

# ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ И ЭКСПРЕССИЮ ГЛИКОПРОТЕИНА P

УДК 615.015  
DOI: 10.17816/RCF14171-77

© **Е.Н. Якушева, И.В. Черных, А.В. Шулькин, Н.М. Попова**

ГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Рязань, Россия

Статья принята к печати 04.12.2015

## **Ключевые слова:**

гликопротеин P; белок ABCB1; функциональная активность; экспрессия; гипоксия.

## **Резюме**

Обзор литературы посвящен исследованиям *in vitro* и *in vivo*, в которых продемонстрировано изменение функционирования гликопротеина P (Pgp) под воздействием гипоксии различных видов. В большинстве научных работ показано усиление экспрессии и функциональной актив-

сти транспортера, что авторы связывают с активацией транскрипционных факторов HIF-1 и Sp1, которые описаны более подробно. Однако ряд исследований опровергает заключение об однозначной индукции активности Pgp в условиях гипоксии, что свидетельствует о сложных, характеризующихся видо- и тканеспецифичностью механизмах, вовлеченных в регуляцию работы Pgp, об их зависимости от вида гипоксии, уровня кислородного дефицита и его продолжительности, окислительно-восстановительного статуса и других параметров.

## **INFLUENCE OF DIFFERENT HYPOXIA TYPES ON P-GLYCOPROTEIN FUNCTIONAL ACTIVITY AND EXPRESSION**

© **E.N. Yakusheva, I.V. Chernykh, A.V. Shulkin, N.M. Popova**

Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia

For citation: Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy, 2016, vol. 14, No. 1, pp. 71-77

Accepted: 04.12.2015

◆ **Keywords:** P-glycoprotein; ABCB1; functional activity; expression; hypoxia.

◆ **Abstract:** The review of literature is devoted to researches *in vitro* and *in vivo* in which functioning changes P-glycoprotein (Pgp) under the influence of hypoxia of different types are shown. In the majority of scientific works activation of expression and functional activity of Pgp is

shown that authors connect with activation of HIF-1 and Sp1 which are described in more detail. However a number of researches disproves the conclusion about induction of activity of Pgp in the conditions of hypoxia that testifies about difficult mechanisms involved in regulation of Pgp activity, their dependence on a type and duration of hypoxia, redox status and other parameters.

Гипоксия — типовой патологический процесс, осложняющий течение различных заболеваний, определяющий в той или иной степени их тяжесть и исход [1]. Повышение возраста пациентов в клинической практике привело к увеличению вероятности полиморбидности, в том числе наличия у них нозологий, для патогенеза которых характерна гипоксия (сердечная и дыхательная недостаточность, нарушение мозгового кровообращения и др.) [3].

В настоящее время лечение больных фармакологическими препаратами проводится в соответствии с принципами персонифицированной медицины, которая предполагает избирательный подход к каждому пациенту с назначением конкретного лекарственного средства в определенной дозе с учетом

его индивидуальных генетических и фенотипических особенностей [2]. Эффективность и безопасность применения лекарственного препарата во многом зависит от его фармакокинетики, в регуляции которой принимают участие ферментные и транспортные системы организма, в частности микросомальные ферменты печени и белки-транспортеры, среди которых особая роль принадлежит гликопротеину P (Pgp).

Pgp, или белок ABCB1, — энергозависимый белок-транспортер, локализованный на апикальной поверхности клеточных мембран в различных тканях, функционирующий как эффлюксный насос, который препятствует проникновению в клетки широкого спектра эндогенных веществ и ксенобиотиков [7, 9].

Функциональная активность Pgp различается у представителей одного вида в результате генетических особенностей организма, а также варьирует под действием лекарственных веществ и факторов внешней и внутренней среды. При этом повышенная функциональная активность Pgp может привести к неэффективности фармакотерапии в связи со снижением всасывания лекарственных веществ в желудочно-кишечном тракте и их интенсивным выведением. С другой стороны, при ингибировании активности белка-транспортера может проявиться токсичность лекарственного средства вследствие уменьшения его экскреции [7, 9].

Учитывая вышеизложенное, для обеспечения рациональной фармакотерапии целесообразно изучение функциональной активности Pgp в условиях гипоксии. Оценить функционирование данного белка-транспортера можно путем исследования эффлюкса его субстратов на культуре клеток, гиперэкспрессирующих Pgp, определения количества иРНК гена *MDR1* человека и *mdr1* грызунов, кодирующих Pgp, анализа количества белка-транспортера и оценки фармакокинетики его маркерных субстратов (фексофенадина, дигоксина, домперидона) [7, 9].

