

## ЕКСПРЕСІЯ HIF-1 $\alpha$ І HIF-3 $\alpha$ В ЛЕГЕНЯХ ТА МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ ПРИ ПЕРІОДИЧНІЙ ГІПОКСІЇ У ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

©В.І. Портніченко, А.Г. Портниченко, В.Є. Досенко, А.М. Сидоренко

МЦ АМЕД НАН України, Київ

**РЕЗЮМЕ.** Досліджували зміни споживання кисню, температури тіла та експресії генів HIF-1 $\alpha$  та HIF-3 $\alpha$  в легенях у щурів молодого і зрілого віку, адаптованих до впливу хронічної гіпоксії на висоті 2100 м н. р. м., при впливі періодичної гіпоксії у барокамері (6 сеансів на "висоті" 5600 м протягом 1 год кожні 3 доби). Встановлено, що хронічна гіпоксія викликала гіпометаболічний стан у тварин. Періодична гіпоксія призводила до транскрипційної активації гена HIF-1 $\alpha$  в легенях та сприяла швидкому відновленню метаболізму у 6-місячних щурів. У 12-місячних тварин спостерігали формування HIF-3 $\alpha$  - опосередкованих захисних механізмів в легенях та повільне відновлення метаболічних процесів.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** періодична гіпоксія, гіпоксія-індуцибельний фактор, споживання кисню, температура тіла, гіпометаболічний стан.

**Вступ.** Періодична гіпоксія органів і тканин спостерігається при респіраторних і циркуляторних порушеннях, епізоди яких розвиваються з певною частотою і мають достатню тривалість для порушення доставки кисню відповідно до його споживання органами та тканинами. Це спостерігається, наприклад, при бронхообструкції різного ґенезу, серцевих аритміях тощо, часто на тлі хронічної гіпоксії внаслідок серцево-легеневої патології. Відомо, що гіпоксія призводить до стабілізації гіпоксія-індуцибельного фактора HIF і подальшої активації генів-мішеней, які опосередковують адаптивну структурно-функціональну перебудову тканин та стану енергетичного метаболізму [1–3]. Проте досі не досліджено, який вплив на ці процеси здійснює періодична гіпоксія, особливо в умовах попередньої адаптованості до хронічної гіпоксії, яка досить часто має місце в клініці хронічних захворювань легень, серцево-судинної системи і системи крові [2, 4, 5], не з'ясовано відмінності механізмів цих процесів у різному віці. Важливим є встановлення ролі субодиниць фактора HIF, які можуть диференційовано змінюватися при гіпоксії та здійснювати взаєморегуляторний вплив [6, 7].

**Мета дослідження** – аналіз змін експресії HIF-1 $\alpha$  і HIF-3 $\alpha$  в легенях, газообміну та температури тіла щурів при періодичній гіпоксії, а також їх вікових особливостей.

**Матеріал і методи досліджень.** Дослідження проводили на щурах лінії Вістар, адаптованих до високогірної гіпоксії (Приельбрусс, 2100 м над рівнем моря), віком 6 міс. (молоді дорослі) та 12 міс. (зрілі дорослі). Щурів дослідних груп піддавали впливу періодичної гіпоксії шляхом 6 "підйомів" у барокамері на 5600 м на 1 год кожні 3 доби, контрольних тварин постійно утримували на висоті 2100 м. Показники газообміну визначали у ненаркотизованих щурів за

допомогою установки для дослідження об'ємно-часових параметрів дихання та газообміну у лабораторних тварин [8] та приводили до системи STPD. Зразки тканин відбирали під уретановим наркозом через 24 год після останнього сеансу гіпоксії. Експресію мРНК HIF-1 $\alpha$  і HIF-3 $\alpha$  визначали методом РТ-ПЛР [6].

