

Т. В. Серебровская ГИПОКСИЯ-ИНДУЦИБЕЛЬНЫЙ ФАКТОР: РОЛЬ В ПАТОФИЗИОЛОГИИ ДЫХАНИЯ (обзор)

Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины

Непрерывное снабжение организма кислородом является абсолютным условием существования человека и высших животных. Молекулярный кислород необходим для производства энергии, нормального роста и функционирования клеток. В то же время, избыток кислорода в форме свободных радикалов является губительным. Поэтому организмы поддерживают концентрацию кислорода в узких физиологических границах.

Реакция клетки на недостаток кислорода имеет особое значение для понимания патологических процессов, происходящих в организме. Тонкий баланс между потребностью в кислороде и его доставкой нарушается при заболеваниях сердца, раке, хронических обструктивных заболеваниях легких, которые являются основными причинами смертности населения. Несколько лет тому назад стало известно, что важнейшую роль в этих процессах играет кислородчувствительный протеиновый комплекс, обладающий транскрипционной активностью — гипоксия-индуцибельный фактор (hypoxia-inducible factor — HIF). Этот транскрипционный фактор впервые был идентифицирован Греггом Семензой с сотрудниками из университета Джона Хопкинса в Балтиморе в 1992 году как регулятор экспрессии эритропоэтина (EPO) [37]. Наряду с другими недавно открытыми транскрипционными факторами, чувствительными к гипоксии, такими как металло-транскрипционный фактор (metal transcription factor-1 — MTF-1), ядерный фактор кВ (nuclear factor — NF-κβ), c-Fos и c-Jun и др., HIF считается ведущим транскрипционным регулятором генов млекопитающих, ответственных за реакцию на недостаток кислорода. Он активируется в физиологически важных местах регуляции кислородных путей, обеспечивая быстрые и адекватные ответы на гипоксический стресс, включает гены, регулирующие процесс ангиогенеза, вазомоторный контроль, энергетический метаболизм, эритропоэз и апоптоз [1, 20, 32, 36, 38, 39, 47 и др.]. Многочисленные обзоры последних лет свидетельствуют о пристальном внимании физиологов, генетиков и клиницистов к этой проблеме. В данном обзоре мы сконцентрируемся на некоторых последних сообщениях об участии HIF в развитии патофизиологических процессов, уделяя особое внимание заболеваниям органов дыхания.

Структура, локализация и регуляция активности HIF-1α

Комплекс HIF является гетеродимером, состоящим из одной альфа-субъединицы (HIF-α) и одной бета-субъединицы (HIF-β). HIF-α существует в виде множества изоформ (HIF-1α, HIF-2α и HIF-3α) с различными биологическими свойствами. Бета-субъединица названа aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT / HIF-1b) [8, 20, 45]. Как α-, так и β-субъединицы принадлежат к базисному семейству транскрипционных факторов, имеющих в своем составе мотив типа "спираль-петля-спираль" (helix-loop-helix) и зоны гомологии βHLH/Per-ARNT-Sim (PAS домен). Наличие домена βHLH определяет принадлежность к большому семейству димерных эукариотических факторов транскрипции, в которых домен HLH отвечает за димеризацию, связывание с ДНК и взаимодействие с РНК-полимеразой.

Субъединица HIF-1α является кислород-чувствительной, она имеет специфическую функцию в стимулированной гипоксией генной регуляции и является мишенью для кислород-чувствительных сигнальных путей. Субъединица HIF-1β является кислород-нечувствительным конститутивным ядерным протеином, который имеет различных партнеров димеризации в других системах генной регуляции [11]. Обе HIF-1α и HIF-2α субъединицы подвергаются быстрой гипоксической бел-

ковой стабилизации и соединяются с идентичной мишенью в последовательности ДНК [44].

Данные последних лет свидетельствуют о том, что взаимоотношения этих субъединиц не являются простыми. Так например, Murphy [31] указывают на то, что по крайней мере один из HIF- димеров (HIF-2α) вместе с HIF-1β и другим родственным протеином HIF-3α могут выступать в качестве ингибиторов HIF-1α. Биохимическое сравнение субъединиц HIF-1α и HIF-2α показало, что эти протеины имеют очень близкие биохимические свойства, но каждая субъединица контролирует весьма определенные биологические функции. Например, в процессе эмбриогенеза HIF-1α имеет отношение к контролю васкуляризации, а HIF-2α - к продукции катехоламинов [7, 47]. Есть данные о том, что в культуре человеческих легочных эндотелиальных клеток белки HIF-1α и HIF-2α одинаково активировались гипоксией (экспозиция в течение 4 часов в газовой среде с 0,5 % O₂) на транскрипционном или посттранскрипционном уровне. Вместе с тем, они по-разному реагировали на продолжительную гипоксию (12 h, 0,5 % O₂): стимуляция белка HIF-1α исчезла из-за уменьшения стабильности ее мРНК, в то время как стимуляция HIF-2α оставалась высокой и стабильной. Это подтверждает специфичность работы генов-мишеней [44].

