

© Коллектив авторов, 2008

А.А. Левина¹, А.Б. Макешова², Ю.И. Мамукова¹,
Е.А. Романова¹, А.И. Сергеева³, Т.В. Казюкова²

РЕГУЛЯЦИЯ ГОМЕОСТАЗА КИСЛОРОДА. ФАКТОР, ИНДУЦИРОВАННЫЙ ГИПОКСИЕЙ (HIF) И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ В ГОМЕОСТАЗЕ КИСЛОРОДА

¹ГУ «Гематологический научный центр РАМН», ²ГОУ ВПО РГМУ Росздрави, Москва;
³ГОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, РФ

Показано значение гипоксией индуцированного фактора (HIF) для молекулярной физиологии и патологии, его роль в физиологических процессах на уровне целых органов, поскольку HIF осуществляет активацию вазомоторных генов, которые необходимы для сосудистого ответа в легких на гипоксию. Представленные данные литературы показывают значимость определения HIF-1 α для диагностики ряда заболеваний и состояний человека и уточнения их патогенеза. Учитывая огромное значение HIF-1 α , авторами разработан относительно простой и недорогой метод его определения в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа. Приводятся результаты пилотного исследования по определению HIF-1 α у различных групп пациентов в динамике заболевания: у детей, страдающих железодефицитной анемией, у взрослых больных аутоиммунной гемолитической анемией, апластической анемией, наследственным гемохроматозом, чувашским эритроцитозом.

Authors described role of hypoxia-induced factor (HIF) in molecular physiology and pathology, its role in physiological process in different organs as a whole, as HIF realizes activation of vasomotor genes which are necessary for vasomotor lung response on hypoxia. Literature data presented in article prove importance of HIF-1 α determination in diagnosis of a number of human diseases and pathological processes and in determination of their pathogenesis. Counting important role of HIF-1 α determination authors outworked relatively cheap and simple method of its measuring in serum by immunoassay method. Authors present results of pilot study: HIF-1 α determination in different categories of patients in dynamic, including children with iron-deficient anemia and adult patients with autoimmune hemolytic anemia, with aplastic anemia, with hereditary hemochromatosis and with Chuvash polycytemia.

Дыхание, свойственное всем организмам на земле, осуществляется с помощью кислорода как терминального акцептора углеродов в реакциях с участием фермента цитохромоксидазы, поэтому клетки постоянно нуждаются в кислороде. Органами, которые ответственны за поступление кислорода, являются легкие, сердце, воздухоносные пути, сосудистая сеть и, главное, — эритроциты, содержащий $2 \cdot 10^{12}$ эритроцитов и несущий 99% всего кислорода крови. Размер этого циркулирующего органа регулируется эритропоэтином (ЭПО), который необходим для синтеза эритроцитов из клеток-предшественников. Для организма крайне важно поддержание внутриклеточного парциального давления кислорода (pO_2) на нормальном адекватном уровне, т. е. организм должен находиться в условиях нормоксии, поскольку как гипоксия, так и гипероксия опасны для организма. При гипоксии нарушается энергетический обмен, тормозится синтез биологически активных веществ, что отрицательно сказывается на деятельности цент-

ральной и вегетативной нервной системы, эндокринных органов, желудочно-кишечного тракта и др. Избыток кислорода является потенциально опасным в связи с его способностью генерировать реактивные вещества, которые могут поражать белки и нуклеиновые кислоты [1].

Большим достижением в биологии и физиологии последнего десятилетия явилась расшифровка молекулярного механизма поддержания гомеостаза кислорода. Основой этого механизма являются факторы, индуцированные гипоксией (hypoxia inductor factors — HIF's): HIF-1 и HIF-2 [2]. Являясь ключевыми медиаторами клеточного гомеостаза кислорода, HIF-1 и HIF-2 контролируют передачу кислорода тканям и адаптацию к кислородному истощению путем регуляции экспрессии генных продуктов, включающихся в клеточный энергетический метаболизм, вазомоторную регуляцию, транспорт глюкозы, эритропоэз, ангиогенез, апоптоз, клеточную пролиферацию и другие процессы, влияя как на межклеточное взаимодействие (клет-

ка — клетка), так и взаимодействие клетка — субстрат [3].

