

**В.И. Портниченко, В.И. Носарь, А.Г. Портниченко,
Т.И. Древицкая, А.М. Сидоренко, И.Н. Маньковская**

Фазовые изменения энергетического метаболизма при периодической гипоксии

Крыс-самцов линии Вистар подвергли действию периодической гипобарической гипоксии (ПГГ) путем «подъема» в барокамере на «высоту» 5600 м в течение 1 ч каждые 3 сут (6 сеансов). Исследовали динамику потребления кислорода (VO_2) и температуры тела (T_t), а также экспрессии генов HIF-1 α , HIF-3 α и митохондриального дыхания в желудочках сердца. На основании полученных результатов нами выделены четыре фазы физиологических изменений. Первая фаза, гипометаболическая (1-й–3-й сеансы), характеризуется снижением VO_2 и T_t , индукцией HIF-1 α и HIF-3 α с отсроченной транзиторной стимуляцией метаболизма в ответ на каждый сеанс гипоксии. В митохондриях сердца увеличиваются скорость фосфорилирующего (V_3) и контролируемого дыхания (V_4), однако снижается дыхательный контроль (V_3/V_4) и соотношение АДФ/О. Во второй, переходной, фазе (3-й–4-й сеансы) происходит перестройка метаболизма и снижение его гипоксической реактивности. Третья фаза, гиперметаболическая (4-й–5-й сеансы), характеризуется усилением метаболизма и компенсацией гипоксических нарушений. Четвертая фаза (после 5-го сеанса) – состояние метаболической адаптации с нормализацией VO_2 и T_t , экспрессии HIF-1 α и HIF-3 α , митохондриального дыхания, повышением окисления НАД-зависимых углеводных и липидных субстратов. Таким образом, в период ПГГ происходит последовательная перестройка процессов транспорта кислорода, тканевого дыхания и термогенеза, опосредованная индукцией субъединиц HIF.

Ключевые слова: периодическая гипоксия, митохондрии, HIF-1 α , HIF-3 α , гипометаболическое состояние, потребление кислорода.

ВВЕДЕНИЕ

Периодическая гипоксия оказывает многогранное воздействие на организм человека и животных. Установлено ее протекторное влияние на сердечно-сосудистую, дыхательную, нервную, мышечную и костную системы [1, 2, 11, 13, 14]. Показана целесообразность применения гипоксических стимулов в тренировочном режиме спортсменов [11]. Согласно концепции перекрестной адаптации [2, 14], развитие устойчивости к одному фактору так же усиливает толерантность к другим, что позволяет с помощью периодических гипоксических сеансов повышать резистентность к стрессорным факторам и условиям тяжелой высокогорной гипоксии.

В современных работах подчеркивается ключевая роль метаболической перестройки митохондрий в формировании адаптации к гипоксии [1, 4, 11]. Тем не менее, несмотря на достаточно широкий спектр исследований по изучению прерывистой гипоксии [11], до сих пор только фрагментарно охарактеризованы изменения энергетического обмена в процессе гипоксических тренировок.

Периодическая гипобарическая гипоксия (ПГГ) состоит из серии острых гипоксических воздействий с достаточно продолжительными нормоксическими перерывами (от одних до нескольких суток), а прерывистая (intermittent) гипоксия характеризуется гипоксическими и нормоксическими эпизо-

© В.И. Портниченко, В.И. Носарь, А.Г. Портниченко, Т.И. Древицкая, А.М. Сидоренко, И.Н. Маньковская

дами, продолжительность которых исчисляются минутами. Эти отличия, прежде всего, могут быть связаны с функцией клеточного кислородного сенсора HIF-1 α , который стабилизируется при недостатке кислорода и дестабилизируется при нормоксии [18]. Поэтому активность HIF-1 α как фактора транскрипции адаптивных генов может существенно различаться в зависимости от гипоксического режима. Для экспрессии индуцибельных генов, как правило, необходимо несколько часов, а для генов-эффекторов клеточного стресса, к которому можно отнести и кислородную депривацию, несколько суток [17]. Наложение нового гипоксического эпизода в периоде активной острой адаптации способно внести разнонаправленные коррективы в приспособительные процессы, опосредованные генетической активацией. Однако отличия гипоксических режимов с точки зрения индукции адаптивных генов чрезвычайно мало изучены.

Установлено, что сразу после острой гипоксии наблюдается гипометаболическая реакция [8, 15], сопровождающаяся снижением потребления кислорода (VO_2) и температуры тела (Тт), а также модуляцией содержания глюкозы [4] у мелких лабораторных животных. Она вызывается комплексом приспособительных реакций, которые организм этих животных выработал в процессе эволюции, попадая в условия гипоксии.

Таким образом, возникает закономерный вопрос: как эта гипометаболическая реакция влияет на проведение следующего сеанса гипоксии, какие изменения происходят с аэробной частью энергетического обмена в период после сеанса, в ответ на следующий сеанс, сохраняется ли гипометаболическая реакция в процессе ПГТ? К сожалению, на эти вопросы мы не нашли ответов в современной литературе. Для изучения таких процессов наиболее целесообразным является проведение гипоксических сеансов с периодичностью каждые 3–4 сут, что адекватно соотносится со сроками экспрессии адаптивных генов.

Данные наших предыдущих исследований [4] подтвердили, что именно этот срок можно считать ключевой точкой формирования метаболических изменений. На 3-и сутки после острой гипоксии гипометаболическая реакция достигала максимальных значений, а затем наступала активация метаболизма.

