

А.Г. Портниченко

## Факторы роста и адаптация миокарда к гипоксии

Международный центр астрономических и медико-экологических исследований НАН Украины,  
Украина, 03680, г.Киев, ул. Заболотного, 27  
Институт физиологии им. А.А.Богомольца НАН Украины, Украина, 01024, г.Киев, ул. Богомольца, 4

*Рассматриваются современные данные о регуляции индукции факторов роста, опосредованной транскрипционным фактором HIF, общих и специфических эффектах и механизмах действия ростовых факторов в миокарде. Результаты собственных исследований экспрессии субъединиц HIF-1 $\alpha$  и HIF-3 $\alpha$ , факторов роста IGF-1, bFGF, шаперонов HSP70 и HSP60 в миокарде крыс при действии хронической гипобарической гипоксии и гипоксического preconditionирования свидетельствуют о тщательной регуляции количества и продолжительности действия этих белков в каждом желудочке сердца в зависимости от нагрузки на него, до достижения адаптации. Индукция IGF-1 в миокарде при гипоксическом preconditionировании является отсроченной и транзитной, преобладает в правом желудочке на 3 сутки, и сопровождается индукцией белка-синергиста HSP60. Адаптация миокарда к хронической гипоксии и гипоксическое ремоделирование сердца сопровождаются значительным повышением соотношения экспрессии мРНК HIF-3 $\alpha$ /HIF-1 $\alpha$ , что ограничивает функцию последней, редукцией IGF-1 — опосредованной метаболической и тканевой перестройки, интенсификацией экспрессии шаперонов.*

**Ключевые слова:** гипоксическое preconditionирование, хроническая гипоксия, HIF, факторы роста, IGF-1, шапероны

A.G. Portnychenko

## Growth factors and adaptation of myocardium to hypoxia

International Center for Astronomical, Medical and Ecological Research, 27, Akademika Zabolotnoho str., Kyiv, 03680, Ukraine  
Bogomoletz Institute of Physiology, 4, Bogomoletz str., Kyiv, 01024, Ukraine

*The article reviews current data on the regulation of induction of growth factors, mediated by transcription factor HIF, as well as on common or specific effects and mechanisms of growth factor action in the myocardium. Our investigations of expression of HIF-1 $\alpha$  and HIF-3 $\alpha$  subunits, growth factors IGF-1 and bFGF, HSP70 and HSP60 chaperones in the myocardium of rats under the influence of chronic hypobaric hypoxia, and hypoxic preconditioning suggest a careful regulation of amount of these proteins and term of their action in each heart ventricle, depending on the its load, to achieve adaptation. The induction of IGF-1 in the myocardium following hypoxic preconditioning is delayed and transient, dominated by the right ventricle on day 3, and is accompanied by induction of protein-synergist HSP60. Myocardial adaptation to chronic hypoxia and hypoxic cardiac remodeling are accompanied by a significant increase in the ratio of mRNA expression HIF-3 $\alpha$ /HIF-1 $\alpha$ , which limits the function of the latter, a reduction of IGF-1 — mediated metabolic and tissue rebuilding, and intensified expression of chaperones.*

**Key words:** hypoxic preconditioning, chronic hypoxia, HIF, growth factors, IGF-1, chaperones

Адаптивный ответ тканей на действие гипоксии включает в себя функциональные и структурные изменения. В миокарде структурные изменения, или ремоделирование, являются ответом на хроническое увеличение гемодинамической и нейрогормональной стимуляции, с одной стороны, и внутриклеточные изменения состава и функции белков, с другой. При недостаточной регуляции этот процесс может становиться дизадаптивным, приводя к патологическим структурным и функциональным изменениям с необратимым исходом в сердечную недостаточность.

**Для корреспонденции:** Портниченко Алла Георгиевна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр., зав. лаб. молекулярной биологии ИЦ АМЭИ НАН Украины. E-mail: port@biph.kiev.ua

Молекулярные механизмы ремоделирования предшествуют структурным изменениям на клеточном и тканевом уровнях и начинают развиваться немедленно после активации сигнальных путей клетки вследствие уменьшения доступности кислорода и/или вызванной этим нехватки энергетических субстратов. Вызванная гипоксией включение сигнальных механизмов приводит к активации генетического аппарата клетки благодаря действию белков — транскрипционных факторов, которые опосредуют транскрипцию так называемых генов-мишеней. Последние способствуют адаптации к гипоксии, поддерживая выживание клеток [43, 46, 59]. Поскольку в ремоделировании миокарда доминируют процессы клеточного рос-

та и тканевой перестройки, связанные с гипертрофией и апоптозом кардиомиоцитов, пролиферацией фибробластов и изменениями экстрацеллюлярного матрикса [18, 40], среди значительного количества генов-мишеней факторы роста играют одну из основных ролей в адаптации миокарда к гипоксии и его моделировании.

### Гипоксия-индуцибельный фактор HIF и новые механизмы регуляции его экспрессии и функции

Одним из основных транскрипционных факторов, активирующихся при гипоксии, является гипоксия-индуцибельный фактор (HIF) — регулятор, поддерживающий кислородный гомеостазис на клеточном уровне и обеспечивающий выживание клеток [43, 46, 59]. HIF — гетеродимерный комплекс, состоящий из  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц [24]. У человека обнаружены четыре субъединицы HIF: HIF-1 $\alpha$ , -2 $\alpha$ , -3 $\alpha$ , и HIF-1 $\beta$  (ARNT). Каждый из этих белков содержит bHLH- и PAS-домены, которые участвуют в гетеродимеризации и связывании ДНК [24]. HIF-1 $\alpha$  и -2 $\alpha$  имеют два трансактивационных домена — NAD и CAD, HIF-1 $\beta$  содержит один такой домен (TAD). Трансактивационная способность HIF зависит также от присоединения транскрипционных коактиваторов, таких, как p300/CBP, к CAD HIF- $\alpha$ . Кроме того, HIF- $\alpha$ -субъединицы содержат уникальный кислородзависимый деградационный домен (ODD), который детерминирует стабильность протеина HIF- $\alpha$  [24, 46]. При гипоксии HIF- $\alpha$  стабилизируется и гетеродимеризуется с HIF-1 $\beta$ , этот комплекс транслоцируется в ядро и связывается с 5'-RCGTC-3' гипоксия-респонсивным элементом (HRE) энхансеров/промоторов генов для запуска их транскрипции [24, 43, 46].

HIF-3 $\alpha$  — протеин (73 kDa), экспрессия которого также обнаружена в сердце [20, 22]. Исследования показали, что HIF-3 $\alpha$  димеризуется с ARNT, а образующийся гетеродимер распознает HRE. HIF-3 $\alpha$  имеет NAD, ODD, однако не содержит CAD [20, 21], поэтому является более слабым транскрипционным фактором, чем HIF-1 $\alpha$  и -2 $\alpha$  [21]. Белок HIF-3 $\alpha$  таким же образом, как HIF-1 $\alpha$  и -2 $\alpha$ , подвергается протеасомальной деградации в зависимости от наличия кислорода [20, 21, 34].