Первоначально HIF был открыт как транскрипционный активатор эритропоэза [4]. Однако вскоре стало ясно, что функции HIF значительно шире, и он прямо или косвенно регулирует несколько сотен генов, ответственных за вариабельность функциональных путей [5]. Исследования на человеке также продемонстрировали, что HIF играет главную роль в системном ответе на гипоксию, и его действие можно проследить в каждой реакции, в результате которой высвобождается кислород. HIF в основном синтезируется почками, хотя в последнее время его образование показано и в других органах [6].

Комплекс HIF-1 состоит из α - и β -субъединиц. Обе субъединицы являются членами мультипротеиновой семьи и принадлежат к разветвленной сети (helix-loop-helix) транскрипционных факторов [2]. β -субъединица экспрессируется постоянно, она известна также как арил-гидрокарбонный рецептор ядерного транслокатора. Этот белок имеет важное значение в ответе организма на ксенобиотики, когда формируется гетеродимерный транскрипционный комплекс с ариловым гидрокарбонным рецептором. α -субъединица HIF комплекса (HIF-1 α и HIF-2 α) регулируется кислородом, и она уникальна для кислородного пути. Регуляция α -субъединицы HIF-1 осуществляется двумя энзиматическими реакциями, в которых молекулярный кислород реагирует с двумя специфическими аминокислотными остатками: в присутствии кислорода происходит гидрокселирование пролилового остатка в кислородзависимой области и присоединение кислорода к аспарагиновому остатку вблизи С-терминальной области HIF-1. Обе эти реакции катализируются 2-оксоглутаратзависимыми (oxoglutarate) диоксигеназами, которые принадлежат к семье энзимов с разнообразными биологическими ролями. Эти энзимы относятся к пролил-гидроксилазным белкам и идентифицируются как каталазы пролилового гидрокселирования (PHD) HIF. Модифицированный таким образом HIF-1 связывается с белком гена тумор-супрессорного протеина (von Hippel-Lindau — VHL), который обладает убиквитинлигазной активностью, что ведет к деградации HIF-1 α . При низком уровне кислорода HIF-1 α образует активный комплекс с β -субъединицей, в результате чего становится стабильным и соединяется с цитохромом P300 [7, 8].

Кроме основной модификации HIF на основе PHD, существует еще модулирование этого белка путем фосфорилирования и, как недавно показано, ацетилирования, т. е. в организме присутствует определенный простор для регуляции HIF белков [5]. Более того, в гипоксических клетках наблюдается увеличенная экспрессия гидроксилазных генов, что ведет к ингибированию HIF белков по обратной связи. Эти наблюдения очень важ-

ны для понимания основных положений кислород ответственной системы при различных клеточных потребностях. В присутствии кислорода действует также и энзим FIH (фактор, ингибирующий HIF) [9, 10], который влияет на аспарагиновое гидрокселирование, предупреждая тем самым повышенную транскрипционную активность HIF-1 α [3].

HIF-2 α так же, как и HIF-1 α , подвержен VHL-зависимой деструкции протеазами. Оба эти белка необходимы для нормального биологического ответа млекопитающих на гипоксию, поскольку показано, что гомозиготная инактивация хотя бы одного из них у мышиноного эмбриона ведет к летальности. В настоящее время считается, что HIF-2 α более специфичен для эндотелия, но его экспрессия также определена и в других видах клеток. HIF-3 α важен для подавления гипоксии в более специфических тканях, таких, например, как роговица глаза [11].

VHL, состоящий из 213 аминокислотных остатков, выполняет критическую роль в регуляции HIF-1, поскольку он ответственен за убиквитилизацию HIF- α -субъединиц в присутствии кислорода. В этом процессе VHL действует как распознающий компонент убиквитинлигазного комплекса, который включает и несколько других белков [9]. Эксперименты на клеточных культурах показали, что VHL необходим для регуляции деструкции HIF в клетках всех типов аэробных организмов. Как уже указывалось выше, после гидрокселирования HIF-1 α связывается с VHL, после чего убиквитилируется и затем разрушается протеазами. В клетках, где VHL недостаточно, HIF-1 α цепи сохраняют активность и при нормальном давлении кислорода. Остается не ясным вопрос, почему аспарагиновое гидрокселирование FIH-1 не инактивирует HIF-1 α в отсутствие VHL. Есть предположение, что включается другой фермент, который так изменяет гидроксилазную реакцию HIF, что в данных условиях энзимная активность FIH недостаточна для инактивации HIF [12].

