

## АКТИВАЦИЯ КОМПЛЕКСА II ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ ВО ВРЕМЯ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ КАК ИНДИКАТОР ЕЕ ПЕРЕНОСИМОСТИ

© 2018 г. М.В. Васин\*, И.Б. Ушаков\* \*\*

\*Государственный научный центр – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна ФМБА России, 123182, Москва, ул. Живописная, 46

\*\*Всероссийский Центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 4/2

E-mail: mikhail-v-vasin@yandex.ru

Поступила в редакцию 21.03.17 г.

После доработки 12.12.17 г.

Активация комплекса II дыхательной цепи во время острой гипоксии является адаптивной реакцией, позволяющей перенос электронов в дыхательной цепи при блокаде комплекса I. Острый дефицит кислорода в организме вызывает стресс-реакцию, сопровождающуюся выбросом в кровь адреналина и норадреналина. В ответ в клетке активизируются компенсаторные метаболические потоки с интенсификацией сукцинатоксидазного окисления. Характерной особенностью активации сукцинатдегидрогеназы при острой гипоксии является волнообразное ее изменение, причем при ее усилении период колебаний сокращается, а амплитуда увеличивается. Данные колебания обусловлены реципрокными отношениями между симпатической и парасимпатической систем регуляции. При развитии адаптации к гипоксии вследствие тренировочного дыхания гипоксической смесью активация сукцинат-убихинон-редуктазного шунта при гипоксической нагрузке исчезает. Реакция со стороны лимфоцитов крови может служить индикатором переносимости острой гипоксии.

*Ключевые слова:* сукцинатдегидрогеназа, острая гипоксия, адаптация, лимфоциты, газовая гипоксическая смесь, симпатико-адреналовая система.

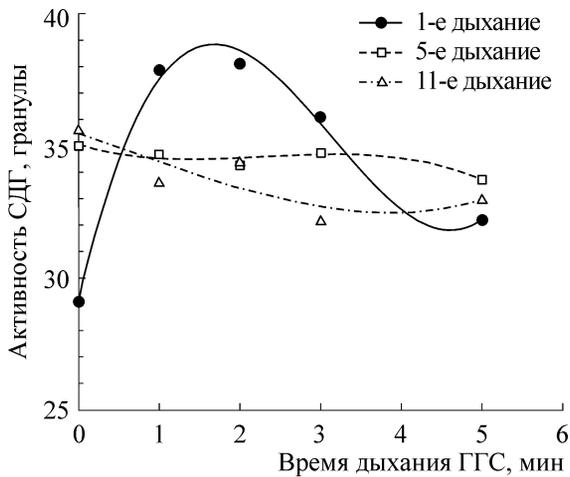
Патофизиологические сдвиги в организме при нарушении дыхания представляют большой интерес при изучении процессов, связанных с патогенезом многих заболеваний, включая патологию органов дыхания и сердечно-сосудистой системы, сахарного диабета, а также в процессах онкогенеза [1–4]. Активация комплекса II дыхательной цепи во время острой гипоксии является следствием вызванной ею ограничений в функционировании тканевого дыхания. Острый дефицит кислорода в организме вызывает стресс-реакцию, сопровождающуюся выбросом в кровь адреналина и норадреналина [5–9], позволяющих переключить кровоток в жизненно важные органы, прежде всего в головной мозг и сердце, и глюкокортикоидов [9,10], повышающих устойчивость гематического барьера в тканях по отношению к неизбежному развитию окислительного стресса, индуцированного в этих условиях под воздействием радикалов активных форм кислорода [11,12]. Гормональное реагирование на не-

достаток в крови и тканях кислорода осуществляется или рефлекторным путем, в том числе через кислород-чувствительные гломус-клетки каротидного клубочка [13,14], или при непосредственном воздействии на надпочечники [15,16].

### БИОФИЗИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ АКТИВАЦИИ КОМПЛЕКСА II ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ ВО ВРЕМЯ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

Реакция со стороны сукцинатдегидрогеназы (СДГ) клеток возможна при возникновении затруднения в переносе электронов на участке дыхательной цепи НАДН–КоQ и начала роста в клетке восстановленного НАДН, что имеет место при снижении концентрации кислорода в клетке < 30 мкМ.  $ED_{50}$  гипоксии по сдвигу отношения НАДН/НАД<sup>+</sup> соответствует 12,6 мкМ, по изменению отношения АТФ/АДФ – 7 мкМ [17]. При снижении концентрации кислорода в среде до 10 мкМ наступают затруднения НАДН-оксидазного пути окисления в цикле Кребса при переносе электронов на участке НАДН–КоQ с увеличением восстановленных эквивалентов

Сокращения: СДГ – сукцинатдегидрогеназа, ГГС – газовая гипоксическая смесь.



**Рис. 1.** Влияние тренировочного режима повторного кратковременного (по 5 мин) дыхания ГГС-10 с добавлением 3% CO<sub>2</sub> у человека на реакцию СДГ лимфоцитов периферической крови при воздействии острой гипоксии [22]. По оси ординат: активность СДГ лимфоцитов, выраженная в количестве гранул формазана на один лимфоцит при гистохимическом исследовании по методу Нарциссова [27]; по оси абсцисс: время воздействия ГГС, мин.

НАДН/НАД<sup>+</sup>. В ответ в клетке активизируются компенсаторные метаболические потоки с интенсификацией сукцинатоксидазного окисления, минуя данный участок и сокращающего транспорт электронов к цитохромоксидазе, тем самым поддерживая окислительное фосфорилирование, синтез АТФ и в целом клеточное дыхание в условиях развития фазы I тканевой гипоксии.

Впервые адаптивная роль перехода на преимущественное использование янтарной кислоты как субстрата окисления в митохондриях при гипоксических состояниях и роста в этих условиях активности СДГ была обнаружена М.Н. Кондрашовой [18]. Данный феномен был подтвержден в опытах на животных [19–21] и у человека при дыхании газовой гипоксической смесью (ГГС), состоящей из азота и кислорода, содержание которого было снижено до 10% (далее в тексте – ГГС-10) [22]. Активация активности СДГ в клетках при определенной интенсивности нарушения тканевого дыхания сочетается с проявлением «восстановительного стресса», связанного с нарушением тиол-дисульфидного равновесия в дыхательной цепи с ростом свободных SH-групп и сопровождающегося набуханием митохондрий. Применение сукцината устраняет набухание митохондрий и восстанавливает мембранный потенциал митохондрий и синтез АТФ в условиях острой гипок-

сии [23]. При патологических процессах возможно проявление глиоксилатного цикла, шунтирующего цикл Кребса с повышенной продукцией сукцината и активацией СДГ, что в конечном итоге завершается синтезом глюкозы из жирных кислот [24–26].

В клинической практике и медицине экстремальных состояний реакция на гипоксию, связанная с активацией сукцинат-убихинон-редуктазного участка дыхания клеток, удовлетворительно регистрируется по усилению ферментативной активности СДГ лимфоцитов периферической крови. Отсутствие реакции на гипоксию со стороны сукцинатоксидазной системы клеток крови после гипоксической тренировки свидетельствует, что мощность приспособительных реакций первого рода – усиления легочной вентиляции, увеличения минутного объема и кислородной емкости крови после тренировки дыханием ГГС-10 – достаточна, чтобы поддержать в условиях гипоксической нагрузки нормальное кислородное снабжение клеток крови, т.е. для клеток отсутствует необходимость включения адаптивной реакции с вовлечением сукцинатоксидазной системы. Подобная реакция как свидетельство адаптации к гипоксии была ранее выявлена в опытах на крысах при повторной экспозиции к гипобарической гипоксической гипоксии [28,29], а также у человека при тренировке с повторным ежедневным дыханием ГГС-10 с добавлением 3% углекислого газа в течение 11 сеансов (рис. 1) [22]. Во время тренировочного режима устанавливается более высокий исходный уровень активности СДГ лимфоцитов крови. Существует тесная корреляционная связь как между исходным уровнем активности СДГ, так и с ее изменением во время дыхания ГГС-10 (таблица). Повышенный исходный уровень активности СДГ лимфоцитов крови выявлен у больных с нейрососудистой дистонией при сохранении реакции СДГ на воздействие адреналина [2].