Показано, что HIF-3 $\alpha$  может быть супрессором HIF-1 $\alpha$ /-2 $\alpha$ -индуцированной экспрессии генов [21]. Альтернативные сплайсинговые варианты HIF-3 $\alpha$ , в частности ингибиторный PAS-белок (IPAS) у мышей и HIF-3 $\alpha$ 4 у человека [33, 34], димеризуются с HIF-1 $\beta$ , образуя комплекс, не связывающийся с HRE, что препятствует HIF-индуцированной эксп-

рессии генов-мишеней. IPAS и HIF-3 $\alpha$ 4 не имеют ODD (таким образом, не регулируются кислородом) и трансактивационных доменов, и функционируют как доминант-негативная субъединица HIF. Этот антагонист транскрипционной активности HIF-1 $\alpha$  может вызывать супрессию неоваскуляризации в тканях с физиологически низким напряжением кислорода, например, в корнеальном эпителии [33, 34]. Таким образом, сплайсинг мРНК HIF-3 $\alpha$  до доминант-негативных изоформ, усиливающийся при гипоксии [20, 33, 34], может представлять собой важный регуляторный путь HIF-опосредованной экспрессии генов.

Функциональная активность HIF отличается многоуровневой регуляцией. Прежде всего, тщательно регулируется экспрессия белка субъединиц HIF (на транскрипционном, трансляционном и посттрансляционном уровнях), следующим регуляторным звеном является контроль его трансактивационной функции. В свою очередь, уровень экспрессии белка в клетке в реальный момент времени определяется соотношением его синтеза и деградации.

На транскрипционном уровне экспрессия белка разных субъединиц HIF регулируется неодинаково. При нормоксии в миокарде обнаружены умеренные уровни экспрессии мРНК субъединиц HIF-1 $\alpha$ , -1 $\beta$  и -2 $\alpha$ , которые не обнаруживали значительного роста при гипоксии [22], что свидетельствует об их ограниченной транскрипционной регуляции. Функции и регуляция HIF-3 $\alpha$  менее изучены, однако показано, что при гипоксии эта субъединица способна к быстрой индукции на транскрипционном уровне, что может являться быстрореагирующим звеном системы HIF в защите от гипоксического повреждения [22]. Трансляционная регуляция HIF-1 $\alpha$  обеспечивается повышением трансляции мРНК через активацию p3K/Akt [61], благодаря чему поддерживается синтез этого белка в гипоксических условиях, несмотря на общее ингибирование синтеза белка в клетке [59].

Наиболее мощным регуляторным звеном для HIF- $\alpha$ -субъединиц является посттрансляционная модификация, в том числе фосфорилирование, ацетилирование, пролилгидроксилирование, убиквитинирование и другие биохимические преобразования белка, влияющие на его активность или способствующие деградации. Наиболее подробно изучены механизмы деградации HIF- $\alpha$  как клеточная составляющая кислородного сенсинга. В нормоксических условиях  $\alpha$ -субъединицы HIF подвергаются O<sub>2</sub>-зависимому гидроксилированию пролиновых остатков (Pro<sup>402</sup> и/или Pro<sup>564</sup>), которое катализируется белками с пролилгидроксилазным доменом (PHD1-3). Гидроксилированные молекулы HIF- $\alpha$  затем подвергаются убиквитинированию комплексом E3- убиквитинлигазы с белком von Hippel-Lindau (pVHL) и последующему расщеп-

лению 26S-протеасомой [30, 46, 55]. Активность гидроксилаз ингибируется нехваткой кислорода, накоплением метаболитов цикла трикарбоновых кислот (изоцитрата, оксалоацетата, сукцината, fumarата), а также продукцией свободнорадикальных хелаторов Fe(II), связанного с PND [19, 46]. Поскольку эти метаболические сдвиги наиболее характерны для гипоксических состояний, гипоксия является основным индуктором функции HIF- $\alpha$ , а результат такой активации направлен прежде всего на компенсацию и/или предупреждение подобных метаболических сдвигов и, таким образом, является одним из ключевых механизмов адаптации к гипоксии.

Накопление белка HIF- $\alpha$  при гипоксии, как принято считать, происходит вследствие деактивации PND и ингибирования O<sub>2</sub>-зависимой деградации HIF- $\alpha$  протеасомой при участии pVHL [19]. Однако недавние исследования указывают на более сложное соотношение этих процессов. С одной стороны, экспрессия белка HIF-1 $\alpha$  при гипоксии повышается вследствие его стабилизации и поддержания синтеза. С другой стороны, обнаружены новые механизмы деградации HIF- $\alpha$ , не зависящие от кислорода и pVHL [59], которые могут уменьшать экспрессию этого фактора при гипоксии. При нормоксии продемонстрирован новый механизм деградации HIF-1 $\alpha$  с участием pVHL, но не опосредованный PND 1-3 [9]. PND также способны модифицировать активность HIF независимо от гидроксилазного действия. Поскольку PND2 и PND3 индуцируются HIF-1 $\alpha$  при гипоксии, ингибирование PND нехваткой кислорода, NO или другими стимулами с последующей стабилизацией HIF- $\alpha$  может приводить к индукции PND и восстановлению их функции. Такой механизм отрицательной обратной регуляции HIF- $\alpha$  — субъединиц при гипоксии может обеспечивать быструю их деградацию при нормоксии благодаря повышению экспрессии PND [19].

Продолжается идентификация белков, участвующих в этих регуляторных механизмах. Белки теплового шока (HSP) представляют интегральный компонент накопления HIF-1 $\alpha$  в клетке. HSP90 $\beta$  связывается с HIF-1 $\alpha$  и обеспечивает фолдинг и стабилизацию этого белка в нормоксических и гипоксических условиях. HSP70 непосредственно связывается с ODD HIF-1 $\alpha$  и защищает его от O<sub>2</sub>-зависимой деградации. Активация PI3K/Akt при гипоксии может усиливать гипоксическую стабилизацию HIF-1 $\alpha$ , повышая экспрессию Hsp90 и Hsp70 [30, 53, 61].

Установлено участие белков элонгина-C и -B, кулина 2 в pVHL — E3-убиквитинлигазном комплексе при O<sub>2</sub>-зависимой деградации HIF-1 $\alpha$ . В отличие от этого, при O<sub>2</sub>-независимой деградации E3-убиквитинлигаза связывается только с элонгином

C. Рецептор активированной C-киназы 1 (RACK1) конкурирует с HSP90 за связывание с HIF-1 $\alpha$ , затем взаимодействует с элонгином-C и стимулирует pVHL- и O<sub>2</sub>-независимую деградацию HIF-1 $\alpha$  в комплексе с HSP70 [30, 46]. Подобным образом действует и белок, содержащий домен метаболизма меди MURR1 (COMMD1) [53]. Кальциневрин, серин-треониновая фосфатаза, под действием кальция и кальмодулина блокирует димеризацию и активацию RACK1, способствуя накоплению HIF-1 $\alpha$  [31].

Эндотелин-1, действуя через эндотелиновые B-рецепторы и PI3K-ILK-AKT-mTOR-зависимый механизм, ингибирует экспрессию гена PND2, тем самым повышая экспрессию HIF-1 $\alpha$ , HIF-2 $\alpha$  и VEGF [48].