В ряде работ проводились исследования функционирования Pgp в гипоксических условиях на культурах клеток. Так, в культуре эпителиальных и эндотелиальных клеток человека, подвергнутой гипоксическому воздействию (инкубирование при парциальном давлении кислорода 20 мм рт. ст., углекислого газа — 35 мм рт. ст.), отмечалось зависимое от продолжительности гипоксии увеличение содержания иРНК гена *MDR1* (в 2,2 и 7,1 раза по сравнению с контролем после 6 и 18 ч соответственно) и возрастание количества самого транспортера. Максимальный уровень Pgp наблюдался после 48 ч гипоксического воздействия, дальнейшего возрастания содержания белка-транспортера после увеличения продолжительности гипоксии до 72 и 96 ч не происходило. После влияния умеренной гипоксии в течение 48 и 24 ч в культурах клеток наблюдалось повышение активности Pgp, выявленное путем анализа изменений степени ингибирования верапамилом эффлюкса субстратов белка-транспортера — дигоксина и родамина-123 и оценки устойчивости клеток к доксорубину [23].

Выявлено, что 24-часовое воздействие гипоксии (инкубирование при парциальном давлении кислорода менее 0,5 мм рт. ст.) на культуру опухолевых клеток линии LS513 при физиологическом значении рН не приводило к достоверному изменению активности, оцененной по интенсивности эффлюкса даунорубина и степени экспрессии Pgp, в то время как экстрацеллюлярный ацидоз (рН=6,6) стимулировал Pgp-опосредованный эффлюкс субстрата белка-транспортера. При этом экспрессия Pgp также не претерпевала изменений, что свидетельствовало о непосредственной модуляции функциональной активности транспортера [13].

При инкубировании культуры опухолевых клеток (small normoxic multicellular tumor spheroids) в гипоксических условиях (содержание кислорода в воздухе 1%) в течение 72 ч наблюдалась интенсификация экспрессии Pgp, ассоциированная с увеличением количества гипоксия-индуцируемого фактора — 1 $\alpha$  (hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  — HIF-1 $\alpha$ ). Аналогичная картина наблюдалась и при инкубировании клеток в среде, содержащей 100 мкмоль хлорида кобальта или 130 мкмоль DFA-компонентов, вызывающих цитотоксический тип гипоксии. Авторами показано, что добавление в среду инкубации акцепторов свободных радикалов, таких как витамин E (30 мкмоль), APDC (0,2  $\mu$ M), DHA (2,5 mM) и NAC (20 мкмоль) — веществ, снижающих внутриклеточную концентрацию активных форм кислорода, приводило к росту уровня HIF-1 $\alpha$  и Pgp, а 24-часовое инкубирование клеток с перекисью водорода (200 мкмоль) и BSO (50 мкмоль) — к его снижению, что может свидетельствовать о зависимости экспрессии белка-транспортера от окислительно-восстановительного статуса клеток. При этом в условиях гипоксии количество активных форм кислорода также снижено, что, возможно, повышает стабильность белка-транспортера [36].

Введение в культуру клеток молочной кислоты или воздействие на нее гипоксических условий (8% O<sub>2</sub>) приводило к линейному возрастанию активности Pgp [32]. При ацидификации клеток опухоли предстательной железы крыс, а также при снижении рН путем интенсификации анаэробного метаболизма у крыс *in vivo* получены аналогичные результаты [28].

С другой стороны, в работе по изучению устойчивости культуры опухолевых клеток EMT6/R к ряду цитостатиков в условиях гипоксии (12-часовое влияние газовой смеси, содержащей менее 10 ppm кислорода) не выявлено корреляции между содержанием в клетках адриамицина — субстрата Pgp — и резистентностью к нему, которая была достоверно выше, чем в нормоксических условиях. При этом в течение 10 ч гипоксии не наблюдалось изменений клеточных циклов, однако к 12 ч было выявлено снижение количества клеток, находящихся на стадии S, на 10%. Кроме того, интенсивность эффлюкса адриамицина в условиях нормо- и гипоксии не отличалась. Это может служить доказательством того, что индуцированная гипоксией лекарственная устойчивость отлична от Pgp-модулируемой химиорезистентности. Следует отметить, что в данном исследовании гипоксия приводила к повышению устойчивости клеток к адриамицину, 5-флюороурацилу и актиномицину D, но не к колхицину, винкристину и цисплатину, хотя все лекарственные средства, за исключением 5-флюороцистеина и цисплатина, принадлежат к числу субстратов Pgp. При помещении клеток в среду с нормальным содержанием кислорода резистентность к химиотерапии исчезала [27].

В исследованиях устойчивости злокачественных опухолевых клеток к 5-флюороурацилу в условиях гипоксии показано, что она объясняется задерж-

кой клеточного цикла на стадии G1 из-за активации экспрессии ингибиторов митотического цикла p21 и p27 и стимуляции экспрессии циклина D; при этом активации Pgp не наблюдалось [39].