Целью работы было определить основные закономерности изменения аэробной части энергетического обмена, возникающие при проведении периодической гипоксии, на основании изучения газообмена и Тт как физиологических показателей, определяющих состояние аэробной части энергетического обмена, а также митохондриального дыхания в миокарде как основного показателя, отражающего состояние биохимических процессов в одном из центральных органов, обеспечивающих доставку кислорода к тканям.

МЕТОДИКА

Исследования проводили на крысах-самцах линии Вистар в возрасте 6 мес, которых подвергали воздействию ПГТ (6 сеансов «подъема» в барокамере на «высоту» 5600 м в течение 1 ч каждые 3 сут). Показатели дыхания и газообмена изучали на автоматизированной установке [2]. Ректальную Тт измеряли с помощью электротермометра для мелких лабораторных животных.

Образцы тканей отбирали через 24 ч после сеанса ПГТ. Крыс гепаринизировали, под уретановым наркозом (1,5 г/кг) извлекали сердце и отделяли правый желудочек от левого (с перегородкой). Митохондрии сердца выделяли методом дифференциального центрифугирования в условиях, при которых сохранялась их нативность [12]. Процессы дыхания и окислительного фосфорилирования исследовали полярографическим методом [6]. Среда выделения содержала (ммоль/л): KCl – 120, HEPES – 10, K₂CO₃ – 2, EGTA – 2; 0,2% БСА (рН 7,4). Среда инкубации содержала (ммоль/л): KCl – 120, HEPES – 10, NaH₂PO₄ – 5 (рН 7,4). Испол-

зовали субстраты окисления: сукцинат – 1 ммоль/л (Ск) в присутствии ротенона – 2 мкмоль/л; глутамат – 3 ммоль/л + малат – 2,5 ммоль/л (Г+М); пальмитоил – DL – карнитин – 25 мкмоль/л + малат – 2,5 ммоль/л (Пм+М). Дыхание стимулировали 200 мкмоль/л АДФ. Разобщение дыхательного контроля (РДК) митохондрий инициировали добавлением СССР (2 мкмоль/л). Рассчитывали скорость фосфорилирующего (V3) и контролируемого дыхания (V4), дыхательный контроль (V3/V4) [6], коэффициент эффективности фосфорилирования (АДФ/О) [7]. Концентрацию белка определяли по методу Лоури.

Экспрессию генов изучали методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией, как описано ранее [10, 16]. РНК выделяли с помощью набора Trizol RNA-Prep («Isogene», Россия). Обратную транскрипцию проводили с использованием RevertAid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit («Fermentas», Литва). Для амплификации использовали следующие праймеры: прямой – 5'-TCA TCA STA TCG GCA ATG AGC-3', обратный – 5'-GGC CAG GAT AGA GCC ACC A-3' для гена β-актина; прямой – 5'-TGC TTG GTG CTG ATT TGT GAA-3', обратный – 5'-TAT CGA GGC TGT GTC GAC TGAG-3' для гена HIF-1α; прямой – 5'-AGA GAA CGG AGT GGT GCT GT-3', обратный – 5'-ATC AGC CGG AAG AGG ACT TT – 3' для гена HIF-3α. Амплификацию осуществляли в термоциклере «GeneAmp System 2700» («Applied Biosystems», США). Состояла она из 34 циклов: денатурация – 94 °С (1 мин), отжиг праймеров – 58 °С (50 с) и элонгация – 74 °С (1 мин). Визуализацию амплификатов после горизонтального электрофореза проводили с помощью трансиллюминатора и программного обеспечения ViTran («Биоком», Россия), уровень экспрессии определяли как отношение яркости амплификата исследуемого гена к яркости амплификата гена β-актина для каждого животного. Статистическую обработку проводили с использованием статистического пакета ANOVA.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения закономерностей изменений аэробной части энергетического обмена исследовали изменения VO_2 организмом в динамике ПГГ (рис. 1). Исходные показатели газообмена у крыс составляли: VO_2 – (15,09±2,02) мл · мин⁻¹ · кг⁻¹; VCO_2 – (13,25 ±2,56) мл · мин⁻¹ · кг⁻¹. Газообмен перед каждым сеансом гипоксии представлено на рис. 1,а; его состояние сразу после сеанса гипоксии, отражающее острую реакцию газообмена – на рис. 1,б; изменения