Способность кислорода влиять на активацию HIF осуществляется на нескольких стадиях, включающих регулируемый синтез, процессинг и стабилизацию HIF-1?, ядерную локализацию, димеризацию и взаимодействие с транскрипционными коактиваторами. На сегодня анализ регуляторных механизмов, обеспечивающих активацию HIF гипоксическими и негипоксическими стимулами, позволяет говорить о вовлечении различных способов активации HIF.

В нормоксических условиях субъединицы HIF-1α постоянно присутствуют в клетке, но характеризуются исключительно коротким периодом полураспада. Их концентрация поддерживается на низком уровне благодаря нескольким процессам, и в первую очередь двум независимым путям гидроксирования: пролил и аспарагин гидроксированию.

Присутствие кислорода запускает гидроксирование пролинового остатка HIF-кислородзависимого домена деградации ODD (oxygen-dependent degradation domain). Это гидроксирование катализируется семейством внутриклеточных пролил гидролаз (PHD), что служит сигналом для узнавания α-субъединицы белком фон Хиппеля-Линдау (von Hippel-Lindau protein — pVHL) — компонентом убиквитин протеинлигазы E3. Присоединение убиквитина делает HIF-1α мишенью протеосомной деградации [15]. В клетках млекопитающих были идентифицированы три изоформы HIF пролил-гидроксилазы, названные PHD1-3 (prolyl hydroxylase domain enzymes 1–3) [3]. Tuckerman с соавт. [42] показали, что все три соединения способны к высокой степени катализа в порядке PHD2>PHD3>PHD1. Все три фермента представлены в достаточно больших количествах, но характеризуются различным паттерном максимальной экспрессии [25].

Присутствие кислорода также вызывает гидроксирование аспарагинового остатка C-терминального домена транскрипции (C-TAD) HIF-1α, блокируя взаимодействие с ко-активатором транскрипции p300/CBP [19]. Этот процесс регулируется специфической аспарагин-гидроксилазой, названной FIH-1 (factor-inhibiting HIF-1) [12, 25].

В результате, в присутствии кислорода активные ферменты PHD и FIH инактивируют HIF, тем самым блокируя опосредованную HIF генную транскрипцию. В условиях гипоксии PHD и FIH ферменты инактивируются, и отсутствие гидроксирования ведет к стабилизации HIF и активации C-TAD, который спо-

способен формировать ДНК-связанный гетеродимер с постоянно присутствующей HIF- β субъединицей и усиливать ко-активатор р300/CBP. Иными словами, недостаток кислорода инактивирует PHD и FIH ферменты, что ведет к активации HIF, который в свою очередь запускает экспрессию гипоксия-зависимых генов, таких как эритропоэтин (EPO) и сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF).

Таким образом, наличие кислорода влияет на активацию HIF несколькими путями, и последние исследования свидетельствуют, что по крайней мере два шага в этом процессе (пролин- и аспарагин-гидроксилирование) регулируются новым типом сигнальной трансдукции, включающей ферментативное гидроксилирование специфических аминокислотных остатков в HIF-1 α субъединице группой 2-оксoglutarat-зависимых оксигеназ (2-OG) [24]. Эти оксигеназы являются негемовыми железосодержащими ферментами, которые используют молекулярный кислород в реакциях гидроксилирования и поэтому обеспечивают прямую связь между наличием молекулярного кислорода и регуляцией HIF, то есть действуют как прямой кислородный сенсор [19, 25, 31, 34].

Ранее считалось, что единственными сенсорами кислорода у млекопитающих являются хеморецепторные клетки каротидных гломусов и эпидермальных телец в зоне бифуркации сонной артерии. Однако, последние исследования указывают на то, что все клетки тела, а не только клетки каротидного тела, могут ощущать дефицит кислорода и отвечать активацией экспрессии определенных генов-мишеней, что достигается посредством кислород-зависимой регуляции именно HIF-1 α . Исследованиями Semenza [38] показано, что у мышей с недостаточностью HIF-1 α способность каротидного тела отвечать на острую или хроническую гипоксию утеряна.

Некоторые работы посвящены исследованию роли еще одного родственного, но менее известного транскрипционного фактора в качестве кислородного сенсора — MTF-1 [31]. Эти исследования дают новый толчок к пониманию тонких механизмов регуляции внутриклеточного кислородного гомеостаза.

HIF-зависимые ответы на изменение концентрации кислорода могут модулироваться клеточным окружением [31]. Последние данные свидетельствуют, что существует множество точек взаимодействия между клеточным окружением и путями гидроксилирования HIF, которые обеспечивают четко отлаженные физиологические ответы на гипоксию. Некоторые исследования указывают на то, что окисление первичных субстратов осуществляется посредством генерации высоко реактивных железосодержащих радикалов (ferryl species), и важной чертой этого процесса является то, что связывание их с первичными субстратами предшествует связыванию с молекулярным кислородом, таким образом лимитируя риск формирования непродуктивных и потенциально опасных радикалов [31]. Вслед за присоединением молекулярного кислорода, один атом кислорода инкорпорируется в гидроксилированный остаток HIF, тогда как второй окисляет 2-оксиглутарат с образованием сукцината и CO₂.

