

Ингибирование HIF-пролил 4-гидроксилаз как перспективный подход к терапии кардиометаболических заболеваний

К.А. АЙТБАЕВ¹, И.Т. МУРКАМИЛОВ^{2,3}, В.В. ФОМИН⁴

¹Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и медицины при Национальном центре кардиологии и терапии Минздрава Кыргызской Республики, Бишкек, Кыргызстан;

²Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева, Бишкек, Кыргызстан;

³Кыргызско-Российский Славянский университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Бишкек, Кыргызстан;

⁴ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Аннотация

Пролил-4-гидроксилазы индуцируемого гипоксией фактора (HIF-P4Hs) представляют собой ферменты, которые, в условиях нормоксии, вызывают деградацию HIF – транскрипционного белка, регулирующего многие метаболические процессы, в том числе эритропоэз, уровень глюкозы и липидный обмен. В условиях гипоксии, напротив, их активность подавляется и происходит стабилизация HIF. Данный механизм, т. е. стабилизация HIF путем ингибирования HIF-P4Hs, положен в основу разработки препаратов для лечения почечной анемии, которые в настоящее время находятся во 2-й и 3-й фазах клинических испытаний и показывают обнадеживающие результаты. Недавно получены данные о том, что ингибирование HIF-P4Hs может быть эффективным и при лечении кардиометаболических заболеваний – ишемической болезни сердца, гипертензии, ожирения, метаболического синдрома, диабетической кардиомиопатии и атеросклероза. В обзоре на основе самых последних данных подробно обсуждаются молекулярные механизмы терапевтического действия ингибирования HIF-P4Hs при указанных патологических состояниях и приводятся доказательства того, что эти механизмы связаны с HIF-стабилизацией и экспрессией генов, которые улучшают перфузию и эндотелиальную функцию, перепрограммируют метаболизм с окислительного фосфорилирования на анаэробный гликолиз, уменьшают воспаление и благотворно влияют на врожденную иммунную систему.

Ключевые слова: гипоксия, индуцируемый гипоксией фактор (HIF), HIF-пролил-4-гидроксилазы (HIF-P4Hs), кардиометаболические заболевания, ишемическая болезнь сердца, ожирение, метаболический синдром, атеросклероз.

Inhibition of HIF-prolyl 4-hydroxylases as a promising approach to the therapy of cardiometabolic diseases

К.А. АЙТБАЕВ¹, I.T. MURKAMILOV^{2,3}, V. V. FOMIN⁴

¹Scientific and Research Institute of Molecular Biology and Medicine, Bishkek, Kyrgyzstan;

²I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, Bishkek, Kyrgyzstan;

³Kyrgyz Russian Slavic University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin, Bishkek, Kyrgyzstan;

⁴I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University), Moscow, Russia

Prolyl-4-hydroxylases of hypoxia-inducible factor (HIF-P4Hs) are enzymes that, under the conditions of normoxia, cause degradation of the HIF-transcriptional protein, which regulates a number of metabolic processes, including erythropoiesis, glucose level and lipid metabolism. In hypoxic conditions, on the contrary, their activity is suppressed and HIF stabilization takes place. This mechanism, i.e. stabilization of HIF by inhibition of HIF-P4Hs was the basis for the development of drugs designed for treatment of renal anemia, which are currently in stages 2 and 3 of clinical trials and are showing encouraging results. Recently, it has also been reported that inhibition of HIF-P4Hs can be effective in treatment of cardiometabolic diseases – coronary heart disease, hypertension, obesity, metabolic syndrome, diabetic cardiomyopathy and atherosclerosis. The review, based on the most recent data, discusses in detail molecular mechanisms of therapeutic effect of HIF-P4Hs inhibition in these pathological conditions and provides evidence that these mechanisms are associated with HIF stabilization and gene expression, improving perfusion and endothelial function, reprogramming metabolism from oxidative phosphorylation to anaerobic glycolysis, reducing inflammation and having beneficial effect on the innate immune system.

Keywords: hypoxia, hypoxia-inducible factor (HIF), HIF-prolyl-4-hydroxylases (HIF-P4Hs), cardiometabolic diseases, ischemic heart disease, obesity, metabolic syndrome, atherosclerosis.

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИЛ-10 – интерлейкин-10

ИМ – инфаркт миокарда

ИР – ишемический/реперфузионный

ИРП – ишемическое/реперфузионное повреждение

ЛНКА – лигирование левой нисходящей коронарной артерии

ЛПВП – липопротеины высокой плотности

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ФНО- α – фактор некроза опухоли- α

ФУ – фракция укорочения

ХС – холестерин

2-OGDD – 2-оксоглутаратзависимые диоксигеназы

DFO – деферроксамин (desferrioxamine)

DMOG – диметилноксалилглицин (dimethylallylglycine)

eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота

EPO – эритропоэтин

Glut1 – транспортер глюкозы-1 (glucose transporter-1)

HFD – высокожировая диета (high fat diet)

HIF – индуцируемый гипоксией фактор (hypoxia-inducible factor)

HIF-P4Hs – HIF-пролил 4-гидроксилазы

HK2 – гексокиназа 2 (hexokinase 2)

ICAM1 – молекула межклеточной адгезии 1 (intercellular adhesion molecule 1)

IPC – ишемическое прекондиционирование (ischemic preconditioning)

L-NAME – N-нитро-L-аргинин-метилловый эфир

MPTP – митохондриальная пора (mitochondrial permeability transition pore)

NF- κ B – ядерный фактор каппа-B

PDK4 – киназа-4 пируватдегидрогеназы (pyruvate dehydrogenase-kinase 4)

PFKL – фосфофруктокиназа печеночного типа
 PFKM – фосфофруктокиназа мышечного типа (phosphofructokinase muscle type)
 PGK1 – фосфоглицераткиназа-1 (phosphoglycerate kinase-1)
 PPAR γ – гамма-рецептор, активируемый пролифератором пероксисом (peroxisome proliferator-activated receptor gamma)
 PPAR α – альфа-рецептор, активируемый пролифератором пероксисом (peroxisome proliferator-activated receptor alpha)
 RIPC – дистантное ишемическое прекондиционирование (remote ischemic preconditioning)

RISK – киназный сигнальный путь реперфузионного повреждения (reperfusion injury salvage kinases)
 ROS – реактивные формы кислорода (reactive oxygen species)
 SDF-1 – фактор-1 стромальных клеток (stromal cell-derived factor)
 TEK – рецептор тирозинкиназы (tunica interna endothelial cell kinase)
 VCAM1 – васкулярная молекула клеточной адгезии 1 (vascular cell adhesion molecule 1)
 WAT – белая жировая ткань (white adipose tissue)

Как известно, факторы окружающей среды, в том числе гипоксия, могут оказывать существенное влияние на развитие сердечно-сосудистых и других основных заболеваний человека. Проведенные в конце XX в. эпидемиологические исследования показали, что сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), в частности ишемическая болезнь сердца (ИБС), встречаются среди коренных жителей высокогорья Тянь-Шаня и Памира (2800–4200 м над уровнем моря) сравнительно реже (1,5%), чем среди жителей предгорных (700–900 м) регионов (5,2%) [1]. В последующих исследованиях установлено, что проживание на больших высотах снижает уровень холестерина (ХС) сыворотки крови и оказывает позитивное влияние на соотношение различных классов липопротеинов – понижает уровень атерогенных (липопротеины низкой плотности – ЛПНП) и повышает содержание антиатерогенных (липопротеины высокой плотности – ЛПВП) липопротеинов сыворотки крови [2, 3]. Более того, среди жителей предгорий (г. Фрунзе, ныне – Бишкек), периодически мигрирующих в высокогорные регионы, частота ИБС почти в два раза ниже (6,85%), чем у немигрантов (11,71%), а сдвиги в липидном составе крови носили антиатерогенный характер: концентрация общего ХС и ХС ЛПНП достоверно снижена, а ХС ЛПВП – повышена [4]. Эти позитивные результаты дали основание полагать, что факторы высокогорья, главным образом гипоксия, могут благотворно влиять на липопротеиновый профиль сыворотки крови, вследствие чего проведены прямые клинические испытания возможности эффективной коррекции гиперхолестеринемии высокогорной тренировкой в условиях стационара на перевале Туя-Ашу (3200 м над уровнем моря) [5]. После 4-недельного пребывания больных стенокардией напряжения (I–II функциональные классы) в условиях высокогорного стационара отмечалось достоверное снижение средних уровней общего ХС, ХС ЛПНП, триглицеридов и липопротеина (а), которое сохранялось и через 1 мес после высокогорной адаптации. По результатам этого и ранее выполненных исследований сделано заключение, что высокогорная климатотерапия может быть использована в качестве немедикаментозного метода коррекции гиперхолестеринемии и профилактики ИБС.

