

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ім. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ**

Кваліфікаційна наукова праця

На правах рукопису

ЗАВГОРОДНІЙ МИКОЛА ОЛЕГОВИЧ

УДК 616-056.5: 616.633.455.623

ДИСЕРТАЦІЯ

**ПЕРЕБУДОВА ЗОВНІШНЬОГО ДИХАННЯ І ЕНЕРГЕТИЧНОГО
МЕТАБОЛІЗМУ У ЩУРІВ ПРИ ГІПОКСІЇ ТА
ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ**

Спеціальність – 091 Біологія

Галузь знань – 09 Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі біології

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Завгородній М.О. _____

Науковий керівник: **Портніченко Володимир Ілліч**, доктор медичних наук

Київ – 2023

АНОТАЦІЯ

Завгородній М.О. Перебудова зовнішнього дихання і енергетичного метаболізму у щурів при гіпоксії та інсулінорезистентності. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії (PhD) за спеціальністю 091 «Біологія» (09 – Біологія). – Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця, НАН України, Київ, 2023.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню змін патерну дихання і газообміну та енергетичного метаболізму печінки за умов гіпоксії та резистентності до інсуліну, а також ролі кальцієвих механізмів, залучених у відповідь організму на гіпоксію при інсулінорезистентності.

Інсулінорезистентність відтворена у щурів утриманням на двотижневій високожировій дієті із вмістом жирів 58% від загальної калорійності. Одноразовий вплив гіпобаричної гіпоксії моделювали за допомогою барокамери. У якості блокатора повільних кальцієвих каналів використовували верапаміл у загальноприйнятій дозі 1 мг/кг. Проводили дослідження зовнішнього дихання та газообміну методами пневмотахографії та маспектрографії, досліджували окиснювальну функцію мітохондрій методом Чанса у гомогенатах печінки. Ультраструктуру легень і печінки досліджували методом електронної мікроскопії, вимірювали показники про- та антиоксидантного гомеостазу в тканині печінки: вміст реактивних продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК-РП) і відновленого глутатіону, активність каталази та Cu-Zn-супероксиддисмутази.

Встановлено, що вплив гіпоксії на щурів із інсулінорезистентністю викликаною високожировою дієтою, на відміну від щурів без інсулінорезистентності, збільшує споживання кисню організмом, внаслідок чого спостерігається перебудова патерну дихання, зростає вентиляція легень і

роботи всієї системи транспорту кисню. Виявлено, що кальцієві механізми за гіпоксичних умов залучені у регуляцію мітохондріального дихання через перемикання енергетичного метаболізму печінки на жирові субстрати окиснення. У інсулінорезистентних щурів блокада повільних кальцієвих каналів вірогідно стимулює дихання у спокої (V2) при окисненні НАД-залежних субстратів, АДФ-стимульоване дихання (V3) і контрольоване дихання (V4) при окисненні ліпідного субстрату пальмітоїлу, а також пригнічує ефективність мітохондріального дихання (V3/V4) порівняно з контролем. Також виявлено, що ефект блокади повільних кальцієвих каналів на енергетичний метаболізм в печінці при гіпоксії та інсулінорезистентності є більшим, ніж за нормоксичних умов.

Блокада повільних кальцієвих каналів нормалізує про- та антиоксидантний гомеостаз у печінці інсулінорезистентних щурів при гіпоксії: спостерігається зниження рівня активних продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК-АП), нормалізується рівень відновленого глутатіону та активність каталази, водночас активність Cu-Zn-супероксиддисмутази знижується.

Таким чином, блокада повільних кальцієвих каналів чинить протективний вплив на зовнішнє дихання і енергетичний метаболізм при інсулінорезистентності та при впливі гіпоксії на організм щурів.

Ключові слова: гіпоксія, інсулінорезистентність, цукровий діабет, гіпоінсулінемія, зовнішнє дихання, споживання кисню, гіпервентиляція, гіпокапнія, печінка, мітохондріальна дисфункція, окисний стрес, ТБК-реактивні продукти, імунокомпетентні клітини, ліпіди, кальцієві канали

SUMMARY

Zavhorodnii M.O. Reconstruction of the respiration and the energy metabolism in rats under hypoxia and insulin resistance. – A manuscript.

Dissertation for the philosophy doctor (PhD) degree in speciality 091 «Biology» (09 – Biology). – Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv, 2023.

The dissertation is devoted to the study of changes in respiratory pattern, gas exchange and energy metabolism of the liver under conditions of hypoxia and insulin resistance and the role of calcium mechanisms involved in the response of the body to hypoxia in insulin resistance.

Insulin resistance was modeled by feeding rats a fatty diet for two weeks. The diet consisted of 58% of total calories from fat. Single exposure to hypobaric hypoxia was simulated using a hypobaric chamber. Verapamil, a blocker of L-type calcium channels, was administered at a standard dose of 1 mg/kg. External respiration and gas exchange were analyzed by pneumotachography and mass spectroscopy, and mitochondrial oxidative function was assessed in liver homogenates by Chance method. Electron microscopy was used to study the ultrastructure of the lungs and liver. In addition, pro- and antioxidant homeostasis indicators were measured in the liver tissue, including the levels of thiobarbituric acid active products (TBA-AP) and reduced glutathione, as well as the activities of catalase and Cu-Zn superoxide dismutase.

It has been shown that hypoxia has a greater effect on rats with insulin resistance caused by a high fat diet than on rats without insulin resistance, resulting in increased oxygen consumption by the body, which leads to a reorganization of the breathing pattern and an increase in pulmonary ventilation and work of the entire oxygen transport system. It has been discovered that calcium mechanisms play a role in the regulation of mitochondrial respiration under hypoxic conditions by shifting the energy metabolism in liver to substrates of fatty acid oxidation. In insulin-

resistant rats, blocking L-type calcium channels appears to stimulate resting respiration (V2) during the oxidation of NAD-dependent substrates, ADP-stimulated respiration (V3), and controlled respiration (V4) during the oxidation of the lipid substrate palmitoyl. Additionally, it suppresses the efficiency of mitochondrial respiration (V3/V4) compared to control. The effect of blocking slow calcium channels on energy metabolism in the liver has been found to be greater during hypoxia and insulin resistance than under normoxic conditions.