В другой работе выявлено формирование резистентности культуры клеток фибробластов легкого китайских хомячков к адриамицину и этопозиду после гипоксического воздействия (менее 0,1% кислорода в культуральной среде в течение 30 мин), причем чувствительность полностью восстанавливалась через 24 ч реоксигенации. Следует отметить, что ингибитор Pgp верапамил не модулировал резистентности клеток к адриамицину — субстрату белка-транспортера, что свидетельствует об отличии от Pgp-индуцированного механизма формирования устойчивости. С другой стороны, не исключается роль модификации структуры цитоплазматической мембраны, в связи с тем что подвергнутые гипоксии клетки приобретали также устойчивость к супероксидным радикалам. Аналогичные исследования на культурах человеческих опухолевых клеток молочной железы с различными уровнями экспрессии рецепторов к эпидермальному фактору роста и эстрогенам не выявили подобных изменений, подтверждая видо- и тканеспецифичность формирования лекарственной устойчивости в условиях дефицита кислорода [19].

Ряд исследований в изученной нами литературе был посвящен оценке экспрессии и функциональной активности Pgp в условиях гипоксии на животных. В эксперименте на 30 половозрелых крысах (две группы из 12 опытных и 18 контрольных животных) с использованием методов Western blotting и ПЦР показано повышение экспрессии Pgp в миокарде, а также увеличение количества миокардиальной и печеночной иРНК гена *mdr1a* и миокардиальной иРНК гена *mdr1b* в результате воздействия на животных интермиттирующей дыхательной гипоксии в течение двух недель [14].

В исследовании *in vivo* 48-часовое воздействие на крыс нормобарической нормокапнической гипоксической гипоксии (содержание кислорода во вдыхаемом воздухе — 8%, парциальное давление кислорода в артериальной крови — 35 мм рт. ст.) приводило к возрастанию уровня иРНК гена *mdr1b* и количества Pgp в гепатоцитах [16].

Моделирование печеночной портальной гипертензии у крыс путем частичной перевязки портальной вены приводило к стимуляции экспрессии HIF-1 $\alpha$  и Pgp в нейронах коры. Подобные изменения предположительно связаны с гипераммониемией и стабилизацией HIF-1 $\alpha$  [31].

Исследование экспрессии Pgp у 3-месячных крыс со спонтанной гипертензией, предрасположенных к инсульту (3-month-old stroke-prone spontaneously hypertensive rats), показало более интенсивную экспрессию белка-транспортера и его иРНК в сосудах гиппокампа, чем у контрольных животных, а также по сравнению с сосудами коры [34].

Моделирование на кроликах породы Шиншилла подострой гипобарической гипоксической гипоксии средней тяжести путем помещения животных в барокамеру и подъема «на высоту» 6000 м над уровнем моря приводило к увеличению функциональной активности Pgp в печени, почках и слизистой оболочке кишечника, что было выявлено по анализу фармакокинетики маркерного субстрата белка-транспортера — фексофенадина [6].

Двусторонняя окклюзия общих сонных артерий у крыс wistar приводила к возрастанию экспрессии Pgp в гематоэнцефалическом барьере в лобном, височном и теменном отделах коры головного мозга к 4-му часу ишемии в среднем на 134,8% ( $p < 0,01$ ). Более длительная двусторонняя окклюзия общих сонных артерий крыс вызывала летальный исход. Односторонняя окклюзия общей сонной артерии сопровождалась снижением экспрессии Pgp через 12 ч от момента окклюзии на 59,2% ( $p < 0,05$ ) и ее возрастанием на 5-е сутки на 65,9% ( $p < 0,05$ ). При окклюзии общей сонной артерии в течение 30 мин с последующей реперфузией в течение 30 мин, 60 мин, 1,5 ч, 4 ч, 12 ч, 24 ч, 5 суток и 14 суток наблюдалось снижение экспрессии Pgp в гематоэнцефалическом барьере через 4 и 12 ч после реперфузии на 61,3 и 74,8% ( $p < 0,05$ ) [5, 8].

Перманентная окклюзия средней мозговой артерии у крыс-самцов в течение 4 ч приводила к стимуляции экспрессии Pgp в гематоэнцефалическом барьере и нейронах головного мозга, что было выявлено методом Western blotting, а также росту функциональной активности данного белка-транспортера и снижению внутриклеточного содержания его субстратов (родамина-123, флюоресцеина натрия и нимодипина). Однако через 6 ч в зоне ишемии содержание субстратов начинало возрастать, несмотря на все еще повышенную экспрессию Pgp, что может быть связано со значительным ростом проницаемости гематоэнцефалического барьера в зоне ишемии в данный период наблюдения [11].

Аналогичные результаты получены в результате помещения монослоя культуры эндотелиальных клеток мозговых микрососудов и астроцитов крыс в среду, не содержащую глюкозы, а также воздействия на них бескислородной газовой смеси (5% CO<sub>2</sub>, 95% N<sub>2</sub>): внутриклеточное накопление родамина-123 — субстрата Pgp было снижено в первые 3 ч экспериментального воздействия из-за увеличения экспрессии и функциональной активности белка-транспортера, однако начиная с 4 ч оно постепенно увеличивалось в связи с ростом проницаемости монослоя клеток. Интенсификацию экспрессии Pgp авторы связывают с сигнальными механизмами, включающими фактор некроза опухоли —  $\alpha$ , эндотелин-1, синтазу оксида азота и протеинкиназу C [17].