Кроме гипоксической стимуляции, HIF также активируется фактором роста и онкогенами, которые стимулируют клеточную выживаемость и пролиферацию, тем самым влияя на потенциальную связь между ростом тканей и их обеспечением кислородом. Каскады фосфорилирования, такие как метаболические пути митоген-активированной протеин киназы MAPK (mitogen-activated protein kinase) и фосфоинозитид 3-киназы PI3K (phosphoinositide 3-kinase), активируются фактором роста и усиливают ответ HIF на гипоксию с помощью как посттрансляционного, так и трансляционного контроля [25].

Достижения последних лет в области исследований механизмов регуляции активности HIF открывают новые возможности для понимания развития патофизиологических процессов и осуществления терапевтических вмешательств. Мы сконцентрируемся на некоторых последних сообщениях об участии HIF-1 в патофизиологии заболеваний человека.

Роль HIF-1 α в развитии патофизиологических процессов

Как уже отмечалось, белки HIF-1 α и HIF-2 α участвуют во множественных физиологических реакциях на гипоксию, включая эритроцитоз и обновление легочного сосудистого русла. Достижения последних лет в области исследований механизмов регуляции активности HIF открывают новые возможности для понимания развития патофизиологических процессов и осуществления терапевтических вмешательств. Мы сконцентрируемся на некоторых последних сообщениях об участии HIF-1 в развитии заболеваний, и в первую очередь, заболеваний сердечно-сосудистой и дыхательной систем, поскольку они играют ключевую роль в поддержании кислородного гомеостаза.

Ишемические кардиоваскулярные расстройства

Появляется все больше сведений о том, что активация HIF является протектирующим моментом при ишемических заболеваниях сердца. Ишемия миокарда вызывает экспрессию VEGF в сердце человека [21]. Снижение продукции VEGF связано со снижением активности HIF-1 в ответ на гипоксию. Таким образом, различия в вызванной ишемией активации HIF-1 могут лежать в основе наблюдаемого разнообразия в экспрессии VEGF и представлять важный фактор риска инфаркта миокарда. Поэтому стратегия выбора терапии с целью повышения экспрессии HIF-1 α может способствовать ангиогенезу в ишемизированном миокарде. Принимая во внимание установленные различные формы семейства 2-OG гидролаз, ингибирующие HIF [16], можно предполагать, что особое внимание будет уделено разработке специфических ингибиторов HIF-1 α [23].

Показано, что пептид PR39, выделяемый из макрофагов, может стимулировать ангиогенез в миокарде посредством торможения распада HIF-1 α [22]. Кроме того, продукция NO в ответ на преоксидирование может вызывать обусловленную HIF-1 экспрессию NO-синтазы, защищая миокард от фатального ишемического поражения [17, 43]. Кроме того, HIF активно влияет на продукцию эритропоэтина, который защищает сердце от апоптоза после ишемии-реперфузии. Эксперименты показали, что у мышей с нормальной активацией HIF короткие эпизоды периодической гипоксии достаточны для активации EPO, в то время как у мышей с частичной недостаточностью HIF-1 α периодическая гипоксия не вызывает усиления продукции EPO и не приводит к кардиопротекции [38].

Легочная гипертензия

У некоторых пациентов с хроническими обструктивными заболеваниями легких альвеолярная гипоксия ведет к развитию легочной гипертензии. Хотя патофизиология легочной гипертензии является комплексной проблемой [40], главным компонентом этого процесса является выработка таких пептидов, как эндотелин-1 (ET-1) и ангиотензин II, которые вызывают сокращение гладких мышц и гипертрофию сосудистой стенки. Экспериментальными исследованиями доказано, что в легочном сосудистом русле крыс, подвергнутых хроническому гипоксическому воздействию, наблюдается экспрессия ET-1 [22], а агонисты ET-рецепторов предотвращают развитие легочной гипертензии [6]. Аналогичные данные получены на мышах: у животных, которые являются гетерозиготными по loss-of-function allele at the *Hif1a* locus и поэтому частично недостаточными по HIF-1, гипертрофия правого желудочка сердца при гипоксии развивается в гораздо меньшей степени [46, 49]. Есть сведения о том, что в отличие от всех других клеток легких (бронхиальный и альвеолярный эпителий, альвеолярные макрофаги, эндотелий легочной артерии, эндотелий артериол), гладкомышечные клетки легочной артерии экспрессируют HIF-1 даже в нормоксических условиях [48].

Для обеспечения транскрипции, вызванной гипоксией, необходимо участие HIF-1- связанного участка в промоторе гена ET-1 [14]. Последние данные говорят о том, что не только HIF-1 α , но и HIF-2 α активно участвуют в этом процессе [38]: у мышей с частичной недостаточностью этого белка наблюдается драматическое ослабление экспрессии эндотелина-1 и норадреналина в ответ на гипоксию. Эти мыши не способны развить легочную гипертензию после 4-х недель экспозиции с 10 % O₂.