Лечебный эффект различных схем гипоксической терапии во многом зависит от их адекватности индивидуальным возможностям и реактивности организма к повторным гипоксическим воздействиям. В настоящем исследовании адаптивные реакции человека на гипоксию определяли по клеточной реакции на гипоксию по адаптивным сдвигам со стороны клеточного дыхания на примере лимфоцита периферической крови.

Корреляционная связь физиологических и биохимических показателей с изменением индивидуальной устойчивости человека к острой гипоксии по завершению действия тренировочного режима повторного дыхания ГГС-10 (по 5 мин ежедневно кроме воскресных дней в течение 11 суток) [22]

Показатели	Насыщение крови кислородом через 1 мин дыхания ГГС-10	Максимальное изменение насыщения крови кислородом	Максимальное изменение пульса	Устойчивость к гипоксии по пробе Штанге
Максимальное изменение пульса	-0,56*	-0,54*	1	-0,14
Насыщение крови кислородом через 1 мин дыхания ГГС-10	1	0,57*	-0,56*	0,53*
Максимальное изменение насыщения крови кислородом	0,57*	1	-0,54*	-0,49*
Изменение реакции СДГ лимфоцитов крови	0,25	-0,35	0,01	-0,47*
Изменение исходного уровня СДГ лимфоцитов крови	0,33	-0,66*	-0,65*	0,51*

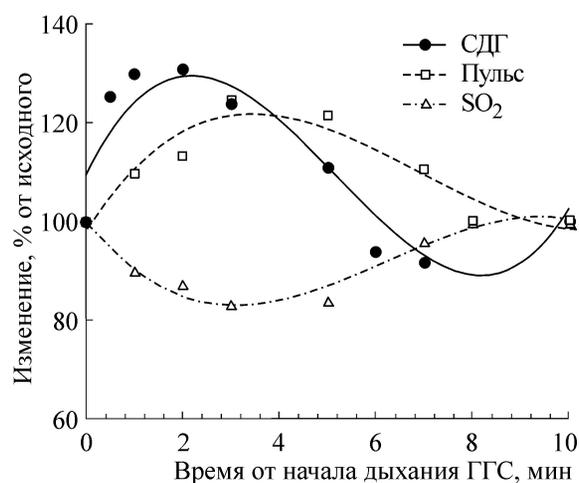
Примечание. \*  $P < 0,05$ .

### ЭКСТРЕМАЛЬНЫЕ СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА ПРИ ЧРЕЗМЕРНЫХ НАГРУЗКАХ И ПАТАЛОГИИ СОПРОВОЖДАЮТСЯ АКТИВАЦИЕЙ КОМПЛЕКСА II ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

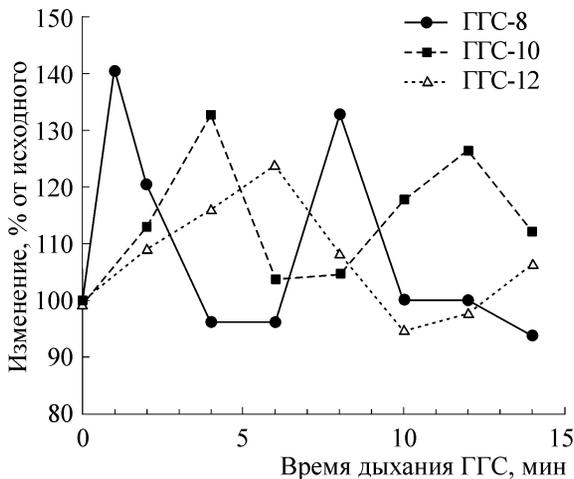
В клинической практике и медицине экстремальные состояния, в том числе при патологиях различного генеза, сопровождаются тканевой гипоксией и связанной с ней стресс-реакцией с активацией симпатико-адреналовой системы. При экспериментальной модели апноэ в течение 4 мин уровень норадреналина в крови увеличивается в три раза и адреналина – в два раза [30]. Дыхание человека газовой гипоксической смесью, содержащей 12% кислорода, в течение первого часа сопровождается выбросом в артериальную кровь норадреналина и адреналина [31]. Активация симпатико-адреналовой системы при экстремальных состояниях влечет за собой активацию сукцинат-убихинон-редуктазного участка дыхания клеток, что регистрируется по активации СДГ лимфоцитов периферической крови [32]. Поскольку при дыхании ГГС клетки крови не находятся в гипоксическом состоянии, то реакция в виде активации СДГ лимфоцитов связана исключительно с воздействием на них стресс-гормонов. Активация СДГ происходит во время резкого снижения насыщения (сатурации) крови кислородом и отсутствует на максимуме ее падения (рис. 2) [22]. Интенсивность проявления адренергической реакции на стресс, выявляемой по активации СДГ клеток крови, может служить индикатором переносимости организма острой гипоксии различного генеза. Реализация СДГ-реакции возможна через рецепторный аппарат в ответ на выброс в кровь адреналина, норад-

