

Е.А. Рыбникова, К.А. Баранова, Т.С. Глущенко, О.В. Ветровой, М.В. Сидорова, В.И. Портниченко

Участие транскрипционного фактора, индуцированного гипоксией, в нейрональных механизмах адаптации к психоэмоциональному и гипоксическому стрессу

Методом количественной иммуногистохимии исследована экспрессия α -субъединицы транскрипционного фактора HIF-1 в гиппокампе и неокортексе крыс в ответ на патогенный психоэмоциональный (модель посттравматического стрессового расстройства – ПТСР) и гипоксический (тяжелая гипобарическая гипоксия, 180 мм рт. ст., 3 ч) стресс, а также при применении нейропротективных способов гипоксического пре- и посткондиционирования. Обнаружена пролонгированная гиперэкспрессия HIF-1 α в гиппокампе и неокортексе крыс в ответ на психоэмоциональный стресс в модели ПТСР, но не на гипоксический стресс. Гипоксическое пре- и посткондиционирование с использованием сеансов умеренной гипобарической гипоксии (360 мм рт. ст., 2 ч, трижды с интервалом 24 ч), способствующее адаптации к психоэмоциональному стрессу, нивелировало пролонгированную гиперэкспрессию HIF-1 α . Наряду с этим гипоксическое посткондиционирование, улучшающее структурно-функциональную реабилитацию после тяжелого гипоксического стресса, стимулировало экспрессию HIF-1 α в нейронах мозга крыс, переживших тяжелую гипоксию. Результаты свидетельствуют о том, что транскрипционный фактор HIF-1 α активно вовлекается в процессы адаптации/деадаптации к действию повреждающих факторов, однако его роль специфична по отношению к природе стрессора.

Ключевые слова: фактор HIF-1 α , мозг, психоэмоциональный стресс, гипоксический стресс, адаптация, гипоксическое преко́ндиционирование, гипоксическое посткондиционирование

ВВЕДЕНИЕ

Повреждающее действие тяжелых форм гипоксии на нейроны мозга хорошо известно. Индуцируемые гипоксией структурно-функциональные нарушения, а также гибель нейронов уязвимых образований мозга (гиппокампа, неокортекса) считаются одной из наиболее частых причин неврологических и нейродегенеративных расстройств [19]. Однако как в собственных исследованиях, так и в литературе накоплены сведения о том, что умеренная гипоксия может оказывать не повреждающее, а благоприятное действие на мозг, способствуя мобилизации эндогенных нейропротективных процессов и

механизмов [7, 8, 17]. В частности, трехкратное воздействие умеренной гипобарической гипоксии (УГГ, 380 мм рт. ст. в течение 2 ч) повышало резистентность нейронов мозга к повреждающим воздействиям, то есть приводило к формированию гипоксической/ишемической толерантности мозга, этот процесс происходил с вовлечением специфического транскрипционного фактора, индуцированного гипоксией, HIF-1 (от англ. hypoxia-inducible factor 1) [7]. Вместе с тем умеренная гипоксия также оказывает значительное анксиолитическое и антидепрессивное действие на поведение, предотвращая развитие тревожно-депрессивных состояний, вызываемых интенсивными психоэмоцио-

нальными стрессами у крыс [3–5]. Сходный анксиолитический эффект недавно описан при применении умеренной нормобарической гипоксии (8 % O₂, 2 ч, трехкратно) у мышей [14], при этом в мозгу наблюдалась стимуляторная регуляция экспрессии мРНК сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и адреномедуллина, являющихся генами-мишенями фактора HIF-1. На этом основании можно полагать, что HIF-1, вероятно, играет важную роль в формировании толерантности мозга не только к гипоксии–ишемии, но и психоэмоциональным стрессам, однако этот вопрос практически не исследован.

Фактор HIF-1 представляет собой ключевой компонент в организации клеточных и системных гомеостатических реакций на гипоксию [2, 9, 26]. α -Субъединица этого гетеродимера (HIF-1 α) является кислородчувствительной – стабилизируется при гипоксии и выполняет специфическую функцию в регуляции экспрессии генома, тогда как β -субъединица (HIF-1 β) экспрессируется конститутивно [11]. HIF-1 α активируется в физиологически важных местах регуляции путей метаболизма кислорода, обеспечивая быстрые и адекватные ответы на гипоксический стресс путем воздействия на гены-мишени, регулирующие процесс ангиогенеза, вазомоторный контроль, энергетический метаболизм, эритропоэз и апоптоз [10, 13, 18, 22, 23, 26, 27, 31]. Наряду с этим HIF-1 вовлекается в процессы гибели/выживания клеток, метаболизм глюкозы, миграцию и инвазию клеток, ремоделирование клеточного микроокружения, канцерогенез, метастазирование и многие другие, представляя собой таким образом перспективную терапевтическую мишень при многих заболеваниях.

Недавно нами впервые показана индукция HIF-1 α в ответ на тяжелый психоэмоциональный стресс, причем профиль активации HIF-1 довольно сложен [1]. Тяжелый психоэмоциональный стресс, приводящий к развитию постстрессорной депрессии в экспериментальной модели на крысах, ин-

дуцировал отсроченную экспрессию HIF-1 α в гиппокампе и гипоталамусе, что, вероятно, вовлечено в механизмы патогенеза депрессивного состояния. Это подтверждалось и в экспериментах с применением УГГ в режиме прекондиционирования, когда предварительное воздействие трехкратной УГГ по определенной схеме предотвращало развитие постстрессорной депрессии и значительно модифицировало профиль экспрессии HIF-1 α в образованиях мозга в ответ на стресс, усиливая активацию экспрессии данного фактора в ранний период (24 ч после стресса) и нивелируя его отсроченную сверхэкспрессию (5–10 сут после стресса). Таким образом, очевидно, что HIF-1 вовлекается как в повышение устойчивости мозга (и организма в целом) к психоэмоциональным стрессам, так и в формирование постстрессорных дезадаптивных состояний, однако его роль в механизмах адаптации/патологии довольно сложна и требует более детального изучения. Дальнейшему анализу этого вопроса посвящено настоящее исследование, проведенное на экспериментальной модели тревожной постстрессорной патологии (посттравматического стрессового расстройства, ПТСР), развивающейся как отдаленная реакция на стресс и характеризующейся специфической отсроченной динамикой [16]. Ранее нами обнаружено, что предъявление УГГ в режимах пре- и посткондиционирования (то есть до или после патогенного стресса) оказывает значительный протективный эффект, полностью корректируя развитие ПТСР в данной экспериментальной модели [4, 5].