В качестве альтернативного пути регуляции стабильности HIF-1 $\alpha$  указывают также на роль АМФ-активируемой протеинкиназы (АМРК), которая рассматривается как энергетический сенсор в условиях нехватки АТФ. Ингибирование АМРК редуцирует стабилизацию HIF-1 $\alpha$  под действием H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и повышает убиквитинирование HIF-1 $\alpha$  [26].

Несмотря на известное ингибиторное действие активных кислородных метаболитов (АКМ) на PND, роль АКМ в стабилизации HIF-1 $\alpha$ , по-видимому, зависит от экспериментальных условий [1, 16, 28, 38]. Резюмируя результаты исследований, можно отметить, что химическое взаимодействие АКМ с NO способно концентрационно-зависимым путем регулировать, в том числе и нивелировать, их влияние на активность PND и деградацию HIF.

NO может разнонаправленно влиять на активность PND, ингибируя ее при высоких концентрациях (>1 мкМ) путем связывания Fe(II), такой механизм стабилизации HIF-1 $\alpha$  обнаруживается при нормоксии. В низких концентрациях (<0,4 мкМ) NO стимулирует активность PND, увеличивая биодоступность кислорода для этих ферментов, этот механизм проявляется в гипоксических условиях. Повышение окислительного фосфорилирования при гипоксии также может приводить к ингибированию активности PND вследствие роста продукции АКМ в митохондриях и цитозоле. Механизм ингибирования этих ферментов АКМ опосредуется через связывание Fe(II), ассоциированного с PND, и окисление его в Fe(III). NO, подавляя функцию митохондрий и образование АКМ, может в этих условиях активировать PND [11, 19].

С учетом неоднозначности экспериментальных данных представляется вероятным, что эндогенные механизмы регуляции функции HIF- $\alpha$  действуют более ограниченно и целенаправленно, а механизмы регуляции функции HIF-1 $\alpha$  при введении экзогенных стимуляторов или при патологии становятся более

многоуровневыми. Так, в опухолевых клетках, дефицитных по Mn-SOD и отличающихся высоким внутриклеточным содержанием АКМ, продемонстрирован рост экспрессии HIF-1 $\alpha$  вследствие активации как транскрипционных, так и трансляционных и посттрансляционных регуляторных механизмов [44].

Трансактивационную активность HIF-1 $\alpha$  регулирует O<sub>2</sub>-зависимое гидроксирование аспарагиновых остатков в C-терминальном ODD HIF-1 $\alpha$  фактором ингибции HIF-1 (FIH-1), который препятствует функциональному взаимодействию HIF-1 $\alpha$  с CBP/p300, коактиватором HIF-зависимой транскрипции генов-мишеней [46, 55].

Активность транскрипционных факторов, в том числе HIF, регулирует и сравнительно недавно открытый малый модификатор, относящийся к убиквитину (SUMO). SUMO-1, -2 и -3 конъюгируют с ODD HIF-1 $\alpha$  и -2 $\alpha$  и уменьшают их транскрипционную активность, не стимулируя деградацию белка. Этот механизм посттрансляционной модификации белка получил название «сумоилирование» (sumoylation). При гипоксии обнаружена индукция SUMO-1 в сердце, что может ограничивать гипоксическую индукцию генов-мишеней, в том числе, регулировать сдвиг клеточного метаболизма в сторону гликолиза [7, 47, 54]. Вследствие избирательной регуляции, функции HIF-1 $\alpha$  и HIF-2 $\alpha$  могут быть реципрокными при гипоксии, как это было продемонстрировано при заглушении этих генов с помощью siРНК [14].

### **Факторы роста, их индукция при гипоксии и роль в ремоделировании миокарда**

Стабилизация и активация HIF вызывает индукцию факторов роста, вовлеченных в ангиогенез, эритропоэз, клеточное выживание и пролиферацию [13, 18, 43, 46]. Среди них наиболее изученным является семейство сосудистых эндотелиальных факторов роста VEGF, в которое входят VEGF-A, VEGF-B и недавно открытый плацентарный фактор роста PlGF [39]. Эти факторы являются основными регуляторами ангиогенеза как в эмбриональном сердце, так и в ишемизированном и ишемизированном миокарде взрослых животных. В эмбриональном сердце основную роль играет VEGF-A, а VEGF-B и PlGF вовлечены в процессы постшемической ревазуляризации. Фактор роста фибробластов bFGF (FGF2) принимает участие в ангиогенезе при воспалении, а также опосредует ремоделирование соединительной ткани в миокарде [39, 40, 43]. Семейство ангиопоэтиноподобных факторов осуществляет ремоделирование сосудов и артериогенез, в том числе постшемический, тромботический фактор роста PDGF-B участвует в привлечении перидитов при ревазуляризации [15, 52].

Для многих сигнальных и эффекторных механизмов при гипоксии характерна обратная регуляция. Большинство из факторов роста, индуцируемых HIF-1, способно вторично стабилизировать этот транскрипционный фактор и усиливать пролиферативный ответ. Факторы роста, действуя через митоген-активируемые протеинкиназы p42/p44 MAPK, с одной стороны, индуцируют VEGF с помощью комплекса факторов транскрипции Sp1/AP-2, а с другой, фосфорилируют HIF-1 $\alpha$ , повышая его трансактивационную активность. Стресс-активируемые протеинкиназы (SAPK) стабилизируют мРНК VEGF. Все эти сигнальные пути, в результате, действуют как синергисты в отношении VEGF-опосредованного ангиогенеза [15, 35]. Трансформирующий ростовой фактор TGF- $\beta$ 1 ингибирует транскрипцию PHD2 через Smad-опосредованный механизм, что может противодействовать гипоксической индукции PHD2 [19, 36].

Обратная стимуляторная регуляция установлена и во взаимодействии факторов роста и газотрансмиттеров, индуцируемых при гипоксии. NO, продуцируемый eNOS, необходим для ангиогенеза в сердце. У мышей, дефицитных по гену eNOS (-/-), наблюдали снижение плотности капилляров в миокарде левого желудочка сердца и дефекты аортального клапана [60]. Эти нарушения могли быть связаны с дефектами индукции VEGF, поскольку промотор гена VEGF содержит NO-респонсивные элементы, локализованные рядом с HRE, и вследствие этого является мишенью для действия NO [27]. У eNOS (-/-) мышей также не осуществлялся ангиогенез, опосредованный ангиопоэтином-1 и ангиопоэтин-зависимым фактором роста AGF [52]. Помимо действия на ангиопоэз, миокардиальная eNOS способна стимулировать миграцию мезенхимальных стволовых клеток в ишемизированный миокард, оказывая пролиферативный эффект и улучшая функцию сердца [29].