Кроме того, хроническая гипоксия вызывает также экспрессию ангиотензин-превращающего фактора (ACE), кото-

рый конвертирует ангиотензин I в ангиотензин II [28]. Применение каптоприла, ингибитора ACE, или лозартана, антагониста ангиотензиновых рецепторов I типа, ослабляет развитие легочной гипертензии [29]. Было прямо доказано, что синтез ангиотензина II вызывается экспрессией HIF-1 α [35]. Эти результаты свидетельствуют, что HIF играет первостепенную роль в развитии гипертрофии сосудистых гладких мышц гипоксических легких.

Эти результаты свидетельствуют, что локальное торможение HIF-1 в легких может представлять терапевтическую стратегию для лечения или предупреждения развития легочной гипертензии у пациентов с фактором риска этого заболевания.

Горная болезнь

Отек легких в условиях высокогорья является одним из главных факторов острой горной болезни и фатального исхода пребывания в горах. Одним из механизмов развития этого патологического процесса является чрезмерное усиление активности HIF-1 [30]. Авторами была прослежена связь между генетическим полиморфизмом HIF-1 и индивидуальной предрасположенностью к высокогорному отеку легких. По всей вероятности, именно генетический полиморфизм может объяснить индивидуальные отличия в реакциях на гипоксию и повышенную или сниженную способность к адаптации к высокогорью.

Большое внимание уделяют роли HIF в естественном отборе человеческих популяций, живущих в высокогорных районах. У жителей Анд найдены существенные отличия в полиморфизме гена эндотелина, играющего важную роль в пренатальном развитии, по сравнению с жителями равнины [27]. Для того, чтобы подтвердить, что именно HIF-гены ответственны за естественный отбор в высокогорных популяциях, безусловно, требуются дальнейшие исследования.

Неспецифические заболевания легких

Поскольку выраженная степень гипоксии может вызывать повреждение легочного эпителия и участвовать в развитии фиброза, в последние годы были проведены исследования по изучению возможного участия HIF-1 α в этих процессах. В опытах на крысах [18] было показано, что гипоксия воздействует на эпителиальные клетки II типа посредством активации этого фактора, который в свою очередь активизирует проапоптотический белок Bnip3L, подавляет пролиферацию клеток альвеолярного эпителия и усиливает апоптоз. Авторы делают вывод, что целенаправленное воздействие на HIF, а именно торможение его активации, может быть новой стратегией, препятствующей деструкции альвеолярного эпителия при легочной патологии.

Острый респираторный дистресс-синдром (acute respiratory distress syndrome — ARDS) представляет собой форму острого тяжелого воспалительного процесса в легких. Предыдущими работами было показано, что значительное повышение уровня интерлейкина-8 (IL-8) в альвеолярных макрофагах является фактором риска быстрого развития этого патологического процесса. Исследования показали, что этот хемокин также является мишенью HIF-1 [13].

За последние три десятилетия многочисленными исследованиями показано, что пациенты с хроническими легочными заболеваниями и сердечной недостаточностью, сопровождающимися гипоксемией, метаболизируют лекарства (clear drugs) с более низкой скоростью, чем здоровые испытуемые. В связи с этим, токсический эффект приема лекарственных препаратов у них значительно повышен. Сниженная способность метаболизировать препараты (drug clearance) связана со снижением активности изоформ цитохрома P450. Последние исследования говорят о том, что и этот процесс связан с изменением ядерной транслокации HIF-1 [9].

Воспалительный процесс и иммунная защита

В первые дни начала инфекционного процесса, когда в организме вырабатываются антитела для адаптивного иммунного ответа, оплотом врожденной защиты от микробной инфекции являются полиморфоядерные лейкоциты. Лейкоциты находят, идентифицируют, заглатывают и обезвреживают проникнувшие микробы, используя как кислород-зависимые, так и кислород-независимые антимикробные системы. Новейшие данные свидетельствуют о том, что важнейшую роль в этих процессах

играет HIF-1 α , включая регуляцию транскрипции катионных антимикробных полипептидов и индукцию NO-синтазы [50].

Лейкоциты сосредотачиваются в местах воспаления или инфекции и, активируясь, высвобождают антимикробные факторы, в том числе активные формы кислорода, такие как H₂O₂ и HOCl. Последние образуются с помощью системы NADPH оксидазы в процессе респираторного взрыва. Этот взрыв сопровождается снижением уровня кислорода в воспаленном участке. Вполне возможно, что эта локальная гипоксия вызывает активацию HIF-1 α , что приводит к увеличению синтеза свободных радикалов лейкоцитами [33]. Было бы весьма интересно посмотреть, наблюдается ли у пациентов с хроническим гранулематозом (чьи мелоидные клетки не содержат достаточно ферментов для генерации респираторного взрыва) снижение способности генерировать вторичный сигнал, который в норме ведет к HIF-1 α -опосредованной индукции кислород-независимых антибактериальных систем.