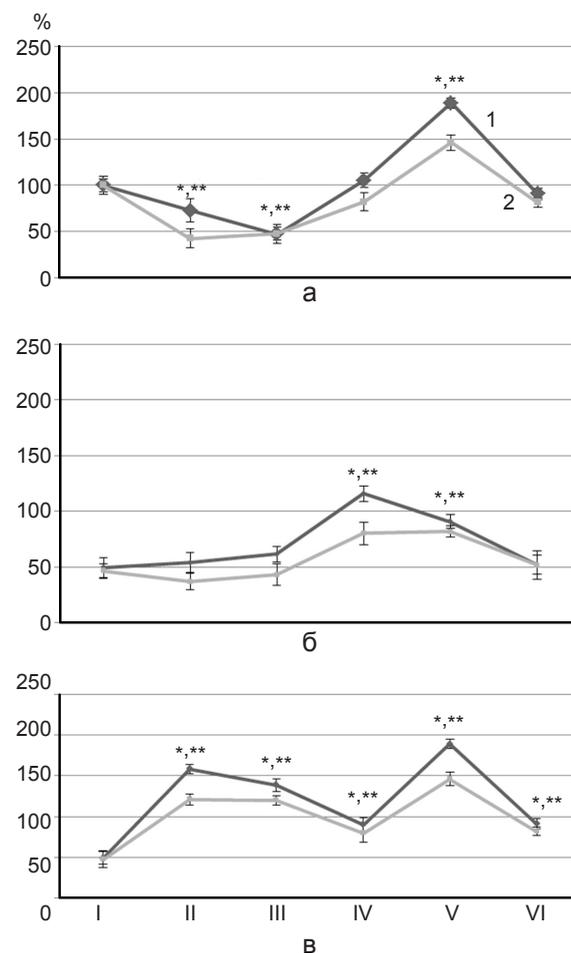


Рис. 1. Потребление кислорода в динамике периодической гипобарической гипоксии у крыс: до подъема (а), после (б) и через сутки (в) после подъема (% по отношению к исходным значениям): 1 – VO_2 , 2 – VCO_2 . * $P < 0,05$ – по сравнению с исходными значениями для VO_2 , ** $P < 0,05$ – по сравнению с исходными значениями для VCO_2 . По оси абсцисс – номер сеанса

показателей через сутки после каждого сеанса, которые показывают срочные изменения экспрессии генов и обусловленную этим метаболическую перестройку – на рис. 1, в.

Обнаружен волнообразный характер изменений газообмена в течение первых 3 сеансов ПГГ (см. рис. 1, а–в). Гипоксическое воздействие приводило к значительному снижению VO_2 сразу после сеанса, показатели оставались сниженными и к началу следующего сеанса. Однако через сутки после 2-го и 3-го сеансов происходило транзитное повышение газообмена (см. рис. 1а, в). В дальнейшем динамика приобретала иной характер. Перед 4-м сеансом ПГГ наблюдали нормализацию VO_2 с последующим отсутствием значительной реакции со стороны этого показателя на сеанс гипоксии. Перед 5-м сеансом и после него VO_2 было значительно повышенным. Последний сеанс характеризовался нормализацией показателей.

Исходная T_t у крыс составляла $36,67 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,08 \text{ }^\circ\text{C}$, а характер ее изменений во многом соответствовал динамике потребления кислорода (рис. 2). Однако реакция T_t на 1, 2 и 3-й сеансы гипоксии была отсроченной. Если увеличение VO_2 после 2-го и 3-го подъемов происходило через сутки, то повышение T_t наблюдалось только перед следующим подъемом. Рост и нормализация T_t в ходе 4–6 сеансов также происходили несколько позже соответствующих изменений газообмена.

На основании представленных результатов можно выделить четыре фазы физиологических изменений. Первая – гипометаболическая (1–3-й сеансы), при которой наблюдается выраженная гипометаболическая реакция энергетического обмена, проявляющаяся снижением VO_2 и T_t с транзитной отсроченной стимуляцией метаболизма в ответ на каждый сеанс гипоксии. Вторая – переходная (3–4-й сеансы), в это время происходит перестройка метаболизма и снижение его гипоксической реактивности. Третья (4–5-й сеансы) – гиперметаболическая, которая характеризуется усилением метаболизма и

компенсацией гипометаболического состояния, в эту фазу, по-видимому, происходит компенсация «кислородного долга», накопленного за первую фазу ПГГ. Четвертая фаза (после 5-го сеанса) – состояние метаболической адаптации, в это время VO_2 и T_t может нормализоваться или даже снизиться.

Волнообразный характер реакции на сеансы ПГГ в первой фазе у мелких животных можно объяснить резким снижением VO_2 и T_t сразу после сеанса гипоксии. При этом снижение VO_2 в значительной мере обусловлено не перестройкой работы энергетического обмена тканей, а снижением T_t , которое влечет за собой уменьшение скорости работы дыхательных ферментов, обусловленное температурным сдвигом константы Михаэлиса. Этот процесс даже позволил выдвинуть теорию о «ложном гипометаболизме» у мелких животных, обитающих в глубоких норах в условиях гипоксии [5]. Во второй фазе, на фоне развившегося гипометаболического состояния, волнообразная реакция хотя и сохранялась, но была менее существенна.

Для объяснения процессов метаболической перестройки, связанных с работой дыхательных ферментов, определяли показатели

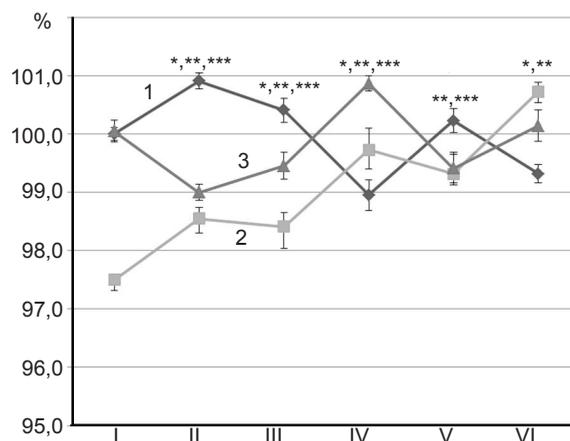


Рис. 2. Ректальная температура тела в динамике периодической гипобарической гипоксии у крыс: до подъема (1), после (2) и через сутки (3) после подъема (% по отношению к исходным значениям). * ($P < 0.05$) в сравнении с исходными данными в группе 1, ** ($P < 0.05$) в сравнении с исходными данными в группе 2, *** ($P < 0.05$) в сравнении с исходными данными в группе 3. По оси абсцисс – номер сеанса

функционального состояния митохондрий. Митохондриальный ферментный комплекс миокарда, помимо собственно кислородной депривации, подвергается при гипоксии дополнительной нагрузке, связанной с основной ролью сердца в системной компенсации сниженной доставки кислорода к тканям. Поэтому изменения их функционального состояния должны наиболее интенсивно регулироваться в период адаптации к гипоксии.