В свою очередь, факторы роста могут действовать как коронарные и периферические вазодилататоры, индуцируя NO-зависимое расслабление артерий. Таким действием, опосредованным через рецепторы VEGFR-1 и -2, обладают VEGF и PlGF, а также AGF, стимулирующий eNOS путем активации киназ ERK1/2 [39]. VEGF вызывает активацию eNOS через несколько сигнальных механизмов: Akt/PKB, Ca<sup>(2+)</sup>/кальмодулин, PKC. При этом VEGF-опосредованная продукция NO и NO-опосредованная индукция VEGF регулируются через стабилизацию HIF-1 и активность еще одного гена-мишени — гемоксигеназы-1 (HO-1, или HSP32), в зависимости от количества продуцированного NO. Такие реципрокные взаимоотношения между NO и VEGF рассматриваются как регулирующие ангиогенез в нормальной ткани [27]. В то же время, активируя AMPK $\alpha$ 1,

VEGF может индуцировать ангиогенез независимо от активации eNOS [49]. Таким образом, гипоксия является индуктором iNOS, HO-1 и ростовых факторов, последние в свою очередь активируют eNOS [3], а повышение продукции NO и CO этими ферментами в еще большей степени способно индуцировать пролиферативный ответ на действие гипоксии.

В качестве стимулятора ангиогенеза значительную роль могут также играть АКМ, продуцируемые митохондриями. Повышение продукции  $H_2O_2$  ингибирует редокс-активируемую фосфатазу pTEN, действие которой препятствует активации p13K-Akt и индукции VEGF [17].

Среди эндогенных ингибиторов ангиогенеза в сердце могут иметь значение тромбоспондин-1 и -2, фактор тромбоцитов-4, интерферон- $\alpha$  и - $\beta$ , ангиостатин, производные коллагена эндостатин, аррестен, кенстатин и тамстатин, производные гормона роста вазогибины, ген ответа на комплемент RGC-32 и др. факторы, однако их роль на сегодняшний день сравнительно мало изучена. Показано, что вазогибины и RGC-32 индуцируются факторами роста VEGF и bFGF и являются звеном обратной негативной регуляции ангиогенеза при гипоксии. Тромбоспондины и вазогибины блокируют продукцию NO ферментами eNOS и iNOS, соответственно, таким образом предотвращая их стимуляторное влияние на ангиогенез, опосредованное через растворимую гуанилатциклазу [8, 37, 45].

Помимо своего действия как фактора роста, VEGF, синтезированный в гипоксических кардиомиоцитах, является индуктором кардиопротекторных белков, в частности, COX-2, посредством активации PKC и iNOS, а также поддерживает защиту от инфаркта, активируя p13K-Akt [3, 56, 58]. При гипертрофии миокарда VEGF противодействует развитию сердечной недостаточности, поддерживая баланс деления и слияния митохондрий, пролиферацию кардиомиоцитов и предупреждая развитие апоптоза [58].

Эритропоэтин — гликопротеин, известный как основной стимулятор эритропоэза [13]. Однако на кардиомиоцитах и эндотелиальных клетках также обнаружены рецепторы к эритропоэтину, стимуляция которых уменьшает повреждение клеток, апоптоз, окислительный стресс и воспалительные процессы в миокарде. Сигнальные пути этих протекторных эффектов опосредованы активацией киназ p13K и Akt и ингибированием GSK-3 $\beta$ , а также активацией киназ PKC, ERK1/2 и калиевых каналов. Эритропоэтин улучшает сократительную функцию сердца при гипоксии/ишемии, уменьшает размер инфаркта и развитие аритмий. В эндотелиальных клетках аорты эритропоэтин действует также на  $\beta$ -общие рецепторы ( $\beta$ CR), индуцируя формирование комплексов  $\beta$ CR-AMPK-eNOS, продукцию NO и ангиогенез [13, 50, 51].

Среди факторов роста, индуцируемых гипоксией, все большее внимание привлекает инсулиноподобный фактор роста (IGF), объединяющий в себе свойства пролиферативного фактора и регулятора метаболизма [23]. IGF-1 и менее изученный IGF-2 — пептидные тканевые гормоны, структурно подобные инсулину. Действуя на специфические рецепторы клеточной мембраны (IGF-1r) и инсулиновые рецепторы, IGF-1 активирует синтез ДНК, метаболизм глюкозы, ингибирует апоптоз путем активации MAPK, p13K-Akt и Bad-опосредованного ингибирования митохондриально-зависимой активации каспаз, стимулирует деление, рост и миграцию клеток посредством MAPK (MEK1/ERK), PKC $\epsilon$  и Rac [23, 25]. Помимо собственного пролиферативного эффекта, IGF-1 способен стабилизировать HIF-1 $\alpha$  путем активации p13K-Akt и вторично усиливать индукцию ростовых факторов [14].

Роль IGF-1 в развитии гипертрофии миокарда установлена в исследованиях на мышцах с кардиомиоцит-специфической оверэкспрессией IGF-1r [12]. Рассматривается участие IGF-1 в патогенезе атеросклероза и сердечной недостаточности [10, 23]. Ишемическая кардиомиопатия у собак сопровождалась повышением экспрессии IGF-1 и IGF-1r, причем последняя коррелировала с ростом экспрессии циклинов B, D1, D3 и E систолической дисфункцией, в отличие от экспрессии TGF $\beta$  [32]. Ввиду специфичности роли IGF-1 в ремоделировании миокарда представляется важной детальная характеристика IGF-1-опосредованных механизмов во всех случаях функционально-структурной перестройки сердца в ответ на влияние физиологических или патологических стимулов.

Как показывают приведенные данные, множественные сигнальные пути могут опосредовать клеточные ответы в кардиомиоцитах на активацию одного рецептора, и наоборот, сигналы от разных рецепторов часто объединяются в единый киназный каскад с типичным клеточным ответом, что значительно затрудняет интерпретацию роли тех или иных факторов в развитии ремоделирования и адаптации. Это привело к механистическому выделению в ряде работ отдельных рецепторных и киназных путей, которые приводят, по мнению авторов, к «физиологической» или «патологической» гипертрофии миокарда, и даже делению гипоксии как действующего фактора на «физиологическую гипоксию» и «патологическую гипоксию» [12, 18]. Не поддерживая этот поверхностный подход, мы полагаем, что взаимодействие различных сигнальных путей происходит во всех случаях их активации, а конечный эффект зависит от степени повреждения и совокупности регуляторных воздействий. При этом существование стресс-реактивных механизмов защиты необходимо для экстренного обеспечения выживания

клеток, хотя их хроническая или чрезмерная стимуляция может стать повреждающей и приводить к развитию патологических изменений.

Хорошо иллюстрирует этот тезис феномен гипоксического preconditionирования (ГП), который можно закономерно рассматривать как срочную адаптацию к гипоксии [1—3]. В 2002 г. нами и группой L. Xi с соавторами была независимо разработана модель ГП миокарда с помощью действия 10% O<sub>2</sub> в течение 3 ч у крыс [3—5] и 4 ч у мышей [57]. Индукция генов в миокарде через 24 ч после действия острой гипоксии обеспечивает защиту от ишемического повреждения в течение 3 сут. Среди протекторных эффектов гипоксического preconditionирования миокарда (ГП) можно выделить уменьшение размера инфаркта, предупреждение развития реперфузионных аритмий, улучшение сократительной функции сердца (рис. 1), что обеспечивается функцией индуцибельных белков (iNOS, COX-2) и активацией Ca<sup>2+</sup>-зависимых и АТФ-зависимых калиевых каналов [3—5]. Вместе с тем, хорошо известно, что чрезмерная функция iNOS и COX-2 является повреждающей. В связи с этим, мы полагаем, что в результате ГП индуцируются также механизмы, позволяющие быстро ограничивать функцию этих стресс-реактивных белков.

