

## СЕКЦИЯ ГИПОКСИЯ: МЕХАНИЗМЫ КОМПЕНСАЦИИ И АДАПТАЦИИ

УДК 612.1:577.118

Бойко Евгений Рафаилович<sup>1,2</sup>, д.м.н., профессор

Паршукова Ольга Ивановна<sup>1,2</sup>, к.б.н.

Потолицына Наталья Николаевна<sup>1</sup>, к.б.н.

*Boyko Evgeny Rafailovich, doctor of medical sciences, professor, Republic of Komi, Syktyvkar*

*Parshukova Olga Ivanovna, PhD, Republic of Komi, Syktyvkar*

*Potolitsyna Natalya Nikolaevna, Ph.D, Republic of Komi, Syktyvkar*

<sup>1</sup> Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН, ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар

<sup>2</sup> ФГБУ ВО Сыктывкарский государственный университет им. П.Сорокина, г. Сыктывкар

### ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЙ ОТВЕТ ПРИ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ОСТРОЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ИНДУЦИРОВАННОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ У ЧЕЛОВЕКА В ПОКОЕ

**Аннотация.** Обследовано 14 здоровых мужчин в покое при кратковременной выраженной острой нормобарической гипоксии (вдыхание 9% O<sub>2</sub> в азоте через маску в течение 25 мин) и раннем периоде восстановления – 15 мин. Методом статистического анализа из числа испытуемых выделены 2 группы, имеющие различия в показателях плазменного оксида азота (NOx). Показано, что у здоровых мужчин со значительно более высокими базальными уровнями оксида азота также наблюдались более высокие концентрации NOx в плазме во время гипоксического воздействия и в восстановительном периоде. У участников этой группы также был значительно более низкий уровень лактата в плазме как до, так и во время эксперимента. Сделано заключение, что при оценке лактатных показателей у лиц, находящихся в условиях кратковременной острой нормобарической гипоксии, необходимо учитывать индивидуальные уровни NOx.

**Ключевые слова:** нормобарическая гипоксия, оксид азота, лактат, человек.

### ТЫНЧ АБАЛДА АДАМДЫН КЫСКА МӨНӨТТӨГҮ КУРЧ ЭКСПЕРИМЕНТТИК НОРМОБАРДЫК ГИПОКСИЯДА ЭНДОТЕЛИАЛДЫК ЖООП

**Аннотация.** Тынч абалда 14 дени сак эркек кыска мөөнөттүү оор нормобаралык гипоксия (25 мүнөткө маска аркылуу 9% O<sub>2</sub> азоту менен дем алуу) жана 15 мүнөттүк эрте калыбына келтирүү мезгилинде изилденди. Изилденүүчүлөрдүн арасынан статистикалык талдоо методу менен плазмадагы азот кычкылынын (NOx) көрсөткүчтөрүндө айырмачылыктары бар 2 топ бөлүнгөн. Базалдык азот кычкылынын деңгээли олуттуу жогору болгон дени сак эркектерде: гипоксиянын таасири учурунда жана калыбына келтирүү мезгилинде плазмада NOx концентрациясы кыйла жогору экени аныкталган. Ошондой эле бул топтун катышуучуларында, экспериментке чейин жана анын жүрүшүндө плазмадагы лактаттын деңгээли бир кыйла төмөн болгон. Кыска мөөнөттүү курч нормобаралык гипоксиянын шарттарында адамдарда лактаттын индекстерин баалоодо плазмадагы азот кычкылынын NOx жекече деңгээлин эске алуу зарыл деген тыянак чыгарылган.

**Негизги сөздөр:** нормобариялык гипоксия, азот оксиди, лактат, адам

### ENDOTHELIAL RESPONSE DURING SHORT-TERM ACUTE EXPERIMENTALLY INDUCED NORMOBARIC HYPOXIA IN HUMANS AT REST

**Abstract.** We studied 14 healthy young men participating in an experiment that induced acute severe normobaric hypoxia at rest (breathing a hypoxic gas mixture with 9% O<sub>2</sub> by volume); the measurements occurred during 25 minutes of hypoxia and for 15 minutes of the early recovery period. Using a statistical analysis method, we divided the experimental group into 2 subgroups with different nitric oxide (NOx)

values. The healthy men with significantly higher basal NO<sub>x</sub> levels also demonstrated higher plasma NO<sub>x</sub> concentrations during the hypoxic exposure and in the recovery period. The participants in this group also had significantly lower plasma lactate levels both before and during the experiment. We assumed that individual NO levels should be taken into consideration when assessing lactate indices in subjects under short-term acute normobaric hypoxia.

