

Таким образом, развитие окислительного стресса и системного воспаления в головном мозге, индуцированное введением крысам карбонильного железа и ЛПС, приводит к индукции ПОЛ и модуляции системы биосинтеза КоA и холинэргической системы. Модуляторы биосинтеза КоA ослабляют развитие ПОЛ и в определенной мере способствуют уменьшению нарушений биосинтеза КоA и модуляции активности АХЭ.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Дубинина Е. Е., Пустыгина А. В. Свободнорадикальные процессы при старении, нейродегенеративных заболеваниях и других патологических состояниях // Биомед. химия. – 2007. – Т. 53, вып. 4. – С. 351-372.
2. Куклей М. Л. Перекисное окисление липидов в мозге крыс при ишемии // Нейрохимия. – 1995. – Т. 2, вып. 1. – С. 28-35.
3. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analytical biochemistry. – 1976. – Vol. 72. – P. 248-254.
4. Ellman G. L., Courtney K. D., Andres V. J. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity // Biochem Pharmacol. – 1961. – Vol. 7. – P. 88-95.
5. McDougal D. B., Dargar R. V. A spectrophotometric cycling assay for reduced coenzyme A and its esters in small amounts of tissue // Anal Biochem. – 1979. – Vol. 97, № 1. – P. 103-115.
6. Venco P., Dusi S., Valletta L. et al. Alteration of the coenzyme A biosynthetic pathway in neurodegeneration with brain iron accumulation syndromes // Biochem Soc Trans. – 2014. – Vol. 42, № 4. – P. 1069-1074.

## ИНТЕРВАЛЬНАЯ ГИПОКСИЯ КАК МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ПРЕДИАБЕТА: РОЛЬ КИСЛОРОДЗАВИСИМЫХ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ

Серебровская Т.В.<sup>1</sup>, Шатило В.Б.<sup>2</sup>, Портниченко А.Г.<sup>1,4</sup>,  
Древицкая Т.И.<sup>1,4</sup>, Егоров Е.<sup>3</sup>, Портниченко В.И.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, Киев,

<sup>2</sup> Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарева НАМН Украины, Киев,

<sup>3</sup> CELLGYM Technologies GmbH, Berlin, Germany,

<sup>4</sup> Международный центр астрономических и  
медицинско-экологических исследований НАН Украины, Киев

*sereb@biph.kiev.ua*

Интервальная (периодическая, циклическая, intermittent) гипоксия является нефармакологическим методом предупреждения и лечения различных заболеваний, средством повышения устойчивости к неблагоприятным факторам среды, профилактики преждевременного старения,

достижения высоких результатов в спорте. Механизмы, лежащие в основе влияния интервальной гипоксической тренировки (ИГТ) на всех уровнях – от системных физиологических реакций до их геномной регуляции – широко обсуждаются. В литературе дальнего зарубежья интервальная гипоксия до последнего времени в основном ассоциировалась с синдромом сонного апноэ и рассматривалась как патогенный фактор. В отличие от этого, в странах Восточной Европы традиционно считается, что терапевтические сеансы гипоксии в определенном режиме обладают мощным саногенным эффектом [12, 9].

Периодическая умеренная гипоксия мобилизует геном. Этот процесс предполагает активацию множества компонентов внутриклеточной сигнализации, включая рецепторы, митохондриальную дыхательную цепь, базовые внутриклеточные регуляторные системы. В качестве одного из основных регуляторов кислородного гомеостаза, играющего ключевую роль в ответ на гипоксию в большинстве тканей, рассматривается гипоксия-индукционный фактор (HIF-1). Гипоксия инициирует транскрипционную программу адаптации посредством активации HIF-1, который в свою очередь запускает систему реакций для улучшения доставки и утилизации кислорода в условиях его недостатка [8]. Кроме того, этот фактор регулирует доставку и утилизацию глюкозы, в частности путем контроля экспрессии генов киназы пируватдегидрогеназы (PDK1), транспортеров глюкозы GLUT, инсулиновых рецепторов (INSR), транзиторного калиевого канала (KCNJ8), играющих ключевую роль в регуляции гомеостаза глюкозы [5; 11]. Нарушение функционирования этих структур приводит к гипергликемии и сахарному диабету 2-го типа.