Цель нашей работы – изучение возможной роли HIF-1 в развитии тревожной ПТСР-патологии, в стресс-протективном и анксиолитическом действии гипоксического пре- и посткондиционирования, а также сравнительный анализ особенностей экспрессии HIF-1 α в неокортексе и гиппокампе крыс в отдаленный период после психоэмоционального и тяжелого гипоксического стресса и при нейропротективных воздействиях УГГ.

МЕТОДИКА

Опыты проведены на самцах крыс линии Вистар массой 200–250 г. С соблюдением требований, сформулированных в Директивах Совета Европейского Сообщества (86/609/ЕЕС) об использовании животных для экспериментальных исследований. Протоколы опытов были утверждены Комиссией по гуманному обращению с животными Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Для индукции экспериментального аналога ПТСР у крыс использовали модель «стресс-рестресс» [16], которая в настоящее время считается наиболее адекватной моделью ПТСР. Крыс подвергали тяжелому комбинированному стрессу, состоящему из 2-часовой иммобилизации, 20-минутного вынужденного плавания и, после 15-минутного перерыва, эфирного стресса до полной обездвиженности. Этот сверхинтенсивный психоэмоциональный (травматический) стресс вызывает у особей формирование тревожной психопатологии, в основе которой лежит нарушение стрессореактивности в условиях, ассоциирующихся с воспоминаниями о травматическом стрессе. В парадигме «стресс-рестресс» такую «напоминающую» роль (роль триггерного стимула, к которому особь с развившейся после травматического стресса специфической ПТСР-патологией адаптироваться не может и, соответственно, впадает в тревожно-депрессивное состояние) выполняет рестресс, заключающийся в 30-минутной иммобилизации, которой крысы подвергались через 7 сут после травматического стресса. В дни экспозиции экспериментальных групп психоэмоциональному стрессу и рестрессу контрольных животных также изымали из домашних клеток и переносили на 5 мин в новую обстановку, чтобы нивелировать возможные эффекты неспецифических воздействий, в частности хэндлинга и стресса новизны.

Протективное умеренное гипоксическое воздействие с предъявлением трехкратной экспозиции животных гипобарической гипок-

сии в барокамере проточного типа (360 мм рт. ст., 2 ч, эквивалентно подъему на высоту 5 км) проводили в режимах пре- и посткондиционирования. Воздействие тремя сеансами УГГ с интервалами 24 ч осуществляли за сутки до психоэмоционального (патогенного) стресса в модели ПТСР (гипоксическое прекондиционирование, ГП) или на 4, 5, 6-е сутки после психоэмоционального стресса (гипоксическое посткондиционирование, ГПост). Забор ткани мозга для иммуногистохимического анализа производили спустя 1, 5 и 10 сут после рестресса.

Животных другой группы подвергали стрессированию в модели тяжелой гипоксии в барокамере (ТГ, 180 мм рт. ст., 3 ч). Крысам, пережившим ТГ, проводили экспозицию УГГ (360 мм рт. ст., 2 ч, с интервалом 24 ч) на 1–3-и сутки после гипоксического стресса. Ткани мозга в этой экспериментальной серии забирали через 24 ч после последнего сеанса УГГ (96 ч после ТГ соответственно). Ранее показано, что применяемое воздействие ТГ индуцирует структурно-функциональные повреждения чувствительных образований мозга [6], а гипоксическое посткондиционирование эффективно корректирует повреждающее влияние ТГ на нейроны мозга и оказывает анксиолитическое действие на поведение животных [24].

После декапитации крыс мозг быстро извлекали, выделяли области гиппокампа с прилежащим фронтопариетальным неокортексом. Образцы фиксировали молекулярным фиксатором FineFix («Milestone», Италия) 24 ч при +4⁰С. Далее препараты промывали в проточной воде в течение 2 ч и обезвоживали, проводя через растворы этилового спирта возрастающей концентрации (50, 70, 80, 96, 96 % по 1 ч) и бутанола (1 ч и ночь). Затем материал проводили через 4 порции ксилола (по 15 мин), 3 порции парафина (по 45 мин) и заливали в парафиновые блоки. Далее с помощью микротомы изготавливали серии чередующихся срезов мозга во фронтальной плоскости толщиной 7 мкм на уровне –2,80

