

## Сравнительная характеристика реакции вазопрессинергических нейронов супраоптического и паравентрикулярного ядер гипоталамуса при прерывистом действии гипоксической гипоксии

А. В. Абрамов, В. А. Шаменко, Ю. М. Колесник

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

**Ключевые слова:** [Arg<sup>8</sup>]-вазопрессин, белок cFos, фактор, индуцибельный гипоксией, гипоталамус, гипоксическая гипоксия.

**Патология.** – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 360–366

**DOI:**  
10.14739/2310-1237.  
2018.3.151862

**E-mail:**  
abramov@zsmu.pp.ua

Вазопрессинергическая система гипоталамуса занимает важное место в нейроэндокринных механизмах поддержания гомеостаза, контроля вегетативных реакций и процессах адаптации организма к действию острых и хронических стрессоров. Основная часть крупноклеточных вазопрессин-синтезирующих нейронов локализуется в супраоптическом ядре (SON), а также в латеральной части заднего крупноклеточного субъядра паравентрикулярного ядра гипоталамуса (PVNpmI).

**Цель работы** – изучить особенности функционального состояния вазопрессинергических нейронов крупноклеточных ядер гипоталамуса при многодневном действии прерывистой гипоксической гипоксии и в постгипоксический период.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на 30 самцах крыс линии Wistar. Прерывистую гипоксию моделировали ежедневным 6-часовым пребыванием крыс на высоте 6000 м ( $pO_2 = 9,8\%$ ) в течение 15 дней, постгипоксический период длился 10 дней. Распределение [Arg<sup>8</sup>]-вазопрессина (AVP), белков cFos, HIF-1 $\alpha$  и HIF-3 $\alpha$  исследовали методами количественной иммунофлуоресценции в серийных фронтальных срезах гипоталамуса.

**Результаты.** Действие гипоксической гипоксии приводило к дегенеративным изменениям в нейронах SON, торможению на 40 % синтеза AVP в SON, снижению на 56 % содержания белка cFos и отсутствию реакции нейроцитов на гипоксию со стороны белков семейства HIF. В нейронах PVNpmI прерывистая гипоксия стимулировала повышение содержания AVP в 6 раз и на 80 % белка cFos. Реакция нейронов PVNpmI на гипоксию сопровождалась повышением содержания белков семейства HIF в 3 раза. В постгипоксический период в нейронах SON содержание AVP частично восстанавливалось, однако сохранялась депрессия синтеза белка секреторной активности cFos. В нейронах PVNpmI в постгипоксический период содержание AVP и белков семейства HIF существенно снижалось, но оставалось выше, чем в группе контроля. Показатели синтеза белка секреторной активности cFos существенно не изменялись по сравнению с гипоксическим периодом. Эти данные указывают на сохранение высокого уровня функциональной активности крупноклеточных вазопрессинергических нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса в 10-дневный постгипоксический период.

**Выводы.** Прерывистая гипоксия стимулирует функциональную активность крупноклеточных нейронов PVNpmI, что проявляется усилением синтеза вазопрессина, белков cFos, HIF-1 $\alpha$  и HIF-3 $\alpha$ . В постгипоксический период в PVNpmI наблюдали незначительное уменьшение синтеза вазопрессина, белков HIF-1 $\alpha$  и HIF-3 $\alpha$  без уменьшения содержания белка cFos. Прерывистая гипоксия термозит функциональную активность нейронов SON, которая частично восстанавливается в постгипоксический период.

**Ключові слова:** [Arg<sup>8</sup>]-вазопрессин, білок cFos, фактор, що індукується гіпоксією, гіпоталамус, гіпоксична гіпоксія.

**Патологія.** – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 360–366

## Порівняльна характеристика реакції вазопресинергічних нейронів супраоптичного та паравентрикулярного ядер гіпоталамуса при переривчастій дії гіпоксичної гіпоксії

А. В. Абрамов, В. О. Шаменко, Ю. М. Колесник

Вазопресинергічна система гіпоталамуса посідає чільне місце в нейроендокринних механізмах підтримки гомеостазу, контролю вегетативних реакцій і процесів адаптації організму до дії гострих і хронічних стресорів. Основна частина великоклітинних вазопресин-синтезуючих нейронів локалізується в супраоптичному ядрі (SON) і в латеральній частині заднього великоклітинного суб'ядра паравентрикулярного ядра гіпоталамуса (PVNpmI).

**Мета роботи** – вивчити особливості функціонального стану вазопресинергічних нейронів великоклітинних ядер гіпоталамуса при багатоденній дії переривчастої гіпоксичної гіпоксії та в постгіпоксичний період.

**Матеріали та методи.** Дослідження виконали на 30 самцях шурів лінії Wistar. Переривчасту гіпоксію моделювали щоденним 6-годинним перебуванням шурів на висоті 6000 м ( $pO_2 = 9,8\%$ ) протягом 15 днів, постгіпоксичний період тривав 10 днів. Розподіл [Arg<sup>8</sup>]-вазопресину (AVP), білків cFos, HIF-1 $\alpha$  та HIF-3 $\alpha$  досліджували методами кількісної імунофлуоресценції в серійних фронтальних зрізах гіпоталамуса.

**Результати.** Дія гіпоксичної гіпоксії призводила до дегенеративних змін у нейронах SON, гальмування на 40 % синтезу AVP у SON, зниження на 56 % вмісту білка cFos і відсутності реакції нейроцитів на гіпоксію з боку білків сімейства HIF. У нейронах PVNpmI переривчаста гіпоксія стимулювала підвищення вмісту AVP у 6 разів і збільшення на 80 % білка cFos. Реакція нейронів PVNpmI на гіпоксію супроводжувалася підвищенням вмісту білків сімейства HIF утричі. У постгіпоксичний період у нейронах SON вміст AVP частково відновлювався, але зберігалася депресія синтезу білка секреторної активності cFos. У нейронах PVNpmI у постгіпоксичний період вміст AVP і білків сімейства HIF істотно знижувався, але залишався вищим, ніж у групі контролю. Показники синтезу білка секреторної активності cFos суттєво не змінювалися порівняно з гіпоксичним періодом. Ці дані вказують на збереження високого рівня функціональної ак-

тивності великоклітинних вазопресинергічних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса протягом 10-денного постгіпоксичного періоду.