В настоящее время известно, что основная роль в индукции экспрессии гена *MDR1*, кодирующего Pgp, и повышении функциональной активности

белка-транспортера в гипоксических условиях принадлежит транскрипционным факторам HIF-1 [7, 12, 13, 20, 36, 37] и specificity protein 1 (Sp1) [12].

Наиболее изучено влияние фактора HIF-1 на функционирование Pgp при гипоксии. HIF-1 — это полипептид, содержащийся в клетках всех типов, который ответственен за компенсаторно-приспособительные изменения транскрипционной активности организма в гипоксических условиях, проявляющиеся в модуляции синтеза некоторых транспортеров глюкозы, эритропоэтина, сосудистого эндотелиального ростового фактора, ряда ферментов цикла Кребса и гликолиза, а также изменении неангиогенеза и тонуса кровеносных сосудов. Кроме того, HIF-1 в определенных условиях может вызывать апоптоз, индуцируемый гипоксией [24, 21].

HIF-1 функционирует в форме белкового гетеродимера, состоящего из двух субъединиц: HIF-1 $\alpha$  (молекулярная масса 120 кДа) и HIF-1 $\beta$  (известной также как ARNT — aryl hydrocarbon nuclear translocator; молекулярная масса 91–94 кДа), каждая из которых на N-конце имеет домен типа «спираль–петля–спираль» (basic helix-loop-helix, или bHLH-домен) и зоны гомологии PER-ARNT-SIM (или PAS-домен), необходимые для димеризации и связывания с ДНК. HIF-1 $\alpha$  на C-конце содержит два трансактивационных домена, которые связывают коактиваторы, такие как CBP, p300, SRC-1 и TIF-2, активность которых угнетается внутриклеточным кислородом, а также ряд доменов, ответственных за гипоксия-индуцированную локализацию и стабилизацию полипептида [13, 24, 29].

В то время как HIF-1 $\beta$ -субъединица постоянно присутствует в клетке и способна образовывать гетеродимеры с различными молекулами, содержащими домен bHLH-PAS (basic helix-loop-helix PER-ARNT-SIM), HIF-1 $\alpha$ -субъединица является обязательным кислородчувствительным компонентом HIF-1: экспрессия ее иРНК, период полужизни молекулы и активность трансактивационного домена определяются клеточным содержанием кислорода. В условиях нормоксии она находится в форме, доступной для убиквитирования (по последовательности аминокислот 429–608) и протеосомальной деградации комплекса с убиквитинлигазой von Hippel-Lindau (VHL). Для связывания с VHL необходимо предварительное посттрансляционное гидроксилирование двух остатков пролина в положении 564 HIF-1 $\alpha$  и ацетилирование остатка пролина в ODDD-домене (oxygen dependent degradation domain) с помощью ферментативных реакций, требующих наличия кислорода и железа [24, 26].

Показано, что воздействие на культуру клеток гепатомы человека Нер 3В газовой смесью, содержащей 1% кислорода, в течение 4 ч приводило к нарастанию количества иРНК субъединиц HIF-1 $\alpha$  и HIF-1 $\beta$  с достижением максимума через 1–2 ч гипоксического воздействия. Через 4 ч уровень иРНК

обеих субъединиц возвращался к исходному, а через 16 ч гипоксии наблюдался очередной подъем ее содержания. При последующем помещении культуры клеток в газовую смесь, содержащую 20% кислорода, уровень иРНК HIF-1 $\alpha$  и HIF-1 $\beta$  становился ниже первоначального в течение 5 минут. Добавление в клеточную культуру 75 ммоль хлорида кобальта приводило к возрастанию количества иРНК обеих субъединиц через 4 ч, снижению — через 8 ч и повторному возрастанию через 16 ч экспозиции. Добавление в среду 130 ммоль дефероксамина приводило к достижению пика концентрации иРНК через 1–2 ч [35].

В условиях кислородного дефицита субъединица HIF-1 $\alpha$  стабилизируется, транспортируется в ядро и образует димер с ARNT, после чего связывается с областями ДНК, ответственными за гипоксический ответ организма, содержащими так называемые гипоксия-реактивные элементы — hypoxia response element (HRE), а также cis-активные элементы — регуляторы транскрипции (cis-acting transcriptional-regulatory element) более чем 60 генов [29], в том числе гена *MDR1*. Данная область представляет собой последовательность нуклеотидов 5'-GCGTG-3', расположенную на расстоянии от –49 до –45 пар нуклеотидов от сайта старта транскрипции [12, 14].