Однако, несмотря на очевидность позитивных эффектов факторов высокогорья на сердечно-сосудистое здоровье, молекулярные механизмы их благотворного влияния на липиды крови и кардиопротекцию оставались глубокой тайной, немного приоткрыть завесу над которой

удалось лишь после 1992 г., когда впервые идентифицировали индуцируемый гипоксией фактор (HIF, hypoxia-inducible factor) [6]. Установлено, что HIF является фактором транскрипции, регулирующим экспрессию генов, которые участвуют в эритропоэзе, в ответ на изменения парциального давления кислорода. HIF – гетеродимерный белок, состоящий из двух компонентов: чувствительных к гипоксии HIF- α и HIF- β (неактивный компонент). Первый состоит из трех субъединиц, которые называются HIF-1 α , HIF-2 α и HIF-3 α . Из этих трех компонентов HIF-2 α является наиболее важной субъединицей, которая отвечает за контроль синтеза эритропоэтина у взрослых. Как показали исследования, экспрессия HIF-2 α и уровень этого белка зависят от концентрации и парциального давления кислорода в крови – в состоянии гипоксии наблюдается повышенная активность HIF-2 α и, напротив, в состоянии нормоксии HIF-2 α быстро разрушается под действием пролил 4-гидроксилазы. Таким образом, становится понятным, почему при адаптации к гипоксии происходит усиление эритропоэза и данный механизм (т. е. стабилизация HIF путем ингибирования пролил 4-гидроксилазы) положен в основу разработки препаратов для лечения почечной анемии. Эти препараты в настоящее время находятся во 2-й и 3-й фазах клинических испытаний и показывают обнадеживающие результаты.

Сравнительно недавно показано, что ингибирование HIF-пролил 4-гидроксилазы (HIF-P4Hs) может защитить также от развития кардиометаболических заболеваний [7–10]. В связи с этим цель настоящего обзора – представить данные о методических подходах к ингибированию HIF-P4Hs с анализом возможных последствий их применения, а также обобщить имеющиеся в литературе сведения об использовании ингибиторов HIF-P4Hs для защиты от кардиометаболических заболеваний.

HIF-пролил 4-гидроксилазы

HIF-P4Hs как клеточные сенсоры кислорода. HIF-P4Hs являются ферментами, которые действуют как клеточные сенсоры кислорода [11, 12]. При нормальной концентрации кислорода, а также наличии других реакционных кофакторов (железо, 2-оксоглутарат) HIF-P4Hs гидроксилируют два остатка пролина в субъединице HIF- α , после чего измененная таким образом субъединица HIF- α , через ряд стадий, подвергается протеасомной деградации. При гипоксии белковые молекулы HIF- α не гидроксилируются, остаются стабильными и накапливаются. Субъединицы HIF- α и HIF- β объединяются, и образовавшийся

Сведения об авторах:

Айтбаев Кубаныч Авеневич – д.м.н., проф., зав. лаб. патологической физиологии НИИ молекулярной биологии и медицины
Фомин Виктор Викторович – д.м.н., член-корр. РАН, проф., зав. каф. факультетской терапии № 1, проректор по научно-исследовательской и клинической работе Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)

Контактная информация:

Муркамилов Илхом Торобекович – к.м.н., нефролог, ассистент каф. факультетской терапии Кыргызской государственной медицинской академии им. И.К. Ахунбаева; тел.: +996(557)22-19-83; e-mail: murkamilov.i@mail.ru

результате этого транскрипционный белок HIF в ядре клетки связывается с особыми последовательностями ДНК в генах, экспрессия которых индуцируется гипоксией. К ним относятся гены, которые регулируют эритропоэз и метаболизм железа, ангиогенез, уровень глюкозы и липидный обмен, воспаление, развитие опухоли и образование метастазов, гомеостаз внеклеточного матрикса. У человека имеются две изоформы HIF- α : HIF-1 α и HIF-2 α . Сообщается, что HIF- α в общей сложности имеет более 300 целевых генов, которые инициируют сигнальный путь гипоксического ответа, направленный на увеличение доставки кислорода и ограничение его использования. Некоторые целевые гены (такие как гликолитические гены) более специфичны для HIF-1 α , тогда как HIF-2 α является основным драйвером транскрипции, например для эритропоэтина (ЕРО) [11, 13].

Генетическое ингибирование HIF-P4Hs и его последствия. Существует три изофермента HIF-P4H у человека и мышей [14–16]. HIF-P4H-2 является наиболее распространенной и в то же время основной формой, регулирующей HIF- α -стабильность [17, 18]. HIF-P4H-1 и HIF-P4H-3 имеют более ограниченную экспрессию и к тому же требуют дополнительных субстратов для регулирования HIF- α [12, 19, 20]. Соответственно, если нокаут гена *HIF-P4H-2* у мышей приводит к эмбрионально летальным исходам из-за плацентарных и сердечных дефектов [21], то HIF-P4H-1^{-/-} мыши не страдают какими-либо значимыми аномалиями [21], а у HIF-P4H-3^{-/-} мышей дефекты связаны лишь с развитием симпатoadrenalовой системы и снижением системного кровяного давления [22]. У человека мутации *HIF-P4H-2* охарактеризованы при семейном эритроцитозе [23] и у тибетцев [24]. У тибетцев, которые на протяжении многих поколений адаптировались к жизни на большой высоте, эти мутации придали HIF-P4H-2 сверхчувствительность к кислороду, позволяя осуществлять эффективную HIF- α деградацию даже в условиях гипоксии и, таким образом, предупреждать развитие у них массивного эритроцитоза [24].

Другие 2-оксоглутаратзависимые диоксигеназы

HIF-P4Hs относятся к семейству ферментов 2-оксоглутаратзависимых диоксигеназ (2-OGDD) [25]. Эти ферменты сходны по каталитическим свойствам, но различаются по субстратной специфичности. Ближайшим родственником HIF-P4Hs среди 2-OGDD является пролил 4-гидроксилаза (P4H) коллагена, которая использует идентичный механизм реакции гидроксилирования остатков пролина в проколлагене α -цепей в эндоплазматическом ретикулуме [26]. 4-Гидроксипролин в коллагене необходим для термической устойчивости его трехцепочечной структуры [26]. Другие 2-OGDD включают в себя трансмембранную P4H (P4H-TM), HIF аспарагинилгидроксилазу FIH (factor, inhibiting HIF), коллагеновую лизилгидроксилазу и многие эпигенетические регуляторы, такие как ДНК-деметилазы семейства TET (Ten-Eleven-Translocation) и многочисленные JmjC-доменсодержащие гистоновые деметилазы [25].