**Висновки.** Переривчаста гіпоксія стимулює функціональну активність великоклітинних нейронів PVNpmI, що проявляється посиленням синтезу вазопресину, білків cFos, HIF-1 $\alpha$  і HIF-3 $\alpha$ . У постгіпоксичний період у PVNpmI спостерігають незначне зменшення синтезу вазопресину, білків HIF-1 $\alpha$  і HIF-3 $\alpha$  без зменшення вмісту білка cFos. Переривчаста гіпоксія гальмує функціональну активність нейронів SON, що частково відновлюється в постгіпоксичний період.

## Comparative characteristics of vasopressinergic neurons of the supraoptic and paraventricular nuclei of hypothalamus response in the intermittent hypoxic hypoxia

A. V. Abramov, V. O. Shamenko, Yu. M. Kolesnyk

The vasopressinergic system of the hypothalamus occupies an important place in the neuroendocrine mechanisms of maintaining homeostasis, controlling autonomic reactions and the processes of adaptation of the organism to the acute and chronic stressors. The main portion of the magnocellular vasopressin-synthesizing neurons is localized in the supraoptic nucleus (SON) and in the lateral part of the posterior magnocellular subnuclei of the paraventricular nucleus (PVNpmI).

**The aim of study** was to establish the features of the vasopressinergic neurons of the hypothalamus magnocellular nuclei functional state under the influence of prolonged intermittent hypoxic hypoxia and in the post-hypoxic period.

**Materials and methods.** The research was carried out on 30 male Wistar rats. Intermittent hypoxia was modeled by daily 6 hour stay of rats at the simulated altitude of 6000 m ( $pO_2 = 9.8\%$ ) for 15 days, the post-hypoxic period lasted 10 days. The distribution of [Arg<sup>8</sup>]-vasopressin (AVP), cFos, HIF-1 $\alpha$ , and HIF-3 $\alpha$  proteins was investigated by quantitative immunofluorescence methods in serial frontal sections of hypothalamus.

**Results.** The hypoxic hypoxia action led to SON neurons degeneration, inhibition of AVP synthesis in SON by 40 %, decrease of cFos protein content by 56 %, and the failure of reaction to hypoxia from the HIF-proteins family. In PVNpmI neurons, intermittent hypoxia stimulated 6-fold increase in the AVP content along with cFos-protein increase by 80%. The response of PVNpmI neurons to hypoxia was accompanied by 3-times increase of the HIF family proteins content. In the post-hypoxic period the AVP content was partially restored in SON neurons, but decrease of cFos-protein synthesis indicated inhibition of secretory activity in SON. In the post-hypoxic period the content of the AVP and the HIF-proteins decreased significantly in PVNpmI neurons, but the level of all proteins remained higher than in the control group. At the same time, the level of cFos secretory activity did not change significantly as compared with the hypoxic period. These data indicate the stability of the high level of functional activity of the PVNpmI vasopressinergic neurons during the 10-day post-hypoxic period.

**Conclusions.** Intermittent hypoxia stimulates the functional activity of the PVNpmI that manifests as an increase of vasopressin, cFos, HIF-1 $\alpha$ , and HIF-3 $\alpha$  proteins synthesis in magnocellular neurons. In the post-hypoxic period, a slight decrease in the synthesis of vasopressin, HIF-1 $\alpha$  and HIF-3 $\alpha$  proteins is observed without a decrease in the cFos protein content in PVNpmI. Intermittent hypoxia inhibits the functional activity of SON neurons, which is partially restored in the post-hypoxic period.

### Key words:

Arg-vasopressin, cFos protein, hypoxia-inducible factor, hypothalamus, hypoxia.

### Pathologia

2018; 15 (3), 360–366

Одно из важных звеньев нейроэндокринной системы гипоталамуса – вазопресинергические нейроны, которые обеспечивают регуляцию водно-солевого гомеостаза в организме [1], регулируют уровень артериального давления крови [2,3], а также определяют реактивность гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГТАКС) в ответ на действие различных стрессовых факторов [4–7]. Основными источниками синтеза вазопрессина (AVP) являются крупноклеточные нейроны супраоптического (SON) и латеральной части заднего субъядра паравентрикулярного (PVNpmI) ядер гипоталамуса [8,9]. Один из наиболее универсальных факторов по природе своего действия на организм млекопитающих – гипобарическая гипоксическая гипоксия [10], которая при многодневном дозированном воздействии вызывает стойкое повышение общей резистентности организма ко многим патогенным факторам среды: острой гипоксии, гиперкапнии, гипероксии, гипокинезии, воздействию высокой температуры и глубокого охлаждения, ионизирующего излучения и физической нагрузки [11,12]. В единичных исследованиях, проведенных на крысах, показано, что однократное 2-часовое ( $pO_2 = 10\%$ ) [13], а также 3-недельное (по 6 часов,  $pO_2 = 9,8\%$ ) [14,15] действие гипоксической гипоксии

приводит к гипертрофии пептидергических нейронов PVN и увеличению иммунореактивности к AVP. В единичных исследованиях на людях, пребывающих различные сроки (от 3 до 30 дней) на различных высотах (от 2000 м до 4500 м), не установлено существенное повышение концентрации AVP в крови [16,17]. Только в работе M. Rostrup (1998) показано, что недельное пребывание альпинистов на высоте 4200 м в Гималаях приводило к повышению концентрации AVP в крови в 1,5–2,0 раза [18]. В исследованиях, посвященных изучению механизмов адаптации плода к фетальной гипоксии и асфиксии/аноксии при родах, показано нарастание концентрации AVP в организме [13,19–21].