мм от брегмы. Они использовались для количественной иммуноцитохимической оценки содержания белка – продукта раннего гена HIF-1 α в неокортексе и гиппокампе. После стандартных процедур депарафинизации, регидратации и демаскировки антигена срезы в течение ночи при +4°C инкубировали с первичными поликлональными кроличьими антителами к HIF-1 α («Santa Cruz Biotechnology, Inc», США, разв. 1:100), а далее использовали авидин-биотиновую систему детекции («Vector Laboratories, Inc», UK). Для визуализации реакции использовали диаминобензидин. После обезвоживания и заключения срезов в желатин проводили количественный анализ иммунореактивности нейронов с использованием системы, состоящей из светового микроскопа Jenaval («Carl Zeiss», Германия), цифровой камеры Baumer CX05c («Baumer Optronik», Германия) и компьютера IBM PC с программным обеспечением Videotest Master Morphology. На основании оценки оптической плотности иммунопозитивные клетки разделяли на 2 класса: слабо- и интенсивноиммунореактивные, анализировали общее число иммунореактивных клеток (N) и число интенсивно иммунопозитивных клеток (Ni), отражающее изменения интенсивности экспрессии данного белка. Результаты статистически обрабатывали с помощью пакетов анализа данных Statistica 7.0 Stat Soft, Inc и Microsoft Excel'2002, использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA (P<0,05). Все результаты представлены в виде среднего арифметического \pm SEM (от англ. standard error of the mean). Результаты и SEM выражены в процентах от контроля, контроль принят за 100 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При развитии патологического состояния в модели ПТСР обнаруживалась значительная и длительная индукция HIF-1 α в гиппокампе и неокортексе крыс, несмотря на то, что об-

щее число иммунопозитивных нейронов при этом изменялось незначительно. По общему числу HIF-1 α экспрессирующих нейронов устойчивое (1–10 сут) повышение обнаружено в гиппокампе и V слое неокортекса (рис. 1, 2). По этому показателю максимальная амплитуда изменений (до 270 %) выявлена в V слое неокортекса (см. рис. 2). В отличие от общего числа иммунопозитивных клеток, интенсивность экспрессии HIF-1 α возростала значительно и устойчиво, максимально – во II слое неокортекса (свыше 6000 %; см. рис. 1, 2). Эти результаты подтверждают полученные нами ранее сведения о том, что формирование дезадаптивного состояния у крыс в ответ на психоэмоциональный стресс сопровождается сверхэкспрессией HIF-1 α в образованиях мозга в отдаленный постстрессорный период [1]. В предыдущих исследованиях была использована модель «выученной беспомощности» у крыс, где депрессивноподобная патология формировалась сразу после стрессорного воздействия и устойчиво сохранялась по крайней мере до 10 сут. Стойкая стимуляция HIF-1 α в гиппокампе и гипоталамусе обнаруживалась к 5–10-м суткам после стресса, в то время как индукция HIF-1 α в ранний постстрессорный период была выражена слабо. При этом ГП, предотвращающее нарушение адаптации к стрессу «выученной беспомощности», усиливало индукцию HIF-1 α в ранний период (1 сут), нивелируя при этом его отсроченную сверхэкспрессию. Для трактовки результатов настоящей работы необходимо учитывать специфику ПТСР, в особенности тот факт, что ПТСР-патология продолжительный период времени (до рестресса) развивается скрыто, поэтому все исследуемые сроки (1–10 сут после рестресса) характеризуют отдаленный период после патогенного воздействия (травматического стресса). В связи с этим стойкая стимуляция экспрессии HIF-1 α , обнаруживаемая в мозгу экспериментальных животных на всех сроках, также свидетельствует о том, что устойчивая активация данного транскрипционного фактора в отдаленный

период после психоэмоционального стресса, очевидно, имеет важное значение в патогенезе стрессиндуцированных дезадаптивных состояний. Полагают также, что чрезмерная и длительная активация HIF-1 формирует патогенетический базис болезни Альцгеймера [28, 33].

Косвенным подтверждением патогенетической роли сверхиндукции HIF-1 служат результаты экспериментов с использованием УГГ в нейропротективных режимах ГП и ГПост. Оказалось, что ГП, повышающее устойчивость к психоэмоциональному стрессу в модели ПТСР, в значительной степени предотвращало стрессиндуцированную сверхэкспрессию в неокортексе и нормализовывало уровни HIF-1 α в гиппокампе. Общее число нейронов гиппокампа как дорсального (CA1), так и вентрального (зубчатая извилина), содержащих HIF-1 α , оставалось в диапа-

зоне контрольных значений в течение всего периода регистрации (до 10 сут; см. рис. 1). Аналогичная картина обнаруживалась для показателя интенсивности экспрессии – количество интенсивно HIF-1-иммунопозитивных клеток в гиппокампе не отличалось от контрольных значений на всех сроках, то есть ГП полностью предотвращало стойкую сверхэкспрессию HIF-1 α в этой структуре мозга, что согласуется с данными, полученными ранее в модели психоэмоционального стресса «выученной беспомощности» [1]. В неокортексе после ГП в модели ПТСР также наблюдалась значительная редукция числа иммунореактивных нейронов, интенсивно экспрессирующих HIF-1 α , относительно непрекондиционированной группы, но тем не менее сохранялась умеренная индукция этого фактора, в несколько раз превосходявшая базальный уровень (см. рис. 2).