Blockade of L-type calcium channels normalizes pro- and antioxidant homeostasis in the liver of insulin-resistant rats under hypoxia. The study found a decrease in thiobarbituric acid active products (TBK-AP) levels, normalization of reduced glutathione levels and catalase activity, and a decrease in Cu-Zn superoxide dismutase activity.

Blockade of L-type calcium channels has protective effects on respiration and energy metabolism in rats with insulin resistance under hypoxic conditions.

Key words: hypoxia, insulin resistance, diabetes, hypoinsulinemia, respiration, oxygen consumption, hyperventilation, hypocapnia, liver, mitochondrial dysfunction, oxidative stress, TBA-reactive products, immunocompetent cells, lipids, calcium channels.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

В яких публікаціях надруковані основні результати дисертації

1. Tsapenko PK, Vasylenko MI, Aliiev RB, **Zavhorodnii MO**, Kozlovska MG, Topchaniuk LY, Sydorenko AM, Bratus LV, Bakunovskyj OM, Portnichenko VI, Portnychenko AG. Effects of High-Fat Diet on the Development of Insulin Resistance and Metabolic Syndrome in Rats. Ukr J Med Biol Sport. 2020; 5(3): 441-444. <https://doi.org/10.26693/jmbs05.03.441>
(особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, опис та статистичне опрацювання результатів)
2. Portnychenko AG, Vasylenko MI, Aliiev RB, Kozlovska MG, **Zavhorodnii MO**, Tsapenko PK, Rozova KV, Portnichenko VI. The prerequisites for the development of type 2 diabetes or prediabetes in rats fed a high-fat diet. Regul Mech Biosyst. 2023;14(1),16-22. <https://doi.org/10.15421/022303>
(особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, опис та статистичне опрацювання результатів, графічна підготовка результатів до опублікування)
3. **Zavhorodnii MO**, Nosar VI, Gonchar OO, Tsapenko PK, Kozlovska MG, Vasylenko MI, Portnichenko VI, Portnychenko AG. Blockade of L-type calcium channels alters hepatic mitochondrial function in insulin-resistant rats. Fiziol. Zh. 2023; 69(6): 88-96. <https://doi.org/10.15407/fz69.06.088>
(особистий внесок здобувача: інформаційний пошук, експериментальні дослідження, опис та статистичне опрацювання результатів, графічна підготовка результатів та написання статті)
4. **Завгородній МО**, Цапенко ПК, Козловська МГ, Портніченко АГ, Портніченко ВІ. Вплив блокади кальцієвих каналів L-типу на патерн дихання та газообмін при моделюванні інсулінорезистентності у щурів. Вісник Черкаського університету. 2023, Vol.2: 95-101. <https://doi.org/10.31651/2076-5835-2018-1-2023-2-95-101> (особистий внесок здобувача: інформаційний пошук, експериментальні дослідження, опис та

статистичне опрацювання результатів, графічна підготовка результатів та написання статті)

Які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

1. Mariia Kozlovska, **M.O. Zavhorodnii**, V.I. Nosar, M.I. Vasylenko, P.K. Tsapenko, L.V. Bratus, A.G. Portnychenko. The effect of a high-fat diet on the activity of cardiomyocyte mitochondria during hypoxic preconditioning in rats. Congress on Cardiovascular, Kidney and Glycemic Outcomes – The Virtual CVOT Summit 2023, Munich, Germany, 30 Nov – 1 Dec 2023. *Diabetes, Metabolism, and the Heart* 2023; 32:19.
2. Козловська М.Г., **Завгородній М.О.**, Василенко М. І., Портниченко А. Г. Вплив високожирової дієти на розвиток інсулінорезистентності у спонтанно гіпертензивних щурів. Матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція». Харків, Україна, 16 листопада, 2023.
3. Козловська М.Г., **Завгородній М.О.**, Носар В.І., Цапенко П.К., Василенко М.І., Портниченко А.Г. Гіпоксичне прекодиціювання змінює функцію мітохондрій кардіоміоцитів у щурів з інсулінорезистентністю та гіпертрофією міокарда. Матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція». Харків, Україна, 16 листопада 2023 р.
4. A. Portnychenko, R. Aliiev, A. Zhukovska, **M. Zavhorodnii**, M. Kozlovska, L. Topchanyuk, A. Sharovalova, M. Vasylenko, V. Nosar, K. Rozova, V. Portnichenko. Features and mechanisms of acute lung injury development on the background of type 2 diabetes: the role of hypoxia 16th International Conference “Advances in Pneumology”. Berlin, Germany, December 8-10, 2023.

5. V. Portnichenko, P. Tsapenko, R. Yanko, S. Pavlovich, **M. Zavhorodnii**, M. Spivak, A. Portnychenko. Phase changes in the pattern of respiration, energy metabolism and lung injury in experimental pneumonia and its correction 16th International Conference “Advances in Pneumology”. Berlin, Germany, December 8-10, 2023.
6. Kozlovska M., Nosar V., **Zavhorodnii M.**, Vasylenko M., Rozova K., Portnychenko A. P 31 Hypoxic preconditioning changes the function of myocardial mitochondria in rats with insulin resistance and arterial hypertension. 8th Annual Summit on Cardiovascular, Renal and Glycemic Outcomes – The Virtual CVOT Summit 2022, Munich, Germany, 10-11 Nov 2022. Diabetes, Metabolism, and the Heart 2022; 31:27.
7. **Завгородній М.О.**, Носар В.І., Цапенко П.К., Козловська М.Г., Василенко М.І., Портніченко В.І., Портниченко А.Г. Кальційзалежні механізми регуляції функції мітохондрій міокарду щурів при інсулінорезистентності. Матер. XIII наук.-практ. конф. «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.
8. Алієв Р.Б., Василенко М.І., **Завгородній М.О.**, Козловська М.Г., Носар В.І., Портниченко А.Г. Лептинзалежна регуляція функції мітохондрій при цукровому діабеті 2 типу та запаленні. Матер. XIII наук.-практ. конф. «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.
9. Aliiev R.B., Kozlovska M.G., Tsapenko P.K., Zavhorodnii M.O., Shapovalova A.S., Vasylenko M.I., Rozova K.V., Portnychenko A.G. Respiratory and metabolic peculiarities of LPS-induced inflammation on background of type 2 diabetes. IV scientific and practical conference of students and young scientists with international participation Матер. IV наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень

- Сучасної медицини і фармації» Харків, 19 травня 2022 р. – Х.: Вид-во НФаУ, 2022. – С.19.
10. Kozlovska M., Nosar V., **Zavhorodnii M.**, Vasylenko M., Portnychenko A. Hypoxic preconditioning changes the function of myocardial mitochondria in rats with insulin resistance and arterial hypertension. Young Science Beyond Borders, Poland, 16-17 December 2021.
 11. Портниченко А. Г., Портніченко В.І., Серебровська Т.В., Розова К.В., Василенко М.І., Гончар О.О., Цапенко П.К., Алієв Р.Б., **Завгородній М.О.** Козловська М.Г., Топчанюк Л.Я. Нові механізми розвитку цукрового діабету 2 типу та можливості його гіпокситерапевтичної корекції. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доп. VIII Нац. конгр. патофізіологів України з міжнар. участю (6-8 жовтня 2021 р.). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2021. Т.2. С. 169-171.
 12. Цапенко П.К., Сидоренко А.М., **Завгородній М.О.**, Портніченко В.І., Портниченко А.Г. Кальційзалежні механізми регуляції патерну дихання та газообміну при інсулінорезистентності. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доп. VIII Нац. конгр. патофізіологів України з міжнар. участю (6-8 жовтня 2021 р.). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2021. Т.2. С. 209-211.
 13. Алієв Р.Б., Топчанюк Л.Я., **Завгородній М.О.**, Василенко М.І., Портніченко В.І., Цапенко П.К., Сидоренко А.М., Портниченко А.Г. Інсулінонезалежні механізми компенсації метаболічних розладів у щурів при періодичній гіпоксії. II Галицькі читання і XII Наук.-практ. конф. «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присв. 100-р. проф. Бергера Е.Н. і 90-р. проф. Маркової О.О. – Тернопіль, 29-30 жовтня 2020 р. С. 8.
 14. Портниченко А.Г., Василенко М.І., Портніченко Г.В., Лапікова-Бригінська Т.Ю., Цапенко П.К., Древицька Т.Ю., Сидоренко А.М., **Завгородній М.О.**, Портніченко В.І. Молекулярні механізми метаболічної перебудови у щурів при високогірній гіпоксії та діабеті 2

- типу. II Галицькі читання і XII Наук.- практ. конф. «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присв. 100-р. проф. Бергера Е.Н. і 90-р. проф. Маркової О.О. – Тернопіль, 29-30 жовтня 2020 р. С. 89.
15. Носар В.І., Барановська О.І., **Завгородній М.О.**, Топчанюк Л.Я., Алієв Р.Б., Цапенко П.К., Сидоренко А.М., Братусь Л.В., Портніченко В.І., Портніченко А.Г. Вплив періодичної гіпоксії на розвиток мітохондріальної дисфункції в печінці щурів при експериментальному цукровому діабеті 2 типу. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доп. VIII Нац. конгр. патофізіологів України з міжнар. участю (13-15 травня 2020 р.). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2020. Т.1. С. 260-261.
16. Портніченко В.І., Цапенко П.К., Носар В.І., **Завгородній М.О.**, Сидоренко А.М., Портніченко А.Г. Вплив різних режимів періодичної гіпоксії на дихання і метаболізм у щурів при моделюванні діабету II типу. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доп. VIII Нац. конгр. патофізіологів України з міжнар. участю (13-15 травня 2020 р.). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2020. Т.1. С. 164-165.
17. Алієв Р.Б., Носар В.І., Розова К.В., Василенко М.І., Цапенко П.К., Сидоренко А.М., **Завгородній М.О.**, Братусь Л.В., Портніченко А.Г. Енергетичний метаболізм при ЛПС-індукованому запаленні на тлі діабету 2 типу // Матер. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Галицькі читання: Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми». Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 р. – С.3.
18. Портніченко А.Г., Гончар О.О., Розова К.В., Василенко М.І., Цапенко П.К., Алієв Р.Б., Сидоренко А.М., **Завгородній М.О.** Оксидативні та метаболічні порушення при пошкодженні легень щурів ендотоксином та їх корекція // Матер. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Галицькі читання: Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми». Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 р. – С. 49-50.

19.Цапенко П.К., Портніченко В.І., Василенко М.І., Носар В.І., Гончар О.О., Розова К.В., Сидоренко А.М., **Завгородній М.О.**, Бабічева В.В., Алієв Р.Б., Портниченко А.Г. Порушення зовнішнього дихання та енергетичного обміну при ЛПС-індукованому запаленні у щурів // Матер. XX-го з'їзду Укр. фізіол. товариства ім. П.Г. Костюка з міжнар. участю, присв. 95-річчю з дня нар. акад. П.Г. Костюка. – Київ, 27-30 травня 2019 р. – Фізіол. журн. – 2019. – 65, №3 (дод). – С. 106.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	14
ВСТУП	15
РОЗДІЛ 1	22
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	22
1.1. Дихання і енергетичний метаболізм за умов нормоксії та гіпоксії	22
1.1.1. Енергетичний статус клітини. Роль мітохондрій в обміні речовин	22
1.1.2. Гіпоксичні впливи на мітохондрії	25
1.1.3. Особливості легеневої вентиляції.....	28
1.1.4. Зміни зовнішнього дихання при гіпоксичних станах	31
1.2. Дихання і енергетичний метаболізм при інсулінорезистентності.....	33
1.2.1. Інсулінорезистентність	33
1.2.2. Зміни зовнішнього дихання при інсулінорезистентності	36
1.2.3. Зміни енергетичного метаболізму при інсулінорезистентності.....	38
1.3. Дихання та енергетичний метаболізм при гіпоксії та інсулінорезистентності	40
1.3.1. Роль кальцієвої сигналізації у відповідь на гіпоксію при інсулінорезистентності.....	42
II. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ	44
2.1. Групи тварин	44
2.2. Модель інсулінорезистентності	46
2.3. Глюкометрія та інсулінотолерантний тест.....	46
2.4. Блокада повільних кальцієвих каналів	46
2.5. Відтворення гіпобаричної гіпоксії	47
2.6. Реєстрація об'ємно-часових показників зовнішнього дихання.....	47
2.7. Дослідження окиснювальної функції мітохондрій.....	48
2.8. Дослідження про- та антиоксидантного гомеостазу в тканинах печінки	49
2.9. Морфологічні дослідження	50
2.10. Статистична обробка результатів	51
РОЗДІЛ 3	52