### Цель работы

Изучить особенности функционального состояния вазопресинергических нейронов крупноклеточных ядер гипоталамуса при многодневном действии прерывистой гипоксической гипоксии и в постгипоксический период.

### Материалы и методы исследования

Исследование проведено на 30 половозрелых самцах крыс линии Вистар массой 220–250 г, которые

были разделены на 3 группы по 10 животных в каждой: контрольная, с 15-дневными гипоксическими тренировками и с 10-дневным постгипоксическим периодом. Прерывистую гипоксию моделировали ежедневным 6-часовым пребыванием крыс в вентилируемой барокамере (объем 1,0 м<sup>3</sup>) с постепенным повышением высоты с 1000 м до 6000 м с 1 по 6 день эксперимента (по 1000 м в день) и последующим пребыванием на высоте 6000 м (pO<sub>2</sub> = 9,8 %) до 15 дня исследований. Животные контрольной группы находились такой же период времени в вентилируемой барокамере при нормальном атмосферном давлении (высота проведения исследований – 86 м над уровнем моря). Вне эксперимента все животные находились в унифицированных условиях вивария на стандартном рационе питания.

Через 24 часа после окончания эксперимента животных декапитировали под тиопенталовым наркозом (50 мг/кг) в соответствии с требованиями международных принципов Европейской конвенции (Страсбург, 1985). Мозг быстро извлекали и на 20 часов помещали в фиксатор Буэна (для постановки иммуногистохимических реакций, по 6 животных из каждой группы) и в фиксатор Карнуа (для окраски по Эйнарсону, по 4 животных из каждой группы). После стандартной гистологической обработки мозг заливали в парапласт (MkCormick, США). Объект изучения – крупноклеточные нейроны супраоптического (SON) и латеральной части заднего крупноклеточного субъядра паравентрикулярного (PVNpm) ядер гипоталамуса [8,9].

Для морфометрии нейронов SON и PVNpm, а также количественной оценки РНК в клетках серийные фронтальные срезы гипоталамуса толщиной 7 мкм депарафинировали в кислом, регидрировали в нисходящих концентрациях этанола и окрашивали галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону [22]. Изучение гистохимической реакции проводили на микроскопе AxioImager M2 (Carl Zeiss, Германия), оснащенном камерой AxioCam-5HRm (Carl Zeiss, Германия), в проходящем свете. Измеряли площадь тела нейронов (мкм<sup>2</sup>) и суммарное содержание РНК в нейронах (усл. ед. оптической плотности – Eop).

Для постановки иммунофлуоресцентной реакции серийные фронтальные срезы гипоталамуса толщиной 14 мкм депарафинировали и демаскировали в цитратном РТ-буфере (pH = 6,0) в РТ-модуле (Thermo Scientific, США), инкубировали (24 часа, T = +4 °C) с мышиными моноклональными антителами (IgG) к вазопрессину (AVP), белкам cFos, HIF-1α и HIF-3α (табл. 1), затем с мышиным IgG-карра-связывающим протеином (45 мин, T = +36 °C) и заключали в смесь глицерин/фосфатный буфер (9:1). Изучение иммунофлуоресцентной реакции проводили на флуоресцентном микроскопе AxioImager M2 (Carl Zeiss, Германия), оснащенного камерой AxioCam-5HRm (Carl Zeiss, Германия), с применением высокоэmissionsного светофильтра 38HE (λ<sub>ex</sub> = 470/40 нм, λ<sub>em</sub> = 525/50 нм) (Carl Zeiss, Германия). Количественный анализ иммунофлуоресцентной реакции проводили с помощью системы цифрового анализа изображения AxioVision-4.8.2 (Carl Zeiss, Германия). В границах

области SON и PVNpm измеряли площадь материала, иммунореактивного к нейропептидам (мкм<sup>2</sup>), и его относительную величину по отношению к площади нейроцитов (%), а также суммарное содержание нейропептида (усл. ед. иммунофлуоресценции – Еиф).

Статистический анализ экспериментальных данных проводили пакетом программ для статистического анализа EXCEL 2003 (Microsoft Corp.) с интегрированной программной надстройкой AtteStat [23]. Для оценки достоверности различий в группах применяли t-критерий Стьюдента.

## Результаты

Прерывистая гипоксия приводила к увеличению на 13 % площади нейронов SON и уменьшению на 55 % концентрации РНК в цитоплазме (табл. 2). В нейронах отмечен разный степени выраженности пикноз ядра, которое уменьшалось в размерах, характеризовалось неровными фестончатыми контурами и содержало глыбки хроматина с признаками конденсации. Специфическая функция нейронов SON – синтез AVP, содержание которого в структуре после действия гипоксии снижалось на 40 % (табл. 2). Подобное ограничение синтеза AVP сочеталось со снижением на 35 % площади иммунореактивности к cFos и содержания самого белка в области SON на 56 %. Гипоксические воздействия приводили к ограничению в области SON площади иммунореактивности к белку HIF-1α на 46 % и на 14 % к белку HIF-3α без достоверных изменений содержания самих белков в структуре. Таким образом, 15-дневное прерывистое воздействие гипоксической гипоксии приводило к торможению функциональной активности вазопрессинергических нейронов SON и формированию дистрофических изменений в самих нейронах.

Через 10 дней после окончания гипоксических воздействий наблюдали практически полное восстановление функциональной активности вазопрессинергической системы SON (табл. 2). По сравнению с периодом окончания гипоксических воздействий в цитоплазме нейронов достоверно повышалась концентрация РНК, увеличивалась площадь иммунореактивности к AVP и белку c-Fos с увеличением его содержания в SON. Показатели иммунореактивности к c-Fos и HIF-1α оставались существенно ниже, чем у контрольных животных.