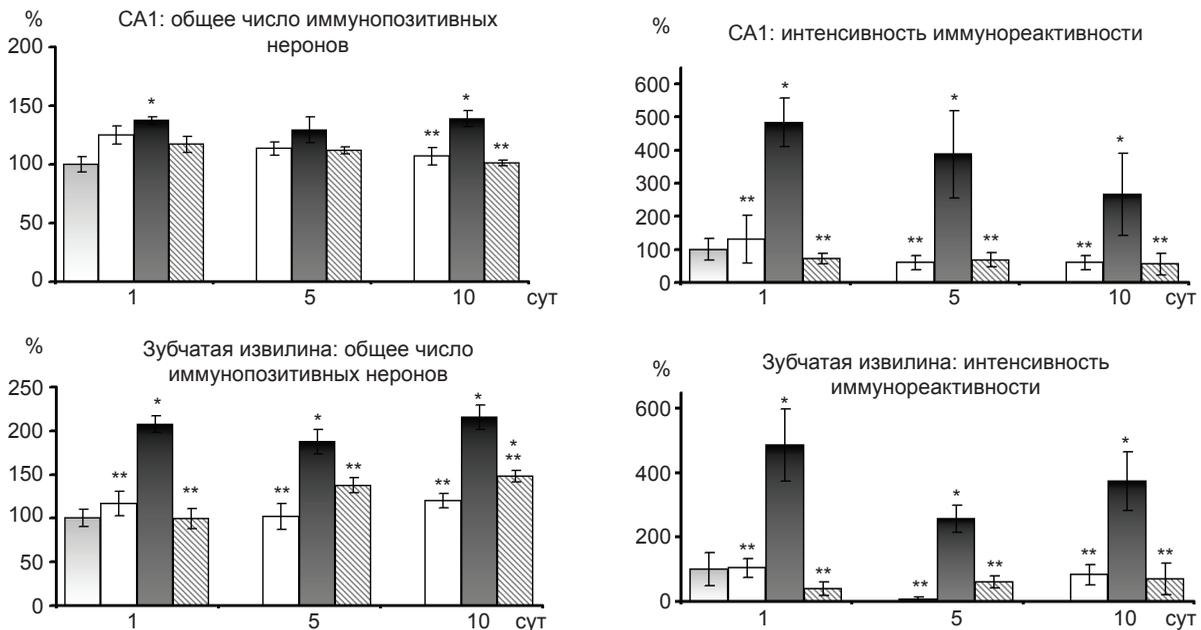


Рис 1. Экспрессия индуцированного гипоксией специфического транскрипционного фактора HIF-1 α в дорсальном (поле CA1) и вентральном (зубчатая извилина) гиппокампе крыс после действия психоэмоционального стресса/рестресса в модели посттравматического стрессового расстройства, а также гипоксического пре- и посткондиционирования. Результаты представлены в процентах относительно контроля (серый столбик, 100 %). Черный столбик – животные, формирующие постстрессорную патологию; белый столбик – прекодиционированные крысы, у которых в ответ на стресс патология не развивается; затрихованные столбики – крысы, после стресса подвергавшиеся гипоксическому посткондиционированию и также не формирующие патологию. По оси абсцисс – сутки после рестресса. * $P \leq 0,05$ по сравнению с контролем, ** $P \leq 0,5$ по сравнению с группой крыс со стрессиндуцированной патологией

ГПост, полностью нивелирующее патологические последствия психоэмоционального стресса в модели ПТСР, также подавляло стойкую сверхэкспрессию HIF-1 α в гиппокампе и неокортексе (см. рис.1, 2). Эффект проявлялся и в отношении общего числа иммунореактивных клеток, и, особенно, в отношении интенсивности экспрессии HIF-1 α . В гиппокампе и верхних слоях неокортекса (II слой) показатели иммунореактивности у посткондиционированных животных значительно не отличались от базальных, тогда как в зоне проекционных нейронов неокортекса (V слой) сохраняется умеренная экспрессия HIF-1 α в течение всего срока регистрации (1–10-е сутки после рестресса, что соответствует 8–18-м суткам после патогенного психоэмоционального стресса; см. рис. 2). Таким образом, развитие тревожной патологии в модели ПТСР у крыс сопровождалось значительной и пролонгированной ап-регуляцией HIF-1 α в гиппокампе и неокортексе. Стресс-протективный и анксиолитический эффект ГП и ГПост сопровождался полным либо

частичным подавлением сверхэкспрессии HIF-1 α в гиппокампе и неокортексе. Известно тесное функциональное взаимодействие HIF-1 с глюкокортикоидными рецепторами, играющими ключевую роль в стрессорных реакциях и адаптации к повреждающим воздействиям как на уровне белок-белковых взаимодействий, так и на уровне регуляции активности генома [12, 15, 29]. Формирование ПТСР патологии, возникающей в результате действия сверхинтенсивного психоэмоционального стресса, сопровождается нарушением активности гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы и редукцией содержания глюкокортикоидных гормонов в плазме крови [32]. Последние в свою очередь оказывают супрессивное действие на транскрипционную активность HIF-1, редуцируя уровни его α -субъединицы [29]. Таким образом, стойкая сверхиндукция HIF-1 α , наблюдаемая нами в гиппокампе и неокортексе (образованиях мозга, имеющих высокие уровни кортикостероидных рецепторов), вполне вероятно может являться ре-