Использование ИГТ для уменьшения факторов риска развития диабета представляет собой важный аспект этой области исследований. Двадцать лет назад украинские ученые Ю. М. Колесник с коллегами [1] впервые показали в эксперименте, что адаптация к интервальной гипоксии оказывает благоприятное влияние на углеводный обмен у крыс, что проявилось в увеличении уровня инсулина в крови, ингибировании разрушения островков, новообразовании  $\beta$ -клеток в ацинозной ткани, снижении продукции глюкагона и соматостатина. Позднейшие исследования этих авторов подтвердили, что двухнедельная ИГТ вызывает увеличение площади панкреатических островков крыс и количества  $\beta$ -клеток в основном за счет значительного снижения апоптоза  $\beta$ -эндокриноцитов. Положительный эффект сохранялся по крайней мере в течение 10 дней [23]. Нашиими предыдущими исследованиями на животных показано, что гипоксия разных режимов в значительной степени модулирует энергетический метаболизм, углеводный и липидный обмен и опосредуется через изменения экспрессии в тканях транскрипционных факторов HIF-1 и HIF-3, транспортеров глюкозы GLUT-1 и GLUT-4 [6; 3; 4].

Все это обеспечило обоснование дальнейшего изучения использования ИГТ в лечении и предупреждения диабета.

Исследования, проведенные на здоровых добровольцах и пациентах с нарушениями углеводного обмена, также продемонстрировали влияние гипоксии на уровень глюкозы, холестерина и его фракций в крови, а также изменения экспрессии регуляторных белков [7]. Кроме того, установлено, что пациенты с предиабетическими нарушениями углеводного обмена имеют сниженную резистентность к гипоксии по сравнению со здоровыми людьми без нарушений углеводного обмена [10]. Исходя из результатов этих работ, мы высказали предположение, что применение ИГТ у лиц с предиабетическими нарушениями будет способствовать улучшению показателей углеводного обмена, и исследовали некоторые генетические механизмы адаптивных реакций при интервальной гипоксии.

В данном пилотном исследовании приняли участие здоровые добровольцы в возрасте 44-68 лет (группа № 1) и пациенты с нарушением углеводного метabolизма (предиабет) в возрасте 48-70 лет. Последних разделили на две группы: экспериментальную группу, которая проходила 2-недельный курс ИГТ, и контрольную группу с имитированной ИГТ. Курс ИГТ состоял из 9 сеансов гипокситерапии, которые проводили через день. Каждый сеанс – это чередование 5-минутных периодов дыхания гипоксической смесью (12% O<sub>2</sub>) и 5-минутных периодов дыхания атмосферным воздухом, всего 5 циклов за сеанс. Пробы крови для биохимического и генетического анализа брали перед началом тренировок (обследование I), после 3-х (II) и 9 сеансов ИГТ (III), а также через 1 месяц после окончания курса ИГТ (IV). Кроме того, для оценки устойчивости организма к гипоксии до и после курса ИГТ проводили острую гипоксическую пробу (дыхание газовой смесью с 12% O<sub>2</sub> в течение 20 мин с регистрацией пульса и насыщения артериальной крови кислородом (SaO<sub>2</sub>).

Проведение курса ИГТ у пациентов группы № 2 привело к снижению уровня глюкозы натощак и на 120-й минуте глюкозо-толерантного теста (ГТТ). Нормальный уровень глюкозы сохранялся через месяц после курса ИГТ. При этом концентрация инсулина в крови натощак не изменилась, а при нагрузке глюкозой даже снизилась по сравнению с исходным состоянием. Это нашло свое отражение в снижении индекса инсулинерезистентности через месяц после завершения гипоксических тренировок по сравнению с показателем, определенным непосредственно после 9 сеансов ИГТ. Кроме того, курс гипоксических тренировок привел к значительному снижению уровня общего холестерина, который сопровождался уменьшением уровня липопротеидов низкой плотности. В группе № 3 достоверных изменений в метabolизме глюкозы и липидов не наблюдалось.

Исследование экспрессии мРНК кислородзависимых транскрипционных факторов, участвующих в регуляции метаболизма глюкозы, показало, что в исходном состоянии экспрессия мРНК HIF-1 $\alpha$  у здоровых людей и пациентов с предиабетом не различается. Вместе с тем одна из мишней HIF-1 $\alpha$ -PDK1, которая катализирует фосфорилирование и инактивацию пируватдегидрогеназного комплекса, снижая окисление глюкозы в митохондриях, у предиабетических пациентов оказалась увеличенной в 2,5 раза. Почти в 2 раза увеличена и экспрессия мРНК инсулиновых рецепторов (INSR), индуцирующих поглощение глюкозы. При этом активность переносчика глюкозы GLUT1 (SLC2), а также KCNJ8, задействованного в регуляции выделения инсулина в бета-клетках поджелудочной железы, не отличалась от уровня экспрессии у здоровых людей.