Ингибиторы HIF-P4Hs

Для ингибирования HIF-P4Hs могут быть использованы фумарат и сукцинат, которые, будучи структурными аналогами 2-оксоглутарата, конкурентно подавляют активность HIF-P4Hs [27]. Поскольку HIF-пролилгидроксилазы

в качестве кофакторов используют железо, 2-оксоглутарат и кислород, то выяснилось, что могут препятствовать HIF-1 α протеасомной деградации и хелаторы железа, в частности, деферроксамин (ДФО, desferrioxamine). Каталитическая активность HIF-P4Hs может подавляться и другими, помимо железа, двухвалентными металлами (например, кобальтом), а также оксидом азота и реактивными формами кислорода (ROS, reactive oxygen species) [15, 28–31]. N-оксалилглицин и его диметилированная форма диметиллоксалилглицин (DMOG, dimethylaloxalylglycine), которые обладают способностью проходить через клеточную мембрану, представляют собой широкий спектр 2-OGDD, часто используемых в исследованиях *in vitro* и *in vivo*. Хотя многие утверждают, что DMOG является ингибитором HIF-P4H, он на самом деле ингибирует P4H коллагена и FIH [32]. Еще одним подходом к ингибированию HIF-P4Hs является использование коротких интерферирующих РНК (siRNA, small interfering RNA), внутрибрюшинное введение которых вызывает так называемое «молчание» гена *PHD*, что позволяет увеличить транскрипционную активность HIF. Однако кинетические, ингибиторные и структурные анализы HIF-P4Hs, выполненные в последние годы, позволили разработать более специфические, небольшие молекулы ингибиторов HIF-P4Hs. Некоторые из них в настоящее время находятся во 2-й и 3-й фазах клинических испытаний для лечения анемии, вызванной хроническим заболеванием почек, за их способность индуцировать гены метаболизма ЕРО и железа [12]. Эффективность этих препаратов начинает изучаться в эксперименте и при других заболеваниях. В частности, полученные недавно данные свидетельствуют о том, что HIF-P4Hs являются также перспективными кандидатами для лечения сердечных, метаболических и сосудистых заболеваний.

Ингибирование HIF-P4Hs при заболеваниях сердца

Кардиопротекция от острой ишемии путем ингибирования HIF-P4Hs. Болезни сердца ишемической природы включают в себя гетерогенную группу патологических состояний, характеризующихся недостаточной перфузией мышц сердца. Ограничение притока крови вызывает гипоксию миокарда, приводя к гибели клеток и ремоделированию сердца. Ишемия индуцирует HIF, который, в свою очередь, активизирует широкий диапазон ответов, направленных на защиту клеток от гипоксического повреждения или содействие реоксигенации пораженной ткани. Все три изофермента HIF-P4Hs присутствуют в сердце, однако в базисных условиях наиболее распространенными являются HIF-P4Hs-2 и -3 [33]. Экспрессия мРНК обеих этих изоформ фермента увеличивается в ответ на ишемию миокарда [33]. За последние 10 лет применения различных генетических технологий представлены убедительные доказательства роли ингибирования HIF-P4H-2 в защите миокарда от ишемического повреждения. Так, Т. Eckle и соавт. [7] показали, что ингибирование HIF-P4H-2 путем интравенозной инфузии siРНК приводит к стабилизации HIF-1 α , значительно уменьшению размера экспериментального инфаркта миокарда (ИМ), а также снижению уровня плазменного тропонина I, маркера повреждения миоцитов. Точно так же shRNA (*shorthairpin-RNA*)-опосредованное подавление HIF-P4H-2 ассоциировалось с улучшенной фракцией укорочения (ФУ) и увеличением плотности микрососудов после экспериментального ИМ, выполненного лигированием левой нисходящей

коронарной артерии (ЛНКА) [34]. У мышей, гипоморфных по HIF-P4H-2, частичное генетическое подавление экспрессии данного фермента ассоциировалось с улучшенной сердечной функцией и меньшим повреждением миокарда после ишемического/реперфузионного (ИР) повреждения (ИРП) на *ex vivo* перфузионной модели Лангендорфа [35], а также *in vivo* ИР- и ИМ-моделях [36]. При экспериментальном ИМ у мышей с делецией HIF-P4H-2 в кардиомиоцитах площадь некроза значительно меньше по сравнению с мышами дикого типа. Это коррелировало с меньшим размером инфаркта, меньшей гибелью кардиомиоцитов вследствие апоптоза и улучшенной функции левого желудочка на ИМ-модели [37]. Имеются также результаты, указывающие на защитную роль ингибирования других изоформ пролилгидроксилазы – HIF-P4Hs-1 и -3. В изолированных сердцах у мышей с дефицитом HIF-P4H-1 уменьшался размер инфаркта и снижалось количество апоптотических кардиомиоцитов после ИР-эксперимента [38]. Аналогично, HIF-P4H-3^{-/-} мыши, подвергшиеся лигированию ЛНКА, показали улучшенную сердечную функцию по сравнению с мышами дикого типа [39]. Кроме того, недавно продемонстрировано, что сверхэкспрессия HIF-P4H-3 в кардиомиоцитах значительно увеличивает размер инфаркта после лигирования ЛНКА, что связано со снижением накопления HIF-1 α /2 α в левом желудочке. На основании этого авторы считают, что сверхэкспрессия HIF-P4H-3 в сердце может ограничить его реакцию на ишемический стимул [40].

Механизмы кардиопротекции от ишемии. Метаболическое перепрограммирование. На модели мышей с удаленной HIF-P4H-1 показано, что скелетная мышца этих мышей демонстрирует индуцированную толерантность и защиту от гипоксии против острой ишемии [41]. Данный эффект интерпретирован как результат перепрограммирования метаболизма мышечных клеток с окислительного фосфорилирования на анаэробный гликолиз с повышенной экспрессией киназы-4 пируватдегидрогеназы (pyruvate dehydrogenase kinase 4, PDK4) и альфа-рецептора, активируемого пролифератором пероксисом (peroxisome proliferator-activated receptor alpha, PPAR α), что и могло обусловить защиту мышцы от острого ишемического некроза после перевязки бедренной артерии. Аналогичным образом, защита от ишемии скелетной мышцы мыши, вызванная частичным генетическим ингибированием HIF-P4H-2, ассоциировалась с повышением уровней базальной PDK1 и фосфофруктокиназы мышечного типа (phosphofruktokinase muscle type, PFKM), а также уровней экспрессии мРНК гамма-рецептора, активируемого пролифератором пероксисом (PPAR γ , peroxisome proliferator-activated receptor gamma), которые указывают на то, что изменение метаболического профиля в сторону, более близкую к гликолитическому типу, может происходить при ингибировании не только HIF-P4H-1, но и HIF-P4H-2 [42]. Точно так же в миокарде гипоморфных по HIF-P4H-2 мышей обнаружено увеличение уровней мРНК генов метаболизма глюкозы – транспортера глюкозы-1 (glucose transporter-1, Glut1), фосфофруктокиназы печеночного типа (PFKL), фосфоглицераткиназы-1 (phosphoglycerate kinase-1, PGK1) и PDK1 [35]. Кроме того, уровень доишемического лактата оказался выше, а соотношение креатинфосфат/креатин в ишемический и предышемический периоды оставалось на более высоком уровне, что свидетельствует об усилении гликолиза и улучшении состояния клеточной энергии у HIF-P4H-2 гипоморфных мышей [35]. Учитывая ключевую роль митохондриальных факторов в регуляции процессов