В дальнейших исследованиях на культуре клеток показано, что в тех случаях, когда пролиловое гидрокселирование HIF- α инактивируется и, соответственно, деградация ингибируется, происходит стабилизация и аккумуляция α -цепей этого белка [13]. Затем HIF- α перемещается к ядру, где димеризуется с HIF- β , связывается с гипоксией ответственными элементами HIF генов, активизируя их транскрипцию. При нормальном уровне VHL происходит гидрокселирование С-терминального аспарагинового остатка ферментами группы FIH, что ведет к уменьшению транскрипционной активности HIF комплекса. Поэтому считается, что цепочку PHD — VHL — HIF можно рассматривать центральным регулятором гомеостаза кислорода [2].

Кроме гипоксии, транскрипционная активация HIF-1 наблюдается также под действием оки-

си азота, фактора некроза опухоли (TNF α), интерлейкина (IL) 1, ангиотензина. HIF-1 включается в регуляцию таких биологических процессов, как гликозный и энергетический метаболизм, ангиогенез, эритропоэз, гомеостаз железа, клеточная миграция, межклеточное и межорганное взаимодействие, напрямую участвуя в регуляции многих очень важных для физиологии человека факторов, к которым относятся ЭПО, гемоксигеназа-1, тканевой ингибитор металлопротеиназ, сосудистый эндотелиальный ростовой фактор (vascular endothelial growth factor – VEGF), транспортер глюкозы 1 (glucose transporter-1 — GLUT-1) и др. [14].

Безусловно, для биологии и медицины, в частности, особый интерес представляют физиологические механизмы, отражающие соотношение между HIF-1 α и экспрессией гена VHL. Толчком к такому интересу стало наблюдение, что при ряде почечных карцином, для которых характерен высокий уровень HIF (соответственно, и ангиогенных факторов, таких как VEGF и др.), наблюдается инактивация экспрессии VHL гена [10]. Вместе с тем, оценивая роль этих белков, нужно понимать, что гипоксия наблюдается не только при патологических состояниях, но и при физиологических условиях, к примеру, при нормальном эмбриогенезе. Установлено, что инактивация HIF-1 α , HIF-2 α , HIF- β или VHL у мышей во время эмбриогенеза ведет к гибели эмбриона внутриутробно или в перинатальном периоде. Мыши, гомозиготные по дефициту HIF-1 α , погибают внутриутробно между 8-м и 11-м днями вследствие дефекта нервной трубки или сердечно-сосудистых уродств [5]. У мышей с дефицитом HIF-2 α наблюдаются изменения в синтезе катехоламина, приводящие к поражению сердца, а нарушения в синтезе VEGF вызывают поражение легких, желточного белка, сопровождаются митохондриальными аномалиями. Мыши с дефицитом HIF-1 β погибают от выраженных нарушений васкулогенеза желточного мешка и бронхов. Инактивация VHL вызывает увеличение транскрипционной активности HIF-1 и HIF-2, поэтому мыши с дефицитом этого фактора погибают во время гестации вследствие аномального плацентарного васкулогенеза. Эти исследования показывают важность HIF системы для развития плода [12].

В нормальных физиологических условиях в организме взрослых млекопитающих поддержание HIF системы на определенном уровне во всех органах и тканях также крайне важно, особенно это касается почечной ткани. HIF- α субъединицы определены в клетках почек — в кортикальном и модулярном слоях, в S-тельцах и гломерулярных клетках. В регуляции эритропоэза почки играют очень важную роль, поскольку служат основным физиологическим кислородным сенсором, отвечая на системную гипоксию быстрым увеличени-

ем продукции ЭПО в почечных интерстициальных клетках. Печень также участвует в выработке ЭПО, но в значительно меньшем количестве, чем почки, и при нарушении продукции ЭПО в почках внепочечный синтез ЭПО не может компенсировать его почечные потери. Естественно, что главным регулятором продукции ЭПО является HIF-1 α , который и был открыт при изучении регуляции ЭПО. Однако в настоящее время показано, что и HIF-2 принимает участие в регуляции эритропоэза как в печени, так и в почках, но в печени его значение более выражено [5].