Другим важным моментом является тот факт, что после ГП не развивается ремоделирование миокарда. Однако при действии хронической гипоксии хорошо известно развитие гипертрофии правого желудочка сердца [18], которое мы наблюдали в популяции крыс Вистар, содержащихся на высоте 2100 м в Приэльбрусье (рис. 2). Ввиду недостаточной изученности особенностей этих адаптивных процессов и их молекулярных механизмов мы провели исследования

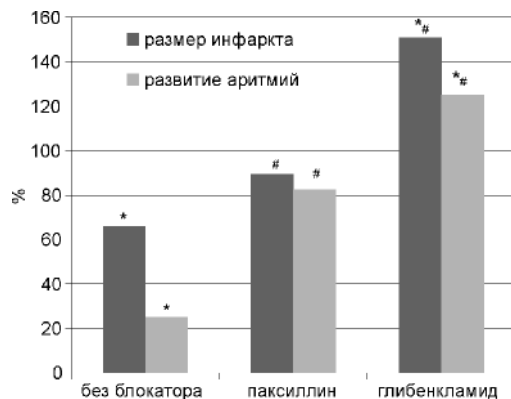


Рис. 1. Размер инфаркта и развитие реперфузионных аритмий в изолированном сердце крыс через 24 ч после гипоксического preconditionирования (10% O<sub>2</sub>, 3 ч) и при блокаде K<sub>Ca2+</sub>-каналов паксиллином и K<sub>ATP</sub>-каналов глибенкламидом (% от показателей контрольной группы). \*P<0,05 по сравнению с контрольной группой; #P<0,05 по сравнению с группой без блокатора

экспрессии ряда генов и белков в миокарде равнинных и горных крыс при проведении у них ГП.

Можно отметить, что индукция IGF-1 после ГП происходила только в правых желудочках равнинных крыс (рис. 3, А), а у горных крыс экспрессия этого гена в миокарде была значительно супрессирована и не повышалась в ответ на ГП [6, 41]. Формирование таких особенностей могло быть обусловлено достижением адаптированного состояния сердца животных, когда его дальнейшее ремоделирование должно быть ограничено. Вместе с тем, наблюдали рост экспрессии белков семейства HSP70 в сердце адаптированных животных [3] и значительный рост их экспрессии при ГП, чего не происходило на равнине (рис. 3, Б). Учитывая стабилизирующее действие этих белков на HIF-1α и их функции шаперонов при индукции генов-мишеней, следовало бы ожидать, напротив, активации клеточного роста у горных крыс. При определении экспрессии мРНК HIF-1α и HIF-3α в миокарде наблюдался их рост [41], однако соотношение экспрессии этих субъединиц (HIF-3α/HIF-1α) претерпевало значительные изменения (рис. 3, В), увеличиваясь в 7,8 раза в левом и в 4,7 раза в правом желудочке по сравнению с равнинными животными. Таким образом, преимущественное увеличение экспрессии HIF-3α в миокарде горных крыс могло оказывать ингибиторное действие на HIF-1α — опосредованную индукцию факторов роста, в частности, IGF-1.

При изучении динамики ответа фактора роста на ГП у адаптированных крыс мы все же отметили транзиторное повышение его экспрессии на 3 сутки после ГП в правом желудочке, и на 5-е сутки — в левом (рис. 4, А). Белок-синергист HSP60, поддерживающий функцию IGF-1r, увеличивал свою эксп-

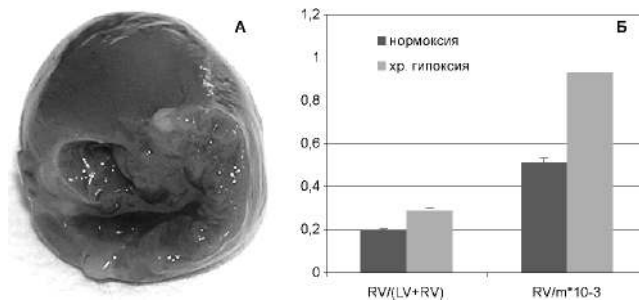


Рис. 2. А — гипертрофия правого желудочка сердца крыс при действии хронической гипоксии на высоте 2100 м; Б — соотношение массы правого желудочка сердца к массе обоих желудочков (RV/(LV+RV), мг/мг) и массе тела (RV/m, мг/г) у крыс на равнине и на высоте 2100 м

рессию в этот же срок в правом желудочке (рис. 4, Б). Таким образом, наблюдалась умеренная транзиторная активация адаптивных механизмов, связанных с IGF-1, более выраженная в правом желудочке сердца. Для сравнения, экспрессия белка bFGF, связанного с пролиферацией фибробластов и ремоделированием внеклеточного матрикса, не только не индуцировалась после ГП, но и претерпевала супрессию в правом желудочке (рис. 4, В).

Представленные результаты подтверждают сделанное нами предположение о наличии жесткой ограничительной регуляции HIF-1 $\alpha$  — опосредованного адаптивного ответа при гипоксических состояниях. При острой гипоксии (ГП) не происходит запуска ремоделирования миокарда, а индукция факторов роста носит транзиторный характер. При хронической гипоксии процесс ремоделирования ограничивается по достижению оптимального функционирования, при-

чем экспрессия факторов роста поддерживается на значительно редуцированном уровне, а их реактивность на ГП значительно уменьшается. Вместе с тем, паттерн регуляторных генов и белков, которые влияют на функцию системы HIF, изменяется в зависимости от гипоксического режима, обеспечивая тонкую настройку функционирования этой системы и достижение оптимальной адаптации к гипоксии.

### Заключение

Результаты современных исследований значительно развивают и дополняют теорию гипоксического сенсинга, опосредованного HIF, и его роль в адаптации миокарда к гипоксическим условиям. Регуляция экспрессии и функции HIF осуществляется множественными механизмами с наличием значительного количества путей обратной положительной и отрицательной регуляции. Такая сеть регуляторных путей свидетельствует об особой значимости