Исследования проводились с применением трех различных субстратов окисления для митохондрий – Ск, Гл + М и Пм + М. Наблюдали выраженный фазный характер изменений как активного фосфорилирования, так и контролируемого дыхания в митохондриях (рис. 3, А,Б), которые полностью соответствовали изменениям VO_2 через сутки после сеанса ПГГ (см. рис. 1,в). В первой фазе наблюдали значительное увеличение

окисления всех субстратов митохондрий после 1-го сеанса, особенно значительно возросло значение V3 при окислении Ск как в левом, так и в правом желудочках, которое оставалось высоким после 3-го сеанса (см. рис. 3,а,Б). Значение V4 при окислении Ск существенно возросло после 3-го сеанса (см. рис. 3,б,Б). В дальнейшем, после 5-го и 6-го подъемов наблюдалось резкое снижение V3 и V4 при окислении всех субстратов с приближением к исходному уровню.

Различия в правом и левом желудочках были связаны с окислением Пм + М, которое увеличивалось после 3-го сеанса в правом желудочке и затем стабилизировалось (см. рис. 3,А). В левом желудочке скорость активного дыхания Пм + М в состоянии V3 после 3-го сеанса достоверно не изменялась. Следует отметить, что в обоих желудочках активное дыхание V3 при окислении Пм +

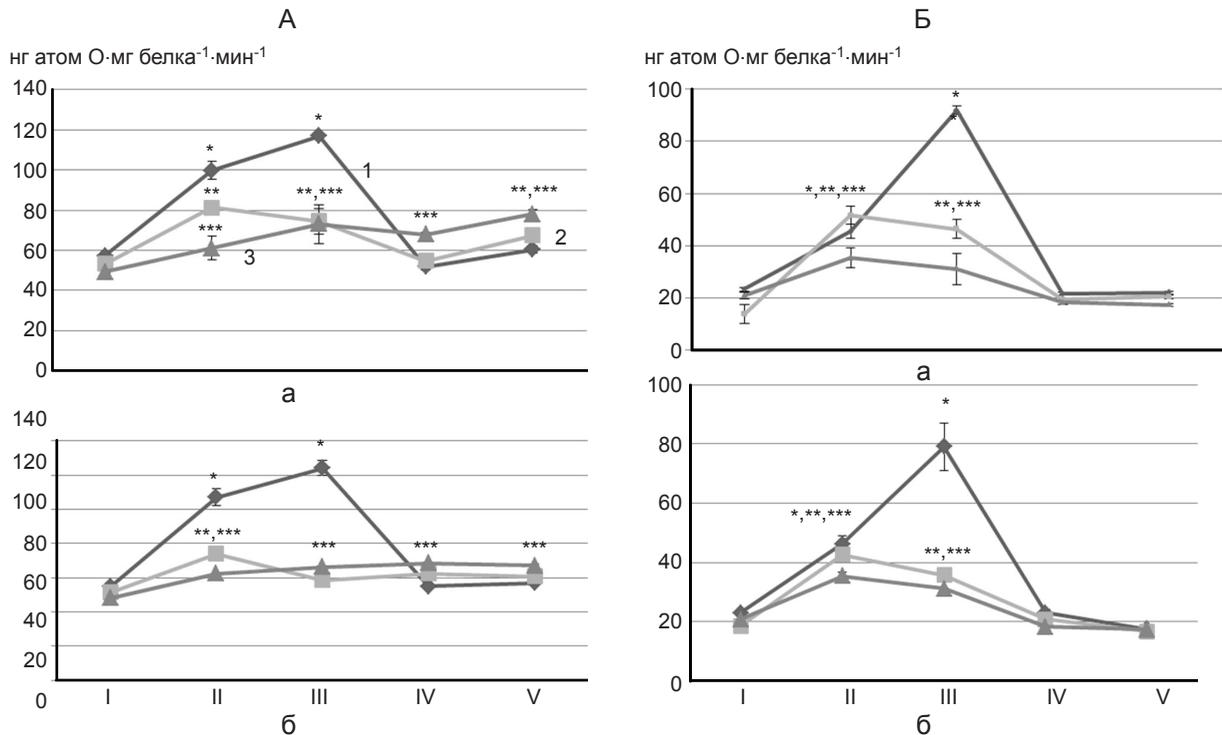


Рис. 3. Дыхание митохондрий миокарда в активном фосфорилирующем V3 (А) и контролируемом V4 (Б) состояниях в динамике периодической гипобарической гипоксии у крыс: 1 – сукцинат, 2 – глутамат, 3 – пальмитоил. По оси абсцисс: I – контроль, II – 1-й подъем, III – 3-й подъем, IV – 5-й подъем, V – 6-й подъем. * $P<0,05$ – по сравнению с контролем при использовании сукцината, ** $P<0,05$ – по сравнению с контролем при использовании глутамата, *** $P<0,05$ – по сравнению с контролем при использовании пальмитоида

М после 5-го и 6-го сеансов было достоверно выше исходного уровня.