**Keywords:** normobaric hypoxia, nitric oxide, lactate, human.

**Введение.** Важная роль оксид азота(NO) и его метаболитов в регуляции различных физиологических функций хорошо известна [5,9]. Предполагается, что гипоксия активирует факторы транскрипции ряда генов, в том числе eNOS[7]. Однако некоторые аспекты воздействия NO остаются неясными, особенно корреляция между уровнями NO и лактата. Острая гипоксия сопровождается накоплением лактата, что ограничивает работоспособность организма. Существует много дискуссий о «парадоксе высотного лактата» с несколькими интерпретациями и теориями. Дискуссионным аспектом во всех случаях является парадоксально низкий уровень лактата в сыворотке крови, обнаруживаемый при физических нагрузках в условиях высокогорья [11]. Имеется ряд сообщений, анализирующих взаимосвязь между лактатом и NO при патологических состояниях [1] и у здоровых людей в условиях гипоксии [6]. Тем не менее, точный механизм сосудистой реакции при острой гипоксии остается неясным. Таким образом, физиологическая роль NO при острой гипоксии до сих пор остается дискуссионной.

**Цель исследования** – определение содержания метаболитов NO и лактата в плазме здоровых людей, перенесших экспериментальную острую тяжелую нормобарическую гипоксию.

**Материал и методы исследования.** Четырнадцать здоровых мужчин в возрасте 26 (22,51; 27,52) лет (рост 178 (173; 180) см; вес 75 (71; 77) кг; индекс массы тела 23,4 (21,8; 24,3) кг/м<sup>2</sup>) без признаков или истории хронических заболеваний вызвались участвовать в этом исследовании. Все участники были ознакомлены с полным протоколом эксперимента. Добровольцы дали письменное информированное согласие на участие в исследовании и могли отказаться от него на любом этапе эксперимента. Протокол исследования рассмотрен и одобрен Этическим комитетом Института физиологии Коми НЦ УрО РАН.

Исследование проводилось утром после завтрака с низким содержанием нитратов; таким образом, все добровольцы потребляли

стандартизированную пищу. На догипоксическом этапе исследования тестируемым устанавливалась капельница с венозным катетером («TROGE», Германия). Гипоксический эффект моделировался с помощью маски, через которую испытуемые вдыхали газовую смесь, содержащую 9% кислорода в азоте. Парциальное давление кислорода в смеси было близко к таковому на высоте 6400 м над уровнем моря. Запланированное время гипоксического воздействия составляло 25 минут. Образцы крови (2,0 мл) брали из локтевой вены в пробирки с гепарином в состоянии покоя испытуемых до гипоксии (фоновые значения) и на 5-й, 10-й и 20-й минутах гипоксического воздействия (5'гип, 10'гип и 20'гип). Затем, после отключения подачи кислородно-азотной газовой смеси и возобновления дыхания испытуемых атмосферным воздухом, забор крови производили два раза: на 5-й и 15-й минутах восстановления (5'вос и 15'вос).

Уровень NO в плазме измеряли с помощью реакции Грисса, оценивая уровень стабильные метаболиты NO – NO<sub>x</sub>, включая нитриты (NO<sub>2</sub>) и нитраты (NO<sub>3</sub>). Как описано ранее в нашей статье [8]. Уровень лактата в плазме измеряли с помощью ферментативного колориметрического метода коммерческим набором «Chronolab» (ChronolabSystems, S.L. Barcelona, Испания). Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Statistica (версия 6.0, StatSoftInc., 2001, США). Переменные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона (25-й и 75-й процентиля). Достоверность различий между группами оценивали с помощью критерия Манна-Уитни. Тест Фридмана использовали для анализа изменений уровней метаболитов в ходе эксперимента. Корреляции между показателями оценивали с помощью ранговой корреляции Спирмена. Значение  $p < 0,05$  принимали за статистически значимое.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Содержание NO<sub>x</sub> в ходе теста у обследованных мужчин достоверно не изменялось

( $p > 0,05$ ), несмотря на то, что на 10 и 20 мин гипоксии у некоторых испытуемых отмечались индивидуально высокие показатели. При этом уровень лактата в плазме крови имел тенденцию к увеличению после 10-й минуты гипоксического воздействия, но вариации индивидуальных уровней лактата делали это увеличение незначительным ( $p > 0,05$ ).