В вазопрессинергических нейронах PVNpm прерывистая гипоксия стимулировала увеличение размеров нейроцитов на 14 % без существенного изменения концентрации РНК в цитоплазме и площади иммунореактивности к AVP (табл. 3). Суммарное содержание AVP в PVNpm увеличилось в 6 раз. В результате прерывистого действия гипоксической гипоксии в PVNpm в 2 раза увеличивалась площадь иммунореактивности к белку HIF-3α, на 80 % – к белку c-Fos, на 55 % – к белку HIF-1α. Усиление иммунореактивности сопровождалось нарастанием содержания в PVNpm белка HIF-1α в 3,4 раза, белка HIF-3α – в 3 раза, белка c-Fos – практически в 2 раза по отношению к контролю. Полученные данные доказывают, что прерывистая гипоксическая гипоксия

существенно повышает функциональную активность вазопрессинергических нейронов PVNpm1.

В постгипоксический период гипертрофия нейронов PVNpm1 сохранялась, однако отмечено постепенное уменьшение площади иммунореактивности и содержания в структуре AVP, белков HIF-1 $\alpha$ , HIF-3 $\alpha$  и c-Fos (табл. 3). Вместе с тем, суммарное содержание AVP в PVNpm1 на 43 % превышало аналогичный показатель контрольной группы, содержание белка c-Fos – на 57 %, белков HIF-1 $\alpha$  и HIF-3 $\alpha$  – на 87 % и 20 % соответственно. Полученные данные свидетельствуют, что высокий уровень функциональной активности и синтеза AVP в PVNpm1 сохранялись и в отдаленный постгипоксический период.

## Обсуждение

Ранее показано, что в ответ на острую кратковременную гипоксию наблюдают повышение секреции AVP вазопрессинергическими нейронами гипоталамуса и нарастание концентрации нейропептида в крови [13,19–21]. Это приводит к повышению реабсорбции воды, нарастанию общего периферического сопротивления току крови, активации симпатических отделов центральной нервной системы и ренин-ангиотензиновой системы [2,3]. В ответ на острую гипоксию отмечают оптимизацию работы сердечно-сосудистой и дыхательной систем, ответственных за транспорт кислорода в организме. Хроническое действие гипобарической гипоксической гипоксии приводит к снижению концентрации AVP в крови, потере воды организмом и повышению осмоляльности крови [16–18]. Последнее наиболее близко характеризует функциональное состояние нейронов SON, которое наблюдали в проведенном исследовании на фоне многодневных гипоксических воздействий: угнетение синтеза РНК и AVP, снижение показателей секреторной активности нейронов (снижение концентрации белка cFos) и ареактивность на действие гипоксии (отсутствие повышения содержания белков семейства HIF). Однако на фоне угнетения функциональной активности SON в крупноклеточных нейронах PVNpm1 гипоксическая гипоксия приводила к функциональной активации и повышению синтеза AVP. Неоднозначность функциональной реакции крупноклеточных вазопрессинергических нейронов гипоталамуса на гипоксию может быть обусловлена особенностью влияния глюкокортикоидов, концентрация которых в крови нарастает в условиях многодневных гипоксических воздействий [16, 18, 19]. Показано, что длительная хроническая гипоксическая гипоксия – стрессовый фактор, приводящий к активации ГГКС и повышению продукции кортикостероидов надпочечниками [16–19]. Глюкокортикоиды по механизму отрицательной обратной связи могут ограничивать активность секреции кортикотропин-рилизинг гормона (CRH) гипоталамическими нейронами и секрецию АКТГ кортикотропами аденогипофиза [5,24,25]. Крупноклеточные вазопрессинергические нейроны гипоталамуса также чувствительны к действию глюкокортикоидов. В гипоталамусе глюкокортикоиды способны реализовать выраженный тормозной эффект через низкоаффинные глюкокортикоидные рецепторы (рецепторы

**Таблица 1.** Характеристика мышиных антител (IgG) к антигенам крысы, использованным в исследовании

Антигены крысы	№ по каталогу Santa Cruz Biotechnology (США)	Рабочее разведение
AVP (E-8)	sc-390723	1:200
cFos (C-10)	sc-271243	1:100
HIF-1 $\alpha$ (H1alpha 67)	sc-53546	1:100
HIF-3 $\alpha$ (D-7)	sc-390769	1:100
mouse IgG kappa binding protein conjugated to fluorescein (FITC)	sc-516140	1:64

**Таблица 2.** Функциональные показатели вазопрессинергической системы супраоптического ядра гипоталамуса (M  $\pm$  m)

Показатели, единицы измерения	Группы животных		
	Контрольная	Гипоксические тренировки	Постгипоксический период
Площадь нейронов, мкм <sup>2</sup>	177,2 $\pm$ 4,4	200,8 $\pm$ 3,6*	216,0 $\pm$ 3,7**
Содержание РНК, Еоп	19,86 $\pm$ 0,90	9,01 $\pm$ 0,39*	10,52 $\pm$ 0,37**
AVP площадь ИРМ, %	24,03 $\pm$ 1,58	22,75 $\pm$ 1,23	28,13 $\pm$ 1,07**
содержание, Еиф	1336,6 $\pm$ 100,7	800,4 $\pm$ 43,7*	1461,4 $\pm$ 59,1 #
cFos площадь ИРМ, %	4,67 $\pm$ 0,55	3,02 $\pm$ 0,28*	3,91 $\pm$ 0,41
содержание, Еиф	27,92 $\pm$ 3,17	12,31 $\pm$ 1,2*	16,43 $\pm$ 1,20**
HIF-1 $\alpha$ площадь ИРМ, %	4,83 $\pm$ 0,36	2,60 $\pm$ 0,11*	3,13 $\pm$ 0,11**
содержание, Еиф	0,044 $\pm$ 0,002	0,043 $\pm$ 0,003	0,045 $\pm$ 0,002
HIF-3 $\alpha$ площадь ИРМ, %	2,86 $\pm$ 0,16	2,48 $\pm$ 0,10*	2,86 $\pm$ 0,13 #
содержание, Еиф	0,027 $\pm$ 0,001	0,033 $\pm$ 0,002	0,033 $\pm$ 0,001*

**ИРМ:** иммунореактивный материал; \*: достоверность отличий  $p < 0,05$  по отношению к контрольной группе; #: достоверность отличий  $p < 0,05$  по отношению к окончанию гипоксических воздействий.