**Результати й обговорення.** Споживання кисню у щурів-мешканців середньогір'я виявилось зниженим порівняно з тваринами-мешканцями рівнини на 59 % у групі віком 6 міс. і на 92 % у групі віком 12 міс. Це свідчить про розвиток у щурів гіпометаболічного стану під впливом хронічної гіпоксії. Після початку дії періодичної гіпоксії, через добу після першого сеансу, спостерігали транзиторне зростання споживання кисню у молодих щурів і тенденцію до зростання у щурів старшої групи, причому показники практично досягали рівня таких у рівнинних тварин (рис. 1, А). Після 6 сеансів тренувань споживання кисню і в молодих, і у зрілих тварин вірогідно зростало до рівня показників на рівнині (рис. 1, А). Отже, відбувалося стале відновлення аеробного енергетичного обміну у щурів, які під впливом хронічної гіпоксії мали гіпометаболічний стан.

Температура тіла у щурів, адаптованих до хронічної гіпоксії, вірогідно не відрізнялася від рівнинних щурів того ж віку і була вищою у молодих щурів ( $P < 0,05$ , рис. 1, Б). Протягом впливу сеансів періодичної гіпоксії показники температури тіла у вікових групах зростали, динаміка змін була подібною до змін споживання кисню в цих групах тварин (див. рис. 1, А, Б). За рахунок цього після 6 сеансу температура тіла у молодих і зрілих щурів зрівнювалася. Ці показники свідчать про активувальний вплив періодичної гіпоксії на процеси термогенезу та відновлення енергетичного обміну у зрілих тварин до рівня молодих.

Підвищення аеробного обміну у тварин посилює навантаження на системи доставки кисню – дихальну і серцево-судинну. Функціональне навантаження на легені посилюється синдромом пульмонарної гіпоксичної вазоконстрикції [4, 5], тому важливим є дослідження молекулярно-генетичних механізмів адаптації легень при гіпоксії.

Експресія гена HIF-1 $\alpha$  вірогідно зростала після дії періодичної гіпоксії ( $P < 0,05$ ) в легенях молодих щурів (рис. 2, А). На відміну від цього, експресія мРНК HIF-3 $\alpha$  при тому ж впливі вірогідно зростала у зрілих тварин ( $P < 0,01$ , рис. 2, Б). Оскільки HIF-3 $\alpha$  може бути супресором HIF-1 $\alpha$ /2 $\alpha$ -індукованої експресії генів [7], такі зміни показників свідчать про формування механізму обмеження HIF-1 $\alpha$ -залежної активації генів у легенях у цій групі. Співвідношення експресії мРНК HIF-3 $\alpha$ /HIF-1 $\alpha$ , яке ми розглядаємо як індекс здатності тканин до ремоделювання при впливі гіпоксії, зменшувалося на 18 % у молодих тварин після впливу періодичної гіпоксії, але зросло у 2,2 раза у старшій групі.

Одержані результати свідчать, що молодий організм реагує на періодичну гіпоксію посиленням HIF-1 $\alpha$ -опосередкованих пристосувальних механізмів в легенях. Це може спричинювати структурно-функціональну перебудову легень: ангиогенез та ремоделювання судин, зміни клітинного метаболізму тощо [3–5], що сприяє

адаптації до гіпоксії, може покращувати вентиляційно-перфузійне співвідношення та викликати стан тренуваності до фізичних навантажень [9]. Ці процеси можуть бути передумовою більш швидкої адаптації до гіпоксії, в тому числі метаболічної, у молодих щурів.

В організмі старшого віку, як відомо, структурно-функціональна перебудова тканин частіше набуває патологічного характеру з розвитком фіброзу, а ремоделювання судин посилює легенеvu гіпертензію [5, 10]. За цих умов зростання співвідношення експресії HIF-3 $\alpha$ /HIF-1 $\alpha$  та обмеження HIF-1 $\alpha$ /HIF-2 $\alpha$ -опосередкованої активації генів-мішеней, як це спостерігалось нами при періодичній гіпоксії у зрілих тварин, є захисним механізмом щодо розвитку патологічних процесів та їх ускладнень [10]. В той же час поступова оптимізація метаболізму сприяє саногенезу при хронічних захворюваннях.