Значение HIF в системной физиологии человека подтверждается также и исследованиями, проведенными у пациентов из Чувашии [15] с наследственным эритроцитозом, редким ауто-сомно-рецессивным заболеванием, вызываемым мутацией в VHL гене (598C→T), что приводит к замене Arg → Trp в VHL [16]. Как следствие этого, происходит уменьшение способности связывания VHL гидроксигликованным HIF-1 α , тем самым его деградация ингибируется, что и провоцирует патологическую активацию генов. Подобные мутации в VHL гене обнаружены также у некоторых жителей озера Ишиа в Италии и нескольких индивидуумов из других этнических областей. Поскольку эта мутация в VHL гене ассоциирована с определенным гаплотипом, есть предположение, что во всех подобных случаях был общий источник. Для больных с чувашским эритроцитозом характерно повышение HIF-1 α , незначительное увеличение ЭПО, активация генов VEGF, увеличение уровня трансферринового рецептора, глюкозо-транспортера, эндотелина, активатора плазминогена и др. Описано еще несколько мутаций в гене VHL, которые также вызывают полицитемию [3].

Недавно обнаружена новая мутация в гене, кодирующем фермент PHD, которая также связана с полицитемией. Эти генетические болезни показывают важность оси PHD–VHL–HIF в контроле за продукцией ЭПО и соответственно за уровнем Hb и эритроцитов [6]. При повреждении функции почек, чаще всего связанной с ишемией органа, нарушается и продукция ЭПО, а поскольку HIF является одним из основных регуляторов продукции ЭПО, было естественно предположить, что этот белок должен быть связан с метаболизмом железа и основным регулятором гомеостаза железа — гепсидином. В опытах на трансгенных мышах показано, что при стабилизации HIF- α гипоксия и дефицит железа подавляют синтез гепсидина и тем самым увеличивают возможности всасывания железа в кишечнике [17, 18]. Известно, что HIF и железо взаимодействуют через железорегуляторные белки (iron-regulated proteins — IRP's): IRP-1 и IRP-2. IRP's посттранскрипционно регулируют экспрессию белков обмена железа путем связывания их с матричной РНК (mRNA) железозащитных элементов (iron-regulated elements — IRE's). Кор-

да запасы железа в клетке истощаются, комплекс IRP–IRE предотвращает секвестрацию трансферринового рецептора и тем самым усиливает захват железа клеткой; при достаточном количестве железа в клетке комплекс IRP–IRE инактивируется, подвергается протосомальной деградации и железо не всасывается. Интересно заметить, что в путь деградации этого комплекса включается PHD — тот же фермент, что и при гидроксилировании HIF. Кроме того, установлено, что HIF-2 α также посттрансляционно регулируется комплексом IRP–IRE. Более того, показано, что при дефиците железа HIF-2 α включается в контрольный механизм по принципу обратной связи для лимитирования продукции ЭПО с целью предотвращения развития еще более глубокого дефицита железа. В недавних работах, при обследовании пациентов с дефицитом железа и гемохроматозом установлена прямая связь между VHL и HIF, с одной стороны, и регуляцией гепсидина, с другой [18].

Однако наиболее частые мутации в гене VHL приводят не к эритроцитозу, а к возникновению рака и карцином, чаще всего в почках. У пациентов с карциномой CC-RCC наблюдается инактивация обоих генов белка VHL, а у больных с т. н. «туморным синдромом» — только одного гена. VHL болезни характеризуются развитием выраженной васкуляризации и злокачественных процессов во многих органах, причем можно предположить, что для каждого заболевания характерна определенная мутация в VHL гене и, соответственно, своя аминокислотная замена в VHL [19]. Связано это с тем, что мутация VHL гена ведет к потере функциональной активности VHL, а это приводит к кислороднезависимой стабилизации и транскрипционной активности HIF, в результате чего активизируются VEGF. Типичными болезнями для VHL мутаций являются почечные цисты, почечные клеточные карциномы, гемангиобластомы ретины и ЦНС, феохромоцитомы [4].