клеточной адаптации к экстремальным воздействиям, изучалась также роль модуляции митохондриальной поры (mitochondrial permeability transition pore, MPTP) в качестве возможного механизма кардиозащитного действия ингибирования HIF-P4Hs. Дело в том, что открытие MPTP приводит к потере митохондриального мембранного потенциала, утечке митохондриальных проапоптотических факторов, аденозинтрифосфатному истощению и, в конечном счете, гибели клеток. Так, S.G. Ong и соавт. [43] показали, что лечение мышей и крыс с помощью препарата GSK360A, ингибитора HIF-P4Hs, приводит (через HIF-1 α -стабилизацию) к повышению экспрессии PDK1 и гексокиназы 2 (hexokinase 2, HK2), что свидетельствует о перепрограммировании метаболизма клеток, которое способствует снижению интенсивности митохондриального окислительного стресса во время ИРП и меньшему открытию MPTP. Эти данные дают основание полагать, что, аналогично скелетной мышце, повышение гликолитического метаболизма при стабилизации HIF посредством ингибирования HIF-P4Hs может представлять собой защитный механизм от гипоксии в сердце. Однако более устойчивая хроническая активация HIF может привести к выраженному подавлению митохондриальной функции и, таким образом, ухудшить функции сердца [44, 45], а также, посредством стабильной активации PPAR γ , способствовать гипертрофии сердца и прогрессированию сердечной недостаточности [46]. В совокупности результаты этих исследований показывают, что модуляция HIF-P4H/HIF-чувствительного к кислороду сигнального пути действует дозозависимым образом: защищает при низком уровне ингибирования/стабилизации, но приводит к дисфункции миокарда, когда ингибирование сильное или продолжительное.

Сосудистые факторы. Исследования показали, что активация реакции на гипоксию через ингибирование HIF-P4H-2 способствует увеличению размера капилляров в миокарде [36, 37, 47]. В связи с этим предполагалось, что это будет способствовать кардиопротекции при ишемии. И действительно, *in vivo* ишемическая кардиозащита, наблюдаемая у мышей, гипоморфных по HIF-P4H-2, обусловлена активацией гипоксического ответа, особенно в эндотелиальных клетках сердца [36]. Эти мыши имели повышенную экспрессию эндотелиальных HIF-таргетных генов для ТЕК (tunica interna endothelial cell kinase) – рецептора тирозинкиназы (Tie2), апелина, рецептора апелина (Aplnr) и эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS), а также увеличение концентрации NO в сыворотке [36]. У гаплодефицитных HIF-P4H-2^{+/-} мышей преформированные коллатеральные артерии сохраняли перфузию и, таким образом, предотвращали некроз тканей при ишемии задней конечности на экспериментальной модели с перевязкой бедренной артерии [48]. Этот улучшенный ангиогенез, как полагают, является следствием экспансии тканерезидентных макрофагов типа M2 и повышения высвобождения ими ангиогенных факторов, что способствует увеличению их рекрутмента и росту клеток гладкой мускулатуры [48].

Секретируемые факторы. Как известно, периоды сублетальной ишемии могут защитить сердце от последующего, более тяжелого, ИРП. Этот феномен, который впервые описан на экспериментальной ИМ-модели [49], назван ишемическим прекодиционированием (ischemic preconditioning, IPC). Позже показано, что воздействие кратковременных периодов ишемии на анатомически удаленные от сердца органы, которое названо дистантным ишемическим прекодиционированием (remote is-

chemic preconditioning, RIPС), также может обеспечить защиту миокарда от ишемических повреждений [50]. Идентификация факторов, участвующих в RIPС, и их функции по-прежнему остаются в значительной степени неизвестными. Повышенные концентрации в плазме интерлейкина-10 (ИЛ-10) и фактора-1 стромальных клеток (SDF-1, stromal cell-derived factor), как показано, ассоциируют с дистанционной кардиозащитой [51, 52]. В недавней статье описана кинуреновая кислота, продукт метаболизма триптофана в виде секретируемого фактора, которая опосредовала дистанционную защиту миокарда от ИПП через аккумуляцию циркулирующего 2-оксоглутарата, вызванного ингибированием HIF-P4H-2 [53].

Другие факторы. Наряду с рассмотренными выше гипотетическими механизмами защитных эффектов ингибирования HIF-P4H на миокард, предложены и подробно обсуждены также другие механизмы, такие как изменения в киназном сигнальном пути реперфузионного повреждения (reperfusion injury savage kinases, RISK) или сигнальном пути оксида азота [54].

Ингибирование HIF-P4Hs при гипертензии, ожирении и диабетической кардиомиопатии

Стабильная гипертензия, ожирение и диабет могут привести к структурным и функциональным нарушениям сердца, включая ремоделирование и дисфункцию левого желудочка. Ингибирование HIF-P4Hs при этих патологических состояниях также оказывало позитивное влияние на функцию сердца. Так, исследование, в котором HIF-P4H-2 нокаут мыши вскармливались высокожировой диетой (HFD, high fat diet), показало снижение апоптотической гибели клеток, значительное улучшение сердечной функции, а также улучшение толерантности к глюкозе с помощью механизма, включающего подавление воспаления [55]. Также установлено, что миелоид-специфическая делеция HIF-P4H-2 ослабляет гипертензивное сердечно-сосудистое ремоделирование после гипертензии, индуцированной N-нитро-L-аргинин-метиловым эфиром (L-NAME) и ангиотензином II [8]. Аналогичным образом, на крысиной модели диабетической кардиомиопатии, индуцированной HFD и стрептозотоцином, опосредуемый shRNA нокаун HIF-P4H-3 улучшал сердечную дисфункцию [56].

Однако, в противоположность многочисленным доказательствам полезной роли ингибирования HIF-P4H в кардиозащите от ишемии, полученным на различных – острых и хронических – моделях, имеются также сообщения диаметрально противоположного характера. Так, показано, что условная инактивация HIF-P4H-2 приводит к развитию дилатационной кардиомиопатии у мышей, особенно когда она сочетается с инактивацией HIF-P4H-3 [45, 57]. В этих исследованиях инактивация HIF-P4H-2 вызывала массивную полицитемию, что приводило к развитию синдрома объемной перегрузки и гипервязкости. Более ограниченная кардиомиоцитарная делеция обеих изоформ пролилгидроксилаз, Hif-P4H-2 и -3, способствовала значительной дисфункции левого желудочка [58], тогда как инактивации только одной HIF-P4H-2 в кардиомиоцитах недостаточно для развития кардиомиопатии.

В совокупности, активация сигнального пути ответа на гипоксию через ингибирование изоферментов HIF-P4Hs, по-видимому, является полезной для сердца в условиях острых ишемических поражений, так как создает

благоприятные условия для лучшего его реагирования на последующую, более тяжелую острую ишемию. С другой стороны, эффекты продолжительного ингибирования HIF-P4Hs на функцию и структурную целостность сердца не столь ясны, и дальнейшие исследования в этом направлении не только оправданны, но и представляют большой интерес.