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	52
3.1. Зміни зовнішнього дихання при гіпоксії та інсулінорезистентності.....	52
3.2. Зміни енергетичного метаболізму при гіпоксії та інсулінорезистентності	70
3.3. Зміни показників про- та антиоксидатного балансу у тканині печінки	80
3.4. Морфологічні зміни тканин легень та печінки за умов інсулінорезистентності, впливів гіпоксії та блокади повільних кальцієвих каналів	83
3.4.1. Зміни ультраструктури тканин легень	83
3.4.2. Зміни ультраструктури тканин печінки	89
ЗАКЛЮЧНИЙ РОЗДІЛ.....	95
ВИСНОВКИ.....	107
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	109

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АФК	активні форми кисню
ВЖД	високожирова дієта
ЕТЛ	електронтранспортний ланцюг
ТБК-РП	реактивні продукти тіобарбітурової кислоти
f	частота дихання
$d\dot{V}_I/dt$	питоме прискорення дихального струменя на вдиху
$d\dot{V}_E/dt$	питоме прискорення дихального струменя на видиху
GSH	відновлений трипептид глутатіон
P_{AO_2}	парціальний тиск кисню в альвеолах
P_{ACO_2}	парціальний тиск вуглекислого газу в альвеолах
RQ	дихальний коефіцієнт
T_I/T_E	співвідношення часу вдиху до часу видиху
T_I/T_{tot}	частка вдиху у дихальному циклі
T_E/T_{tot}	частка видиху у дихальному циклі
V_T	дихальний об'єм
\dot{V}_E	хвилинний об'єм дихання
\dot{V}_A	альвеолярна вентиляція
\dot{V}_A/\dot{V}_E	співвідношення альвеолярна вентиляція/ хвилинний об'єм дихання
\dot{V}_{Ipic}	пікова швидкість вдиху
\dot{V}_{Epic}	пікова швидкість видиху
\bar{V}_I	середня швидкість вдиху
\bar{V}_E	середня швидкість видиху
\dot{V}_{O_2}	об'єм спожитого кисню
\dot{V}_{CO_2}	об'єм виділеного вуглекислого газу
\dot{V}_{O_2RC}	кисневий ефект дихального циклу

ВСТУП

Актуальність. Інсулінорезистентність як невід’ємний компонент цукрового діабету II типу, метаболічного синдрому та передчасного старіння є однією із найрозповсюдженіших причин смертності людства за даними ВООЗ станом на 2018 рік. Зафіксовано зростання захворюваності на цукровий діабет II типу (90% від усіх випадків цукрового діабету): якщо у 2010 році вона становила 285 млн осіб або 6% населення світу, то прогнозована кількість хворих на цукровий діабет II типу станом на 2030 рік складатиме понад 552 млн осіб. Таким чином, спостерігається епідемія цукрового діабету II типу та ін. захворювань, головним механізмом розвитку яких є інсулінорезистентність. Тому вивчення причин виникнення інсулінорезистентності та пошук нових методів її корекції є пріоритетним завданням для фізіології та медицини.

Мітохондрії є ключовими органелами, залученими у споживання кисню та продукцію енергії. Як відомо, при інсулінорезистентності пригнічується мітохондріальне дихання, і, як наслідок, продукція енергії за участі кисню [Nelson, 2017]. Гіпоксія – потужний фактор впливу на організм, включаючи молекулярний, субклітинний, клітинний, тканинний, органний та системний рівні його організації. Залежно від характеру впливу гіпоксія може виступати як пошкоджуючим агентом, так і стимулятором до регенерації або перебудови метаболізму [Semenza, 2012, Moris, 2017]. Більше того, на думку деяких дослідників [Ichiki, 2014], порушення відповіді організму на гіпоксію може стати причиною розвитку інсулінорезистентності та цукрового діабету II типу.

Печінка, яка посідає центральне місце в регуляції вуглеводно-жирового обміну, є одним з органів, який безпосередньо здійснює ефекторну і регуляторну відповідь в умовах інсулінорезистентності [Petersen, 2018]. Будь-які регуляторні процеси пов’язані зі зміною внутрішньоклітинного кальцію, в тому числі обмін речовин у печінці [Gaspers, 2019]. Зв’язок між інсулінорезистентністю, споживанням кисню і генерацією активних форм кисню та гіпоксією окреслюється одними дослідниками як ушкоджувальний

[Baffi, 2016, Perry, 2015]. На думку інших авторів [O'Brien, 2021, Tian, 2016] інтервальна гіпоксія може виступати коригувальним фактором при ушкодженні печінки внаслідок її жирового переродження.

Блокатори повільних кальцієвих каналів на сьогодні є широкоживаними терапевтичними засобами у клінічній практиці [Liss, 2019, Liu, 2018]. Відомо, що кальцієві механізми при інсулінорезистентності залучені як в процеси ушкодження [Czaja, 2015], так і в процеси регенерації [Koga, 2016] та відновлення про- та антиоксидантного балансу [Yamaguchi, 2014]. Проте одностайної думки щодо впливу гіпоксії за умов резистентності до інсуліну та ролі кальцієвих механізмів у відповіді організму на гіпоксію за умов інсулінорезистентності на сьогодні немає.