**Висновки.** У щурів молодого і зрілого віку при хронічній гіпоксії розвивається гіпометаболічний стан. Періодична гіпоксія викликає транскрипційну активацію гена HIF-1 $\alpha$  в легенях та сприяє швидкому відновленню метаболізму у молодих щурів. У тварин зрілого віку відновлення метаболізму відбувається повільніше, в легенях відбувається формування захисних механізмів, опосередкованих HIF-3 $\alpha$ , які можуть обмежувати несприятливу структурно-функціональну перебудову (ремоделювання) тканини при гіпоксії.

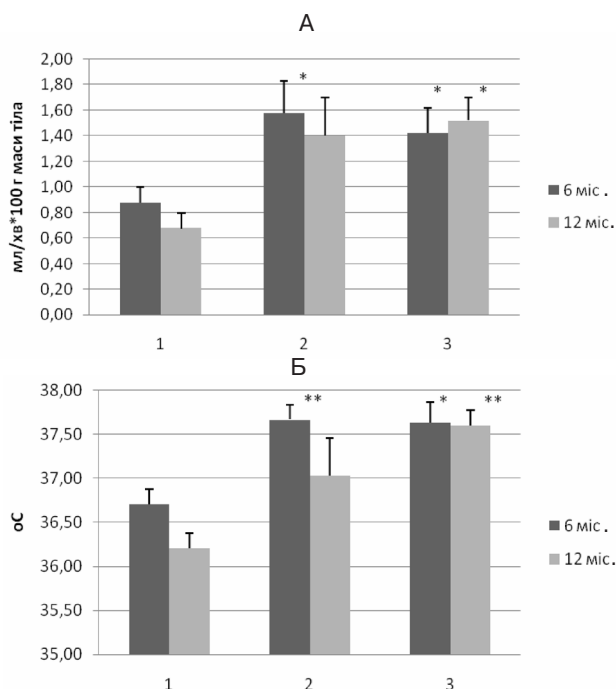


Рис. 1. Споживання кисню (А) та ректальна температура (Б) у щурів при впливі періодичної гіпоксії: 1 – до впливу, 2 – через добу після першого сеансу, 3 – через добу після останнього сеансу. Примітки: \* –  $p < 0,05$  порівняно з показниками до впливу; \*\* –  $p < 0,01$  порівняно з показниками до впливу.

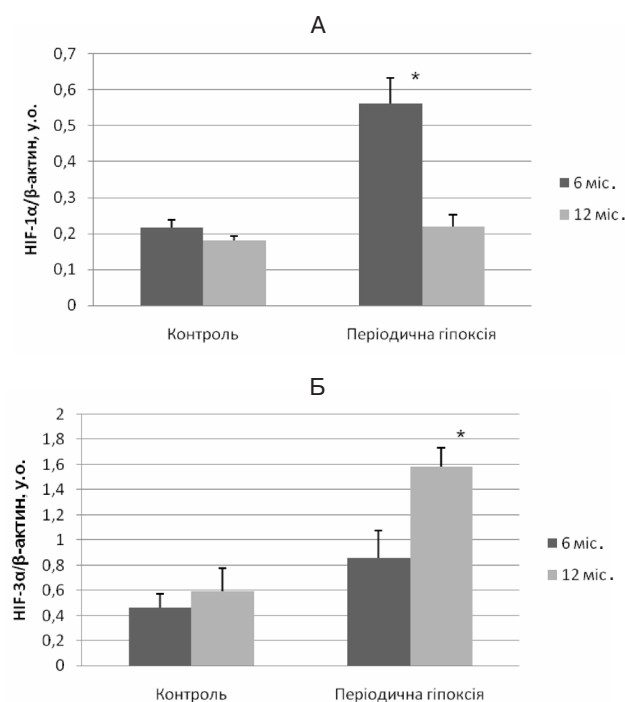


Рис. 2. Експресія мРНК HIF-1 $\alpha$  (А) та HIF-3 $\alpha$  (Б) у тканинах легень щурів після впливу періодичної гіпоксії. Примітка. \* –  $p < 0,05$  порівняно з контролем.