Представленные данные показывают значение HIF для молекулярной физиологии и патологии. Вместе с тем HIF играет важную роль и в физиологических процессах на уровне целых органов: при вентиляции легких, в работе сердца и др. Гипоксия может быть вызвана также подъемом людей на большую высоту, что сопровождается значительными изменениями в уровне физиологических реакций и сопровождается активацией HIF. Так, при обследовании больных с чувашским эритроци-

тозом наблюдали высокую острую гипоксическую вентиляционную чувствительность, подтвердившую, что HIF включается в вентиляционную акклиматизацию к гипоксии, а, следовательно, HIF участвует в респираторном контроле. Изучение артериального давления в различных условиях в этой же группе больных установило, что HIF осуществляет активацию вазомоторных генов, которые необходимы для сосудистого ответа в легких на гипоксию. Наблюдается также и увеличение содержания вазоконстриктора — эндотелина, который также был повышен у этих больных [20, 21].

Представленные литературные данные показывают значимость определения HIF-1 α для диагностики ряда заболеваний и состояний человека и уточнения их патогенеза.

Материалы и методы исследования

Учитывая огромное значение HIF, мы решили разработать относительно простой и недорогой метод его определения с использованием иммуноферментного анализа (ИФА).

Для этой цели мы использовали коммерческую мышиную антисыворотку и коммерческие моноклональные антитела против молекулы HIF-1 α (DRG Int. Inc., USA). Для получения иммунохимической системы моноклональные антитела были конъюгированы с пероксидазой хрена (ПХ) по методу Nasone [22]. Использовали твердофазный метод ИФА в «сендвич» варианте. Планшеты фирмы Nunk сенсibilizировали поликлональными антителами, а в качестве конъюгата применяли полученные нами моноклональные антитела, соединенные с ПХ. Опытным путем, методом перекрестного титрования, были подобраны концентрации всех используемых реагентов и условия проведения реакции. В качестве стандарта использовали рекомбинантный HIF-1 α (фирмы DRG Int. Inc. USA).

Значения HIF-1 α у здоровых взрослых добровольцев (n=25, Me возраста = 27,4 \pm 3,9 лет) составили в среднем 4,3 \pm 0,7 пг/мл, диапазон колебаний показателя — от 1,5 до 6,0 пг/мл (табл. 1).

Нами предпринято пилотное исследование по определению HIF-1 α у различных групп пациентов. Были исследованы избыточные остатки клинических образцов сыворотки крови 27 детей (12 мальчиков и 15 девочек) в возрасте от 10 месяцев до 3,5 лет с диагнозом железodefицитная анемия (ЖДА) — до начала лечения и на фоне ферротерапии. Также в динамике (до и после курса терапии)

Таблица 1

Аналитические характеристики метода ИФА для определения HIF-1 α

Антиген	Неспецифичность	Коэффициент вариации		Диапазон определения	Средние значения для здоровых лиц (добровольцы)
		высокая концентрация	низкая концентрация		
HIF-1 α	Не более 4,5%	17,5%	12%	0,5–1000 пг/мл	4,3 \pm 0,7 пг/мл (1,5–6,0)

был определен уровень HIF-1 α у 79 взрослых пациентов, находившихся на обследовании или лечении в Гемцентре РАМН с диагнозом: аутоиммунная гемолитическая анемия (АИГА) (n=15), наследственный гемохроматоз (НГХ) (n=35), апластическая анемия (n=12), чувашский эритроцитоз (n=17).

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования HIF-1 α у различных групп пациентов в сопоставлении с показателями здоровых взрослых представлены в табл. 2.

Как видно из приведенных в табл. 2 данных, у детей с ЖДА в дебюте заболевания уровень HIF-1 α повышен в 2–2,5 раза по сравнению со здоровыми взрослыми ($p < 0,001$), что соответствует представлениям о сути заболевания, сопровождающегося гипоксией. На фоне ферротерапии, параллельно с увеличением значений ЭПО нормализуется и уровень HIF-1 α , что, по всей вероятности, связано с усилением синтеза Hb и восстановлением кислородного обеспечения организма.

Аналогичные процессы происходят у и больных АИГА: во время гемолитического криза уровень HIF-1 α достоверно повышается ($p < 0,001$), а вне криза его значения соответствуют норме, как и уровень Hb (100–120 г/л).