Снижение внутриклеточного содержания HIF-1 $\alpha$  приводит к угнетению экспрессии гена *MDR1* в условиях нормоксии и почти полностью устраняет индуцирующее влияние гипоксии на экспрессию данного гена. Делеция зоны промотора гена *MDR1*, включающего HIF-1 $\alpha$ -связывающий сайт, приводит к аналогичным результатам [12].

Стабильность HIF-1, интенсивность его экспрессии и связывания с ДНК регулируются посредством различных механизмов. Показано угнетение способности HIF-1 взаимодействовать с соответствующими областями ДНК у животных с возрастом [29]. Выявлен полиморфизм кодирующей области гена *Pro582-Ser*, экспрессирующего кислородчувствительную субъединицу HIF-1 $\alpha$  1772C>T, которая определяет различный сосудистый ответ на гипоксию. Установлено, что сочетание курения и носительства аллели 1772 T статистически значимо повышает вероятность возникновения у ее носителей аневризмы брюшной аорты [30].

HIF-1 $\alpha$  взаимодействует с белком p53, который модулирует его стабильность в гипоксических условиях [24]. Выявлено влияние NF-kB (nuclear factor kappa-B), функционирующего в форме гетеродимера субъединиц p50 или p52 с субъединицей p65, на базальную экспрессию HIF-1 $\alpha$  с увеличением количества его иРНК и уровня самого белка, а также на его активацию в условиях нормоксии [4]. В неактивном состоянии транскрипционный фактор NF-kB находится в цитоплазме в комплексе с ингибитором Ikb (inhibitor of NF-kB). Фактор некроза опухолей —  $\alpha$ , онкогены, цитокины, активные формы

кислорода и УФ-излучение приводят к фосфорилированию Ikb, его протеосомальной деградации, транспортировке активного димера NF-κB в ядро и его связыванию с генами-мишенями, в том числе с промотором гена, кодирующего HIF-1α [33].

Выявлено, что трансфекция microRNA-21 в клетки рака яичников A2780 приводила к индукции экспрессии HIF-1α [38]. Обнаружен полипептид FIH-1 (factor inhibiting HIF-1) — негативный регулятор функциональной активности трансактивационных доменов HIF-1α субъединицы, связывающийся в положении 757–826 с ее С-терминальным концом в условиях нормоксии [24].

Негативное влияние на экспрессию и активность HIF-1α оказывает транскрипционная корепрессор-гомеодомен-взаимодействующая протеинкиназа-2 (Homeodomain-interacting protein kinase-2 — HIPK2), что приводит к снижению транскрипционной активности HIF-1 и угнетению экспрессии Pgp с последующим увеличением чувствительности опухолевых клеток к адриамицину — субстрату данного белка-транспортера. Причем данное влияние выявлено в условиях как нормо-, так и гипоксии [25].

HIF-1-связывающий сайт на промоторе гена *MDR1* включает также область контакта с транскрипционным фактором Sp1. Транскрипционный фактор Sp1 является наиболее активным индуктором экспрессии и относится к I подгруппе Sp/KLF-семейства [18]. Представители семейства Sp-белков (называемые также krüppel-like factors — KLF) связываются с так называемыми Sp1-сайтами (GC-бокс, GT-бокс, CACCC-бокс) промоторов или энхансеров различных генов и регулируют их экспрессию, участвуя в клеточной пролиферации, ангиогенезе, апоптозе и опухолевой прогрессии. Их молекулы включают три высококонсервативных ДНК-связывающих домена (65% сходства нуклеотидной последовательности у различных членов семейства), каждый из которых формирует структуру типа «цинковый палец» на С-конце и способствует связыванию транскрипционного фактора с соответствующими участками генома и межбелковым взаимодействиям, вариантный N-концевой домен, ответственный за трансактивационную или ингибирующую активность и способность связываться с корепрессорами и коактиваторами, а также структуру, регулирующую ядерную локализацию фактора [10, 15, 18, 22]. В активации и ингибировании экспрессии генов под влиянием членов Sp1/KLF-семейства ведущая роль отводится деацетилированию и ацетилированию гистонов [18].

Установлено, что угнетение экспрессии транскрипционного фактора Sp1 с помощью антисмысловых нуклеотидов приводило к снижению активности промотора гена *MDR1*, однако в меньшей степени, чем при ингибировании экспрессии HIF-1α. Это свидетельствует о том, что Sp1 совместно с HIF-1 способствует индукции экспрессии Pgp в условиях кислородного дефицита [12].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в исследованиях *in vitro* и *in vivo* продемонстрировано изменение функционирования Pgp под воздействием гипоксии различных видов. В большинстве научных работ показано усиление экспрессии и функциональной активности транспортера, что авторы связывают с активацией транскрипционных факторов HIF-1 и Sp1. Однако ряд исследований опровергает заключение об однозначной индукции активности Pgp в условиях гипоксии, что свидетельствует о сложных, характеризующихся видо- и тканеспецифичностью механизмах, вовлеченных в регуляцию работы Pgp, их зависимости от вида гипоксии, уровня кислородного дефицита и его продолжительности, окислительно-восстановительного статуса и других параметров.