**Таблица 3.** Функциональные показатели вазопрессинергической системы латеральной части заднего крупноклеточного субъядра паравентрикулярного ядра гипоталамуса (M  $\pm$  m)

Показатели, единицы измерения	Группы животных		
	Контрольная	Гипоксические тренировки	Постгипоксический период
Площадь нейронов, мкм <sup>2</sup>	171,5 $\pm$ 2,7	195,700 $\pm$ 4,495*	210,5 $\pm$ 5,0**
Содержание РНК, Еоп	13,02 $\pm$ 0,45	13,8 $\pm$ 0,48	13,14 $\pm$ 0,72
AVP площадь ИРМ, %	23,15 $\pm$ 1,54	31,08 $\pm$ 2,38*	25,87 $\pm$ 1,22#
содержание, Еиф	727,4 $\pm$ 40,8	4301,4 $\pm$ 409,2*	1038,8 $\pm$ 30,9**
cFos площадь ИРМ, %	3,36 $\pm$ 0,34	4,75 $\pm$ 0,34*	4,63 $\pm$ 0,47*
содержание, Еиф	12,70 $\pm$ 2,01	22,83 $\pm$ 2,74*	19,970 $\pm$ 2,086*
HIF-1 $\alpha$ площадь ИРМ, %	4,12 $\pm$ 0,39	6,39 $\pm$ 0,65*	5,12 $\pm$ 0,58
содержание, Еиф	0,039 $\pm$ 0,003	0,134 $\pm$ 0,016*	0,073 $\pm$ 0,008**
HIF-3 $\alpha$ площадь ИРМ, %	2,88 $\pm$ 0,17	5,86 $\pm$ 0,55*	3,610 $\pm$ 0,269**
содержание, Еиф	0,030 $\pm$ 0,002	0,090 $\pm$ 0,009*	0,036 $\pm$ 0,002**

**ИРМ:** иммунореактивный материал; \*: достоверность отличий  $p < 0,05$  по отношению к контрольной группе; #: достоверность отличий  $p < 0,05$  по отношению к окончанию гипоксических воздействий.

II типа), высокая плотность которых отмечена на вазопрессинергических нейронах SON [26,27], в то время как данный тип рецепторов практически отсутствует на вазопрессинергических нейронах PVNpm1, экспрессирующих высокоаффинные минералокортикоидные рецепторы (рецепторы I типа) [26–28]. Принимая во внимание данное обстоятельство, становится понятным отсутствие реакции угнетения функциональной активности нейронов PVNpm1 на фоне гиперкортицизма, вызванного гипоксической гипоксией. Большинство исследователей полагают, что отсутствие глюкокортикоидных рецепторов на

нейронах PVNpm1 исключает возможность регуляции их функции со стороны эндогенных и/или синтетических кортикостероидов при стрессе и, следовательно, участие крупноклеточных вазопрессинергических нейронов PVNpm1 в механизмах адаптации к стрессу ставится под сомнение. Однако наши исследования показали, что, во-первых, нейроны PVNpm1 демонстрируют специфическую реакцию на гипоксию в виде усиления синтеза белков HIF-1 $\alpha$ , HIF-3 $\alpha$ , во-вторых, отвечают на гипоксический стимул значительным повышением синтеза AVP и белка c-Fos. Полагаем, что повышение функциональной активности нейронов PVNpm1 способствует поддержанию механизмов нейроэндокринной адаптации к гипоксии, поскольку секретируемый ими AVP оказывает стимулирующий и совместно с CRH перmissive эффекты на синтез АКГГ и кортикостероидов [4,6,7,29,30]. Возможно, таким образом AVP крупноклеточных нейронов PVNpm1 обеспечивает более эффективную стратегию нейроэндокринной адаптации организма в условиях многодневного действия гипоксической гипоксии. Известно, что ключевые в стратегии адаптации к стрессу – активация ГГКС и усиление синтеза глюкокортикоидов, которые в физиологических и супрафизиологических концентрациях являются анаболическими гормонами и обеспечивают молекулярные механизмы адаптации организма, повышая мощность энергетического и белкового обмена в клетках [5,26]. Примечательно, что, в отличие от CRH-ергической, вазопрессинергическая система PVN отвечает более ранней реакцией на стресс [14,15], приводящей к активации ГГКС. При этом сохранение высокого уровня функциональной активности нейронов PVNpm1 как на фоне гипоксических воздействий, так и в постгипоксический период свидетельствует о важной роли крупноклеточной вазопрессинергической системы PVN в поддержании нейроэндокринного гомеостаза в условиях адаптации организма к стрессу.

## Выводы

1. Прерывистое действие гипоксической гипоксии стимулирует функциональную активность крупноклеточных нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса, что проявляется усилением синтеза вазопрессина, белков cFos, HIF-1 $\alpha$  и HIF-3 $\alpha$ .