Ингибирование HIF-P4Hs при метаболических заболеваниях

HIF является мощным регулятором метаболизма, поскольку многие его таргетные гены регулируют метаболизм глюкозы и липидов. Поэтому ингибирование HIF-P4Hs, способствуя стабилизации HIF и индукции метаболических генов, может играть значительную роль в метаболизме этих соединений. Было показано, что генетическое ингибирование HIF-P4H-2 уменьшает массу тела и количество белой жировой ткани (white adipose tissue, WAT) у мышей [9]. Мыши, гипоморфные по HIF-P4H-2, в отличие от мышей дикого типа, имели меньшие по размеру адипоциты, менее выраженное воспаление жировой ткани и лучшую толерантность к глюкозе [9]. Кроме того, гипоморфные мыши отличались более низким уровнем ХС в сыворотке, улучшенным соотношением между атерогенными и антиатерогенными липопротеинами, а старение или вскармливание HFD не вызывало у них резистентности к инсулину или развития стеатоза печени [9]. Общее улучшение толерантности к глюкозе, вероятно, вызвано наблюдаемым снижением печеночной мРНК Glut2 и снижением уровня ацетил-СоА, строительного блока для ХС [9]. Кроме того, снижение уровней инсулина и улучшение чувствительности к инсулину способствовали уменьшению биосинтеза ХС не только путем понижения каталитической активности HMG-СоА-редуктазы, ключевого фермента ХС, который является мишенью для статинов, но также и через мРНК SREBP1c, экспрессия которой подавлена ингибированием HIF-P4H-2 [9, 10]. Интересно, что, когда мышью дикого типа с метаболическими дисфункциями пролечили FG-4497, фармакологическим ингибитором HIF-P4Hs, который ингибирует все изоферменты пролил 4-гидроксилазы, у этих мышей наблюдался фенотип, противоположный ожирению и метаболической дисфункции [9]. С этими данными согласуются результаты двух других исследований: в первом мышью, дефицитные по HIF-P4H-2 в жировой ткани, также демонстрировали устойчивость к ожирению, вызванному HFD, и имели лучшую толерантность к глюкозе [59], а во втором воздействие на мышью хронической гипоксии (8% кислорода в течение 3 нед) приводило к снижению общей массы тела, жировой массы и размера адипоцитов, а также уменьшало воспаление жировой ткани [60]. Клинические испытания двух различных гипоксия-миметиков, FG-4592 (Roxadustat) и GSK1278863, для лечения анемии и заболеваний периферических сосудов соответственно, продемонстрировали в качестве побочных эффектов снижение уровня ХС в сыворотке и улучшение ЛПВП/ЛПНП-профиля у лиц, леченных ингибиторами HIF-P4Hs [61, 62]. Согласно последним данным Всемирной организации здравоохранения, 39% взрослых в мире имеют избыточную массу тела, а четверть – метаболический синдром. Хотя ожирение и метаболический синдром могут рассматриваться как болезненные, обусловленные образом жизни, тем не менее многие пациенты с ожирением и метаболическим синдромом не могут сбросить вес и увеличить физиче-

скую активность и, в конечном итоге, обращаются к медикаментозной терапии. В связи с этим, основываясь на данных последних лет, можно заключить, что ингибиторы HIF-P4Ns могут служить в качестве потенциально новых терапевтических средств для лечения ожирения и симптомов метаболического синдрома.

Ингибирование HIF-P4Ns при атеросклерозе

Патофизиология и факторы риска атеросклероза.

Атеросклероз – это заболевание, которое возникает внутри стенок крупных артерий. Признаком коронарного, а также общего атеросклероза является образование поврежденных или бляшек в интиме из-за накопления липидов, макрофагов, пролиферации клеток гладкой мускулатуры и осаждения волокнистых элементов, которые, вместе взятые, приводят к потере эластичности сосуда и утолщению его стенок. Со временем эти атеросклеротические поражения становятся более сложными и могут уменьшать или даже блокировать кровоток. Острое тромбообразование, возникающее в результате разрыва таких поражений, вызывает наиболее тяжелые клинические осложнения. Тромбы могут закупорить артерию или, после отрыва в циркуляцию, привести к ИМ или инсульту. Гиперхолестеринемия рассматривается как ключевой фактор риска развития атеросклероза. Накопление ХС в виде внутриклеточных сложных эфиров ХС или в форме внутри- и внеклеточных кристаллов в макрофагах и других (иммунных) клетках атеросклеротической бляшки не только стимулирует различные воспалительные реакции, но и может вызвать разрыхление бляшек и повреждение сосудов. Молекулярная биология атеросклероза является сложной, и тонкие детали во многом остаются пока неизвестными. Тем не менее несколько сигнальных путей ассоциировались с его патогенезом, в частности, сигнальные пути фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) и других цитокинов, инициирующие активацию ядерного фактора каппа-В (NF- κ B), ROS, эндотелиальных и других клеток посредством модифицированных липопротеинов и пролиферации макрофагов [63]. Недавние данные свидетельствуют о том, что ингибирование ферментов HIF-P4Ns может защитить от развития коронарного атеросклероза. Поскольку результаты изучения эффектов гипоксии на HIF и/или ингибиторов HIF-P4Ns с использованием мышинных и человеческих клеточных линий при воспалении и других связанных с атеросклерозом состояниях уже освещались в литературе [64], то в данном обзоре мы в основном сфокусируем свое внимание на ингибиторах HIF-P4Ns, которые использовались в условиях, более приближенных к клиническим.

Ингибиторы HIF-P4Ns в защите от атеросклероза.

Более ранние исследования, посвященные ROS и железу в качестве факторов в патогенезе атеросклероза, показали, что системные введения DFO на экспериментальных моделях животных уменьшали атеросклероз и воспаление [65, 66]. Долгосрочное (9 нед) системное введение DFO кроликам, получавшим ХС, редуцировало атеросклеротические поражения в аорте, не затрагивая уровень ХС, триглицеридов или сывороточного железа [65]. На мышинной модели системное введение DFO в течение 2 нед редуцировало липополисахарид-индуцированные острые воспалительные реакции, вероятно, посредством ингибирования индуцированной липополисахаридом активации NF- κ B в аорте [66]. Аналогичным образом, лечение DFO ингибировало воспаление и снижало развитие атеросклеротического поражения в аорте аполипопротеин Е-дефицит-

ных (ApoE^{-/-}) мышей [66]. Кроме того, у ApoE^{-/-} мышей лечение DFO снижало экспрессию васкулярной молекулы клеточной адгезии 1 (vascular cell adhesion molecule 1, VCAM1), молекула межклеточной адгезии 1 (intercellular adhesion molecule 1, ICAM1), CCL2 (C-C motif ligand 2), ФНО- α и мРНК ИЛ-6 в сердце, а также экспрессию белка рецептора трансферрина в сердце и печени [66]. Некоторые из этих генов, такие как *CCL2*, *ФНО- α* , *ИЛ-6* и рецептор трансферрина, как сообщается, регулируются гипоксией [67–69], которая сопоставима с функцией DFO в качестве ингибитора HIF-P4Ns. Таким образом, возникает соблазн предположить, что наблюдаемое уменьшение воспаления и атеросклеротических поражений обусловлено, по крайней мере частично, DFO ингибированием HIF-P4Ns и последующей модуляцией передачи сигналов HIF, хотя в этих исследованиях не установлено причинной связи и не изучалось влияние DFO на активность HIF-P4Ns. Системное введение мышам с дефицитом ЛПНП-рецепторов более специфического ингибитора HIF-P4Ns, а именно – FG-4497 [70], уменьшало у них развитие атеросклероза. Кроме того, данный ингибитор препятствовал увеличению массы тела, снижал инсулинорезистентность, массу печени и WAT, размер адипоцитов, количество связанных с воспалением агрегатов макрофагов WAT и индуцированное HFD увеличение уровней ХС в сыворотке [10]. Наблюдаемые атеропротективные эффекты положительно коррелировали не только со стабилизацией HIF и, следовательно, с измененной экспрессией генов глюкозы и липидного обмена, а также ассоциированных с воспалением генов в печени и WAT, но также с повышенными уровнями атеропротекторных циркулирующих аутоантител против окисленного ЛПНП [10]. Аналогично, подавление HIF-P4Ns посредством генетических манипуляций также показало, что оно защищает от атеросклероза. Когда мыши, гипоморфные по HIF-P4N-2, скрещивались с ЛПНП рецептор-мутантными мышами, они фенокопировали упомянутое выше снижение развития атеросклеротических бляшек [10]. Таким же образом, мыши HIF-P4N-1^{-/-}/ЛПНП^{-/-} имели атеропротективный метаболический фенотип, который предположительно частично улучшал отток ХС [71]. Кроме того, *lentivirus*-опосредованное shRNA-ингибирование HIF-P4N-3 уменьшало прогрессию атеросклеротических бляшек и экспрессию воспалительных генов ICAM1, VCAM1, Ccl2, ИЛ-1 β и ФНО- α у ApoE^{-/-} мышей, тогда как сверхэкспрессия HIF-P4N-3 ускоряла атерогенез посредством активации сигнализации митоген-активированных протеинкиназ [72]. Несмотря на очевидность атеропротекторного эффекта ингибирования HIF-P4Ns на мышинной модели, точные молекулярные механизмы этой защиты полностью не выяснены. Предполагается, что в значительной степени она обусловлена активацией HIF-сигнализации, при которой изменяется метаболизм ХС – сокращается эндогенный синтез ХС в печени и улучшается его отток. Кроме того, активация HIF при ингибировании HIF-P4N может способствовать атеропротекции посредством снижения транскрипции провоспалительных генов и подавления функции эндотелиальных клеток. Весьма интригующим наблюдением является повышение уровней аутоантител после ингибирования HIF-P4N-2. Вкупе со снижением уровня ХС в сыворотке и уменьшением воспаления этот ответ может иметь решающее значение для защиты не только от атеросклероза, но и от других воспалительных заболеваний. Что касается данных о защите посредством ингибирования HIF-P4Ns от атеросклероза у людей, то они ограничены. Известно только о снижении уровня