Напротив, у больных НГХ до лечения значения HIF-1 α практически не отличаются от нормы ($6,3 \pm 1,5$ пг/мл, $p > 0,05$). Однако после курса флеботомии они достоверно повышаются ($9,9 \pm 2,3$ пг/мл, $p < 0,01$) на фоне снижения уровня Hb и, следовательно, развития умеренной гипоксии, которую, однако, сами пациенты с НГХ никоим образом не ощущают.

У больных чувашским эритроцитозом до начала терапии, как и следовало ожидать, значения

HIF-1 α достоверно выше нормы ($p < 0,001$), в то время как уровень ЭПО повышен незначительно, что соответствует данным других исследователей и указывает на важную роль HIF в осуществлении контроля за продукцией ЭПО и соответственно — уровнем Hb, и объясняет развитие полицитемии у данной группы пациентов. Обнаружено, что на фоне проводимой метаболитой терапии (фолиевая кислота 4 мг/сут, в течение 3 мес) с учетом ранее выявленного дефицита фолатов, у этих больных происходят нормализация HIF-1 α и снижение концентрации ЭПО. При этом отмечено уменьшение интенсивности плеторического синдрома, несмотря на сохранения высокого уровня Hb.

Интересные данные были получены у больных апластической анемией, для лечения которых было использовано их пребывание в горноклиматическом стационаре, на высоте более 3000 м. Больные были обследованы до подъема в горы и дважды во время нахождения в высокогорье, в условиях гипоксической гипоксии (на 20-е и 40-е сутки пребывания в горах). До подъема в горы значения HIF-1 α у них не отличаются от нормальных показателей, несмотря на сниженный уровень Hb. Уже на 20-е сутки пребывания этих больных в горах содержание HIF-1 α повышается по сравнению со здоровыми добровольцами ($8,2 \pm 1,02$ пг/мл, $p < 0,01$), а через 40 дней вновь возвращается к нормальным значениям ($4,5 \pm 0,2$ пг/мл, $p > 0,05$), однако это сопровождается более высокими значениями ЭПО. Содержание ЭПО в среднем составило 127,0 и 358,6 мкЕд/мл соответственно на 20-й и 40-й дни высокогорья и было ассоциировано с умеренным повышением уровня Hb, не достигавшим, однако, нормальных значений. Естественно предположить, что повы-

Таблица 2

Значения HIF-1 α , уровней ЭПО и Hb у различных групп пациентов в зависимости от стадии болезни

Заболевание	Стадия болезни	HIF-1 α , пг/мл	ЭПО, мкЕд/мл	Hb, г/л
ЖДА (n=27)	до лечения	$12,7 \pm 3,9^{**}$	$17,9 \pm 5,7$	$82,5 \pm 7,9^*$
	на фоне терапии	$6,7 \pm 2,9$	$43,9 \pm 7,5^*$	$112,7 \pm 9,2^*$
АИГА (n=15)	гемолитический криз	$19,3 \pm 5,6^{**}$	нд	$75 \pm 5,3^*$
	вне криза	$5,2 \pm 0,9$	нд	$115 \pm 3,5^*$
Апластическая анемия (n=12)	исходные значения	$5,9 \pm 0,4^*$	$105,5 \pm 47^*$	$90,6 \pm 9,3^*$
	на 20-е сутки пребывания в горах	$8,2 \pm 1,02^*$	$127,6 \pm 52,4$	$92,6 \pm 8,2^*$
	на 40-е сутки пребывания в горах	$4,5 \pm 0,2$	$358,6 \pm 141,0^*$	$98,5 \pm 7,1^*$
НГХ (n=35)	до флеботомии	$6,3 \pm 1,5$	нд	$145 \pm 5,9$
	после флеботомии	$9,9 \pm 2,3^*$	нд	$115 \pm 5,8$
Чувашский эритроцитоз (n=17)	до начала терапии	$12,3 \pm 4,3^{**}$	$22,3 \pm 3,3$	$175 \pm 15,9^*$
	после терапии	$9,5 \pm 2,5^*$	$15 \pm 3,5$	$172 \pm 12,9^*$
Здоровые взрослые (n=25)		$4,3 \pm 0,7$	5–20	125–145

* $p < 0,01$; ** $p < 0,001$ — достоверность различий в сравнении с показателями здоровых взрослых добровольцев.