Благодаря выяснению роли HIF-1 α в иммунной защите, Reyssoniaux с соавт [33] предлагают новые стратегии для терапевтической иммуномодуляции. Некоторые вещества, способные активировать HIF-1 α in vitro, которые использовались с успехом в клинике для других целей (такие как мимозин, CoCl₂, дисферриоксамин), могут увеличивать продукцию катионных антибактериальных полипептидов и NO посредством активации HIF-1 α , тем самым повышая продукцию эндогенных антибиотиков. Будущие исследования роли HIF-1 α в координации механизмов иммунной защиты являются крайне необходимыми для разработки новых способов лечения иммунных расстройств.

HIF-1 α и раковый процесс

В различных условиях HIF-1 alpha может провоцировать как образование злокачественных опухолей, так и апоптоз. Существуют противоречивые данные о возможности использования этого фактора в качестве прогностического [41]. Во всяком случае, повышенная экспрессия HIF-1 зарегистрирована при всех онкологических заболеваниях человека [26, 51]. Это подтверждается иммуногистохимическими изучениями биопсий опухолевых тканей. Повышенный уровень HIF-1 α в этих тканях по сравнению с уровнем в окружающих нормальных тканях обычно коррелирует со степенью развития рака и смертностью.

В развитии раковых опухолей важным фактором является гипоксия. Пока первичная опухоль не сформировала адекватное кровоснабжение, уменьшенная диффузия кислорода из окружающих тканей лимитирует ее рост. Вместе с тем, со временем гипоксические условия в раковых опухолях вызывают освобождение цитокинов, которые стимулируют экспрессию VEGF, а следовательно, васкуляризацию и тем самым увеличивают рост опухоли и метастазирование. Последние исследования раскрыли механизм, благодаря которому стабилизация HIF-1alpha ведет к инициации транскрипции генов-мишеней, включенных в рост кровеносных сосудов [2]. Вместе с тем, остается невыясненным, как HIF-1 в раковых клетках реагирует на общую гипоксию в организме, возникающую при гипокситапии либо пребывании в горах, неясно, на каких стадиях развития заболевания следует тормозить его продукцию.

Болезнь Паркинсона

Одной из областей применения новых знаний о HIF может быть использование их в лечении болезни Паркинсона [25]. В мозге альфа-субъединица HIF-1 резко активируется при гипоксии [4], и постоянный уровень HIF-1, кажется, является ответственным за постоянный синтез EPO в мозге при гипоксии, в то время как в других органах (например, в почке) этот синтез значительно ослабевает [5]. Последние данные свидетельствуют о том, что EPO оказывает положительный протектирующий эффект на больших паркинсонизмов [24]. На мышиной модели экспериментального паркинсонизма показано, что введение EPO в паренхиму мозга значительно снижает негативный эффект введения MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine), превентивуя гибель дофаминергических нейронов и улучшая локомоторную активность [10].

Заключение

Данные относительно участия HIF-1 в физиологических и патофизиологических процессах увеличиваются с экспонен-

циальною швидкістю. Потенційно клінічне застосування цих нових знань буде залежати від наукового прогресу в трьох головних напрямках: описання специфічних механізмів регулювання активності HIF-1; характеристика генів-мишеней і біологічних процесів, які регулюються з допомогою HIF-1 всередині даного типу клітин і патологічних станів; розвиток технологій для ефективного знаходження клітинних специфічних мишеней. Розуміння патологічних процесів на молекулярному рівні може привести до нових стратегій для попередження і лікування загрозливих захворювань. Патологія хронічних захворювань повинна розглядатися в межах змін генної експресії, яка опосередковується транскрипційними факторами.

Положення двох інтермедіатів циклу Кребса, 2-оксиглютарата і сукцината, як відповідно ко-субстрата і продукту HIF-гідроксилази, є також цікавими для подальших досліджень, дозволяючи осмислити потенціальні зв'язки з мітохондріальним енергетичним метаболізмом. Оскільки гідроксилювання HIF не є рівноважною реакцією, ступінь модифікації при даній концентрації кисню буде також залежати від кількості доступних ферментів. А так як ферменти є продуктами генів, які експресуються в залежності від тканинної специфічності, вони можуть мати важливе вплив в певних клітинних відповідях на гіпоксію.