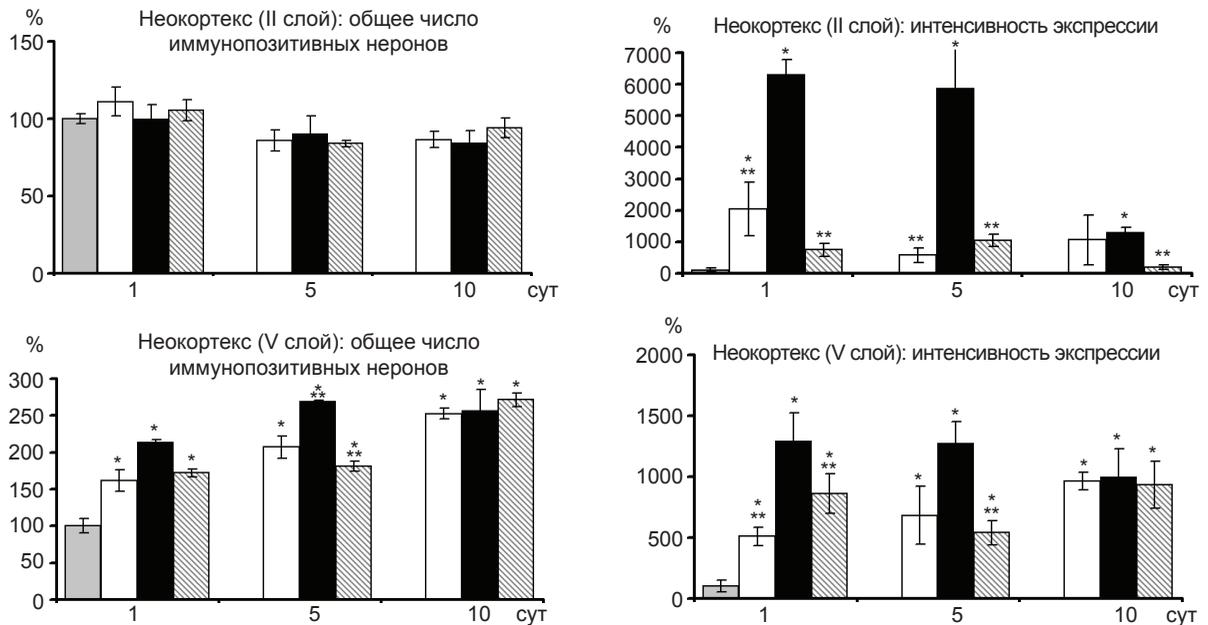


Рис 2. Экспрессия индуцированного гипоксией специфического транскрипционного фактора HIF-1 α в неокортексе крыс после действия психоэмоционального стресса/рестресса в модели посттравматического стрессового расстройства, а также гипоксического пре- и посткондиционирования. По оси абсцисс – сутки после рестресса. *P<0,05 по сравнению с контролем, **P<0,01 по сравнению с группой крыс со стрессиндуцированной патологией

зультатом сниженного глюкокортикоидного тонуса, характерного для данной патологии.

В модели гипоксического стресса изменения экспрессии HIF-1 α в гиппокампе и неокортексе крыс при патологии и ее коррекции трехкратной УГГ значительно отличались от таковых в модели психоэмоционального стресса. В отдаленный период после ТГ (96 ч) значительных изменений содержания HIF-1 α в гиппокампе и неокортексе крыс не обнаруживалось (рис. 3). ГПост тремя сеансами УГГ оказывало мощное стимулирующее влияние на экспрессию HIF-1 α , причем увеличилось и число экспрессирующих его нейронов и, особенно, интенсивность экспрессии (свыше

500 % – в CA1, свыше 1500 % – в неокортексе). Таким образом, гипоксический стресс, в отличие от психоэмоционального, не вызывал отдаленной сверхэкспрессии этого фактора в гиппокампе и неокортексе, а нейропротективный эффект УГГ у животных, перенесших ТГ, сопровождался его активацией в уязвимых образованиях мозга крыс. Результаты подтверждают представление о том, что HIF-1 необходим для защиты нейронов мозга от повреждающего действия гипоксического фактора и вовлекается в нейрональные протективные процессы, очевидно, путем срочной мобилизации базисных механизмов адаптации к гипоксии и компенсации ее ней-