реналина и других биогенных аминов при развитии острой фазы стресса [33–39].

Адренергическая реакция находится в реципрокных отношениях с холинергической системой, биохимическим индикатором которой является активация альфа-кетоглютарат дегидрогеназы [40–43]. Активация СДГ *in vivo* проявляется в виде колебательного процесса. При увеличении гипоксической нагрузки период колебаний сокращается, а амплитуда колебаний увеличивается (рис. 3) [20,21]. Данные колебания связаны со сменой преобладания адренергической или холинергической стимуляции [32].



**Рис. 2.** Влияние однократного кратковременного (5 мин) дыхания ГГС-10 с добавлением 3% CO<sub>2</sub> на активность СДГ лимфоцитов периферической крови у человека, частоту пульса и сатурацию кислородом крови во время гипоксического воздействия [22]. По оси ординат: активность СДГ лимфоцитов, % к исходному уровню, частота пульса, удары в мин, сатурация кислородом крови, %; по оси абсцисс: время воздействия ГГС, мин.



**Рис. 3.** Влияние дыхания газовой гипоксической смесью при содержании кислорода 8, 10, 12% на изменение активности СДГ лимфоцитов крови крыс [21]. По оси ординат: изменение активности СДГ лимфоцитов крови, % к исходному уровню; по оси абсцисс: время воздействия ГГС, мин.

Данное динамическое равновесие может нарушаться с преобладанием адренергического статуса, например при гипертензии и сердечно-сосудистой патологии, провоцировать инсулиновую резистентность и развитие сахарного диабета второго типа [2,44]. Отмечаемый в случае активации СДГ при адренергической стимуляции повышенный синтез сукцината может способствовать экспрессии его рецептора GPR91, через который он способен повышать устойчивость к гипоксии головного мозга. В то же время при длительном воздействии сукцинат как доминирующий фактор может через рецептор GPR91 активизировать ренин-ангиотензиновую систему, вызвать гипертрофию миокарда и гипертензию, а в перспективе способствовать развитию атеросклероза, диабета или почечной недостаточности [45–47].

## ВЫВОДЫ

1. Реакция в виде активации СДГ лимфоцитов периферической крови является следствием воздействия на них стресс-гормонов, прежде всего, симпатoadrenalовой системы при воздействии на организм острой гипоксии.

2. Характер и выраженность активации СДГ лимфоцитов периферической крови отражает степень проявления стресс-реакции на острую гипоксию и может служить для оценки переносимости организмом гипоксии различного генеза.