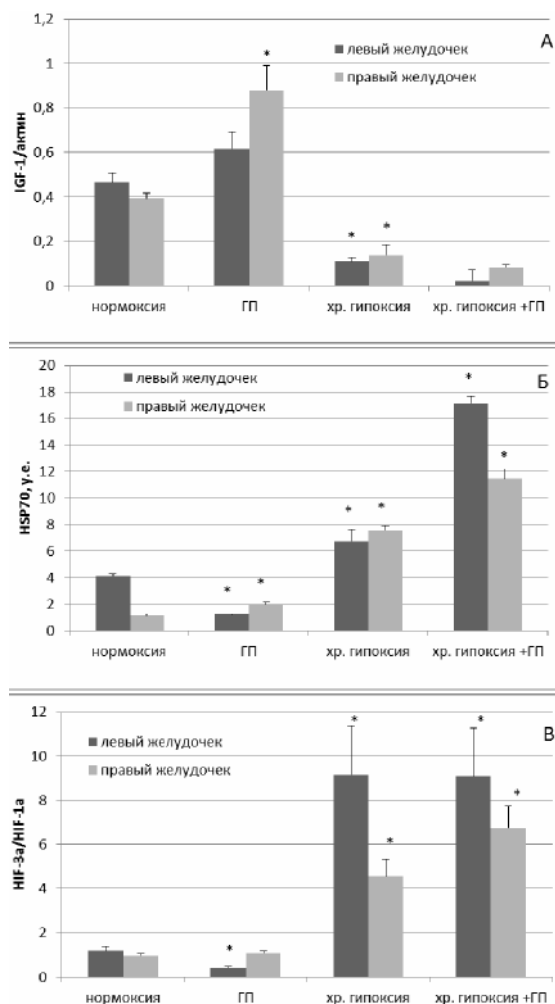


Рис. 3. Экспрессия мРНК IGF-1 (А), белка HSP70 (Б) и соотношение экспрессии мРНК HIF-3 $\alpha$  и HIF-1 $\alpha$  в сердце крыс при влиянии различных режимов гипоксии. \*P<0,05 по сравнению с показателями при нормоксии

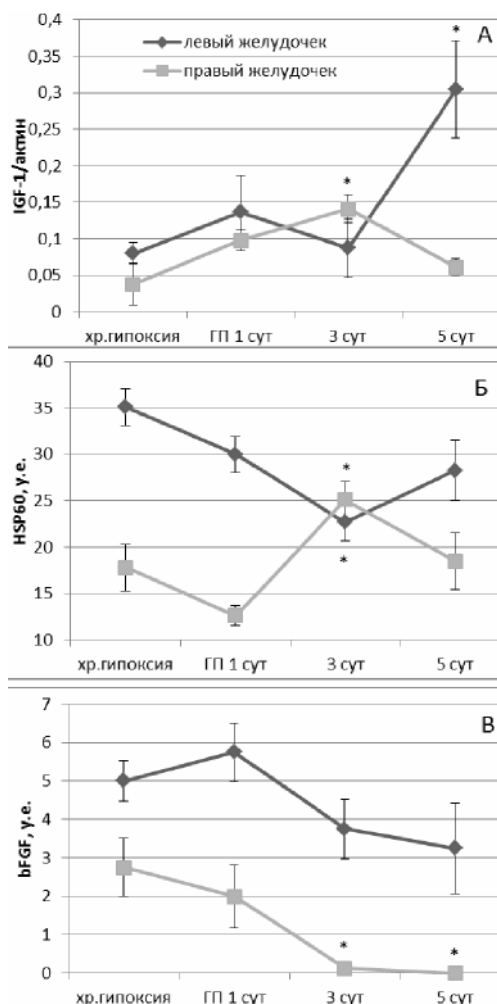


Рис. 4. Экспрессия мРНК IGF-1 (А), белка HSP60 (Б) и белка bFGF (В) в сердце крыс в динамике после гипоксического прекоондиционирования. \*P<0,05 по сравнению с исходными показателями

HIF-опосредованных механизмов для поддержания внутриклеточного гомеостаза и тщательности их регулирования в зависимости от его параметров.

Факторы роста как мишени действия HIF обладают рядом неспецифических и специфических эффектов. Помимо их общего действия, направленного на обеспечение выживания клеток, они проявляют антиапоптотический эффект, а также потенцируют вторичную индукцию факторов роста, стабилизируя HIF. Эти эффекты, как правило, опосредованы действием через киназы PI3K-Akt. Наряду с потенциацией пролиферативного ответа, активация HIF приводит и к индукции ингибиторов, что позволяет тщательно контролировать пролиферативный ответ. Вместе с тем, особенности действия факторов роста в индукции ангиогенеза, пролиферации или миграции клеточных популяций могут быть обусловлены как сочетанным действием на различные рецепторы и/или сигнальные пути, так и влиянием регуляторов, в том числе NO и свободнорадикальных молекул.

Гипоксическое прекондиционирование как срочная фаза адаптации к гипоксии максимум своего эффекта проявляет в индукции регуляторов вазодилатации и свободнорадикальных процессов в миокарде, активации калиевых каналов митохондрий и модуляции функции последних. Индукция факторов роста в миокарде является более отсроченной и тщательно регулируется в каждом желудочке сердца в зависимости от нагрузки на него, в норме их действие проявляется транзиторно, до достижения адаптации. Хроническая гипоксия в здоровом организме должна приводить к нарастающей индукции ингибиторных механизмов и в итоге к глубокому подавлению пролиферативного ответа в миокарде, что предупреждает неконтролируемое ремоделирование и развитие сердечной недостаточности.

Адаптация миокарда к хронической гипоксии и гипоксическое ремоделирование сердца сопровождаются значительным повышением соотношения экспрессии мРНК HIF-3 $\alpha$ /HIF-1 $\alpha$ , что ограничивает функцию последней, редукцией IGF-1 — опосредованной метаболической и тканевой перестройки, интенсификацией экспрессии шаперонов. Эти молекулярные изменения в адаптированном сердце повышают защиту миокарда от гипоксического повреждения и поддерживают его более высокую функциональную нагрузку при гипоксии.