Более детальное изучение экспрессии и функциональной активности белка-транспортера в гипоксических условиях и выявление механизмов их изменения будет способствовать уточнению фармакокинетики лекарственных средств — субстратов Pgp у пациентов с заболеваниями, в развитии которых существенную роль играет гипоксия.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ Р\_а 16-44-620292.

## ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Бизенкова М. Н., Чеснокова Н. П., Романцов М. Г., и др. Активация процессов липопероксидации — эфферентное звено дезинтеграции клеточных структур при острой гипоксической гипоксии // Усп. совр. естествознания. — 2007. — № 9. — С. 17–22. [Bizenkova MN, Chesnokova NP, Romantsov MG, et al. Activation of processes of lipoperoxidation — an efferent link of disintegration of cellular structures at a acute hypoxemic hypoxia. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. 2007;9:17-22. (In Russ).]
2. Кукес В. Г., Грачев С. В., Сычев Д. А., Раменская Г. В. Метаболизм лекарственных средств. Научные основы персонализированной медицины: руководство для врачей. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. [Kukes VG, Grachev SV, Sychev DA, Ramenskaya GV. Metabolism of drugs. Scientific fundamentals of the personalized medicine: Handbook for doctors. Moscow: Geotar-Media; 2008. (In Russ).]
3. Переверзева К. Г., Воробьев А. Н., Марцевич С. Ю., и др. Анализ тактики ведения пациентов с ишемической болезнью сердца и фибрилляцией предсердий в реальной поликлинической практике // Наука молодых — Juvenium. — 2015. — № 1. — С. 48–55. [Pereverzeva KG, Vorobyev AN, Martsevich SY, et al. Analysis of management tactics in patients with coronary artery disease and atrial fibrillation in real outpatient practices. *Nauka molodykh — Eruditio Juvenium*. 2015;1:48-55. (In Russ).]