Физиологическая реакция на гипоксическое воздействие во многом зависит от индивидуальных особенностей исследуемых. Поэтому методом статистического анализа из

числа испытуемых были выделены 2 группы, имеющие различия в показателях плазменного оксида азота (NOx): первая группа (группа I,  $n=7$ ) имела значительно более высокие фоновые значения NOx ( $p < 0,05$ ), чем вторая группа (группа II,  $n=7$ ) (табл.). На 5-й и 10-й минутах гипоксии разница между группами становилась более выраженной ( $p < 0,01$ ). Таким образом, различия в показателе NOx в выделенных нами группах отмечались до проведения теста, и сохранялись в целом в ходе теста и при восстановлении.

**Таблица.** Показатели оксида азота и лактата в плазме крови мужчин при остром гипоксическом воздействии, (Me, 25% – 75%)

Параметры		Стадии острого гипоксического воздействия					
		Фон	5'гип	10'гип	20'гип	5'вос	15'вос
NO <sub>x</sub> , μmol/l	I	16.3* 11.8-23.3	16.6** 14.3-18.1	22.3###** 19.9-24.5	18.5* 15.4-26.7	19.9* 17.7-24.6	16.5** 16.5-19.8
	II	7.4 6.8-12.6	8.6 5.6-9.1	11.3# 10,1-15.5	9.8# 6.4-10.1	11.5# 9.6-14.4	7.2# 7.2-10.5
NO <sub>2</sub> , μmol/l	I	3.9 3.3-5.7	5.9 3.2-8.2	9.1\$ 4.9-9.4	5.1* 3.2-6.9	6.2# 5.4-8.4	3.8 2.9-7.6
	II	3.7 3.5-5.7	3.7 2.1-4.3	4.2 1.7-7.6	2.3# 1.1-3.4	3.1 1.8-6.2	2.8 1.9-4.6
NO <sub>3</sub> , μmol/l	I	8.5** 7.8-20.5	10.1** 8.6-12.8	15.7##* 11.5-17.8	12.9* 8.4-23.6	11.5 8.9-20.1	13.4** 10.6-15.7
	II	5.5 2.6-5.7	5.4 2.7-5.8	4.2 3.5-7.1	5.5 4.7-8.4	9.8 1.7-10.4	4.4 2.4-5.4
Лактат, μmol/l	I	1.4* 1.3-1.5	1.4** 1.2-1.4	1.7*# 1.5-1.9	1.7 1.5-2.0	1.4 1.3-2.0	1.4# 1.1-1.8
	II	1.8 1.7-2.1	2.0# 1.8-2.2	2.2\$ 1.8-2.2	2.2\$ 1.8-2.3	2.6 2.0-2.7	2.2 1.7-2.3

Уровни статистической значимости между группами: \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$

Уровни статистической значимости, по сравнению с предыдущим этапом: # $p < 0,05$ ; ## $p < 0,01$ .

Уровни статистической значимости по сравнению с фоном: \$ $p < 0,05$

Анализ уровней лактата в крови в двух группах показал значительные различия между ними (Таблица). Фоновые значения лактата были ниже в группе I ( $p < 0,05$ ). Различия между группами оставались значимо достоверными на 5-й ( $p < 0,01$ ) и 10-й мин гипоксии ( $p < 0,05$ ). В дальнейшем на 20-й минуте гипоксического воздействия и в восстановительном периоде разница становилась статистически недостоверной; однако уровни лактата в первой группе были ниже, чем во второй.

Анализ корреляционных связей во всей исследуемой группе ( $n=14$ ) выявил значимые отрицательные связи между показателями NOx, NO<sub>3</sub> и уровнем лактата до начала гипоксии ( $r = -0,71$ ;  $p = 0,004$  и  $-0,67$   $p = 0,008$  соответственно). Этот тип корреляции также наблюдался на 5-й минуте гипоксии ( $r = -0,72$ ;  $p = 0,004$  и  $-0,63$

$p = 0,02$  соответственно), но исчезал на 10-й минуте гипоксии. В дальнейшем достоверной корреляции между этими показателями не обнаружено ( $p > 0,05$ ).

Важные результаты этого исследования заключаются в том, что здоровые люди с более высоким уровнем NOx в плазме сохраняли эту более высокую концентрацию во время острой гипоксии, и что у этих субъектов также был значительно более низкий уровень лактата в крови в начале исследования и во время гипоксии. Было показано, что ингибирование продукции NO увеличивает потребление кислорода мышцами [3]. Физиологические изменения, направленные на улучшение снабжения кислородом во время гипоксии, хорошо документированы и включают увеличение вентиляции, сердечного выброса, эритропоза и васкуляризации тканей