2. В постгипоксический период в крупноклеточных нейронах паравентрикулярного ядра гипоталамуса отмечено незначительное ограничение синтеза вазопрессина, белков HIF-1 $\alpha$  и HIF-3 $\alpha$ , содержание которых сохраняется достоверно выше, чем в контрольной группе. Содержание белка cFos в нейронах не изменяется и остается на уровне периода окончания гипоксических воздействий.

3. Гипоксическая гипоксия вызывает торможение функциональной активности вазопрессинергической системы супраоптического ядра с последующим частичным ее восстановлением в постгипоксический период.

**Перспективы дальнейших исследований** заключаются в установлении особенности реакции вазопрессинергических нейронов мелкоклеточных субъядер PVN на действие гипоксической гипоксии и сопоставлении их физиологической активности в сравнении с реакцией крупноклеточных нейронов.

**Конфликт интересов:** отсутствует.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

## Сведения об авторах:

Абрамов А. В., д-р мед. наук, профессор каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, руководитель Учебного медико-лабораторного центра, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Шаменко В. А., врач высшей категории, ассистент каф. детских болезней ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, профессор, ректор, Запорожский государственный медицинский университет, заслуженный деятель науки и техники Украины.

ORCID ID: 0000-0002-1556-5085

## Відомості про авторів:

Абрамов А. В., д-р мед. наук, професор каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, керівник Навчального медико-лабораторного центру, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Шаменко В. О., лікар вищої категорії, асистент каф. дитячих хвороб ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, професор, ректор, Запорізький державний медичний університет, заслужений діяч науки і техніки України.

## Information about authors:

Abramov A.V., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Physiology of Zaporizhzhia State Medical University, Head of Scientific Medical-Laboratory Center of ZSMU, Ukraine.

Shamenko V.O., MD, Assistant Lecturer of the Department of Children Diseases of Faculty of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kolesnyk Yu. M., MD, PhD, DSc, Professor, Rector of Zaporizhzhia State Medical University, Honorary Scientist and Engineering Worker of Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 10.08.2018

Після доопрацювання / Revised: 12.09.2018

Прийнято до друку / Accepted: 28.09.2018

## Список литературы

- Bankir L. Vasopressin: physiology, assessment and osmosensation / L. Bankir, D.G. Bichet, N.G. Morgenthaler // *J Intern Med.* – 2017. – Vol. 282. – Issue 4. – P. 284–97.
- Shell B. Neural control of blood pressure in chronic intermittent hypoxia / B. Shell, K. Faulk, J.T. Cunningham // *Curr Hypertens Rep.* – 2016. – Vol. 18. – Issue 3. – P. 19.
- Dysregulation of the renin-angiotensin system and the vasopressinergic system interactions in cardiovascular disorders / E. Szczepanska-Sadowska, K. Czarzasta, A. Cudnoch-Jedrzejewska // *Current Hypertension Reports.* – 2018. – Vol. 20. – Issue 3. – P. 19.
- McEwen B.S. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain / B.S. McEwen // *Physiol Rev.* – 2007. – Vol. 87. – Issue 3. – P. 873–904.
- Stress, the stress system and the role of glucocorticoids / N.C. Nicolaides, E. Kyrtzi, A. Lamprokostopoulou, et al. // *Neuroimmunomodulation.* – 2015. – Vol. 22. – P. 6–19.
- Volpi S. Vasopressinergic regulation of the hypothalamic pituitary adrenal axis and stress adaptation / S. Volpi, C. Rabadan-Diehl, G. Aguilera // *Stress.* – 2004. – Vol. 7. – Issue 2. – P. 75–83.
- Sivukhina E.V. Magnocellular hypothalamic system and its interaction with the hypothalamo-pituitary-adrenal axis / E.V. Sivukhina, G.F. Jirikowski // *Steroids.* – 2016. – Vol. 111. – P. 21–8.
- Silverman A.J. Magnocellular neurosecretory system / A.J. Silverman, E.A. Zimmerman // *Annu Rev Neurosci.* – 1983. – Vol. 6. – P. 357–80.
- Swanson L.W. Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei / L.W. Swanson, P.E. Sawchenko // *Annu Rev Neurosci.* – 1983. – Vol. 6. – P. 269–324.