шающийся в результате гипоксии HIF-1 α вызывает усиленную продукцию ЭПО, вследствие чего и происходит активация синтеза Hb у больных апластической анемией.

Заключение

В заключение целесообразно подчеркнуть, что данной работой мы хотели продемонстрировать информативность метода определения HIF-1 α при об-

следовании различных групп пациентов. Хочется надеяться, что внедрение в клиническую практику новых методов исследования, каким является определение HIF-1 α , позволит не только уточнить и понять суть происходящих изменений в течение того или иного патологического или физиологического процесса, но и разработать стратегические маневры для возможного терапевтического воздействия на отдельные звенья патогенеза различных заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Maxwell P. HIF-1: An oxygen response system with special relevance to the kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003; 14: 2712–2722.
2. Wang GL, Yiang B-H, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *PNAS USA.* 1995; 92: 5510–5514.
3. Smith TG, Roblins PA, Ratelife PJ. The human side of hypoxia-inducible factor. *Brit. J. Haematol.* 2008; 141: 325–334.
4. Semenza GL. HIF-1 and human disease: one highly involved factor. *Genes Dev.* 2000; 14: 1983–1991.
5. Haase VH. Hypoxia-inducible factors in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2006; 291: 271–281.
6. Appelhoff RY, Tian YM, Raval RR et al. Differential function of the prolyl hydroxylases PHD 1, PHD 2 and PHD 3 in the regulation of hypoxia-inducible factor. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 38458–38465.
7. Hirota K, Semenza GL. Regulation of angiogenesis by hypoxia-inducible factor 1. *Critical Reviews in oncology/hematology.* 2006; 59: 15–26.
8. Haase VH. The VHL tumor suppressor in development and disease: functional studies in mice by conditional gene targeting. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2005; 16: 564–574.
9. Gleadle JM, Rateliffe PJ, Pugh CW et al. Hypoxia-inducible factor (HIF) asparaginase hydrolase is identical to factor inhibiting HIF (FIH) and is related to the cupin structural family. *J. of Biol. Chem.* 2002; 277: 26351–26355.
10. Lee C, Kim SJ, Jeong DG et al. Structure of humane FIH reveals a unique active site pocket and interaction sites for HIF-1 and von Hippel-Lindau. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 7558–7563.
11. Hu C-J, Jyer S, Sataur A et al. Differential regulation of the transcriptional activities of hypoxia-inducible factor 1 α (HIF 1 α) and HIF-2 α in stem cells. *Molec. and Cell Biol.* 2006; 26 (9): 3514–3526.
12. Maynard MA, Qi H, Chung J et al. Multiple splice variants of the human HIF-3 α locus are targets of the VHL E3 ubiquitin ligase complex. *J Biol Chem.* 2003; 278: 11032–11040.
13. Maxwell PH, Wiesener MS, Chang GW et al. The tumor suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature.* 1999; 399: 271–275.
14. Yoon D, Pastore YD, Divoky V et al. Hypoxia-inducible factor 1 deficiency results in dysregulated erythropoiesis signaling and iron homeostasis in mouse development. *J. Biol. Chem.* 2006; 281: 25703–25711.
15. Полякова Л.А. Семейно-наследственный эритроцитоз. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 1977.
16. Ang SO, Chen H, Gordeuk V et al. Endemic polycythemia in Russia: mutation in the VHL gene. *Blood Cells, Molecules and Disease.* 2002; 28 (1): 57–62.
17. Peyssonnaud C, Zinkernagel AS, Schuepbach RA et al. Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors. *J. Clin. Invest.* 2007; 117 (7): 1926–1932.
18. Ganz T. Hemojuvencin and its role in regulating systemic iron metabolism. *Hematology.* 2006; 11: 29–35.
19. Ivan M, Kondo K, Yang H et al. HIF-1 α targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation implications for O₂ sensing. *Science.* 2001; 292: 464–468.
20. Pereg ML. Genetically heterogeneous origins of idiopathic erythrocytosis. *Hematology.* 2007; 12: 131–139.
21. Carroll VA, Ashcroft M. Role hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α versus HIF-2 α 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; 66 (12): 6264–6270.
22. Nacone DV. New method of peroxidase conjugate. *J. Biochem.* 1974; 64: 25–38.