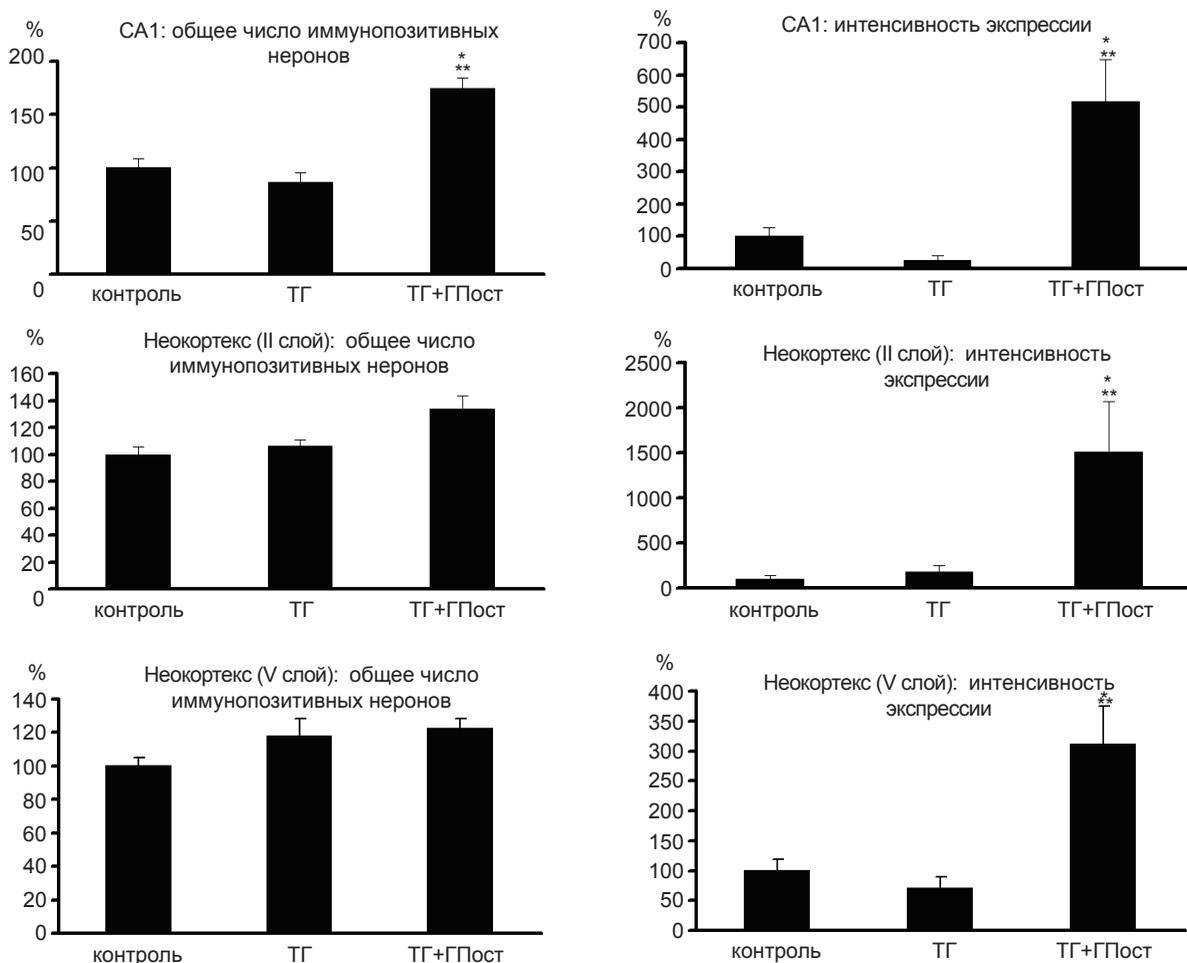


Рис.3. Эффект тяжелой гипобарической гипоксии (ТГ) и посткондиционированной тяжелой гипоксии (ТГ+ГПост) на экспрессию HIF-1 α в гиппокампе и неокортексе крыс (4 сут после ТГ). Результаты представлены в процентах от контроля. * $P \leq 0,05$ по сравнению с контролем, ** $P \leq 0,05$ – по сравнению с ТГ

ротоксического действия.

На основании проведенных исследований и данных литературы очевидно, что HIF-1 в мозгу может играть роль как патогенетического фактора, стойкая сверхиндукция которого связана с расстройством механизмов адаптации к стрессу, так и нейропротектора, вызывающего мобилизацию базисных проадаптивных процессов. При этом роль HIF-1 стресс-специфична и зависит от природы стрессора. Адаптация к гипоксическому стрессу имела важное значение для жизнедеятельности одноклеточных и многоклеточных организмов уже на ранних стадиях эволюции, поэтому механизмы адаптации к гипоксии являются древними и довольно консервативными в филогенезе, и центральное место во внутриклеточном гипоксическом сигналинге занимает HIF-1, обеспечивающий поддержание кислородного гомеостаза и адаптации/выживания клеток в условиях гипоксии [22, 30]. В последние годы появляется все больше работ о нейропротективной роли HIF-1 в мозгу, где нервными и глиальными клетками продуцируется не только сам этот белок, но и его транскрипционная мишень – цитокин эритропоэтин, оказывающий широкий спектр протективных эффектов, не связанных с гемопоезом [20].

В отличие от гипоксического, психоэмоциональный стресс – это повреждающий фактор, возникший на поздних этапах эволюции и, соответственно, механизмы адаптации к нему сформировались в эволюционном аспекте сравнительно недавно. Среди них ключевая роль принадлежит гипоталамо-гипофизарно-адренортикальной системе [25], функция которой также в значительной мере регулируется HIF-1. Недавно в модели регенерирующей скелетной мышцы *in vitro* было установлено, что HIF-1-опосредуемый ответ на гипоксию независим от глюкокортикоидного стрессорного ответа [21], на основании чего сделано предположение о том, что каскад реакций адаптации к гипоксическому стрессу, ключевым звеном которых является индукция HIF-1, и система неспецифического ответа

организма на стресс представляют собой два различных проадаптивных механизма, функционально не взаимодействующих. Однако наши результаты об участии HIF-1 в процессах адаптации к психоэмоциональному стрессу и имеющиеся в литературе сведения о взаимодействии HIF-1 с глюкокортикоидными рецепторами свидетельствуют об ошибочности этого предположения и о важной, стресс-специфической роли данного фактора в нейрональных и системных механизмах адаптации не только к гипоксическому, но и психоэмоциональному стрессу.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о том, что локализованный в нейронах мозга фактор HIF-1 широко вовлекается в процессы адаптации мозга и организма в целом к стрессам различной природы и компенсации постстрессорных нарушений, однако его роль специфична по отношению к природе стрессора. Впервые наши исследования на крысах продемонстрировали участие HIF-1 в патогенезе тревожно-депрессивных состояний, возникающих при действии тяжелого психоэмоционального, но не гипоксического, стресса. Стресс-протективные и проадаптивные эффекты УГГ в режимах пре- и посткондиционирования сопровождаются усилением срочной активации HIF-1 и нивелированием его пролонгированной сверхиндукции в нейронах мозга.

Работа поддержана грантами РФФИ № 13-04-00532 и 12-04-31039, грантом ГФФИ Украины Ф53/200-2013.

О.О. Рыбникова, К.А. Баранова, Т.С. Глущенко, О.В. Ветровой, М.В. Сидорова, В.И. Портниченко

УЧАСТЬ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА, ИНДУКОВАННОГО ГИПОКСИЕЙ, У НЕЙРОНАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМАХ АДАПТАЦІЇ ДО ПСИХОЕМОЦІЙНОГО ТА ГИПОКСИЧНОГО СТРЕСУ

Методом кількісної імуногістохімії досліджена експресія α -субодиниці транскрипційного фактора HIF-1 в гіпокампі і неокортексі шурів у відповідь на патогенний психоемоційний (модель посттравматичного стрессового розладу, ПТСР) і гіпоксичний (важка гіпобарична гіпоксія, 180 мм

рт.ст., 3 год) стрес, а також при застосуванні нейропротективних способів гіпоксичного пре-і посткондиціонування. Виявлено пролонговану overекспресію HIF-1 α в гіпокампі і неокортексі шурів у відповідь на психоемоційний стрес у моделі ПТСР, але не на гіпоксичний стрес. Гіпоксичне пре-і посткондиціонування з використанням сеансів помірної гіпобаричної гіпоксії (360 мм рт.ст., 2 год, тричі з інтервалом 24 год), що сприяє адаптації до психоемоційного стресу, нівелювало пролонговану overекспресію HIF-1 α . Поряд з цим гіпоксичне посткондиціонування, що покращує структурно-функціональну реабілітацію після важкого гіпоксичного стресу, стимулювало експресію HIF-1 α в нейронах мозку шурів, які пережили важку гіпоксію. Результати свідчать про те, що транскрипційний фактор HIF-1 α активно залучений до процесів адаптації / дезадаптації до дії пошкоджувальних факторів, проте його роль специфічна по відношенню до природи стресора.