ИГТ в группе здоровых лиц вызывала 4-кратное повышение экспрессии мРНК HIF-1 $\alpha$  в течение первой недели тренировки с постепенным снижением до исходного уровня, а у предиабетических пациентов максимальное увеличение (в 6 раз) наблюдалось в конце курса, двукратное увеличение сохранялось через 1 месяц после окончания тренировки. Аналогичная картина наблюдается и в отношении изменений PDK1. Экспрессия инсулиновых рецепторов увеличивается к концу курса ИГТ, особенно через месяц. Экспрессия мРНК семейства транспортеров глюкозы SLC2 также достоверно увеличивается к концу курса как у здоровых (в большей степени), так и у пациентов. Через 1 месяц после окончания курса у здоровых людей она остается повышенной, а у пациентов приходит к исходному уровню. Аналогичная картина наблюдается с экспрессией KCNJ8. В группе №3 существенных изменений экспрессии мРНК кислород зависимых транскрипционных факторов не наблюдалось.

Корреляционный анализ продемонстрировал положительную зависимость между способностью HIF-1 к гипоксической индукции под действием ИГТ и уровнем экспрессии генов-мишней: PDK, INSR, SLC2 и KCNJ8, а также изменением биохимических показателей углеводного обмена в процессе адаптации. Более высокая экспрессия HIF-1, INSR и SLC2 определяет более высокую устойчивость к гипоксическому воздействию (повышенный уровень SaO<sub>2</sub> при гипоксической пробе).

Таким образом, пилотные исследования показали, что кислородзависимые транскрипционные факторы активно включаются в процесс адаптации к интервальной гипоксии как у здоровых людей, так и у лиц с метаболическими расстройствами. В этом исследовании мы использовали только один режим гипоксической тренировки. Дальнейшее изучение этого вопроса, в частности увеличение количества гипоксических сеансов или модуляция степени гипоксического воздействия позволят разработать оптимальные протоколы ИГТ для профилактики и лечения диабета.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Колесник Ю. М., Орестенко М. М., Середенко М. М. та ін. Вплив періодичного гіпоксичного тренування на ендокринну функцію підшлункової залози у тварин з цукровим діабетом // Фізiol. журн. – 1994. – Т. 40, № 5-6. – С. 87-95.
2. Колесник Ю. М., Каджарян Є. В., Абрамов А. В. Вплив переривчастих гупоксичних тренувань на функціональний стан кортиколіберин- і  $\beta$ -ендорфін-синтезуючих нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса щурів // Фізiol. журн. – 2013. – Т.59, № 6. – С. 25-29.
3. Портніченко В. І., Портніченко А. Г., Сурова О. В. Гіпоглікемія та індукація генів у міокарді і легенях щурів при гіпобаричній гіпоксії // Здобутки клін. і експерим. медицини. – 2009. – № 2. – С. 65-68.
4. Портніченко В. І., Носар В. І., Сидоренко А. М. та ін. Тривала адаптація щурів до гіпобаричної гіпоксії попереджує стресорну гіперглікемію та оптимізує мітохондріальне дихання при гострій гіпоксії // Фізiol. журн. – 2012. – Т. 58, № 5. – С. 56-64.
5. Liu T.F., Vachharajani V.T., Yoza B.K., McCall C.E. NAD+-dependent sirtuin 1 and 6 proteins coordinate a switch from glucose to fatty acid oxidation during the acute inflammatory response // J. Biol. Chem. – 2012. – Vol. 287, № 31. – С. 25758-25769.
6. Portnichenko A. G., Dosenko V. E., Portnichenko V.I., Moybenko O. O. Expression of HIF-1 $\alpha$  and HIF-3 $\alpha$  differentially changed in rat heart ventricles after hypoxic preconditioning // Journal of Molecular and Cellular Cardiology. – 2008. – Vol. 44, № 4. – С. 724.
7. Portnichenko G., Bichekuieva F., Bakunovskii O., Portnichenko A., Lapikova-Bryginska T., Portnichenko V. Expression of leptin and IGF-1 and blood metabolic profile in Elbrus region highlanders // Fiziol Zh. – 2012. – Vol. 58, № 4. – С. 77.
8. Semenza G. L. O<sub>2</sub>-regulated gene expression: transcriptional control of cardiorespiratory physiology by HIF-1 // J. Appl. Physiol. – 2004. – Vol. 96, № 3. – P. 1173-1177.
9. Serebrovska T. V., Serebrovska Z. O., Egorov E. Fitness and therapeutic potential of intermittent hypoxia training // Fiziol Zh. – 2016. – Vol. 62, № 3. – (In press)
10. Shatylo V. B., Serebrovska T. V., Gavalko A. V., Egorov E., Korkushko O. V. Acute hypoxic test in patients with prediabetes // High Alt. Med. Biol. – 2016 (in press)
11. Vogel M., Blaak E., Goossens G. Moderate hypoxia exposure: a novel strategy to improve glucose metabolism in humans? // EMJ Diabet. – 2015. – Vol. 3, № 1. – P. 73-79.
12. Xi L., Serebrovskaya T.V. (Eds). Intermittent Hypoxia and Human Diseases // Springer. UK. – 2012. – 316 p.