Таким чином, HIF-1 опосередковує вирішальні фізіологічні відповіді на гіпоксію, і виявлення цього гомеостатичного механізму може привести до нових методів лікування найбільш поширених захворювань. Разом з тим, неоднозначні підходи до стратегій регулювання HIF при різних видах патологій не дають можливості давати чіткі практичні рекомендації на даному етапі. Так, для запобігання розвитку раку, легочної гіпертензії, для запобігання руйнуванню альвеолярного епітелію при легочній патології кажеється необхідним затримувати активацію HIF, в той час як для лікування і запобігання ішемічних захворювань серця, захворювань Паркінсона — стимулювати виробку цього фактора. В зв'язі з великим інтересом до цієї проблеми можна очікувати в скорому часі значного прогресу в розв'язанні фундаментальних, так і прикладних питань.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ausserer W. A., Bourrat-Floeck B., Green C. J., Laderoute K. R., Sutherland R. M.* Regulation of c-jun expression during hypoxic and low-glucose stress // *Mol Cell Biol.* — 1994. — V.14 (8). — P. 5032–5042.
2. *Brahimi H. C., Berra E., Pouyssegur J.* Hypoxia: the tumor's gateway to progression along the angiogenic pathway // *Trends Cell Biol.* — 2001 — V. 11. — P. 32–36.
3. *Bruick, R. K. and McKnight, S. L.* A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF // *Science* — 2001. — V. 294 — P. 1337–1340.
4. *Chavez J. C., Agani F., Pichiule P. and LaManna J. C.* 2000 Expression of hypoxia-inducible factor-1 in the brain of rats during chronic hypoxia // *J. Appl. Physiol.* — 2000. — V.89. — P. 1937–1942.
5. *Chikuma M., Masuda S., Kobayashi T., Nagao M. and Sasaki R.* Tissue-specific regulation of erythropoietin production in the murine kidney, brain, and uterus // *Am. J. Physiol.* — 2000 — V. 279 — P. E1242–E1248.
6. *DiCarlo V. S., Chen S. J., Meng Q. C., Durand J., Yano M., Chen Y. F., Oparil S.* ETA-receptor antagonist prevents and reverses chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension in rat // *Am. J. Physiol* — 1995 — V. 269 — P. L690–L697.
7. *Fedele A.O., Murray L. W. and Peet D. J.* Regulation of Gene Expression by the Hypoxia-Inducible Factors // *Molecular Interventions* — 2002. — V. 2. — P. 229–243.
8. *Flamme I., Frohlich T., von Reutern M., Kappel A., Damert A., Risau W.* HRF, a putative basic helix-loop-helix-PAS-domain transcription factor is closely related to hypoxia-inducible factor-1 alpha and developmentally expressed in blood vessels // *Mech Dev.* — 1997. — V. 63 (1). — P. 51–60.
9. *Fradette C., Du Souich P.* Effect of hypoxia on cytochrome P450 activity and expression // *Curr. Drug Metab.* — 2004 — V. 5(3) — P. 257–271.
10. *Genc S, Kuralay F, Genc K, Akhisaroglu M, Fadiloglu S, Yorukoglu K, Fadiloglu M, Gure A.* Erythropoietin exerts neuroprotection in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated C57/BL mice via increasing nitric oxide production // *Neurosci Lett.* 2001.-Feb 2; 298(2) — P. 139–141.
11. *Gu Y. Z., Hogenesch J. B., Bradfield C. A.* The PAS superfamily: sensors of environmental and developmental signals // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol* — 2000 — V. 40 — P. 519–561.
12. *Hewitson K. S., McNeill L. A., Riordan M. V., Tian Y. M., Bullock A. N., Welford R. W., Elkins J. M., Oldham N. J., Bhattacharya S., Gleadow J. M. et al.* Hypoxia-inducible factor (HIF) asparagine hydroxylase is identical to factor inhibiting HIF (FIH) and is related to the cupin structural family // *J. Biol. Chem.* — 2002 — V. 277. — P. 26351–26355.
13. *Hirani N., Antonicelli F., Strieter R. M., Wiesener M. S., Ratcliffe P. J., Haslett C., Donnelly S. C.* The regulation of interleukin-8 by hypoxia in human macrophages—a potential role in the pathogenesis of the acute respiratory distress syndrome (ARDS) // *Mol Med.* — 2001 — V. 7 (10) — P. 685–697.
14. *Hu J., Discher D. J., Bishopric N. H., Webster K. A.* Hypoxia regulates expression of the endothelin-1 gene through a proximal hypoxia-inducible factor-1 binding site on the antisense strand // *Biochem. Biophys. Res. Commun* — 1998 — V. 245 — P. 894–899.
15. *Ivan M., Kondo K., Yang H. F., Kim W., Valiando J., Oh M., Salic A., Asara J. M., Lane W. S. and Kaelin W. G.* HIF-1 α targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: Implications for O₂ sensing // *Science* — 2001 — V. 292 — P. 464–468.
16. *Ivan M., Haberberger T, Gervasi D. C, Michelson K. S, Gunzler V, Kondo K, Yang H, Sorokina I, Conaway R. C, Conaway J. W, Kaelin W.G. Jr.* Biochemical purification and pharmacological inhibition of a mammalian prolyl hydroxylase acting on hypoxia-inducible factor // *Proc Natl Acad Sci U S A* — 2002. — Oct 15; V. 99(21). P.13459–13464.
17. *Kimura D, Imaizumi T, Tamo W, Sakai T, Ito K, Hatanaka R, Yoshida H, Tsushima T, Satoh K, Fukuda I.* Hypoxia enhances the expression of plasminogen activator inhibitor-1 in human lung cancer cells, EBC-1 // *Tohoku J Exp Med.* -2002 — V. 196(4). — P. 259–267.
18. *Krick S, Eul BG, Hanze J, Savai R, Grimmering F, Seeger W, Rose F.* Role of HIF-1 α in hypoxia-induced apoptosis of primary alveolar epithelial type II cells // *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2005. — Feb 4.
19. *Lando D., Peet, D. J., Whelan, D. A., Gorman, J. J. and Whitelaw, M. L.* Asparagine hydroxylation of the HIF transactivation domain: a hypoxic switch. // *Science* — 2002 — V. 295 — P. 858–861.
20. *Lando D, Gorman J. J, Whitelaw M. L, Peet D. J.* Oxygen-dependent regulation of hypoxia-inducible factors by prolyl and asparaginyl hydroxylation // *Eur J Biochem.* — 2003 — V. 270(5) — P. 781–790.
21. *Lee, J. M., Grabb, M. C., Zipfel, G. J. and Choi, D. W.* Brain tissue responses to ischemia // *J. Clin. Invest.*-2000 — V. 106 — P. 723–731.
22. *Li H, Chen S. J, Chen Y. F, Meng Q. C, Durand J, Oparil S, Elton T. S.* Enhanced endothelin-1 and endothelin receptor gene expression in chronic hypoxia // *J Appl Physiol* — 1994 — V.77. — P. 1451–1459.
23. *Maranchie, J. K., Vasselli, J. R., Riss, J., Bonifacino, J. S., Linehan, W. M. and Klausner, R. D.* The contribution of VHL substrate binding and HIF1- α to the phenotype of VHL loss in renal cell carcinoma // *Cancer Cell* — 2002. — V.1. — P. 247–255.
24. *Marti H. H.* Erythropoietin and the hypoxic brain // *J Exp Biol* — 2004 — V. 207(Pt 18). — P. 3233–3242.
25. *Masson, N. and Ratcliffe, P. J.* HIF prolyl and asparaginyl hydroxylases in the biological response to intracellular O₂ levels // *J. Cell Sci.* — 2003. — V. 116 — P. 3041–3049.
26. *Maxwell P. H, Pugh C. W, Ratcliffe P. J.* Activation of the HIF pathway in cancer // *Curr Opin Genet Dev.* — 2001. — V.11(3) — P. 293–299.
27. *Moore L. G., M. Shriver, L. Bemis, B. Hickler, M. Wilson, T. Brutsaert, E. Parra and E. Vargas.* Maternal Adaptation to High-altitude Pregnancy: An Experiment of Nature-A Review // *Placenta* — 2004. — V. 25, Supplement A, Trophoblast Research. — Vol. 18, S60–S71.
28. *Morrell N. W, Atochina E. N, Morris K. G, Danilov S. G, Stenmark K. R.* Angiotensin converting enzyme expression is increased in small pulmonary arteries of rats with hypoxia-induced pulmonary hypertension // *J Clin Invest* — 1995 — V. 96 — P. 1823–1833.
29. *Morrell N. W, Morris K. G, Stenmark K. R.* Role of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II in development of hypoxic pulmonary hypertension // *Am J Physiol* — 1995. — V. 269 — P. H1186–H1194.