Ключові слова: фактор, індукований гіпоксією, HIF-1 α , мозок, психоемоційний стрес, гіпоксичний стрес, адаптація, гіпоксичне прекоондиціонування, гіпоксичне посткондиціонування.

**E.A. Rybnikova, K.A. Baranova, T.S. Gluschenko,
O. Vetrov, M. Sidorova, I. Portnichenko**

INVOLVEMENT OF TRANSCRIPTIONAL FACTOR HIF-1 α IN THE NEURONAL MECHANISMS OF ADAPTATION TO PSYCHOEMOTIONAL AND HYPOXIC STRESS IN RATS

Using quantitative immunohistochemistry, neuronal expression of α -subunit of the transcriptional factor HIF-1 in hippocampus and neocortex of rats in response to pathogenic psychoemotional (model of posttraumatic stress disorder, PTSD) and hypoxic (severe hypobaric hypoxia, 180 Torr, 3 h), as well as to neuroprotective exposures to hypoxic pre- and postconditioning has been studied. Elongated overexpression of HIF-1 α in hippocampus and neocortex of rats in response to the psychoemotional stress in PTSD paradigm, but not hypoxic stress, has been observed. Hypoxic pre- and postconditioning with mild hypobaric hypoxia (360 Torr, 2 h, 3 trials spaced at 24 h), those induced adaptation to the psychoemotional stress, abolished the elongated HIF-1 α overexpression. Hypoxic postconditioning which improved structure and functional rehabilitation following severe hypoxic stress up-regulated HIF-1 α expression in the brain neurons of rats survived severe hypoxia. The findings indicate that transcription factor HIF-1 is particularly involved in the processes of adaptation/maladaptation to the action of injurious stresses, but its role depends upon the nature of stressor.

Key words: hypoxia-inducible factor HIF-1 α , brain, psychoemotional stress, hypoxic stress, adaptation, hypoxic preconditioning, hypoxic postconditioning.

*Pavlov Institute of Physiology, RAS, St. Petersburg, Russia;
International Centre for Astronomical, Medical and
Ecological Research, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Баранова К.А., Миронова В.И., Рыбникова Е.А., Самойлов М.О. Особенности экспрессии транскрипционного фактора HIF-1 α в мозге крыс при формировании депрессивноподобного состояния и антидепрессивных эффектов гипоксического прекоондиционирования // Нейрохимия. – 2010. – 27, № 1. – С. 40–46.
2. Лукьянова Л.Д., Кирова Ю.И., Сукоян Г.В. Сигнальные механизмы адаптации к гипоксии и их роль в системной регуляции // Биол. мембраны. – 2012. – 29, №4. – С. 238–252.
3. Рыбникова Е.А., Самойлов М.О., Миронова В.И., Тюлькова Е.И., Пивина С.Г., Ватаева Л.А., Ордян Н.Э., Абриталин Е.Ю., Колчев А.И. Возможности использования гипоксического прекоондиционирования для профилактики постстрессовых депрессивных эпизодов // Журн. невропатол. психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2007. – № 3-4. – С. 43–48.
4. Рыбникова Е.А., Миронова В.И., Тюлькова Е.И., Самойлов М.О. Анксиолитический эффект гипоксического прекоондиционирования у крыс в модели посттравматического стрессового расстройства // Журн. ВНД. – 2008. – № 4. – С. 475–482.
5. Рыбникова Е.А., Воробьев М.Г., Самойлов М.О. Гипоксическое посткондиционирование корректирует нарушения поведения крыс в модели посттравматического стрессового расстройства // Там же. – 2012. – № 3. – С. 364–371.
6. Рыбникова Е.А., Хожай Л.И., Тюлькова Е.И., Глуценко Т.С., Ситник Н.А., Пелто-Хьюкко М., Отеллин В.А., Самойлов М.О. Влияние гипобарической гипоксии на экспрессию белков ранних генов и структурные изменения нейронов мозга: корректирующий эффект прекоондиционирования // Морфология. – 2004. – 125, №2. – С. 10–15.
7. Самойлов М.О., Рыбникова Е.А., Чурилова А.В. Сигнальные молекулярные и гормональные механизмы протективных эффектов гипоксического прекоондиционирования // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2012. – №3. – С. 3–10.
8. Самойлов М.О., Семенов Д.Г., Тюлькова Е.И., Рыбникова Е.А., Ватаева Л.А., Глуценко Т.С., Строев С.А., Миллер О.Л. Молекулярные механизмы кратко- и долговременных эффектов гипоксического прекоондиционирования. – В кн.: Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты / Отв. ред. Л.Д. Лукьянова, И.Б. Ушаков. – М.: Истоки, 2003. – С. 96–111.
9. Серебровская Т.В. Гипоксия-индуцибельный фактор: роль в патофизиологии дыхания // Укр. пульмонол. журн. – 2005. – № 3. – С. 77–81.
10. Ausserer W.A., Bourrat-Floek B., Green C.J., Laderoute K.R., Sutherland R.M. Regulation of c-jun expression during hypoxic and low-glucose stress // Mol. Cell Biol. – 1994. – 14(8). – P. 032–5042.
11. Gu Y.Z., Hogenesch J.B., Bradfield C.A. The PAS su-