### Список литературы

1. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции // Патол. физиол. и эксп. терапия. — 2011. — №1. — С. 2—18.
2. Лукьянова Л.Д., Кирова Ю.И., Сукоян Г.В. Новое о сигнальных механизмах адаптации к гипоксии и их роли в системной регуляции // Патогенез. — 2011. — Т. 9, №3. С. 4—14.
3. Портниченко А.Г. Феномен позднего прекондиционирования миокарда, или фенотипическая кардиопротекция // Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца / Под ред. А.А. Мойбенко, В.Е. Досенко, А.Н. Пархоменко. — К.: НВП «Видавництво «Наукова думка» НАН України», 2008. — С. 305—331.
4. Портниченко А.Г., Василенко М.И., Мойбенко А.А. Роль калиевых каналов в эффекторных механизмах кардиопротекции при позднем прекондиционировании сердца крыс // Патология. — 2008. — Т. 5, №3. — С. 61—62.
5. Портниченко А.Г., Василенко М.И., Портниченко В.И., Мойбенко А.А. Острая гипоксическая гипоксия как индуктор отсроченной кардиопротекции у крыс // Гипоксия, автоматизированный анализ гипоксических состояний. Сб. трудов под ред. А.З. Колчинской. — Москва — Нальчик, 2005. — Т. 1. — С. 185—190.
6. Портниченко В.И., Портниченко А.Г., Суровая О.В. Гипогликемия и индукция генов в миокарде и легких крыс при гипобарической гипоксии // Збютки кліні. і експерим. медицини. — 2009. — №2. — С. 43—46.
7. Agbor T.A., Cheong A., Comerford K.M. et al. Small ubiquitin-related modifier (SUMO)-1 promotes glycolysis in hypoxia // J. Biol. Chem. — 2011. — Vol. 286, №6. — P. 4718—4726.
8. An X., Jin Y., Guo H. et al. Response gene to complement 32, a novel hypoxia-regulated angiogenic inhibitor // Circulation. — 2009. — Vol. 120, №7. — P. 617—627.
9. Andre H., Pereira T.S. Identification of an alternative mechanism of degradation of the hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  // J. Biol. Chem. — 2008. — Vol. 283, №43. — P. 29375—29384.
10. Andreassen M., Raymond I., Kistorp C. et al. IGF1 as predictor of all cause mortality and cardiovascular disease in an elderly population // Eur. J. Endocrinol. — 2009. — Vol. 160, №1. — P. 25—31.
11. Berchner-Pfannschmidt U., Tug S., Kirsch M., Fandrey J. Oxygen-sensing under the influence of nitric oxide // Cell Signal. — 2010. — Vol. 22, №3. — P. 349—356.
12. Bernardo B.C., Weeks K.L., Pretorius L., McMullen J.R. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: experimental findings and therapeutic strategies // Pharmacol. Ther. — 2010. — Vol. 128, №1. — P. 191—227.
13. Burger D., Xenocostas A., Feng Q.P. Molecular basis of cardioprotection by erythropoietin // Curr. Mol. Pharmacol. — 2009. — Vol. 2, №1. — P. 56—69.
14. Carroll V.A., Ashcroft M. Role of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 $\alpha$  versus HIF-2 $\alpha$  in the regulation of HIF target genes in response to hypoxia, insulin-like growth factor-1, or loss of von Hippel-Lindau function: implications for targeting the HIF pathway // Cancer Res. — 2006. — Vol. 66, №12. — P. 6264—6270.
15. Chen J.X., Stinnett A. Ang-1 gene therapy inhibits hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )-prolyl-4-hydroxylase-2, stabilizes HIF-1 $\alpha$  expression, and normalizes immature vasculature in db/db mice // Diabetes. — 2008. — Vol. 57, №12. — P. 3335—3343.
16. Chua Y.L., Dufour E., Dassa E.P. et al. Stabilization of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  protein in hypoxia occurs independently of mitochondrial reactive oxygen species production // J. Biol. Chem. — 2010. — Vol. 285, №41. — P. 31277—31284.
17. Connor K.M., Subbaram S., Regan K.J. et al. Mitochondrial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> regulates the angiogenic phenotype via PTEN oxidation // J. Biol. Chem. — 2005. — Vol. 280, №17. — P. 16916—16924.



18. **Essop M.F.** Cardiac metabolic adaptations in response to chronic hypoxia // *J. Physiol.* — 2007. — Vol. 584(Pt 3). — P. 715–726.
19. **Fong G.H., Takeda K.** Role and regulation of prolyl hydroxylase domain proteins // *Cell Death Differ.* — 2008. — Vol. 15, №4. — P. 635–641.
20. **Gu Y.Z., Moran S.M., Hogenesch J.B.** et al. Molecular characterization and chromosomal localization of a third alpha-class hypoxia inducible factor subunit, HIF3alpha // *Gene Expr.* — 1998. — Vol. 7, №3. — P. 205–213.
21. **Hara S., Hamada J., Kobayashi C.** et al. Expression and characterization of hypoxia-inducible factor (HIF)-3 $\alpha$  in human kidney: suppression of HIF-mediated gene expression by HIF-3 $\alpha$  // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2001. — Vol. 287. — P. 808–813.
22. **Heidbreder M., Frohlich F., Jöhren O.** et al. Hypoxia rapidly activates HIF-3alpha mRNA expression // *FASEB J.* — 2003. — Vol. 17, №11. — P. 1541–1543.
23. **Higashi Y., Sukhanov S., Anwar A.** et al. IGF-1, oxidative stress and atheroprotection // *Trends Endocrinol. Metab.* — 2010. — Vol. 21, №4. — P. 245–254.
24. **Jiang B.H., Rue E., Wang G.L.** et al. Dimerization, DNA binding, and transactivation properties of hypoxia-inducible factor 1 // *J. Biol. Chem.* — 1996. — Vol. 271. — P. 17771–17778.
25. **Johansson G.S., Arneqvist H.J.** Insulin and IGF-I action on insulin receptors, IGF-I receptors, and hybrid insulin/IGF-I receptors in vascular smooth muscle cells // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* — 2006. — Vol. 291, №5. — P. E1124–E1130.
26. **Jung S.N., Yang W.K., Kim J.** et al. Reactive oxygen species stabilize hypoxia-inducible factor-1 alpha protein and stimulate transcriptional activity via AMP-activated protein kinase in DU145 human prostate cancer cells // *Carcinogenesis.* — 2008. — Vol. 29, №4. — P. 713–721.
27. **Kimura H., Esumi H.** Reciprocal regulation between nitric oxide and vascular endothelial growth factor in angiogenesis // *Acta Biochim. Pol.* — 2003. — Vol. 50, №1. — P. 49–59.
28. **Koehl R., Zhou J., Brune B.** Reactive oxygen species attenuate nitric-oxide-mediated hypoxia-inducible factor-1alpha stabilization // *Radic. Biol. Med.* — 2006. — Vol. 40, №8. — P. 1430–1442.
29. **Li N., Lu X., Zhao X.** et al. Endothelial nitric oxide synthase promotes bone marrow stromal cell migration to the ischemic myocardium via upregulation of stromal cell-derived factor-1alpha // *Stem Cells.* — 2009. — Vol. 27, №4. — P. 961–970.
30. **Liu Y.V., Baek J.H., Zhang H.** et al. RACK1 competes with HSP90 for binding to HIF-1alpha and is required for O(2)-independent and HSP90 inhibitor-induced degradation of HIF-1alpha // *Mol. Cell.* — 2007. — Vol. 25, №2. — P. 207–217.
31. **Liu Y.V., Hubbi M.E., Pan F.** et al. Calcineurin promotes hypoxia-inducible factor 1alpha expression by dephosphorylating RACK1 and blocking RACK1 dimerization // *J. Biol. Chem.* — 2007. — Vol. 282, №51. — P. 37064–37073.
32. **Mahmoudabady M., Mathieu M., Touihri K.** et al. Cardiac insulin-like growth factor-1 and cyclins gene expression in canine models of ischemic or overpacing cardiomyopathy // *BMC Cardiovasc. Disord.* — 2009. — Vol. 9. — P. 49–55.
33. **Makino Y., Kanopka A., Wilson W.J.** et al. IPAS is an hypoxia-inducible splicing variant of the HIF-3 $\alpha$  locus // *J. Biol. Chem.* — 2002. — Vol. 277. — P. 32405–32408.
34. **Maynard M.A., Evans A.J., Hosomi T.** et al. Human HIF-3 $\alpha$  4 is a dominant-negative regulator of HIF-1 and is down-regulated in renal cell carcinoma // *The FASEB Journal.* — 2005. — Vol. 19. — P. 1396–1406.
35. **Mazure N.M., Brahimi-Horn M.C., Pouyssegur J.** Protein kinases and the hypoxia-inducible factor-1, two switches in angiogenesis // *Curr. Pharm. Des.* — 2003. — Vol. 9, №7. — P. 531–541.
36. **McMahon S., Charbonneau M., Grandmont S.** et al. Transforming growth factor beta1 induces hypoxia-inducible factor-1 stabilization through selective inhibition of PHD2 expression // *J. Biol. Chem.* — 2006. — Vol. 281, №34. — P. 24171–24181.
37. **Messmer-Blust A., An X., Li J.** Hypoxia-regulated angiogenic inhibitors // *Trends Cardiovasc. Med.* — 2009. — Vol. 19, №8. — P. 252–256.
38. **Naranjo-Suarez S., Carlson B.A., Tsuji P.A.** et al. HIF-Independent Regulation of Thioredoxin Reductase 1 Contributes to the High Levels of Reactive Oxygen Species Induced by Hypoxia // *PLoS One.* — 2012. — Vol. 7, №2. — e30470–e3477.
39. **Osol G., Celia G., Gokina N.** et al. Placental growth factor is a potent vasodilator of rat and human resistance arteries // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2008. — Vol. 294, №3. — H1381–H1387.
40. **Passeri J., Bloch K.D.** Nitric Oxide and Cardiac Remodeling // *Heart Failure Clinics.* — 2005. — Vol. 1, №2. — P. 275–286.
41. **Portnychenko A.G., Dosenko V.E., Portnichenko V.I., Moybenko O.O.** Expression of HIF-1 $\alpha$  and HIF-3 $\alpha$  differentially changed in rat heart ventricles after hypoxic preconditioning // *Proc. of XXVIII ESc Meeting of the ISHR, Athens, Greece, May 28–31, 2008.* — *Medimond Intern. Proc.*, 2008. — P. 61–64.
42. **Portnychenko A.G., Drevyts'ka T.I., Sydorenko A.M., Portnichenko V.I.** Expression of IGF-1 in heart and lungs of rats under hypoxic preconditioning or periodic hypoxia influence // *VI Ann. Ukrainian-Polish Conf. «Current aspects of lung diseases: Pathophysiology, diagnostics, treatment».* — Ternopil, Ukraine, 24–25 September 2009. — P. 102–103.
43. **Pugh C.W., Ratcliffe P.J.** Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system // *Nat. Med.* — 2003. — Vol. 9. — P. 677–684.
44. **Sasabe E., Yang Z., Ohno S., Yamamoto T.** Reactive oxygen species produced by the knockdown of manganese-superoxide dismutase up-regulate hypoxia-inducible factor-1alpha expression in oral squamous cell carcinoma cells // *Free Radic. Biol. Med.* — 2010. — Vol. 48, №10. — P. 1321–1329.
45. **Sato Y., Sonoda H.** The vasohibin family: a negative regulatory system of angiogenesis genetically programmed in endothelial cells // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2007. — Vol. 27, №1. — P. 37–41.
46. **Semenza G.L.** Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) pathway // *Sci. STKE.* — 2007. — Iss. 407. — cm8.
47. **Shao R., Zhang F.P., Tian F.** et al. Increase of SUMO-1 expression in response to hypoxia: direct interaction with HIF-1alpha in adult mouse brain and heart in vivo // *FEBS Lett.* — 2004. — Vol. 569, №1–3. — P. 293–300.
48. **Spinella F., Rosano L., Del Duca M.** et al. Endothelin-1 inhibits prolyl hydroxylase domain 2 to activate hypoxia-inducible factor-1alpha in melanoma cells // *PLoS One.* — 2010. — Vol. 5, №6. — e11241–e11246.
49. **Stahmann N., Woods A., Spengler K.** et al. Activation of AMP-activated protein kinase by vascular endothelial growth factor mediates endothelial angiogenesis independently of nitric-oxide synthase // *J. Biol. Chem.* — 2010. — Vol. 285, №14. — P. 10638–10652.
50. **Su K.H., Shyue S.K., Kou Y.R.** et al.  $\beta$  Common receptor integrates the erythropoietin signaling in activation of