Виходячи із вищезазначеного, дослідження впливу гіпоксії за умов інсулінорезистентності на зовнішнє дихання і енергетичний метаболізм печінки, а також з'ясування ролі кальцієвих механізмів у відповіді організму на гіпоксію та інсулінорезистентність є актуальним завданням.

Ключові слова: Гіпоксія, інсулінорезистентність, цукровий діабет, гіпоінсулінемія, зовнішнє дихання, споживання кисню, гіпервентиляція, гіпокапнія, печінка, мітохондріальна дисфункція, окисний стрес, ТБК-реактивні продукти, імунокомпетентні клітини, ліпіди, кальцієві канали

Зв'язок роботи із науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках відомчих тем НДР відділу гіпоксії Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України: «Молекулярно-генетичні механізми впливу гіпоксії на перебіг запалення та метаболічних розладів» (номер державної реєстрації 0119U103909, 2020-2023 рр.), за цільовою програмою «Підтримка пріоритетних для держави наукових досліджень і науково-технічних (експериментальних) розробок відділення біохімії, фізіології і молекулярної біології НАН України за Постановою НАН України № 339 від 18.12.2019 (державний реєстраційний номер роботи 0120U001281), а також підтримано коштами програми «Науково-дослідні

роботи молодих учених НАН України 2023-2024 рр.» за Розпорядженням Президії НАН України від 05.04.2023 №184 (6541030).

Мета роботи: Охарактеризувати особливості та механізми перебудови зовнішнього дихання і енергетичного метаболізму при впливі гіпоксії на щурів із інсулінорезистентністю.

Відповідно до мети поставлені наступні **завдання**:

- 1) Встановити основні закономірності змін патерну зовнішнього дихання та газообміну у щурів із інсулінорезистентністю при нормоксії та гіпобаричній гіпоксії.
- 2) Охарактеризувати зміни дихальної функції мітохондрій та показників про- та антиоксидантного балансу в тканині печінки щурів із інсулінорезистентністю за умов нормоксії та гіпобаричної гіпоксії .
- 3) Охарактеризувати зміни ультраструктури легень і печінки при інсулінорезистентності у щурів за умов нормоксії і гіпобаричної гіпоксії.
- 4) Встановити участь кальцій-залежних механізмів у регуляції патерну дихання, газообміну і енергетичного метаболізму, про- та антиоксидантного балансу у щурів з інсулінорезистентністю та при впливі гіпоксії за допомогою введення блокатора кальцієвих каналів L-типу.

Об`єкт дослідження – перебудова зовнішнього дихання і енергетичного метаболізму при гіпоксії та інсулінорезистентності у щурів.

Предмет дослідження – системні, клітинні та біохімічні зміни дихальної функції організму та окиснювальної функції мітохондрій печінки і її редокс-статусу при інсулінорезистентності, гіпобаричній гіпоксії та за умов блокади повільних кальцієвих каналів.

Методи дослідження:

- *фізіологічні* (пневматалографія, маспектрографія, полярографія за Чансом);
- *морфологічні* (електронна мікроскопія тканин печінки і легень);

- *біохімічні* (визначення компонентів про- та антиоксидантної системи печінки),
- *статистичні* (первинна обробка даних, двофакторний тест ANOVA трьохфакторний тест ANOVA із post-hoc тестами Tukey).

Наукова новизна. У дисертаційній роботі вперше показано особливості вентиляторної перебудови за умов інсулінорезистентності на тлі блокади повільних кальцієвих каналів. Встановлено, що вплив гіпоксії на щурів з інсулінорезистентністю, викликану високожировою дієтою, на відміну від щурів без інсулінорезистентності, викликає збільшення енергетичного метаболізму, внаслідок чого спостерігається перебудова патерну дихання, зростає вентиляція легень і робота всієї системи транспорту кисню. В цій групі спостерігалось посилене використання жирових субстратів, про що свідчить зниження дихального коефіцієнту і зростання мітохондріального окиснення жирів.

Виявлено, що кальцієві механізми залучені у регуляцію мітохондріального дихання при перемиканні метаболізму печінки на жирові субстрати окиснення за умов нормоксії і гіпоксії. Гіпоксія посилює ефект блокади повільних кальцієвих каналів на енергетичний метаболізм в печінці при інсулінорезистентності. Блокада кальцієвих каналів при високожировій дієті нормалізує про- та антиоксидантний гомеостаз у печінці інсулінорезистентних щурів як в нормоксичних умовах, так і при гіпоксії.

Теоретичне та практичне значення отриманих результатів.

Отримані результати, перш за все, мають теоретичне значення для розуміння процесів регуляції зовнішнього дихання та енергетичного метаболізму печінки при гіпоксії та інсулінорезистентності. Результати дисертаційної роботи можуть бути використанні при написанні освітньої та методичної літератури навчальних закладів медичного та біологічного профілю.

Відомості про залежність енергетичного метаболізму та про- і антиоксидантного балансу в печінці від кальцієвих механізмів при інсулінорезистентності та гіпоксії можуть бути використані для пошуку нових терапевтичних підходів у лікуванні інсулінорезистентності та жирового переродження печінки. Відомості про збільшення рівня енергетичного метаболізму при впливі гіпоксії за умов інсулінорезистентності можуть бути застосовані у профілактиці метаболічного синдрому. Високожирова дієта є перспективною для застосування у практиці підготовки спортсменів високого рівня.

Особистий внесок здобувача. Головна ідея та завдання дослідження сформовані разом із науковим керівником д.м.н. Портніченком Володимиром Іллічем та попереднім науковим керівником д.м.н. Портниченко Аллою Георгіївною. Автором особисто проведено відбір та аналіз літератури за темою дисертації, здійснено статистичну обробку отриманих результатів, написано усі розділи дисертації. Автор був залучений у всі етапи експериментальної роботи: моделювання інсулінорезистентності утриманням щурів на високожировій дієті, дослідження зовнішнього дихання, приготування зразків тканин, електронно-мікроскопічні дослідження та дослідження мітохондріального дихання методом Чанса і про-/антиоксидантного балансу печінки щурів.