- [10] Ramirez J.-M. Hypoxia tolerance in mammals and birds: from the wilderness to the clinic / J.-M. Ramirez, L.P. Folkow, A.S. Blix // *Annu Rev Physiol.* – 2007. – Vol. 69. – P. 113–43.
- [11] Березовский В.А. Природная и инструментальная оротерапия / В.А. Березовский. – Донецк : Заславский А.Ю., 2012.
- [12] Караш Ю.М. Нормобарическая гипоксия в лечении, профилактике и реабилитации / Ю.М. Караш, Р.Б. Стрелков, Ф.Я. Чижов. – М. : Медицина, 1988.
- [13] Acute hypoxia activates neuroendocrine, but not presympathetic, neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus: differential role of nitric oxide / K.M. Coldren, D.P. Li, D.D. Kline, et al. // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* – 2017. – Vol. 312. – Issue 6. – R982–95.
- [14] Абрамов А.В. Влияние интервальных гипоксических тренировок на функциональное состояние пептидергических нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса и нейронов ствола мозга крыс / А.В. Абрамов // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* – 1998. – №84(3). – С. 173–81.
- [15] Колесник Ю.М. Состояние вазопрессин-, окситоцин- и кортиколиберинсинтезирующих структур гипоталамуса у крыс с сахарным диабетом при гипоксических воздействиях / Ю.М. Колесник, Ю.Н. Орестенко, А.В. Абрамов // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* – 1993. – №79(9). – С. 34–42.
- [16] Effects of hypoxemia at sea level and high altitude on sodium excretion and hormonal levels / G. Ramirez, M. Hammond, S.J. Agosti, et al. // *Aviat Space Environ Med.* – 1992. – Vol. 63. – Issue 10. – P. 891–8.
- [17] Recovery of plasma volume after 1 week of exposure at 4,350 m / P. Robach, E. Lafforgue, N.V. Olsen, et al. // *Pflugers Arch.* – 2002. – Vol. 444. – Issue 6. – P. 821–8.
- [18] Rostrup M. Catecholamines, hypoxia and high altitude / M. Rostrup // *Acta Physiol Scand.* – 1998. – Vol. 162. – Issue 3. – P. 389–399.
- [19] Myers D.A. Altitude, attitude and adaptation. / D.A. Myers, C.A. Ducsay // *Advances in Experimental Medicine and Biology.* – 2014. – Vol. 814. – P. 147–57.
- [20] Argininevasopressin marker copeptin is a sensitive plasma surrogate of hypoxic exposure / L. Ostergaard, A. Rudiger, S. Wellmann, et al. // *Hypoxia.* – 2014. – Vol. 2. – P. 143–51.
- [21] Surge of peripheral arginine vasopressin in a rat model of birth asphyxia / M. Summanen, S. Bäck, J. Voipio, K. Kaila // *Front Cell Neurosci.* – 2018. – Vol. 12. – P. 2.
- [22] Пирс Э. Гистохимия / Э. Пирс. – М. : Изд-во ин. лит., 1962. – 962 с.
- [23] Гайдышев И.П. Решение научных и инженерных задач средствами Excel, VBA и C/C++ / И.П. Гайдышев. – СПб. : БХВ–Петербург, 2004. – 512 с.
- [24] The corticotropin-releasing hormone network and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: molecular and cellular mechanisms involved / J.J. Bonfiglio, C. Inda, D. Refojo, et al. // *Neuroendocrinology.* – 2011. – Vol. 94. – Issue 1. – P. 12–20.
- [25] Keller-Wood M. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis–feedback control / M. Keller-Wood // *Compr Physiol.* – 2015. – Vol. 5. – Issue 3. – P. 1161–82.
- [26] Myers B. Glucocorticoid actions on synapses, circuits, and behavior: Implications for the energetics of stress / B. Myers, J.M. McKlveen, J.P. Herman // *Frontiers in Neuroendocrinology.* – 2014. – Vol. 35. – Issue 2. – P. 180–96.
- [27] Sivukhina E.V. Adrenal steroids in the brain: Role of the intrinsic expression of corticosteroid-binding globulin (CBG) in the stress response / E.V. Sivukhina, G.F. Jirikowski // *Steroids.* – 2014. – Vol. 81. – P. 70–3.
- [28] Colocalization of mineralocorticoid receptor and glucocorticoid receptor in the hippocampus and hypothalamus / F. Han, H. Ozawa, K. Matsuda, et al. // *Neuroscience Research.* – 2005. – Vol. 51. – Issue 4. – P. 371–81.
- [29] Aguilera G. Vasopressinergic regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: implications for stress adaptation / G. Aguilera, C. Rabadan-Diehl // *Regulatory Peptides.* – 2000. – Vol. 96. – P. 23–9.
- [30] Arginine vasopressin (AVP): a review of its historical perspectives, current research and multifunctional role in the hypothalamo-hypophysial system / F. Rotondo, H. Butz, L. Syro, et al. // *S Pituitary.* – 2016. – Vol. 19. – Issue 4. – P. 345–55. doi: 10.1007/s11102-015-0703-0.
- [4] McEwen, B. S. (2007) Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev.*, 87(3), 873–904. doi: 10.1152/physrev.00041.2006.
- [5] Nicolaidis, N. C., Kyrtzi, E., Lamprokostopoulou, A., Chrousos, G. P., & Charmandari, E. (2015) Stress, the stress system and the role of glucocorticoids. *Neuroimmunomodulation*, 22(1–2), 6–19. doi: 10.1159/000362736.
- [6] Volpi, S., Rabadan-Diehl, C., & Aguilera, G. (2004) Vasopressinergic regulation of the hypothalamic pituitary adrenal axis and stress adaptation. *Stress.*, 7(2), 75–83. doi: 10.1080/10253890410001733535.
- [7] Sivukhina, E. V., & Jirikowski, G. F. (2016) Magnocellular hypothalamic system and its interaction with the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Steroids*, 111, 21–8. doi: 10.1016/j.steroids.2016.01.008.
- [8] Silverman, A. J., & Zimmerman, E. A. (1983) Magnocellular neurosecretory system. *Annu Rev Neurosci.*, 6, 357–80. doi: 10.1146/annurev.ne.06.030183.002041.
- [9] Swanson, L. W., & Sawchenko, P. E. (1983) Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. *Annu Rev Neurosci.*, 6, 269–324. doi: 10.1146/annurev.ne.06.030183.001413.
- [10] Ramirez, J.-M., Folkow, L. P., & Blix, A. S. (2007) Hypoxia tolerance in mammals and birds: from the wilderness to the clinic. *Annu Rev Physiol.*, 69, 113–43. doi: 10.1146/annurev.physiol.69.031905.163111.
- [11] Berezovskij, V. A. (2012) *Prirodnaya i instrumental'naya oroterapiya [Natural and instrumental orotherapy]*. Doneck: Zaslavskij A.Yu. [in Russian].
- [12] Karash, Yu. M., Strelkov, R. B., & Chizhov, F. Ya. (1988) *Normobaricheskaya gipoksiya v lechenii, profilaktike i reabilitacii [Normobaric hypoxia in the treatment, prevention and rehabilitation]*. Moscow : Medicina. [in Russian].
- [13] Coldren, K. M., Li, D. P., Kline, D. D., Hasser, E. M., & Heesch, C. M. (2017) Acute hypoxia activates neuroendocrine, but not presympathetic, neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus: differential role of nitric oxide. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 312(6), R982–95. doi: 10.1152/ajpregu.00543.2016.
- [14] Абрамов, А. В. (1998) Влияние интервальных гипоксических тренировок на функциональное состояние пептидергических нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса и нейронов ствола мозга крыс [The effect of interval hypoxic training on the functional state of the peptidergic neurons of the paraventricular nucleus of the hypothalamus and rat brainstem neurons]. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova*, 84(3), 173–81. [in Russian].
- [15] Kolesnik, Yu. M., Orestenko, Yu. N., & Abramov, A. V. (1993) Sostoyanie vazopressin-, oksitocin- i kortikoliberinsinteziruyushchikh struktur gipotalamusa u kryс s sakharnym diabetom pri gipoksicheskikh vozdeystviyakh [The state of vasopressin-, oxytocin- and corticolibersynthesizing structures of the hypothalamus in diabetic rats with hypoxic effects]. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova*, 79(9), 34–42. [in Russian].
- [16] Ramirez, G., Hammond, M., Agosti, S. J., Bittle, P. A., Dietz, J. R., & Colice, G. L. (1992) Effects of hypoxemia at sea level and high altitude on sodium excretion and hormonal levels. *Aviat Space Environ Med.*, 63(10), 891–8.
- [17] Robach, P., Lafforgue, E., Olsen, N. V., De'chaux, M., Fouqueray, B., Westerterp-Plantenga, M., et al. (2002) Recovery of plasma volume after 1 week of exposure at 4,350 m. *Pflugers Arch.*, 444(6), 821–8. doi: 10.1007/s00424-002-0894-x.
- [18] Rostrup, M. (1998) Catecholamines, hypoxia and high altitude. *Acta Physiol Scand*, 162(3), 389–399. doi: 10.1046/j.1365-201X.1998.00335.x.
- [19] Myers, D. A., & Ducsay, C. A. (2014) Altitude, attitude and adaptation. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 814, 147–57. doi: 10.1007/978-1-4939-1031-1\_13.
- [20] Ostergaard, L., Rudiger, A., Wellmann, S., Gammella, E., BeckSchimmer, B., Struck, J., et al. (2014) Argininevasopressin marker copeptin is a sensitive plasma surrogate of hypoxic exposure. *Hypoxia.*, 2, 143–51. doi: 10.2147/HP.S57894.
- [21] Summanen, M., Bäck, S., Voipio, J., & Kaila, K. (2018) Surge of peripheral arginine vasopressin in a rat model of birth asphyxia. *Front Cell Neurosci.*, 12, 2. doi: 10.3389/fncel.2018.00002.
- [22] Пирс, Е. (1962) *Gistokhimiya [Histochemistry]*. Moscow : Izd-vo in. lit. [in Russian].
- [23] Гайдышев, И. П. (2004) *Reshenie nauchnykh i inzhenernykh zadach sredstvami Excel, VBA i C/C++ [Solving scientific and engineering problems with Excel, VBA and C / C ++]*. SPb. : BKHV–Peterburg. [in Russian].
- [24] Bonfiglio, J. J., Inda, C., Refojo, D., Holsboer, F., Arzt, E., & Silberstein, S. (2011) The corticotropin-releasing hormone network and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: molecular and cellular mechanisms involved. *Neuroendocrinology*, 94(1), 12–20. doi: 10.1159/000328226.
- [25] Keller-Wood, M. (2015) Hypothalamic-pituitary-adrenal axis–feedback control. *Compr Physiol.*, 5(3), 1161–82. doi: 10.1002/cphy.c140065.