ХС сыворотки крови под влиянием ингибиторов HIF-P4Ns [61, 62], что, по современным представлениям, является одним из условий, обеспечивающих защиту от атеросклероза.

Заключение

Результаты исследований последних лет показывают, что ингибирование HIF-P4Ns и сопутствующая стабилизация HIF могут иметь терапевтическое применение при кардиометаболических заболеваниях. Механизмы кардио-защиты, скорее всего, являются многофакторными и требуют активации множества генов – мишеней HIF и последующей модуляции нисходящих сигнальных путей. Если суммировать результаты этих исследований, то можно заключить, что ингибирование изоферментов HIF-P4Ns в сердце индуцирует защитный эффект против острого ишемического повреждения; в то же время данные о пользе долгосрочного ингибирования HIF-P4Ns противоречивы, что оправдывает проведение дальнейших исследований в этом направлении. Ингибирование HIF-P4Ns, по-видимому, является мощным регулятором метаболизма у мышей, который противодействует ожирению, метаболическому синдрому, атеросклерозу и воспалению, а также снижает уровни сывороточного ХС и благотворно влияет на вро-

жденную иммунную систему. Хотя аналогичные данные у людей еще не получены (за исключением ХС сыворотки, уровень которого снижился при ингибировании HIF-P4Ns), тем не менее, учитывая данные эпидемиологических [1] и демографических [73] исследований, посвященных изучению ассоциации жизни на больших высотах с защитой от ИБС, можно полагать, что при проведении клинических исследований с использованием ингибирования HIF-P4Ns эти же самые изменения, которые наблюдались у мышей, будут иметь место и у человека. При использовании ингибиторов HIF-P4Ns для лечения кардиометаболических заболеваний необходимо учесть, что стабилизация HIF ассоциируется с несколькими видами рака, хотя это может быть скорее следствием быстрого деления клеток и неадекватной оксигенации, чем побудительной причиной онкогенеза [11]. Кроме того, должны быть приняты во внимание дозозависимость стабилизации HIF и дифференциальная активация его многочисленных таргетных генов в различных тканях. Таким образом, предстоит провести еще немало доклинических и клинических исследований для того, чтобы лучше понять потенциальную терапевтическую эффективность ингибиторов HIF-P4Ns при заболеваниях человека.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Мейманалиев Т.С., Айтбаев К.А. Эпидемиология ишемической болезни сердца и частота основных факторов риска среди населения горцев. В кн.: *Болезни сердца и сердечная недостаточность в условиях горного климата*. Фрунзе; 1981. С. 61-62 [Meymanaliev TS, Aytbaev KA. Epidemiology of coronary heart disease and the frequency of major risk factors among the Highland population. In: *Bolezni serdtsa i serdechnaya nedostatochnost' v usloviyakh gornogo klimata* [Diseases of the heart and heart failure in a mountain climate]. Frunze; 1981. P. 61-62 (In Russ.)].
2. Айтбаев К.А. Уровень холестерина липопротеидов высокой плотности и других липидов крови у коренных жителей высокогорья Киргизии. *Вопросы медицинской химии*. 1985;(1):58-61 [Aytbaev KA. The level of high-density lipoprotein cholesterol and other blood lipids in native highland people of Kyrgyzstan. *Voprosy Meditsinskoj Khimii*. 1985;(1):58-61 (In Russ.)].
3. Айтбаев К.А., Мейманалиев Т.С. Распространенность атерогенных дислиппротеидемий среди горцев. *Кардиология*. 1992;(1):9-11 [Aytbaev KA, Meymanaliev TS. Prevalence of atherogenic dyslipoproteinemia among highlanders. *Kardiologiya*. 1992;(1):9-11 (In Russ.)].
4. Айтбаев К.А., Мадаминов Я.К., Мейманалиев Т.С. и др. Исследование влияния миграции в горные регионы на систему липопротеидов крови. *Космическая биология и авиакосмическая медицина*. 1990;(6):45-46 [Aytbaev KA, Madaminov YaK, Meymanaliev TS, et al. Study of the impact of migration in mountain regions on the blood lipoprotein system. *Kosmicheskaya Biologiya i Aviakosmicheskaya Meditsina*. 1990;(6):45-46 (In Russ.)].
5. Миррахимов М.М., Айтбаев К.А., Мураталиев Т.М. О возможности коррекции гиперхолестеринемии высокогорной тренировки. *Кардиология*. 2001;(7):9-11 [Mirrakhimov MM, Aytbaev KA, Murataliev TM. On the possibility of correcting hypercholesterolemia with high-altitude training. *Kardiologiya*. 2001;(7):9-11 (In Russ.)].
6. Semenza GL, Wang GL. 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;12:5447-5454. PMID: PMC360482
7. Eckle T, Kohler D, Lehmann R, et al. Hypoxia-inducible factor-1 is central to cardioprotection: a new paradigm for ischemic preconditioning. *Circulation*. 2008;118:166-175. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.758516
8. Ikeda J, Ichiki T, Matsuura H, et al. Deletion of phd2 in myeloid lineage attenuates hypertensive cardiovascular remodeling. *J Am Heart Assoc*. 2013;2:e000178.
9. Rahtu-Korpela L, Karsikas S, Hörkö S, et al. HIF prolyl 4-hydroxylase-2 inhibition improves glucose and lipid metabolism and protects against obesity and metabolic dysfunction. *Diabetes*. 2014;63(10):3324-3333. doi: 10.2337/db14-0472
10. Rahtu-Korpela L, Määttä J, Dimova EY, et al. Hypoxia-inducible factor prolyl 4-hydroxylase-2 inhibition protects against development of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016;36:608-617.
11. Kaelin Jr WG, Ratcliffe PJ. Oxygen sensing by metazoans: the central role of the HIF hydroxylase pathway. *Mol Cell*. 2008;30:393-402. doi: 10.1016/j.molcel.2008.04.009
12. Myllyharju J, Koivunen P. Hypoxia-inducible factor prolyl 4-hydroxylases: common and specific roles. *Biol Chem*. 2013;394:435-448. doi: 10.1515/hsz-2012-0328
13. Semenza GL. Regulation of oxygen homeostasis by hypoxia-inducible factor 1. *Physiology (Bethesda)*. 2009;24:97-106. doi: 10.1152/physiol.00045.2008
14. Bruick RK, McKnight SL. A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF. *Science*. 2001;294:1337-1340. doi: 10.1126/science.1066373
15. Epstein AC, Gleagle JM, McNeill LA, et al. C. elegans EGL-9 and mammalian homologs define a family of dioxygenases that regulate HIF by prolyl hydroxylation. *Cell*. 2001;107:43-54. doi: 10.1016/S0092-8674(01)00507-4
16. Ivan M, Haberberger T, Gervasi DC, et al. Biochemical purification and pharmacological inhibition of a mammalian prolyl hydroxylase acting on hypoxia-inducible factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:13459-13464. doi: 10.1073/pnas.192342099
17. Berra E, Benizri E, Ginouves A, et al. HIF prolyl-hydroxylase 2 is the key oxygen sensor setting low steady-state levels of HIF-1alpha in normoxia. *EMBO J*. 2003;22:4082-4090. doi: 10.1093/emboj/cdg392
18. Loenarz C, Coleman ML, Boleininger A, et al. The hypoxia-inducible transcription factor pathway regulates oxygen sensing in the simplest animal, *Trichoplax adhaerens*. *EMBO Rep*. 2011;12:63-70. doi: 10.1038/embo.2010.170