Дыхательный контроль (рис. 4) уменьшался в первой фазе вплоть до 3-го сеанса при окислении Ск, Гл + М и Пм + М, более выражено в правых отделах сердца. Та же картина наблюдалась в левом желудочке, но соотношение V3/V4 при окислении Пм + М возрастало, становясь достоверно выше такового при окислении других субстратов. В третьей фазе, после 5-го сеанса значительно увеличивается степень сопряженности окисления с фосфорилированием (V3/V4) при окислении всех субстратов, однако более всего – при окислении Пм + М. В этот период показатель V3/V4 достигал своего максимума

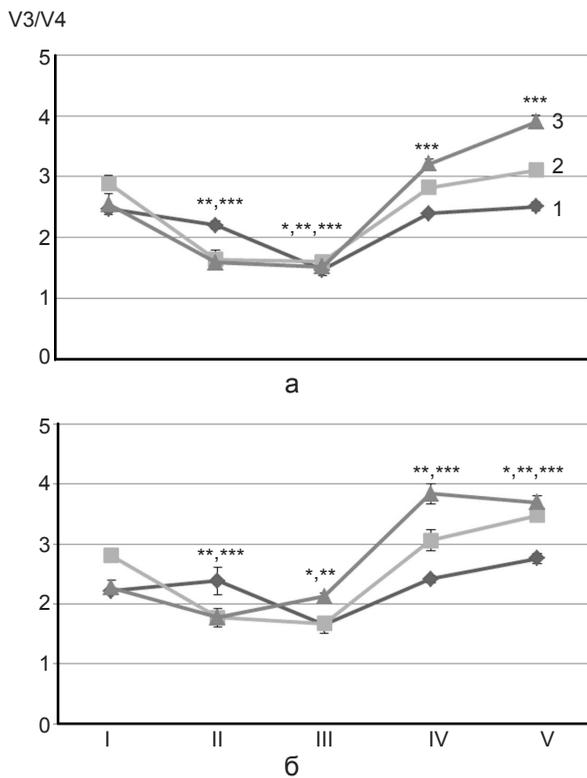


Рис. 4. Дыхательный контроль митохондрий миокарда в динамике периодической гипобарической гипоксии у крыс: 1 – сукцинат, 2 – глутамат, 3 – пальмитоил. По оси абсцисс: I – контроль, II – 1-й подъем, III – 3-й подъем, IV – 5-й подъем, V – 6-й подъем. *P<0,05 – по сравнению с контролем при использовании сукцината, **P<0,05 – по сравнению с контролем при использовании глутамата, ***P<0,05 – по сравнению с контролем при использовании пальмитоила

в левом желудочке и оставался стабильным после 6-го сеанса. В правом желудочке он увеличивался еще значительно (см. рис. 4). Значение V3/V4 при окислении Гл + М и Ск в правом желудочке достигали исходного уровня через сутки после 5-го сеанса и затем стабилизировались, а в левом желудочке возрастало до конца эксперимента.

Для оценки эффективности окислительного фосфорилирования митохондриями сердца используется соотношение АДФ/О (рис. 5). После первого подъема снижалась эффективность окислительного фосфорилирования в обоих желудочках при окислении Гл + М и Пм + М, в правом желудочке в большей мере при окислении Гл + М. К кон-

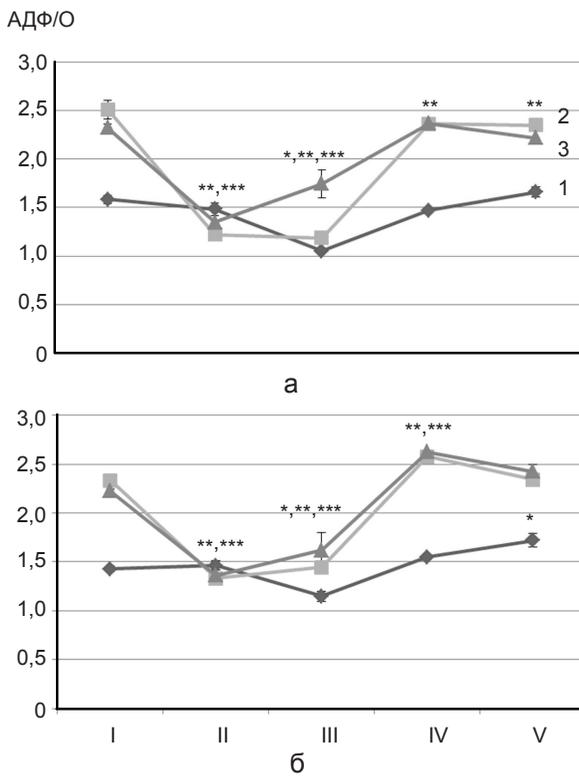


Рис. 5. Эффективность окислительного фосфорилирования (АДФ/О) митохондрий миокарда в динамике периодической гипобарической гипоксии у крыс: 1 – сукцинат, 2 – глутамат, 3 – пальмитоил. По оси абсцисс: I – контроль, II – 1-й подъем, III – 3-й подъем, IV – 5-й подъем, V – 6-й подъем. *P<0,05 – по сравнению с контролем при использовании сукцината, **P<0,05 – по сравнению с контролем при использовании глутамата, ***P<0,05 – по сравнению с контролем при использовании пальмитоила

цу первой фазы (3-й подъем) в желудочках сердца наблюдали достоверное снижение АДФ/О также при окислении Ск, при этом в правом желудочке показатель достоверно возрастал при окислении Пм + М, оставаясь ниже исходных значений. После 5-го подъема соотношение АДФ/О при окислении всех субстратов восстанавливалось до исходного уровня с дальнейшей стабилизацией.