Автор висловлює подяку колегам за допомогу в проведенні досліджень, співучасть яких у виконанні роботи була відмічена у спільних публікаціях.

Апробація результатів дисертації. Основні положення та результати представлені на таких конференціях та форумах:

- Congress on Cardiovascular, Kidney and Glycemic Outcomes – The Virtual CVOT Summit 2023, Munich, Germany, 30 Nov – 1 Dec 2023;
- VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція». Харків, Україна, 16 листопада 2023;

- 16th International Conference “Advances in Pneumology”. Berlin, Germany, December 8-10, 2023;
- 8th Annual Summit on Cardiovascular, Renal and Glycemic Outcomes – The Virtual CVOT Summit 2022, Munich, Germany, 10-11 Nov 2022. Diabetes, Metabolism, and the Heart 2022;
- XIII наук.-практ. конф. «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», Тернопіль, 26-28 жовтня 2022;
- IV наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень Сучасної медицини і фармації» Харків, 19 травня 2022;
- Young Science Beyond Borders, Poland, 16-17 December 2021;
- VIII Нац. конгр. патофізіологів України з міжнар. участю (6-8 жовтня 2021);
- Галицькі читання і XII Наук.- практ. конф. «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присв. 100-р. проф. Бергера Е.Н. і 90-р. проф. Маркової О.О. – Тернопіль, 29-30 жовтня 2020;
- VII Нац. конгр. патофізіологів України з міжнар. участю (13-15 травня 2020);
- Науково.-практ. конф. З міжнар. участю «Галицькі читання: Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми». Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019;
- XX-го з'їзд Укр. фізіол. товариства ім. П.Г. Костюка з міжнар. участю, присв. 95-річчю з дня нар. акад. П.Г. Костюка. – Київ, 27-30 травня 2019.

Публікації. За результатами дисертації опубліковано 21 наукову працю, у тому числі 4 статті, дві з яких у журналах, які належать до науково-метричних баз Scopus WOS (Q4) та дві у фахових українських виданнях, та 19 тез доповідей на українських конференціях із міжнародною участю та міжнародних закордонних конференціях.

Структура і об'єм дисертації. Дисертація написана на 132 сторінках друкованого тексту, містить такі розділи як перелік умовних скорочень, вступ,

огляд літератури, опис матеріалів і методів дослідження, результатів досліджень та їх обговорення, заключного розділу з узагальненням результатів та їх обговоренням, висновків і списку використаної літератури з 165 найменувань. Робота ілюстрована 6 таблицями та 31 рисунком.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Дихання і енергетичний метаболізм за умов нормоксії та гіпоксії

1.1.1. Енергетичний статус клітини. Роль мітохондрій в обміні речовин

АТФ вважається основною молекулярною одиницею внутрішньоклітинної енергії. Енергія у АТФ міститься у її ангідридних зв'язках, що з'єднують сусідні фосфатні функціональні групи (Рис. 1.1).

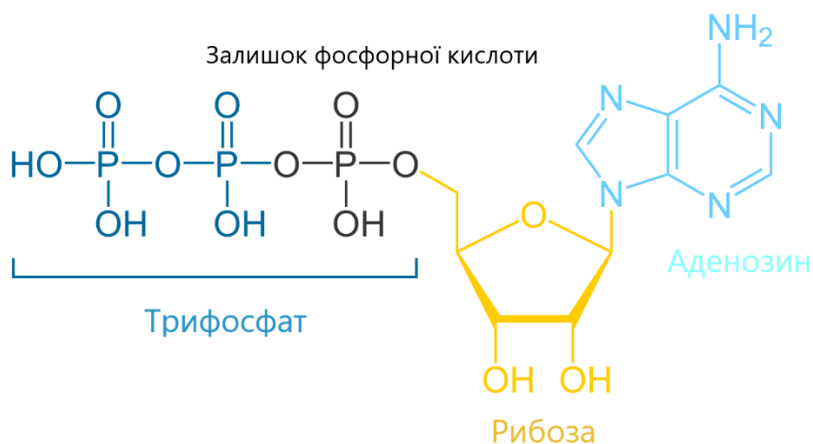


Рис. 1.1. Будова молекули АТФ. Адаптовано [16]

Гідроліз енергії АТФ генерує енергію для всіх процесів у клітині. Крім того, АТФ також служить кофактором для реакцій передачі сигналу з використанням різноманітних кіназ, а також аденілатциклази. У нормі концентрація АТФ у клітинах підтримується в діапазоні від 1 до 10 ммоль/л, з нормальним співвідношенням АТФ/АДФ приблизно 1000:1 [16].

В процесі клітинного дихання вивільнення вільної енергії відбувається із вуглеводів, жирів і білків як енергетичних субстратів. Клітинне дихання складається з трьох пов'язаних біохімічних реакцій:

1. Реакції деградації з утворенням ацетилу коензиму А та відновлених еквівалентів

2. Метаболізм ацетату до вуглекислого газу в циклі Кребса з генерацією додаткових відновних еквівалентів

3. Човниковий рух електронів, що утворюються від відновних еквівалентів уздовж мітохондріального електрон-транспортного ланцюга

Глюкоза проникає в клітини через рецептори транспортера глюкози (GLUT) і за осмотичним градієнтом. Першою метаболічною ланкою перетворень енергетичних субстратів у енергію є *гліколіз*, який відбувається у цитоплазмі і дає в результаті 2 молекули АТФ, 2 молекули NADH, і 2 молекули пірувату [16, 17]. Останній в анаеробних умовах може бути використаний до відновлення NADH з NAD⁺ із виходом лактату як побічного продукту. Альтернативний шлях метаболізму пірувату проходить в мітохондріях, де він далі метаболізується до CO₂ і ацетил-КоА.