3. При повторном кратковременном дыхании гипоксической смесью отсутствие актива-

ции СДГ лимфоцитов периферической крови или сохранение этой реакции может служить основанием для оценки адекватности выбранного тренировочного режима дыхания ГГС индивидуально для каждого испытуемого и ее коррекции для достижения ее оптимального лечебного эффекта.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. P. Rustin, A. Munnich, and A. Rotig, *Eur. J. Human Genetics* **10**, 289 (2002).
2. М. В. Васин, И. Б. Ушаков, Л. В. Королева и др., *Бюл. эксперим. биологии и медицины* **134** (4), 393 (2002).
3. L. F. Dong, V. J. A. Jameson, D. Tilly, et al., *J. Biol. Chem.* **286** (5), 3717 (2011). doi: 10.1074/jbc.M110.186643.
4. E. Desideri, R. Vegliante, and M. R. Ciriolo, *Cancer Lett.* **356** (2, Pt A), 217 (2015). doi: 10.1016/j.canlet.2014.02.023.
5. G. Ramirez, R. Herrera, D. Pineda, et al., *Clin. Endocrinol. (Oxford)* **43** (1), 11 (1995).
6. M. Rostrup, *Acta Physiol. Scand.* **162** (3), 389 (1998).
7. G. H. Kamimori, E. J. Ryan, R. Otterstetter, et al., *Aviat. Space Environ. Med.* **80** (4), 376 (2009).
8. L. Eichhorn, F. Erdfelder, F. Kessler, et al., *Int. J. Sports Med.* (2016).
9. J. P. Richalet, M. Letournel, and J. C. Souberbielle, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **299** (6), R1685 (2010). doi: 10.1152/ajpregu.00484.2010.
10. K. E. Barnholt, A. R. Hoffman, P. B. Rock, et al., *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **290** (6), E1078 (2006).
11. C. Mozet, R. Martin, K. Welt, and G. Fitzl, *Aging Clin. Exp. Res.* **21** (1), 14 (2009).
12. Z. Földes-Papp, W. Domej, U. Demel, and G. P. Tilz, *Wien Med. Wochenschr.* **155** (7–8), 136 (2005).
13. A. V. Gourine, *J. Physiol.* **568** (Pt 3), 715 (2005).
14. N. R. Prabhakar and J. L. Overholt, *Respir. Physiol.* **122** (2–3), 209 (2000).
15. M. K. Shin, W. Han, S. Bevans-Fonti, et al., *Respir. Physiol. Neurobiol.* **203**, 60 (2014). doi: 10.1016/j.resp.2014.08.018.
16. J. C. Jun, M. K. Shin, R. Devera, et al., *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **307** (11), E1073 (2014). doi: 10.1152/ajpendo.00373.2014.
17. D. P. Jones and H. S. Mason, *J. Biol. Chem.* **253** (14), 4874 (1978).
18. М. Н. Кондрашова, Е. И. Маевский, Г. В. Бабаян и др., в сб. *Митохондрии. Биохимия и ультраструктура* (Наука, М., 1973), сс. 112–129.
19. L. Susheela and T. Ramasarma, *Bioch. Biophys. Acta – Enzymol.* **321** (2), 423 (1973).
20. А. Н. Гайдамакин и М. М. Абрамов, *Радиобиология* **27** (4), 524 (1987).
21. В. В. Антипов, М. В. Васин и А. Н. Гайдамакин, *Космич. биол. авиакосмич. мед.* **23** (2), 63 (1989).