Резервная мощность митохондриального дыхания, о которой судили по показателю РДК, в динамике ПГГ не имела существенных отличий между правым и левым желудочками (рис. 6). Однако ее изменения также имели выраженный фазовый характер. Максимальное разобщение дыхательного контроля наблюдалось в первой фазе, что совпадает с изменениями V3/V4 и АДФ/О (см. рис. 4, 5), а затем показатели возрастали в третьей фазе (см. рис. 6).

Таким образом, изменения митохондриального дыхания в процессе ПГГ носили ярко выраженный фазный характер. Во время гипометаболической фазы общий гипометаболизм и ограничение потребления кислорода тканями предохраняет их от гипоксического повреждения. Хотя через сутки после сеанса увеличивается V3 при использовании всех субстратов в митохондриях обоих желудочков РДК

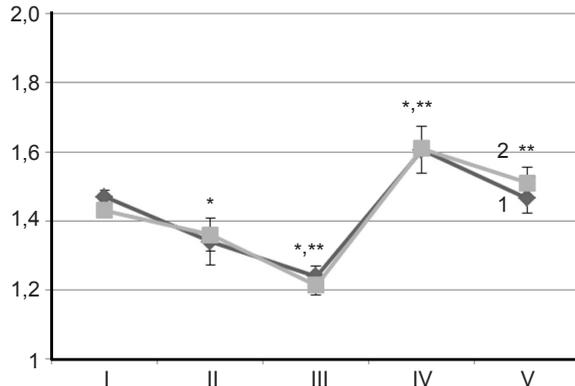


Рис. 6. Резервная мощность митохондриального дыхания в миокарде в динамике периодической гипобарической гипоксии крыс: 1 – правый желудочек, 2 – левый желудочек. По оси абсцисс: I – контроль, II – 1-й сеанс, III – 3-й сеанс, IV – 5-й сеанс, V – 6-й сеанс. *P<0,05 – по сравнению с контролем для правого желудочка, **P<0,05 – по сравнению с контролем для левого желудочка.

сердца, что свидетельствует о стимуляции компенсаторных механизмов, направленных на поддержание выработки АТФ. В это время также компенсаторно ограничивается термогенез. При этом значительное снижение соотношения V3/V4 и АДФ/О, истощение резерва мощности митохондриального дыхания указывает на нарушение работы дыхательной цепи и резком снижении ее эффективности. Срочная компенсация вследствие системных реакций и индукции генов при каждом гипоксическом сеансе оказывается недостаточной. Создается впечатление, что для наступления переходной фазы необходимо накопление определенной (более выраженной) степени гипоксических нарушений, чтобы запустить долгосрочные механизмы перехода на новый уровень метаболизма. Третья фаза, гиперметаболическая, возникает, несмотря на продолжающиеся гипоксические состояния в ходе сеансов ПГГ. Это свидетельствует об активации комплекса механизмов, направленных на восстановление после перенесенной гипоксии, с вовлечением регуляторных структур, которые отвечают за чувствительность к гипоксии. В этой фазе в митохондриях наблюдаются обратные процессы снижения до исходного значения V3 и V4 при одновременном восстановлении или росте соотношения V3/V4 и АДФ/О. Поток протонов по дыхательной цепи замедляется, но значительно возрастает эффективность его использования.

Представленные результаты показывают, что ФАД-зависимые субстраты (Ск), отражающие работу II комплекса дыхательной цепи, могут более интенсивно утилизироваться в первой фазе ПГГ, чем НАД-зависимые субстраты (Гл + М и Пм + М), представляющие I комплекс. Вследствие этого в гипометаболическую фазу основная нагрузка ложится именно на II комплекс дыхательной цепи, что отвечает общепринятому мнению [1].

При ПГГ увеличивается объем использования жировых субстратов как в гипометаболическую, так и гиперметаболическую

фазу, вследствие чего становятся оправданными изменения дыхательного коэффициента (VCO_2/VO_2), которые мы наблюдали в ходе эксперимента.

Эти результаты согласовывались с изменениями экспрессии факторов транскрипции HIF-1 α и HIF-3 α (рис. 7). Если после первых сеансов увеличивалась экспрессия мРНК HIF-1 α в обоих желудочках, то после 6-го сеанса ее уровни не превышали исходные значения или даже были сниженными в левом желудочке. Экспрессия мРНК HIF-3 α возрастала в правом желудочке в первой фазе ПГГ, но не повышалась в ответ на гипоксию в конце эксперимента.

Полученные результаты могут подтверждать связь метаболических изменений в гипометаболической фазе со срочной индукцией генов после каждого сеанса гипоксии. Однако при достижении стабильной перестройки метаболизма индукция факторов транскрипции после сеанса уже не происходит. Поскольку HIF-3 α может оказывать ингибиторное действие на функцию HIF-1 α [9], более высокие уровни экспрессии HIF-3 α в левом желудочке в ходе всего эксперимента могут также ограничивать его тканевое и метаболическое ремоделирование при ПГГ, опосредованное HIF-1 α . Эти изменения особенно четко проявляются при достиже-

нии фазы метаболической адаптации, тогда как в правом желудочке этот ингибиторный механизм редуцируется.

Таким образом, первая фаза ПГГ сопровождалась индукцией HIF, а их влияние на гены-мишени, модулирующие метаболизм, могло быть причиной транзиторных метаболических изменений. О дополнительных стимулах индукции генов-мишеней HIF-1 α может свидетельствовать активация II комплекса дыхательной цепи митохондрий, поскольку накопление сукцината могло вызывать стабилизацию белка HIF-1 α в нормоксических периодах ПГГ [1, 18]. Накопление и суммарное влияние этих стимулов во время первых 3 сеансов гипоксии, по нашему мнению, является причиной более глубокой метаболической перестройки во 2-й фазе, восстановления функционирования тканей в 3-й фазе и стабилизации адаптивных изменений в 4-й фазе.