## References

- [1] Bankir, L., Bichet, D. G., & Morgenthaler, N. G. (2017) Vasopressin: physiology, assessment and osmosensation. *J Intern Med.*, 282(4), 284–97. doi: 10.1111/joim.12645.
- [2] Shell, B., Faulk, K., & Cunningham, J. T. (2016) Neural control of blood pressure in chronic intermittent hypoxia. *Curr Hypertens Rep.*, 18(3), 19. doi: 10.1007/s11906-016-0627-8.
- [3] Szczepanska-Sadowska, E., Czarzasta, K., & Cudnoch-Jedrzejewska, A. (2018) Dysregulation of the renin-angiotensin system and the vasopressinergic system interactions in cardiovascular disorders. *Current Hypertension Reports.*, 20(3), 19. doi: 10.1007/s11906-018-0823-9.

- [26] Myers, B., McKlveen, J. M., & Herman, J. P. (2014) Glucocorticoid actions on synapses, circuits, and behavior: Implications for the energetics of stress. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 35(2), 180–96. doi: 10.1016/j.yfrne.2013.12.003.
- [27] Sivukhina, E. V., & Jirikowski, G. F. (2014) Adrenal steroids in the brain: Role of the intrinsic expression of corticosteroid-binding globulin (CBG) in the stress response. *Steroids*, 81, 70–3. doi: 10.1016/j.steroids.2013.11.001.
- [28] Han, F., Ozawa, H., Matsuda, K., Nishi, M., & Kawata, M. (2005) Colocalization of mineralocorticoid receptor and glucocorticoid receptor in the hippocampus and hypothalamus. *Neuroscience Research*, 51(4), 371–81. doi: 10.1016/j.neures.2004.12.013.
- [29] Aguilera, G., & Rabadan-Diehl, C. (2000) Vasopressinergic regulation of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis: implications for stress adaptation. *Regulatory Peptides*, 96(1–2), 23–9. doi: 10.1016/S0167-0115(00)00196-8.
- [30] Rotondo, F., Butz, H., Syro, L., Yousef, G., Di Ieva, A. D., Restrepo, L. M., et al. (2016) Arginine vasopressin (AVP): a review of its historical perspectives, current research and multifunctional role in the hypothalamo-hypophysial system. *Pituitary*, 19(4), 345–55. doi: 10.1007/s11102-015-0703-0.