22. М. В. Васин, И. Б. Ушаков, Л. В. Королева и В. К. Степанов, *Авиакосм. экол. мед.* **16** (6), 35 (2002).
23. B. J. Hawkins, M. D. Levin, P. J. Doonan, et al., *J. Biol. Chem.* **285** (34), 26494 (2010). doi: 10.1074/jbc.M110.143164.
24. W. L. Davis and D. B. Goodman, *Anat. Rec.* **234** (4), 461 (1992).
25. Н. П. Лебкова, *Вестн. Росс. акад. мед. наук*, № 9, 16 (2000).
26. I. G. Morgunov, M. N. Kondrashova, S. V. Kamzolova, et al., *Med. Sci. Monit.* **11** (2), BR57 (2005).
27. Р. П. Нарциссов, *Архив анат. гистол. эмбриол.* **56** (5), 85 (1969).
28. И. Б. Ушаков, М. М. Абрамов, Л. Л. Хунданов и В. Г. Зуев, *Радиопротекторы и гипоксия: механизмы комбинированной защиты*. (Вооружение. Политика. Конверсия, М., 1996).
29. И. Н. Машковская, Г. Л. Вавилова, О. Н. Харламова и др., *Укр. биохим. журн.* **69** (2), 79 (1997).
30. L. Eichhorn, F. Erdfelder, F. Kessler, et al., *Int. J. Sports Med.* (2016).
31. G. H. Kamimori, E. J. Ryan, R. Otterstetter, et al., *Aviat. Space Environ. Med.* **80** (4), 376 (2009).
32. М. В. Васин, Т. В. Петрова и Л. В. Королева, *Физиол. журн. СССР им. И. М. Сеченова* **77** (4), 106 (1991).
33. L. Ling, *Nature* **429** (6988), 188 (2004).
34. В. И. Кулинский, А. К. Кунцевич и Л. В. Труфанова, *Бюл. эксперим. биологии и медицины* **92** (8), 33 (1981).
35. S. Sivaramakrishnan, S. R. Panini, and T. Ramasarma, *Indian J. Biochem. Biophys.* **20** (1), 23 (1983).
36. S. Sivaramakrishnan and T. N. Ramasarma, *Indian J. Biochem. Biophys.* **20** (1), 16 (1983).
37. М. В. Васин, И. Б. Ушаков, Л. В. Королева и В. В. Антипов, *Радиац. биол. радиоэкол.* **39** (2–3), 238 (1999).
38. М. Н. Кондрашова и Е. В. Григоренко, *Журн. общ. биологии* **46** (4), 516 (1985).
39. М. Н. Кондрашова и А. М. Бабский, *Укр. биох. журн.* **58** (6), 49 (1986).
40. Л. В. Шостаковская, Н. М. Долиба, С. К. Гордый и др., *Укр. биох. журн.* **58** (5), 54 (1986).
41. N. V. Khunderyakova, M. V. Zakharchenko, A. V. Zakharchenko, et al., *Biochim. Biophys. Acta –Bioenergetics* **1797**, 142 (2010).
42. M. A. Simonova, M. N. Tutukina, N. V. Khunderyakova, et al., *Biochim. Biophys. Acta –Bioenergetics* **1797**, 143 (2010).
43. M. V. Zakharchenko, A. V. Zakharchenko, N. V. Khunderyakova, et al., *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **45** (1), (2012). doi:10.1016/j.biocel. 2012.07.003
44. J. C. Jun, M. K. Shin, R. Devera, et al., *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **307** (11), E1073 (2014). doi: 10.1152/ajpendo.00373.2014.
45. W. He, F. J. Miao, D. C. Lin, et al., *Nature* **429** (6988), 188 (2004).
46. L. D. Lukyanova and Y. I. Kirova, *Front Neurosci.* **9**, 320 (2015). doi: 10.3389/fnins. 2015.00320.
47. L. Yang, D. Yu, H. H. Fan, et al., *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* **7** (9), 5415 (2014).

## Activation of Respiratory Chain Complex II as a Hypoxia Tolerance Indicator during Acute Hypoxia

M.V. Vasin\* and I.B. Ushakov\* \*\*

\*State Scientific Centre – Burnazian Federal Medical Biophysical Centre, Federal Biomedical Agency of Russian Federation, Zhivopisnaya ul. 46, Moscow, 123182 Russia

\*\*Nikiforov All-Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia, ul. Akademika Lebedeva 4/2, St.-Peterburg, 194044 Russia

Activation of respiratory chain complex II during acute hypoxia is the adaptive response that mitigates electron transfer in the respiratory chain when complex I is blocked. Acute oxygen deficiency in the body induces stress stimulating the release of epinephrine and norepinephrine into the blood. As a result, an activation of compensatory metabolic flows and succinate dehydrogenase and succinate oxidation occur in the cell. Activation of succinate dehydrogenase associated with acute hypoxia is characterized by wavy fluctuations, and the period of oscillation decreases, the amplitude increases as activation intensifies. These fluctuations are induced by a reciprocal relationship between sympathetic and parasympathetic systems. In adaptation to hypoxia during the repeated cycles of breathing a hypoxic gas mixture no activation of succinate-ubiquinone-reductase shunt under hypoxic load is present. Blood lymphocyte reaction can serve as an indicator of acute hypoxia tolerance.

*Keywords: succinate dehydrogenase, acute hypoxia, adaptation, lymphocyte, gas hypoxic mixture, epinephrine, sympathoadrenal system*