ВЫВОДЫ

В динамике периодической гипоксии происходит оптимизация взаимосвязи процессов транспорта кислорода, тканевого дыхания и термогенеза, опосредованная молекулярно-генетическими механизмами. Эти изменения имеют фазный характер, вначале

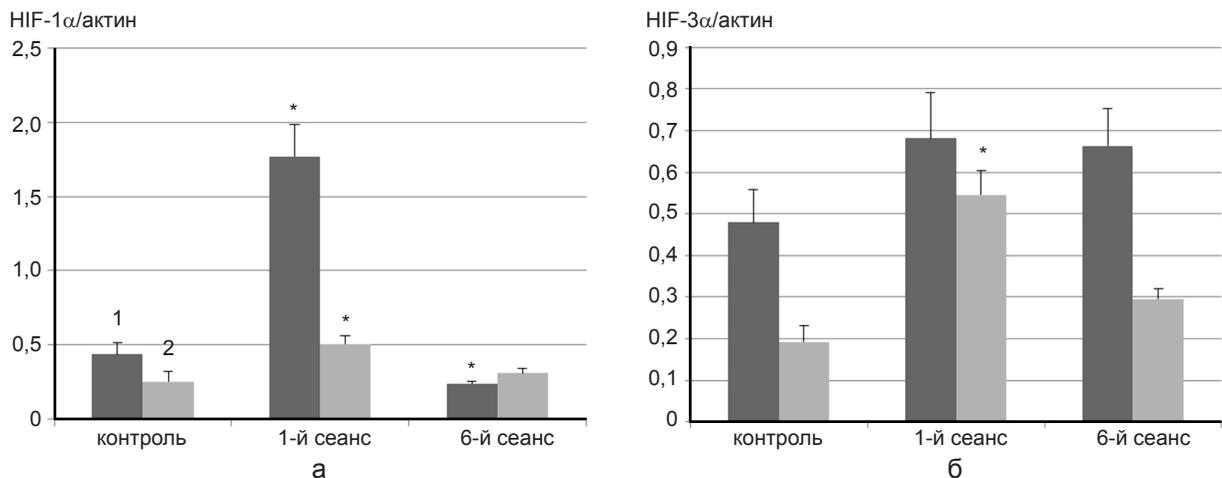


Рис. 7. Экспрессия мРНК HIF-1 α (а) и HIF-3 α (б) в миокарде в динамике периодической гипобарической гипоксии у крыс: 1 – левый желудочек, 2 – правый желудочек. *P<0,05 по сравнению с контролем

наблюдается гипометаболическая фаза с наибольшими колебаниями метаболических процессов вследствие индукции генов при каждом сеансе гипоксии. Затем развивается переходная фаза и гиперметаболическая с переходом в адаптированное метаболическое состояние, что сопровождается редукцией гипоксической реактивности молекулярно-генетических механизмов.

В.И. Портниченко, В.И. Носар, А.Г. Портниченко, Т.И. Древицкая, А.М. Сидоренко, И.М. Маньковська

ФАЗОВІ ЗМІНИ ЕНЕРГЕТИЧНОГО МЕТАБОЛІЗМУ ПРИ ПЕРІОДИЧНІЙ ГІПОКСІЇ

Щурів-самців лінії Вістар піддавали дії періодичної гіпобаричної гіпоксії (ПГГ) за допомогою «підйому» в барокамері на «висоту» 5600 м протягом 1 год кожні 3 доби (6 сеансів). Досліджували динаміку споживання кисню (VO_2) та температури тіла (Тт), а також експресії генів HIF-1 α та HIF-3 α і мітохондріального дихання в шлуночках серця. Виділено чотири фази фізіологічних змін. Перша фаза, гіпометаболічна (1–3-й сеанси), характеризується зниженням VO_2 і Тт, індуцією HIF-1 α та HIF-3 α з відстроченою транзиторною стимуляцією метаболізму у відповідь на кожен сеанс гіпоксії. В мітохондріях серця збільшується V3, V4, однак знижується V3/V4, АДФ/О. У другій, перехідній, фазі (3–4-й сеанси) відбувається перебудова метаболізму та зниження його гіпоксичної реактивності. Третя фаза, гіперметаболічна (4–5-й сеанси), характеризується зростанням метаболізму і компенсацією гіпоксичних порушень. Четверта фаза (після 5-го сеансу) – стан метаболічної адаптації з нормалізацією VO_2 і Тт, експресії HIF-1 α та HIF-3 α , мітохондріального дихання, підвищенням окиснення НАД-залежних вуглеводних і ліпідних субстратів. Таким чином, у динаміці ПГГ відбувається послідовна перебудова процесів транспорту кисню, тканинного дихання та термогенезу, опосередкована індуцією субодиниць HIF.

Ключові слова: періодична гіпоксія, мітохондрії, HIF-1 α , HIF-3 α , гіпометаболічний стан, споживання кисню.