**Перспективи подальших досліджень** спрямовуються на поглиблене вивчення молекулярних механізмів регуляції метаболізму в залежності від тривалості та тяжкості гіпоксичного впливу, а також

при старінні. Результати роботи обґрунтовують застосування періодичної гіпоксії для патогенетичного лікування хворих молодого та середнього віку з хронічними гіпоксичними станами.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Semenza G. Perspectives on oxygen sensing // Cell. – 1999. – Vol. 98. – P. 281–284.
2. Huang L.E., Bunn H.F. Hypoxia-inducible factor and its biomedical relevance // J. Biol. Chem. – 2003. – Vol. 278. – P. 19575–19578.
3. Pugh C.W., Ratcliffe P.J. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system // Nat. Med. – 2003. – Vol. 9. – P. 677–684.
4. Voelkel N.F., Tudor R.M. Hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling: a model for what human disease? // J. Clin. Invest. – 2000. – Vol. 106. – P. 733–738.
5. Pulmonary hypertension in patients with chronic obstructive pulmonary disease: recent advances in pathophysiology and management / W. Hida, Y. Tun, Y. Kikuchi et al. // Respirology. – 2002. – Vol. 7. – P. 3–13.
6. Hypoxia rapidly activates HIF-3 $\alpha$  mRNA expression / M. Heidbreder, F. Frohlich, O. Jöhren et al. // FASEB J. – 2003. – Vol. 17(11). – P. 1541–1543.
7. Expression and characterization of hypoxia-inducible factor (HIF)-3 $\alpha$  in human kidney: suppression of HIF-mediated gene expression by HIF-3 $\alpha$  / S. Hara, J. Hamada, C. Kobayashi et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2001. – Vol. 287. – P. 808–813.
8. Пожаров В.П. Автоматизированная установка для измерения объемно-временных параметров внешнего дыхания и газообмена у мелких лабораторных животных // Физиол. журн. – 1989. – 35. – С. 119–121.
9. Влияние гипоксии нагрузки на метаболические процессы в тканях / Б.Л. Гавенаускас, О.А. Гончар, А.И. Назаренко, Е.В. Розова // В сб. тр.: Автоматизированный анализ гипоксических состояний. – Нальчик-Москва, 2003. – С. 84–88.
10. Heterozygous deficiency of hypoxia-inducible factor-2 $\alpha$  protects mice against pulmonary hypertension and right ventricular dysfunction during prolonged hypoxia / K. Brusselmans, V. Compennolle, M. Tjwa et al. // J. Clin. Invest. – 2003. – Vol. 111(10). – P. 1519–1527.

## EXPRESSION OF HIF-1 $\alpha$ AND HIF-3 $\alpha$ IN LUNGS, AND METABOLIC CHANGES IN RATS OF DIFFERENT AGE UNDER PERIODIC HYPOXIA INFLUENCE

**V.I. Portnichenko, A.H. Portnychenko, V.Ye. Dosenko, A.M. Sydorenko**

*International Centre for Astronomical, Medical and Ecological Research, NAS of Ukraine, Kyiv*

**SUMMARY.** The aims of this study were to determine: 1) modulation of HIF-1 $\alpha$  and HIF-3 $\alpha$  expression in lungs, and changes in oxygen consumption and body temperature in rats after periodic hypoxic influence; and 2) whether aging is associated with altered HIF-1 $\alpha$  and HIF-3 $\alpha$  expression in lungs and metabolic rebuilding after periodic hypoxia. In conscious male Wistar rats acclimatized to altitude 2100 m, gas exchange and body temperature were determined before and 24 h after hypobaric periodic hypoxia (6 seances of 5600 m, 1 h, every 3 days). It was shown that chronic hypoxia elicited hypometabolic state in animals. Periodic hypoxia seances promoted HIF-1 $\alpha$  transcriptional activation in lungs, and metabolism recovery in 6 months rats. In 12 months rats, increased HIF-3 $\alpha$  expression was detected in lungs, and body metabolism was intensified more slowly.

**KEY WORDS:** periodic hypoxia; HIF-1 $\alpha$  and HIF-3 $\alpha$ ; oxygen consumption; body temperature; hypometabolic state.