4. Спирина Л. В., Кондакова И. В., Усынин Е. А., Юрмазов З. А. Регуляция экспрессии транскрипционных факторов и фактора роста эндотелия протеосомальной системой при метастазировании рака почки // Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. – 2012. – Т. 23. – № 1. – С. 27–31. [Spirina LV, Kondakova IV, Usynin EA, Yurmazov ZA. Regulation of the expression factors of transcription and the factor of endothelium growth by proteosomal system at the metastasis kidney cancer. *Vestnik Rossijskogo onkologicheskogo centra imeni N. N. Blohina Rossijskoj akademii medicinskih nauk*. 2012;23 (1):27-31. (In Russ).]
5. Черных И. В., Якушева Е. Н., Шулькин А. В., и др. Экспрессия гликопротеина Р в гематоэнцефалическом барьере при двусторонней окклюзии общих сонных артерий // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия «Медицина. Фармация». – 2015. – Т. 29. – № 4. – С. 91–95. [Chernykh IV, Yakusheva EN, Shulkin AV, et al. P-glycoprotein expression in blood-brain barrier in bilateral occlusion of the common carotid artery. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Medicina. Farmaciya*. 2015;29(4):91-95. (In Russ).]
6. Якушева Е. Н., Черных И. В. Влияние экспериментальной подострой гипобарической гипоксической гипоксии на функциональную активность гликопротеина Р // Российский медико-биологический вестник им. акад. И. П. Павлова. – 2013. – № 1. – С. 60–64. [Yakusheva EN, Chernykh IV. The influence of experimental subacute hypobaric hypoxia on P-glycoprotein functional activity. *Rossiyskiy mediko-biologicheskij vestnik imeni akademika I. P. Pavlova*. 2013;1:60-64. (In Russ).]
7. Якушева Е. Н., Черных И. В., Бирюкова А. С. Характеристика гликопротеина Р как белка – транспортера лекарственных веществ // Российский медико-биологический вестник им. акад. И. П. Павлова. – 2011. – № 3. – С. 142–148. [Yakusheva EN, Chernykh IV, Biruicova AS. Characteristic of P-glycoprotein as a drug peptide transporter. *Rossiyskiy mediko-biologicheskij vestnik imeni akademika I. P. Pavlova*. 2011;3:142-148. (In Russ).]
8. Якушева Е. Н., Черных И. В., Шулькин А. В., Виноградов И. Ю. Экспрессия гликопротеина в головном мозге крыс при окклюзии общей сонной артерии // Российский медико-биологический вестник им. акад. И. П. Павлова. – 2015. – № 4. – С. 44–50. [Yakusheva EN, Chernykh IV, Shulkin AV, Vinogradov IY. P-glycoprotein expression in brain during ischemia-reperfusion. *Rossiyskiy mediko-biologicheskij vestnik imeni akademika I. P. Pavlova*. 2015;4:44-50. (In Russ).]
9. Якушева Е. Н., Черных И. В., Шулькин А. В., Попова Н. М. Гликопротеин: структура, физиологическая роль и молекулярные механизмы модуляции функциональной активности // Усп. физиол. наук. – 2014. – Т. 45. – № 4. – С. 89–98 [Yakusheva EN, Chernykh IV, Shulkin AV, Popova NM. P-glycoprotein: structure, physiological role and molecular mechanisms of modulation functional activity. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*. 2014;45 (4):89-98. (In Russ).]
10. Black AR, Black JD, Azizkhan-Clifford J. Sp1-and kruppel-like factor family of transcription factors in cell growth regulation and cancer. *J Cell Physiol*. 2001;188: 2:143-160. doi: 10.1002/jcp.1111.
11. Cen J, Liu L, He L, et al. Alteration in P-glycoprotein at the blood–brain barrier in the early period of MCAO in rats. *J Pharm Pharmacol*. 2013;65:665–672. doi: 10.1111/jphp.12033.
12. Comerford KM, Wallace TJ, Karhausen J, et al. Hypoxia-inducible Factor-1-dependent Regulation of the Multidrug Resistance (*MDR1*). *Gene Cancer Res*. 2002;62:3387-3394.
13. Ding ZJ, Yang L, Xie X, et al. Expression and significance of hypoxia-inducible factor-1 alpha and *MDR1*/P-glycoprotein in human colon carcinoma tissue and cells. *Cancer Res Clin Oncol*. 2010;136:1697-1707. doi: 10.1007/s00432-010-0828-5.
14. Dopp JM, Moran JJ, Abel JN, et al. Influence of intermittent hypoxia on myocardial and hepatic P-glycoprotein expression in a rodent model. *Pharmacotherapy*. 2009;29:365-372. doi: 10.1592/phco.29.4.365.
15. Fernandez-Zapico ME, Lomberk AG, Tsuji S, et al. A functional family-wide screening of SP/KLF proteins identifies a subset of suppressors of KRAS-mediates cell growth. *Biochem J*. 2011;435:529-537. doi: 10.1042/BJ20100773.
16. Fradette C, Batonga J, Teng S, et al. Animal models of acute moderate hypoxia are associated with a down-regulation of CYP1A1, 1A2, 2B4, 2C5, and 2C16 and up-regulation of CYP3A6 and P-glycoprotein in liver. *Drug Metab Dispos*. 2007;35:765-771. doi: 10.1124/dmd.106.013508.
17. Ji BS, Cen J, He L, et al. Modulation of P-glycoprotein in rat brain microvessel endothelial cells under oxygen glucose deprivation. *J Pharm Pharmacol*. 2013;65:1508-1517. doi: 10.1111/jphp.12122.
18. Kaczynski J, Cook T, Urrutia R. Sp1-and Kruppel-like transcription factors. *Genome Biol*. 2003;4:206. doi: 10.1186/gb-2003-4-2-206.
19. Kalra R, Jones AM, Kirk J, et al. The effect of hypoxia on acquired drug resistance and response to epidermal-growth factor in Chinese hamster lung fibroblasts and human breast-cancer cells *in vitro*. *Int J Cancer*. 1993;54:650-655. doi: 10.1002/ijc.2910540421.
20. Liu L, Ning X, Sun L, et al. Hypoxia-inducible factor-1 alpha contributes to hypoxia-induced chemoresistance in gastric cancer. *Cancer Sci*. 2008;99:121-128.
21. 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/embor.2010.170.
22. Lomberk G, Urrutia R. The family feud: turning off Sp1 by Sp1-like KLF-proteins. *Biochem J*. 2005;392:1-11. doi: 10.1042/BJ20051234.
23. Lotz C, Kekkeher DK, Gassner B, et al. Role of the tumor microenvironment in the activity and expression of the P-glycoprotein in human colon carcinoma cells. *Oncol Rep*. 2007;17:239-244. doi: 10.3892/or.17.1.239.
24. Mahon PC, Hirota K, Semenza GL. FIH-1: a novel protein that interacts with HIF-1 $\alpha$  and VHL to mediate repression