- perfamily: sensors of environmental and developmental signals // *Annu. Re Pharmacol. Toxicol.* – 2000. – **40**. – P. 519–561.
12. Kodama T., Shimizu N., Yoshikawa N., Makino Y., Ouchida R., Okamoto K., Hisada T., Nakamura H., Morimoto C., Tanaka H. Role of the glucocorticoid receptor for regulation of hypoxia-dependent gene expression // *J. Biol. Chem.* – 2003. – **278**(35). – P. 33384–33391.
 13. Lando D., Gorman J.J., Whitelaw M.L., Peet D.J. Oxygen-dependent regulation of hypoxia-inducible factors by prolyl and asparaginyl hydroxylation // *Eur. J. Biochem.* – 2003. – **270**(5). – P. 781–790.
 14. Leconte C., Léger M., Boulouard M., Tixier E., Fréret T., Bernaudin M., Schumann-Bard P. Repeated mild hypoxic exposures decrease anxiety-like behavior in the adult mouse together with an increased brain adrenomedullin gene expression // *Behav. Brain Res.* – 2012. – **230**(1). – P. 78–84.
 15. Leonard M.O., Godson C., Brady H.R., Taylor C.T. Potentiation of glucocorticoid activity in hypoxia through induction of the glucocorticoid receptor // *J. Immunol.* – 2005. – **174**, №4. – P. 2250–2257.
 16. Liberzon I., Krstov M., Young E.A. Stress-restress: effects on ACTH and fast feedback // *Psychoneuroendocrinology.* – 1997. – **22**, №6. – P. 443–453.
 17. Lin A.M., Chen C.F., Ho L.T. Neuroprotective effect of intermittent hypoxia on iron-induced oxidative injury in rat brain // *Exp. Neurol.* – 2002. – **176**, № 2. – P. 328–335.
 18. Murphy B.J., Andrews G.K., Bittel D., Discher D.J., McCue J., Green C.J., Yanovsky M., Giaccia A., Sutherland R.M., Laderoute K.R., Webster K.A. Activation of metallothionein gene expression by hypoxia involves metal response elements and metal transcription factor-1 // *Cancer Res.* – 1999. – **59**(6). – P. 1315–1322.
 19. Ogunshola O.O., Antoniou X. Contribution of hypoxia to Alzheimer's disease: is HIF-1alpha a mediator of neurodegeneration? // *Cell. Mol. Life. Sci.* – 2009. – **66**, № 22. – P. 3555–3563.
 20. Paschos N., Lykissas M.G., Beris A.E. The role of erythropoietin as an inhibitor of tissue ischemia // *Int. J. Biol. Sci.* – 2008. – **10**, № 4(3). – P. 161–168.
 21. Pirkmajer S., Filipovic D., Mars T., Mis K., Grubic Z. HIF-1alpha response to hypoxia is functionally separated from the glucocorticoid stress response in the in vitro regenerating human skeletal muscle // *Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2010. – **299**, №6. – P. 1693–700.
 22. Portnychenko A.G., Dosenko E., Portnichenko 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 Eur. Sect. Meeting of the ISHR, Athens, Greece, May 28-31, 2008.* – Medimond Intern. Proc., 2008. – P. 61–64.
 23. Risau W. Mechanisms of angiogenesis // *Nature.* – 1997. – **386**. – P.671–674.
 24. Rybnikova E., Vorobyev M., Pivina S., Samoilov M. Post-conditioning by mild hypoxic exposures reduces rat brain injury caused by severe hypoxia // *Neurosci Lett.* – 2012. – **513**(1). – P. 100–105.
 25. Selye H. Stress and the general adaptation syndrome // *Brit. Med. J.* – 1950. – **1**(4667). – P. 1383–1392.
 26. Semenza G.L. O₂-regulated gene expression: transcriptional control of cardiorespiratory physiology by HIF-1 // *J. Appl. Physiol.* – 2004. – **96**(3). – P. 1173–1177.
 27. Semenza G.L. Oxygen-regulated transcription factors and their role in pulmonary disease // *Respir. Res.* – 2000. – **1**(3). – P. 159–162.
 28. Shi J., Yang S.H., Stubbley L., Day A.L., Simpkins J.W. Hypoperfusion induces overexpression of beta-amyloid precursor protein mRNA in a focal ischemic rodent model // *Brain Res.* – 2000. – **853**. – P. 1–4.
 29. Wagner A.E., Huck G., Stiehl D.P., Jelkmann W., Hellwig-Bürgel T. Dexamethasone impairs hypoxia-inducible factor-1 function // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* – 2008. – **372**, № 2. – P. 336–340.
 30. Weidemann A., Johnson R.S. Biology of HIF-1alpha // *Cell Death Differ.* – 2008. – **15**, № 4. – P. 621–627.
 31. Wenger R.H. Cellular adaptation to hypoxia: O₂-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O₂-regulated gene expression // *FASEB J.* – 2002. – **16**. – P. 1151–1162.
 32. Yehuda R. Status of glucocorticoid alterations in post-traumatic stress disorder // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2009. – **1179**. – P. 56–69.
 33. Zhang X., Zhou K., Wang R., Cui J., Lipton S. A., Liao F.F., Xu H., Zhang Y.W. Hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF-1alpha)-mediated hypoxia increases BACE1 expression and beta-amyloid generation // *J. Biol. Chem.* – 2007. – **282**. – P. 10873–10880.

ФГБУН Ин-т физиологии им. И.П. Павлова РАН,
 Санкт-Петербург, Россия;
 Междунар. центр астроном. и мед.-экол. исследований
 НАН Украины, Киев
 E-mail: rybnikova1@rambler.ru

Материал поступил в
 редакцию 31.04.2013