19. Appelhoff RJ, Tian YM, Raval RR, et al. Differential function of the prolyl hydroxylases PHD1, PHD2, and PHD3 in the regulation of hypoxia-inducible factor. *J Biol Chem.* 2004;279:38458-38465. doi: 10.1074/jbc.M406026200
20. Cervera AM, Apostolova N, Luna-Crespo F, et al. An alternatively spliced transcript of the PHD3 gene retains prolyl hydroxylase activity. *Cancer Lett.* 2006;233:131-138. doi: 10.1016/j.canlet.2005.03.004
21. Takeda K, Ho V, Takeda H, et al. Placental but not heart defect is associated with elevated HIF α levels in mice lacking prolyl hydroxylase domain protein 2. *Mol Cell Biol.* 2006;26:8336-8346. doi: 10.1128/MCB.00425-06
22. Bishop T, Gallagher D, Pascual A, et al. Abnormal sympathoadrenal development and systemic hypotension in PHD3^{-/-} mice. *Mol Cell Biol.* 2008;28:3386-3400. doi: 10.1128/MCB.02041-07
23. Lee FS, Percy MJ. The HIF pathway and erythrocytosis. *Annu Rev Pathol.* 2011;6:165-192. doi: 10.1146/annurev-pathol-011110-130321
24. Lorenzo FR, Huff C, Myllymäki M, et al. A genetic mechanism for Tibetan high-altitude adaptation. *Nat Genet.* 2014;46:951-956. doi: 10.1038/ng.3067
25. McDonough MA, Loenarz C, Chowdhury R, et al. Structural studies on human 2-oxoglutarate dependent oxygenases. *Curr Opin Struct Biol.* 2010;20:659-672. doi: 10.1016/j.sbi.2010.08.006
26. Myllyharju J, Kivirikko KI. Collagens, modifying enzymes and their mutations in humans, flies and worms. *Trends Genet.* 2004;20:33-43. doi: 10.1016/j.tig.2003.11.004
27. Koivunen P, Hirsilä M, Remes AM, et al. Inhibition of hypoxia-inducible factor (HIF) hydroxylases by citric acid cycle intermediates: possible links between cell metabolism and stabilization of HIF. *J Biol Chem.* 2007;282:4524-4532. doi: 10.1074/jbc.M610415200
28. Hirsilä M, Koivunen P, Xu L, et al. Effect of desferrioxamine and metals on the hydroxylases in the oxygen sensing pathway. *FASEB J.* 2005;19:1308-1310. doi: 10.1096/fj.04-3399fje
29. Asikainen TM, Ahmad A, Schneider BK, et al. Stimulation of HIF-1 α , HIF-2 α , and VEGF by prolyl4-hydroxylase inhibition in human lung endothelial and epithelial cells. *Free Radic Biol Med.* 2005;38(8):1002-1013. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.12.004
30. Chandel NS, McClintock DS, Feliciano CE, et al. Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1 α during hypoxia: a mechanism of O₂ sensing. *J Biol Chem.* 2000;275(33):25130-25138. doi: 10.1074/jbc.M001914200
31. Metzén E, Zhou J, Jelkmann W, et al. Nitric oxide impairs normoxic degradation of HIF-1 α by inhibition of prolyl hydroxylases. *Mol Biol Cell.* 2003;14(8):3470-3481. doi: 10.1091/mbc.E02-12-0791
32. Hirsilä M, Koivunen P, Gunzler V, et al. Characterization of the human prolyl 4-hydroxylases that modify the hypoxia-inducible factor. *J Biol Chem.* 2003;278(33):30772-30780. doi: 10.1074/jbc.M304982200
33. Willam C, Maxwell PH, Nichols L, et al. HIF prolyl hydroxylases in the rat; organ distribution and changes in expression following hypoxia and coronary artery ligation. *J Mol Cell Cardiol.* 2006;41(1):68-77. doi: 10.1016/j.yjmcc.2006.04.009
34. Huang M, Chan DA, Jia F, et al. Short hairpin RNA interference therapy for ischemic heart disease. *Circulation.* 2008;118(4):S226-S233. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.760785
35. Hyvärinen J, Hassinen IE, Sormunen R, et al. Hearts of hypoxia-inducible factor prolyl4-hydroxylase-2 hypomorphic mice show protection against acute ischemia-reperfusion injury. *J Biol Chem.* 2010;285(18):13646-13657. doi: 10.1074/jbc.M109.084855
36. Kerkelä R, Karsikas S, Szabo Z, et al. Activation of hypoxia response in endothelial cells contributes to ischemic cardioprotection. *Mol Cell Biol.* 2013;33(16):3321-3329. doi: 10.1128/MCB.00432-13
37. Hölscher M, Silter M, Krull S, et al. Cardiomyocyte-specific prolyl-4-hydroxylase domain 2 knock out protects from acute myocardial ischemic injury. *J Biol Chem.* 2011;286:11185-11194. doi: 10.1074/jbc.M110.186809
38. Adluri RS, Thirunavukkarasu M, Dunna NR, et al. Disruption of hypoxia-inducible transcription factor-prolyl hydroxylase domain-1 (PHD-1 $^{-/-}$) attenuates ex vivo myocardial ischemia/reperfusion injury through hypoxia-inducible factor-1 α transcription factor and its target genes in mice. *Antioxid Redox Signal.* 2011;15(7):1789-1797. doi: 10.1089/ars.2010.3769
39. Oriowo B, Thirunavukkarasu M, Selvaraju V, et al. Targeted gene deletion of prolyl hydroxylase domain protein 3 triggers angiogenesis and preserves cardiac function by stabilizing hypoxia inducible factor 1 α following myocardial infarction. *Curr Pharm Des.* 2014;20:1305-1310. doi: 10.2174/13816128113199990549
40. Ziesenis A, Hesse AR, Jatho A, et al. Cardiomyocyte-specific transgenic expression of prolyl-4-hydroxylase domain 3 impairs the myocardial response to ischemia. *Cell Physiol Biochem.* 2015;36:843-851. doi: 10.1159/000430260
41. Aragonés J, Schneider M, van Geyte K, et al. Deficiency or inhibition of oxygen sensor Phd1 induces hypoxia tolerance by reprogramming basal metabolism. *Nat Genet.* 2008;40(2):170-180. doi: 10.1038/ng.2007.62
42. Karsikas S, Myllymäki M, Heikkilä M, et al. HIF-P4H-2 deficiency protects against skeletal muscle ischemia-reperfusion injury. *J Mol Med (Berl).* 2016;94:301-310.
43. Ong SG, Lee WH, Theodorou L, et al. HIF-1 reduces ischaemia-reperfusion injury in the heart by targeting the mitochondrial permeability transition pore. *Cardiovasc Res.* 2014;104(1):24-36. doi: 10.1093/cvr/cvu172
44. Lei L, Mason S, Liu D, et al. Hypoxia-inducible factor-dependent degeneration, failure, and malignant transformation of the heart in the absence of the von Hippel-Lindau protein. *Mol Cell Biol.* 2008;28(11):3790-3803. doi: 10.1128/MCB.01580-07
45. Minamishim YA, Moslehi J, Padera RF, et al. A feedback loop involving the Phd3 prolyl hydroxylase tunes the mammalian hypoxic response in vivo. *Mol Cell Biol.* 2009;29(21):5729-5741. doi: 10.1128/MCB.00331-09
46. Krishnan J, Suter M, Windak R, et al. Activation of a HIF1 α -PPAR γ axis underlies the integration of glycolytic and lipid anabolic pathways in pathologic cardiac hypertrophy. *Cell Metab.* 2009;9(6):512-524. doi: 10.1016/j.cmet.2009.05.005
47. Takeda K, Cowan A, Fong GH. Essential role for prolyl hydroxylase domain protein 2 in oxygen homeostasis of the adult vascular system. *Circulation.* 2007;116(7):774-781. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.701516
48. Takeda Y, Costa S, Delamarre E, et al. Macrophage skewing by Phd2 haploinsufficiency prevents ischaemia by inducing arteriogenesis. *Nature.* 2011;479(7371):122-126. doi: 10.1038/nature10507
49. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.* 1986;74(5):1124-1136. PMID:3769170
50. Gho BC, Schoemaker RG, van den Doel MA, et al. Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue. *Circulation.* 1996;94:2193-2200. PMID:8901671
51. Cai Z, Luo W, Zhan H, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is required for remote ischemic preconditioning of the heart. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110:17462-17467. doi: 10.1073/pnas.1317158110
52. Davidson SM, Selvaraj P, He D, et al. Remote ischaemic preconditioning involves signalling through the SDF-1 α /CXCR4 signalling axis. *Basic Res Cardiol.* 2013;108(5):377. doi: 10.1007/s00395-013-0377-6
53. Olenchok BA, Moslehi J, Baik AH, et al. EGLN1 inhibition and rerouting of alpha-ketoglutarate suffice for remote ischemic protection. *Cell.* 2016;164(5):884-895. doi: 10.1016/j.cell.2016.02.006
54. Martin-Puig S, Tello D, Aragonés J. Novel perspectives on the PHD-HIF oxygen sensing pathway in cardioprotection mediated by IPC and RIP. *Front Physiol.* 2015;6:137. doi: 10.3389/fphys.2015.00137
55. Zeng H, Chen JX. Conditional knockout of prolyl hydroxylase domain protein 2 attenuates high fat-diet-induced cardiac dysfunction in mice. *PLoS One.* 2014;9:e115974. doi: 10.1371/journal.pone.0115974
56. Xia Y, Gong L, Liu H, et al. Inhibition of prolyl hydroxylase 3 ameliorates cardiac dysfunction in diabetic cardiomyopathy. *Mol Cell Endocrinol.* 2015;403:21-29. doi: 10.1016/j.mce.2015.01.014
57. Minamishim YA, Moslehi J, Bardeesy N, et al. Somatic inactivation of the PHD2 prolyl hydroxylase causes polycythemia and congestive heart failure. *Blood.* 2008;11:3236-3244.
58. Moslehi J, Minamishim YA, Shi J, et al. Loss of hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase activity in cardiomyocytes phenocopies ischemic cardiomyopathy. *Circulation.* 2010;122(10):1004-1016. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.922427