Амінокислоти можуть катаболізуватися до ацетил-КоА, або до якогось проміжного продукту циклу Кребса. Відповідно, амінокислоти можуть бути використані для виробництва енергії, а також для синтезу білка *de novo*. Також амінокислоти можуть піддаватися гліоконеогенезу – енерговитратному процесу, який потребує, 4 молекул АТФ та 2 молекул ГТФ і 2 молекул NADH для регенерації 1 молекули глюкози з 2 молекул пірувату. Необхідні для цих реакцій АТФ і ГТФ є продуктами β-окиснення жирних кислот, метаболічної ланки обміну ліпідів.

Цикл трикарбонових кислот, який відбувається у матриксі мітохондрій, є послідовністю реакцій в яких ацетил-КоА перетворюється на 2 молекули CO₂ з утворенням 1 молекули ГТФ, 3 молекул NADH і 1 молекули FADH₂. Молекулярний кисень необхідний в мітохондріях для рециркуляції окислених і відновлених еквівалентів NADH і FADH, а також для руху електронів по електронтранспортному ланцюгу (ЕТЛ) [18] з утворенням води – другого побічного продукту циклу трикарбонових кислот.

Окремої уваги заслуговують особливості функціонування ЕТЛ мітохондрій. Такі окиснювальні субстрати із матриксу мітохондрій як піруват, малат і глутамат через NADH передають електрони на I комплекс ЕТЛ, звідки вони переходять на коензим Q. Сукцинат передає енергію на II комплекс, а електрони від FADH через флавінопротеїновий електронтранспортний комплекс (CETF) – і разом вони передають електрони також на коензим Q. Подальший транспорт електронів із використанням їх енергії через III комплекс ЕТЛ та цитохром-с (Cyt-c) приводить їх до IV і V комплексу, де, власне відбувається спряження із фосфорилуванням і відновленням АДФ до АТФ за рахунок електрохімічного градієнту H^+ між зовнішньою і внутрішньою мембранами мітохондрії (Рис. 1. 2).

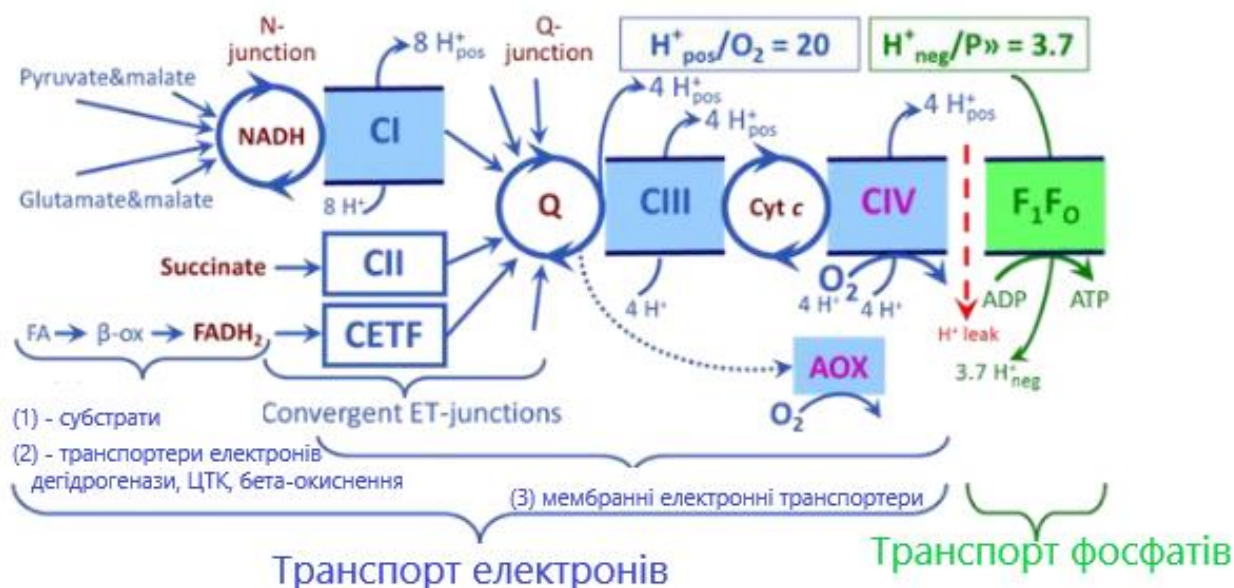


Рис. 1.2. Схема роботи електронтранспортного ланцюга (ЕТЛ) мітохондрій. Адаптовано [17].

Таким чином, енергетичний статус клітини залежить від 3 основних пунктів:

1. Наявності молекулярного кисню, який служить основним акцептором електронів. Це залежить від доставки кисню до тканини [16-18].

2. Доступності метаболізму поживних речовин для генерації відновлювальних еквівалентів у формі NADH і FADH₂. Виснаження NADH

може відбуватися у випадках потужного клітинного стресу після активації полі-(АДФ-рибози)-полімерази (PARP) [16].

3. Загальний енергетичний стан клітини визначається співвідношенням АТФ/АДР. Стійкий зсув цієї рівноваги ініціює апоптоз [17].

1.1.2. Гіпоксичні впливи на мітохондрії

Клітини організму ссавців адаптуються до гіпоксії, змінюючи свій метаболізм [19]. Цьому сприяють зміни в експресії білків, які відбуваються на рівні транскрипції або трансляції, стабільність мРНК або білків, а також активність ферментів. Сенсорами та адаптерами для зниження доступності кисню є пролілгідроксилази (PHD). Втрата їх активності стабілізує транскрипційні фактори що індукуються гіпоксією (HIFs), які за умов гіпоксії не піддаються протеасомному протеолізу [19-21]. HIF проникає в ядро для посилення транскрипції різноманітних цільових генів, включаючи мітохондріальні. Оскільки саме мітохондрії є основними споживачами кисню в клітині, гіпоксія через транскрипційні фактори родини HIF впливає на її основні регуляторні механізми – злиття мітохондрій, поділ та ферменти окисного фосфорилування. Останні адаптуються до гіпоксії шляхом реконструкції компонентів ЕТЛ [19]. Запропонована сучасна модель 4 комплексів-складових ЕТЛ