[10]. Все эти превращения обеспечивают поддержание нормального потребления кислорода даже при достаточно тяжелой гипоксии, хотя в первые 10–15 мин может наблюдаться дефицит потребления кислорода относительно базального уровня. Однако на большой высоте, несмотря на нормальное выделение кислорода на высоте до 7000 м над уровнем моря [2], физическая работоспособность резко падает, а индивидуальные различия в уровне кислорода не коррелируют с работоспособностью. Это открытие подтверждает важность индивидуальной адаптивной реакции на тканевом уровне на низкое парциальное давление кислорода. Поскольку потребление кислорода ( $\dot{V}O_2$ ) определяется взаимодействием нескольких факторов – кровотока, способности крови переносить кислород, диффузии  $O_2$  из крови в ткани, потребности в АТФ и утилизации  $O_2$  митохондриями – ясно, что влияние синтеза NO на потребление кислорода зависит от баланса между часто противоположными эффектами NO на разных уровнях.

Концентрация лактата в крови в покое определяется скоростью его образования и метаболизма, прежде всего в печени. Наши данные свидетельствуют о том, что в условиях эксперимента исходный уровень лактата перед ги-

поксическим воздействием играет существенную роль и что уровень лактата отрицательно коррелирует с величиной NOx. Корреляция между NO и лактатом была показана в предыдущих отчетах [4].

Таким образом, на наш взгляд, уровни NO и лактата в крови у здоровых людей, перенесших тяжелую острую гипоксию, отражают наличие нескольких, по крайней мере, двух, вариаций адаптивных физиологических реакций в зависимости от скорости синтеза NO. Наше исследование показывает, что здоровые мужчины, которые начинают со значительно более высокими уровнями NOx в крови во время почти критического гипоксического воздействия, сохраняют эти более высокие уровни NOx во время кратковременной гипоксии и в период восстановления. У тех же мужчин наблюдаются значительно более низкие уровни лактата в плазме, которые также остаются на более низком уровне во время воздействия гипоксии. Наши данные позволяют более точно прогнозировать физиологические реакции на острую околокритическую нормобарическую гипоксию у здоровых людей и выделять лиц, более устойчивых к острому сильному гипоксическому воздействию.

### Список литературы:

1. *Carpenter K.L., Timofeev I.* et al. Nitric oxide in acute brain injury: a pilot study of NO(x) concentrations in human brain microdialysates and their relationship with energy metabolism // *Acta Neurochir.* – 2008. – V. 102. – P. 207–213.
2. *Grocott M.P., Martin D.S.*, et al. Arterial blood gases and oxygen content in climbers on Mount Everest // *N Engl J Med.* – 2009. – V. 360. – P. 140-149. *Heinonen I., Saltin B.* et al. Skeletal muscle blood flow and oxygen uptake at rest and during exercise in humans: a pet study with nitric oxide and cyclooxygenase inhibition // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2011. – V. 300. – P. H1510-H1517.
4. *Kato G.J., McGowan V.* et al. Lactate dehydrogenase as a biomarker of hemolysis-associated nitric oxide resistance, priapism, leg ulceration, pulmonary hypertension, and death in patients with sickle cell disease // *Blood.* – 2006. – V. 107. – P. 2279-2285.
5. *Lewis N.C.S., Bain A.R., Wildfong K.W., Green D.J., Ainslie P.N.* Acute hypoxaemia and vascular function in healthy humans // *Exp Physiol.* – 2017. – V.102. – P. 1635-1646.
6. *Montoya J.J., Fernandez N.* et al. Nitric oxide-mediated relaxation to lactate of coronary circulation in the isolated perfused rat heart // *J Cardiovasc Pharmacol.* – 2011. – V.58. – P. 392-398.
7. *Murray A.J.* Metabolic adaptation of skeletal muscle to high altitude hypoxia: how new technologies could resolve the controversies // *Genome Med.* – 2009. – V. 1. – P. 117.
8. *Parshukova O.I., Varlamova N.G., Bojko E.R.* Nitric oxide production in professional skiers during physical activity at maximum load // *Front. Cardiovasc. Med. Hypertens.* – 2020.- V. 7. – P. 1–8.
9. *Pichon A., Zhenzhong B.* et al. Long-term ventilatory adaptation and ventilatory response to hypoxia in plateau pika (*Ochotona curzoniae*): role of nNOS and dopamine // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* – 2009. – V. 297. – P. R978-R987.
10. *Sutton J.R., Reeves J.T.* et al. Operation Everest II: oxygen transport during exercise at extreme simulated altitude // *J. Appl. Physiol.* – 1988. – V. 64.- P. 1309-1321.
11. *West J.B.* Point: the lactate paradox does/does not occur during exercise at high altitude // *J Appl Physiol.* – 2007. – V. 102. – P. 2398–2399.