30. *Mortimer H, Patel S, Peacock A. J.* The genetic basis of high-altitude pulmonary oedema // *Pharmacol Ther.* — 2004. — V. 101 (2) — P. 183–192.
31. *Murphy B. J.* Regulation of malignant progression by the hypoxia-sensitive transcription factors HIF-1 α and MTF-1 // *Comparative Biochemistry & Physiology.* — 2004 — v.139, #3 — P. 495–507.
32. *Murphy B. J, Andrews G. K, Bittel D, Discher D. J, McCue J, Green C. J, Yanovsky M, Giaccia A, Sutherland R. M, Laderoute K. R, Webster K. A.* Activation of metallothionein gene expression by hypoxia involves metal response elements and metal transcription factor-1 // *Cancer Res.* 1999 — V. 59 (6). — P. 1315–1322.
33. *Peyssonnaud C. et al.* HIF-1 α expression regulates the bactericidal capacity of phagocytes // *J.Clin.Invest.* 2005. — V. 115. — P.1806–1815.
34. *Pugh, C. W. and Ratcliffe, P. J.* Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system // *Nat. Med.* — 2003. — V. 9 — P. 677–684.
35. *Richard D. E, Berra E, Pouyssegur J.* Non-hypoxic pathway mediates the induction of hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) in vascular smooth muscle cells // *J Biol Chem* — 2000. — V. 275 — P. 26765–26771.
36. *Risau W.* Mechanisms of angiogenesis // *Nature* — 1997. — V. 386. — P.671–674.
37. *Semenza, G. L. and Wang, G. L.* A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol. Cell. Biol.* — 1992. — V.12 — P. 5447–5454.
38. *Semenza G. L.* O₂-regulated gene expression: transcriptional control of cardiorespiratory physiology by HIF-1 // *J Appl Physiol.* — 2004. — V. 96 (3). — P.1173–1177.
39. *Semenza G. L.* Oxygen-regulated transcription factors and their role in pulmonary disease // *Respir Res.* — 2000. — V. 1(3). — P. 159–162.
40. *Stenmark K. R, Mecham R. P.* Cellular and molecular mechanisms of pulmonary vascular remodeling // *Annu Rev Physiol* — 1997 — V. 59 — P. 89–144.
41. *Swinson D. E, Jones J. L, Cox G, Richardson D, Harris A. L, O'Byrne K. J.* Hypoxia-inducible factor-1 alpha in non small cell lung cancer: relation to growth factor, protease and apoptosis pathways // *Int J Cancer* — 2004. — V. 111(1). — P. 43–50.
42. *Tuckerman J. R, Zhao Y, Hewitson K. S, Tian Y. M, Pugh C. W, Ratcliffe P. J, Mole D. R.* Determination and comparison of specific activity of the HIF-prolyl hydroxylases // *FEBS Lett* — 2004 — V. 576 (1–2) — P. 145–150.
43. *Turpaev K. T, Litvinov Dlu.* [Redox-dependent regulation of gene expression induced by nitric oxide] // *Mol Biol (Mosk).* — 2004. — V. 38 (1). — P. 56–68.
44. *Uchida T, Rossignol F, Matthay M. A, Mounier R, Couette S, Clottes E, Clerici C.* Prolonged hypoxia differentially regulates hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α and HIF-2 α expression in lung epithelial cells: implication of natural antisense HIF-1 α // *J Biol Chem.* — 2004. — V. 279 (15) — P. 14871–14878.
45. *Wang & Semenza, 1995?? Wang, G. L. and Semenza, G. L.* Desferrioxamine induces erythropoietin gene expression and hypoxia-inducible factor 1 DNA-binding activity: implications for models of hypoxia signal transduction // *Blood* — 1993. — V. 82. — P. 3610–3615.
46. *Wang J, Juhaszova M, Rubin LJ, Yuan X-J.* Hypoxia inhibits gene expression of voltage-gated K⁺ channel α subunits in pulmonary artery smooth muscle cells // *J Clin Invest* — 1997. — V. 100 — P. 2347–2353.
47. *Wenger, R. H.* Cellular adaptation to hypoxia: O₂-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O₂-regulated gene expression // *FASEB J.* — 2002. — V. 16. — P. 1151–1162.
48. *Yu A. Y, Frid M. G, Shimoda L. A, Wiener C. M, Stenmark K, Semenza G. L.* Temporal, spatial, and oxygen-regulated expression of hypoxia-inducible factor-1 in the lung // *Am J Physiol.* — 1998. — V. 275 (4 Pt 1) — P. L818–L826.
49. *Yu A. Y, Shimoda L. A, Iyer N. V, Huso D. L, Sun X, McWilliams R, Beaty T, Sham J. S, Wiener C. M, Sylvester J. T, Semenza G. L.* Impaired physiological responses to chronic hypoxia in mice partially deficient for hypoxia-inducible factor 1 α // *J Clin Invest* — 1999. — V.103. — P. 691–696.
50. *Zarembek K.A., Malech H.L.* HIF-1 α : a master regulator of innate host defenses? // *J.Clin.Invest* — 2005. — V. 115. — P. 1702–1704.
51. *Zhong H, Willard M, Simons J.* NS398 reduces hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α and HIF-1 activity: multiple-level effects involving cyclooxygenase-2 dependent and independent mechanisms // *Int J Cancer.* — 2004. — V. 112 (4) — P. 585–595.