V.I. Portnichenko, V.I. Nosar, A.G. Portnychenko, T.I. Drevitskaya, A.M. Sydorenko, I.N. Mankovskaya

PHASE CHANGES IN ENERGY METABOLISM DURING PERIODIC HYPOXIA

Male Wistar rats were exposed to periodic hypobaric hypoxia (PHH), by “lifting” in barochamber at “altitude” 5600 m for 1 h every 3 days (6 séances). The dynamics of changes in oxygen

consumption (VO_2), and body temperature (Tm), as well as in HIF-1 α and HIF-3 α gene expression, and mitochondrial respiration in the ventricles of the heart was studied. On the basis of the data we identified four phases of the physiological changes. The first phase, hypometabolic (1-3 séances), is characterized by decrease in VO_2 and Tm, induction of HIF-1 α and HIF-3 α with delayed transient stimulation of metabolism in response to each séance of hypoxia. In heart mitochondria, V3 and V4 are increased, but V3/V4 and ADP/O are reduced. During the second phase, transitional (3-4 séances), there is reorganization of metabolism and decrease its hypoxic reactivity. The third phase, hypermetabolic (4-5 séances), is characterized by intensification of metabolism and compensation of hypoxic disorders. The fourth phase (after 5 séance) – is a state of metabolic adaptation with normalization of VO_2 and Tm, expression of HIF-1 α and HIF-3 α , mitochondrial respiration, increased NAD-dependent oxidation of carbohydrate and lipid substrates. Thus, during PHH consequent rebuilding of processes of oxygen transport, tissue respiration and thermogenesis occurs, mediated by induction of the HIF subunits.

Key words: periodic hypoxia, mitochondria, HIF-1 α , HIF-3 α , hypometabolic state, oxygen consumption.

International Centre for Astronomical, Medical and Ecological Research, NAS of Ukraine, Kyiv; O.O.Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2011. – № 1. – С.3–19.
2. Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: механизмы и защитные эффекты адаптации. – М., 1993. – 331 с.
3. Пожаров В.П. Автоматизированная установка для измерения объемно-временных параметров внешнего дыхания и газообмена у мелких лабораторных животных // Физиол. журн. – 1989. – 35, № 4. – С.119–121.
4. Портниченко В.И., Портниченко А.Г., Сидоренко А.М. Глікемія як визначальний фактор шляхів перебудови метаболізму і системи дихання при гіпоксії // Патологія. – 2011. – 8, №2. – С. 52–55.
5. Barros R.C., Zimmer M.E., Branco L.G., Milsom W.K. Hypoxic metabolic response of the golden-mantled ground squirrel // J. Appl. Physiol. – 2001. – 91, № 2. – P. 603–612.
6. Chance B., Williams G.R. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. Kinetics of oxygen utilization // J. Biol. Chem. – 1955. – 217. – P. 383–393.
7. Estabrook R.W. Mitochondrial Respiratory Control and the Polarographic Measurement of ADP: O Ratios // Metod. Enzymol. – 1967. – 10. – P. 41–47.
8. Gautier H., Murariu C., Bonora M. Ventilatory and metabolic responses to ambient hypoxia or hypercapnia in rats exposed to CO hypoxia // J. Appl. Physiol. – 1997. – 83, № 1. – P. 253–261.

9. Hara S., Hamada J., Kobayashi C., Kondo Y, Imura N. Expression and characterization of hypoxia-inducible factor (HIF)-3 α in human kidney: suppression of HIF-mediated gene expression by HIF-3 α // *Biochemet. Biophys. Res. Commun.* – 2001. – 287. – P. 808–813.
10. Heidbreder M., Frohlich F., Johren O., Dendofer A., Qadri F., Dominiak P. Hypoxia rapidly activates HIF-3 α mRNA expression // *FASEB J.* – 2003. – 17, № 11. – P.1541–1543.
11. Intermittent Hypoxia: From Molecular Mechanisms to Clinical Applications (Physiology – Laboratory and Clinical Research) / Lei XI (Ed.), Tatiana V. Serebrovskaya (Ed.). – Nova Science Pub. Inc., 2010. – 615 p.
12. Kondrashova M.N., Fedotcheva N.I., Saakyan I.R., Saakyan I.R., Sirota T.V., Lyamzaev K.G., Kulikova M.V., Temnov A.V. Preservation of native properties of mitochondria in rat liver homogenate // *Mitochondrion.* – 2001. – 1. – P. 249–267.
13. Manukhina E.B., Downey H.F., Mallet R.T. Role of Nitric Oxide in Cardiovascular Adaptation to Intermittent Hypoxia // *Exp. Biol. Med.* (Maywood). – 2006. – 231, № 4. – P. 343–365.
14. Meerson F.Z. Essentials of Adaptive Medicine: Protective effects of adaptation. Moscow: Hypoxia Medical LTD, 1994.
15. Mortola J.P. Implications of hypoxic hypometabolism during mammalian ontogenesis // *Respir. Physiol. Neurobiol.* – 2004. – 141, №3. – P. 345–356.
16. Portnychenko A.G., Dosenko V.E., Portnichenko V.I., Moybenko O.O. Expression of HIF-1 α and HIF-3 α differentially changed in rat heart ventricles after hypoxic preconditioning // *Proc. of XXVIII ESc Meeting of the ISHR.* – Athens, 2008. – *Medimond Intern. Proc.*, 2008. – P.61–64.
17. Rus A., Del Moral M.L., Molina F., Peinado M.A. Up-regulation of cardiac NO/NOS system during short-term hypoxia and the subsequent reoxygenation period // *Eur. J. Histochem.* – 2011. – 55, № 2. – P. 91–96.
18. Semenza G. Hypoxia-Inducible Factor 1 (HIF-1) Pathway // *Sci. STKE.* – 2007. – 407. – P. cm8.

*Международ. центр астроном. и медико-экол. исследований НАН
Украины, Киев;
Ин-т физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, Киев
Email: port@biph.kiev.ua*