- of HIF-1 transcriptional activity. *Genes Dev.* 2001;2675-2686. doi: 10.1101/gad.924501.
25. Nardinocchi L, Puca R, Sacchi A, D'Orazi G. Inhibition of HIF-1 $\alpha$  activity by homeodomain-interacting protein kinase-2 correlates with sensitization of chemoresistant cells to undergo apoptosis. *Mol Cancer.* 2009;8:1. Published online 2009 January 7. doi: 10.1186/1476-4598-8-1PMCID: PMC2628864.
  26. Qingdong K, Costa M. Hypoxia-Inducible Factor-1 (HIF-1). *Mol Pharmacology.* 2006;70:1469-1480. doi: 10.1124/mol.106.027029.
  27. Sakata K, Kwok TT, Murphy BJ, et al. Hypoxia-induced drug resistance: comparison to P-glycoprotein-associated drug resistance. *B J Cancer.* 1991;64:809-814. doi: 10.1038/bjc.1991.405.
  28. Sauvant C, Novak M, Wirth K, et al. Acidosis induces multi-drug resistance in rat prostate cancer cells (AT1) *in vitro* and *in vivo* by increasing the activity of the P-glycoprotein via activation of p38. *Int J Cancer.* 2008;123(11):2532-2542. doi: 10.1002/ijc.23818.
  29. Semenza GL. Surviving ischemia: adaptive responses mediated by hypoxia-inducible factor 1. *J Clin Invest.* 2000;106:809-812. doi: 10.1172/JCI11223.
  30. Strauss E, Waliszewski K, Oszkinis G, Staniszewski R. Gene-environment interaction for the HIF1-A 1772C>T polymorphisms and cigarette smoking increase susceptibility to abdominal aortic aneurysm. *Przegl Lek.* 2012;69:744-749.
  31. Tallis S, Caltana LR, Souto PA, et al. Changes in CNS cells in Hyperammonemic portal hypertensive rats. *J Neurochem.* 2014;128:431-444. doi: 10.1111/jnc.12458.
  32. Thews O, Dillenburg W, Fellner M, et al. Activation of P-glycoprotein (Pgp)-mediated drug efflux by extracellular acidosis: *in vivo* imaging with (68)Ga-labelled PET tracer. *Eur J Med Mol Imaging.* 2010;37:1935-1942. doi: 10.1007/s00259-010-1504-3.
  33. Uden PV, Kenneth NS, Rocha S. Regulation of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  by NF- $\kappa$ B. *Biochem J.* 2008;412:477-484. doi: 10.1042/BJ20080476.
  34. Ueno M, Nakagawa T, Huang CI, et al. The expression of P-glycoprotein is increased in vessels with blood-brain barrier impairment in a stroke-prone hypertensive model. *Neuropathol.* 2009;35:147-155. doi: 10.1111/j.1365-2990.2008.00966.x.
  35. Wang GL, Jang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O<sub>2</sub> tension. *Proc Natl Acad Sci.* 1995;92:5510-5514. doi: 10.1073/pnas.92.12.5510.
  36. Wartenberg V, Ling V, Mushen M, et al. Regulation of the multidrug resistance transporter P-glycoprotein in multicellular tumor spheroids by hypoxia-inducible factor-1 and reactive oxygen species. *FASEB J.* 2003;17:503-505. doi: 10.1096/fj.02-0358fje.
  37. Xie J, Li DW, Chen XW, et al. Expression and significance of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and *MDR1*/P-glycoprotein in laryngeal carcinoma tissue and hypoxic Hep-2 cells. *Oncol Lett.* 2013;61:232-238.
  38. Xie Z, Cao L, Zhang J. miR-21 modulates paclitaxel sensitivity and hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  expression in human ovarian cancer cells. *Oncol Lett.* 2013;63:795-800.
  39. Yoshida S, Ito D, Nagumo T, et al. Hypoxia induces resistance to 5-fluorouracil in oral cancer cells via G (1) phase cell cycle arrest. *Oral Oncol.* 2009;45:109-115. doi: 10.1016/j.oraloncology.2008.04.002.

◆ Информация об авторах

*Елена Николаевна Якушева* — д-р мед. наук, проф., заведующая кафедрой фармакологии с курсом фармации факультета дополнительного профессионального образования. ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава РФ. E-mail: e.yakusheva@rzgmu.ru.

*Иван Владимирович Черных* — канд. мед. наук, ассистент кафедры общей химии с курсом биорганической и органической химии. ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава РФ. E-mail: ivchernykh88@mail.ru.

*Алексей Владимирович Шулькин* — канд. мед. наук, ассистент кафедры фармакологии с курсом фармации факультета дополнительного профессионального образования. ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава РФ. E-mail: alekseyshulkin@rambler.ru.

*Наталья Михайловна Попова* — канд. мед. наук, старший преп. каф. фармакологии с курсом фармации факультета дополнительного профессионального образования. ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава РФ. E-mail: p34-66@yandex.ru.

*Elena N. Yakusheva* — M.D., professor, head of the chair of pharmacology with a course of pharmacy of faculty of additional professional education. Ryazan State Medical University. E-mail: e.yakusheva@rzgmu.ru.

*Ivan V. Chernykh* — M.D., Ph.D., assistant of the chair of the general chemistry with a course of bioorganic and organic chemistry. Ryazan State Medical University. E-mail: ivchernykh88@mail.ru.

*Aleksey V. Shulkin* — Ph.D., assistant of the chair of pharmacology with a course of pharmacy of faculty of additional professional education. Ryazan State Medical University. E-mail: alekseyshulkin@rambler.ru.

*Natalia M. Popova* — Ph.D., assistant of the chair of pharmacology with a course of pharmacy of faculty of additional professional education. Ryazan State Medical University. E-mail: p34-66@yandex.ru.