HYPOXIA-INDUCIBLE FACTOR: ROLE IN THE PATHOPHYSIOLOGY OF RESPIRATION (REVIEW)

T. V. Serebrovskaya

Summary

Normal tissue function in mammals depends on adequate supply of oxygen. A discrepancy between oxygen supply and consumption (hypoxia) induces a variety of specific adaptation mechanisms. These mechanisms are in part governed by the activation of hypoxia-inducible transcription factors (HIF-1, HIF-2, HIF-3) [Marti, 2004]. HIF-1 α is activated at physiologically relevant oxygen levels [Jiang et al., 1996], ensuring fast and adequate response to hypoxia. HIF-1 α targets include genes involved in angiogenesis, vasomotor control, energy metabolism, apoptosis, innate immune defence. As a consequence of these various functions, HIF-1 α is also implicated in the pathophysiology of many human diseases [Semenza, 2000].

HIF-1 is a heterodimer, composed of α and β subunits which are both members of the basic helix-loop-helix-PAS family of proteins. HIF-1 α is an oxygen-labile protein that is very rapidly stabilized under hypoxic conditions. Upon stabilization, the HIF-1 heterodimer binds to specific DNA sequences located in hypoxia-response elements associated with oxygen-regulated genes such as erythropoietin and vascular endothelial growth factor [Wenger, 2002]. Delineation of HIF-hydroxylation pathways provides new targets for therapeutic intervention. There is increasing evidence that activation of HIF is protective in ischemic/hypoxic disease, Parkinson's disease [Masson & Ratcliffe, 2003] and can generate a productive angiogenic response [Elson et al., 2001; Vincent et al., 2000]. A novel and essential role for HIF-1 α in regulation of several important polymorphonuclear leukocyte functions is described [Zarembek & Malech, 2005]. At the same time, the inhibition of HIF-1 could provide new strategy for the treatment and prophylaxis of pulmonary hypertension and high-altitude edema as well as prevent alveolar epithelial cells from the destruction. Thus, the functions of HIF-1 α in the organism are polysemantic and demand further scrupulous investigations.