- endothelial nitric oxide synthase // *J. Cell Physiol.* — 2011. — Vol. 226, №12. — P. 3330—3339.
51. **Tamareille S., Ghaboura N., Treguer F.** et al. Myocardial reperfusion injury management: erythropoietin compared with postconditioning // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2009. — Vol. 297, №6. — H2035—H2043.
52. **Urano T., Ito Y., Akao M.** et al. Angiopoietin-related growth factor enhances blood flow via activation of the ERK1/2-eNOS-NO pathway in a mouse hind-limb ischemia model // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2008. — Vol. 28, №5. — P. 827—834.
53. **van de Sluis B., Groot A.J., Vermeulen J.** et al. COMMD1 Promotes pVHL and O<sub>2</sub>-Independent Proteolysis of HIF-1alpha via HSP90/70 // *PLoS One.* — 2009. — Vol. 4, №10. — e7332—e7338.
54. **van Hagen M., Overmeer R.M., Abolvardi S.S.** et al. RNF4 and VHL regulate the proteasomal degradation of SUMO-conjugated Hypoxia-Inducible Factor-2alpha // *Nucleic Acids Res.* — 2010. — Vol. 38, №6. — P. 1922—1931.
55. **Wilkins S.E., Karttunen S., Hampton-Smith R.J.** et al. Factor inhibiting HIF (FIH) recognises distinct molecular features within hypoxia inducible factor (HIF)- $\alpha$  versus ankyrin repeat substrates // *J. Biol. Chem.* — 2012. — Vol. 287, №12. — P. 8769—8781.
56. **Wu G., Mannam A.P., Wu J.** et al. Hypoxia induces myocyte-dependent COX-2 regulation in endothelial cells: role of VEGF // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2003. — Vol. 285, №6. — H2420—H2429.
57. **Xi L., Tekin D., Gursoy E.** et al. Evidence that NOS2 acts as a trigger and mediator of late preconditioning induced by acute systemic hypoxia // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2002. — Vol. 283, №1. — H5—H12.
58. **Xu X.H., Xu J., Xue L.** et al. VEGF attenuates development from cardiac hypertrophy to heart failure after aortic stenosis through mitochondrial mediated apoptosis and cardiomyocyte proliferation // *J. Cardiothorac. Surg.* — 2011. — Vol. 16, №6. — P. 54—60.
59. **Yee Koh M., Spivak-Kroizman T.R., Powis G.** HIF-1 regulation: not so easy come, easy go // *Trends Biochem. Sci.* — 2008. — Vol. 33, №11. — P. 526—534.
60. **Zhao X., Lu X., Feng Q.** Deficiency in endothelial nitric oxide synthase impairs myocardial angiogenesis // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2002. — Vol. 283, №6. — H2371—H2378.
61. **Zhou J., Schmid T., Frank R., Brune B.** PI3K/Akt is required for heat shock proteins to protect hypoxia-inducible factor 1alpha from pVHL-independent degradation // *J. Biol. Chem.* — 2004. — Vol. 279, №14. — P. 13506—13513.

Поступила 16.09.12