSP70-залежної системи ендогенної нейропротекції після хронічної пренатальної гіпоксії**

Хронічна пренатальна гіпоксія (ХПГ) є причиною уражень нервової системи та неврологічних порушень у дітей раннього віку, а також розвитку психічних і нейродегенеративних захворювань на пізніших етапах життя. Білок теплового шоку HSP70 є однією з ключових молекул у реалізації механізмів нейропластичності та нейропротекції клітин головного мозку в умовах гіпоксії, це дає підставу розглядати HSP70 як перспективну мішень для нейропротекторних препаратів.

*Мета дослідження* – оцінити вплив таких засобів, як ангіолін, пірацетам, тіотриазолін, нікомекс, цереброкурин, тамоксифен, L-аргінін, глутаредоксин, HSF-1 і мілдронат на експресію білка HSP70 та виживання потомства після ХПГ.

Дослідження проводили на 50 самках білих лабораторних щурів, в яких моделювали хронічну гемічну нітрит-індуковану пренатальну гіпоксію. Вагітним самкам щурів щодня підшкірно вводили розчин нітриту натрію в дозі 50 мг/кг з 16 до 21 доби вагітності. Вагітним самкам контрольної групи вводили фізіологічний розчин у тому самому режимі. Потомство було поділено на групи: 1 – інтактні; 2 – контрольна після ХПГ; 3 – ХПГ + ангіолін (50 мг/кг); 4 – ХПГ + пірацетам (500 мг/кг); 5 – ХПГ + тіотриазолін (50 мг/кг); 6 – ХПГ + нікомекс (100 мг/кг); 7 – ХПГ + цереброкурин (150 мкл/кг); 8 – ХПГ + тамоксифен (0,1 мг/кг); 9 – ХПГ + L-аргінін (200 мг/кг); 10 – ХПГ + глутаредоксин (200 мкг/кг); 11 – ХПГ + HSF-1 (50 мг/кг); 12 – ХПГ + мілдронат (50 мг/кг). Усі препарати вводили новонародженим щурам протягом 30 днів у терапевтично ефективних дозах, заповичених з літератури.

Встановлено, що ХПГ викликає зниження рівня HSP70 у мозку й плазмі крові та збільшує смертність потомства. Встановлено пряму кореляцію між рівнем HSP70 і виживанням потомства. Застосування ангіоліну, пірацетаму, тіотриазоліну, нікомексу, L-аргініну, глутаредоксину, тамоксифену, мілдронату, HSF-1 і цереброкурину протягом перших 30 днів життя щурів після впливу ХПГ призводить до збільшення концентрації HSP70, що демонструє нейропротекторні властивості цих препаратів. Найефективнішими препаратами за впливом на HSP70-залежні механізми ендогенної нейропротекції серед досліджуваних засобів в умовах моделювання ХПГ є ангіолін (50 мг/кг), цереброкурин (150 мг/кг) і HSF-1 (50 мг/кг), які перевершують інші досліджувані препарати як за рівнем підвищення концентрації HSP70 у мозку та плазмі крові, так і за показником виживаності потомства.

*Ключові слова:* хронічна пренатальна гіпоксія, білок теплового шоку HSP70, нейропротекція, фармакологічна корекція

**О. G. Alieva, I. F. Belenichev, S. M. Tishkin, O. I. Ryzhenko**

### **Pharmacological correction of HSP70-dependent endogenous neuroprotection system after chronic prenatal hypoxia**

Chronic prenatal hypoxia (CPH) is the cause of nervous system damage and neurological disorders in infants, as well as the development of mental and neurodegenerative diseases later in life. Heat shock protein HSP70 is one of the key molecules in the realization of the mechanisms of neuroplasticity and neuroprotection of brain cells in hypoxia, which gives reason to consider HSP70 as a promising target for neuroprotective drugs.

*The aim of the study* – to evaluate the effects of such agents, as angiolin, piracetam, thiotriazoline, nicomex, cerebrocurin, tamoxifen, L-arginine, glutaredoxin, HSF-1 and mildronate on HSP70 expression and offspring survival after CPH.

Studies were conducted on 50 female white laboratory rats with modeled chronic hemic nitrite-induced prenatal hypoxia. Pregnant female rats received daily subcutaneous injection of sodium nitrite solution at a dose of 50 mg/kg from 16 to 21 days of gestation. Pregnant females of the control group were administered saline solution according to the same regimen. The offspring were divided into groups: 1 – intact; 2 – control after CPH; 3 – CPH + angiolin (50 mg/kg); 4 – CPH + piracetam (500 mg/kg); 5 – CPH + thiotriazoline 50 mg/kg; 6 – CPH + nicomex (100 mg/kg); 7 – CPH + cerebrocurine (150  $\mu$ l/kg); 8 – CPH + tamoxifen (0.1 mg/kg); 9 – CPH + L-arginine (200 mg/kg); 10 – CPH + glutaredoxin (200  $\mu$ g/kg); 11 – CPH + HSF-1

---

---

(50 mg/kg); 12 – CPH + mildronate (50 mg/kg). All drugs were administered for 30 days at therapeutically effective doses borrowed from the literature.

It was found that CPH causes a decrease in the level of HSP70 in brain tissue and blood plasma and increases offspring mortality. A direct correlation between HSP70 level and offspring survival has been established. Administration of angiolin, piracetam, thiotriazolin, nicomex, L-arginine, glutaredoxin, tamoxifen, mildronate, HSF-1 and cerebrocurin during the first 30 days of rat life after CPH exposure leads to an increase in HSP70 level, which demonstrates the neuroprotective properties of these drugs. Angiolin (50 mg/kg), cerebrocurin (150 µl/kg) and HSF-1 (50 mg/kg) are the most effective drugs in terms of their ability to influence HSP70-dependent mechanisms of endogenous neuroprotection among the investigated agents after CPH modeling, surpassing other drugs by the level of increase in HSP70 concentration in brain tissue and blood plasma and also by the offspring survival.

*Key words: chronic prenatal hypoxia, brain, blood, heat shock protein HSP70, neuroprotection, cerebrocurin, angiolin, nicomex, tamoxifen, thiotriazoline, glutaredoxin, L-arginine, mildronate, pharmacological correction*

---

Надійшла: 1 червня 2023 р.

Прийнята до друку: 27 червня 2023 р.

**Контактна особа:** Беленічев Ігор Федорович, кафедра фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медичний університет, буд. 31, вул. Сталеварів, м. Запоріжжя, 69035. Тел.: + 38 0 61 234 27 41.