59. Matsuura H, Ichiki T, Inoue E, et al. Prolyl hydroxylase domain protein 2 plays a critical role in diet-induced obesity and glucose intolerance. *Circulation*. 2013;127(21):2078-2087. doi: 10.1161/CIRCULATION-AHA.113.001742
60. Van den Borst B, Schols AM, de Theije C, et al. Characterization of the inflammatory and metabolic profile of adipose tissue in a mouse model of chronic hypoxia. *J Appl Physiol*. 2013;114:1619-1628. doi: 10.1152/jappphysiol.00460.2012
61. Bakris GL, Yu K-P, Leong R, et al. Effects of a novel anemia treatment, FG-4592 – an oral hypoxia-inducible prolyl hydroxylase inhibitor (HIF-PHI) on blood pressure and cholesterol in patients with chronic kidney disease. *J Clin Hypertens*. 2013;14:487-489.
62. Olson E, Demopoulos L, Haws TF, et al. Short-term treatment with a novel HIF-prolyl hydroxylase inhibitor (GSK1278863) failed to improve measures of performance in subjects with claudication-limited peripheral artery disease. *Vasc Med*. 2014;19:473-482. doi: 10.1177/1358863X14557151
63. Hopkins PN. Molecular biology of atherosclerosis. *Physiol Rev*. 2013;93(3):1317-1542. doi: 10.1152/physrev.00004.2012
64. Lin N, Simon MC. Hypoxia-inducible factors: key regulators of myeloid cells during inflammation. *J Clin Invest*. 2016;126(10):3661-3671. doi: 10.1172/JCI84426
65. Minqin R, Rajendran R, Pan N, et al. The iron chelator desferrioxamine inhibits atherosclerotic lesion development and decreases lesion iron concentrations in the cholesterol-fed rabbit. *Free Radic Biol Med*. 2005;38:1206-1211. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.01.008
66. Zhang WJ, Wei H, Frei B. The iron chelator, desferrioxamine, reduces inflammation and atherosclerotic lesion development in experimental mice. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2010;235(5):633-641. doi: 10.1258/ebm.2009.009229
67. Guida E, Stewart A. Influence of hypoxia and glucose deprivation on tumour necrosis factor- α and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor expression in human cultured monocytes. *Cell Physiol Biochem*. 1998;8:75-88. doi: 10.1159/000016272
68. Bosco MC, Puppo M, Pastorino S, et al. Hypoxia selectively inhibits monocyte chemoattractant protein-1 production by macrophages. *J Immunol*. 2004;172:1681-1690.
69. Cartee TV, White KJ, Newton-West M, Swerlick RA. Hypoxia and hypoxia mimetics inhibit TNF-dependent VCAM1 induction in the 5A32 endothelial cell line via a hypoxia inducible factor dependent mechanism. *J Dermatol Sci*. 2012;65(2):86-94. doi: 10.1016/j.jdermsci.2011.10.003
70. Robinson A, Keely S, Karhausen J, et al. Mucosal protection by hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibition. *Gastroenterology*. 2008;134(1):145-155. doi: 10.1053/j.gastro.2007.09.033
71. Marsch E, Demandt JA, Theelen TL, et al. Deficiency of the oxygen sensor prolyl hydroxylase 1 attenuates hypercholesterolaemia, atherosclerosis, and hyperglycaemia. *Eur Heart J*. 2016;37(39):2993-2997. doi: 10.1093/eurheartj/ehw156
72. Liu H, Xia Y, Li B, et al. Prolyl hydroxylase 3 overexpression accelerates the progression of atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016;473(1):99-106. doi: 10.1136/jebch.2010.112938
73. Ezzati M, Horwitz ME, Thomas DS, et al. Altitude, life expectancy and mortality from ischaemic heart disease, stroke, COPD and cancers: national population-based analysis of US counties. *J Epidemiol Commun Health*. 2012;66:e17. doi: 10.1136/jebch.2010.112938

Поступила 16.11.2017