- I комплекс - NADH-коензим Q-редуктаза;
- II комплекс – сукцинатдегідрогеназа (SDH);
- III комплекс – убіхінол-цитохром-с-редуктаза;
- IV комплекс – цитохром-с-оксидаза, випадково розосереджені в матриксі мітохондрій, з'єднані окисно-відновними активними ферментами – коензимом Q (CoQ) і цитохромом с) [21]

була доопрацьована. Виявилось, що комплекси I, III і IV в матриксі мітохондрій утворюють кластери, які забезпечують ефективний транспорт електронів з

мінімальним утворенням супероксиду ($O_2^{\cdot-}$). Тим не менш, ROS з комплексів I, II і III є не лише продуктом випадкового витікання електронів з ЕТЛ і їх перенесення до молекулярного кисню, але зараз вважаються важливими посередниками у фізіологічній сигналізації клітини [22]. Адаптація комплексів ЕТЛ через HIF-залежні механізми відбувається шляхом заміни білків-компонентів кожного кластера [21].

HIF-1 α відіграє ключову роль у метаболізмі глюкози. Так, у нокаутних на цей ген мишей спостерігається глюкозотолерантність на тлі дисфункції β -клітин підшлункової залози та резистентність до інсуліну в периферичних тканинах (скелетні м'язи, жирова тканина) після тривалого вживання високожирової дієти [23]. При цьому зміни метаболізму глюкози обумовлені, імовірно, пригніченням активності печінкової глюкокінази і, як наслідок, зменшенням поглинання глюкози гепатоцитами, при цьому рівень експресії GLUT-1 та гліколітичних ферментів не змінюється [24]. HIF-1, експресія якого зростає на тлі пригнічення лактатом пролілгідроксилази, сприяє посиленню гліколізу [25].

Маса загального пулу мітохондрій клітини при гіпоксичних впливах може піддаватися мітофагії, яка передбачає злиття окремих органел і при цьому часткову втрату компонентів мітохондрій [26-27]. Останні процеси відбуваються з метою зменшення продукції АФК та реорганізації мітохондріального пулу, а також з метою компенсації процесів окисного фосфорилування і підтримки енергетичного статусу клітини. Морфологічно мітохондрії під впливом гіпоксії втрачають кристи, набухають та зливаються своїми мембранами із сусідніми мітохондріями [28].

Важливо також зазначити, що під впливом гіпоксії на клітину відбуваються адаптивні зміни у ЕТЛ, які передбачають процеси редукційного карбоксилювання дихальних субстратів, що призводить до зменшення продукції ROS на тлі посилення ліпогенезу [21, 29-31]. Самі компоненти електронтранспортного ланцюга також піддаються змінам під час гіпоксії. Більшість змін відбувається в I комплексі, який є домінантним акцептором

електронів, і у IV комплексі, який сприяє транспорту електронів до молекулярного кисню. Деякі з цих змін включають обмін субодинами в комплексах ЕТЛ, інші зміни стосуються структури, а також відбувається деградація субодинами комплексів ЕТЛ. Окрім гіпоксії, реоксигенація є тригером для виробництва АФК, що впливає на I комплекс ЕТЛ. Таким чином, субодинами комплексу I окислюються після реоксигенації, провокуючи зниження стабільності своєї конформації [32].

Тривалий вплив гіпоксії на ЕТЛ викликає перебудову метаболічних шляхів у мітохондріях, із акцентом на II комплекс та окиснення сукцинату [33]. Це пов'язано із більш високою стійкістю до гіпоксії комплексу II на тлі пригнічення активності I комплексу ЕТЛ, про що йшлося вище.

Гіпоксія викликає підвищення чутливості $ВК_{Ca^{2+}}$ каналів на внутрішній мембрані мітохондрій, які у свою чергу перешкоджають відкриттю мітохондріальної пори (mPTP), залученої у процеси апоптозу. Таким чином струми через кальцієві канали на внутрішній мітохондріальній мембрані можуть бути залучені до антиапоптичних процесів [34]. При цьому, існують суперечливі дані щодо впливу блокаторів мітохондріальних кальцієвих каналів ($ВК_{Ca^{2+}}$) на розвиток апоптозу і пригнічення вивільнення цитохрому c [35-36].

Окремої уваги заслуговує функція мітохондрій як кисневого сенсора у легенях. Явище гіпоксичної легеневої вазоконстрикції (HPV), яке відоме ще з позаминулого століття, проявляється у звуженні частини артеріальних судин легень у зоні зниження парціального тиску кисню в альвеолах, що дозволяє перфузувати кров більш ефективно. Це унікальне явище спостерігається саме у судинах легень, оскільки гіпоксичні впливи переважно спричиняють розслаблення судин у інших органах і тканинах [37]. Вазоконстрикторна реакція на гіпоксію у гладком'язових клітинах артерій відбувається завдяки розгалуженій мережі мітохондрій, яка контактує із різними компартментами, в тому числі із плазматичною мембраною. У нормоксичних умовах мітохондрії продукують O_2^- , побічний продукт окиснення, який перетворюється

супероксиддисмутазою-2 на H_2O_2 . [38] Продукція перекису водню необхідна для окиснення сульфгідрильних груп калієвого каналу $Kv1.5$ на плазматичній мембрані гладком'язової клітини, що підтримує канал у відкритому стані і дозволяє утримувати мембранний потенціал клітини на рівні -60 мВ. За умов нестачі кисню продукція перекису водню пригнічується, і цей канал закривається, що призводить до деполаризації мембрани і відкриванню Ca^{2+} -каналів L-типу. Як наслідок, відбувається скорочення гладком'язової клітини, що призводить до вазоконстрикції [39-40]. Блокада повільних кальцієвих каналів ніфедипіном або верапамілом пригнічує ефект гіпоксичної легеневої гіпертензії [39]. Є також дані про залучення кальцій-індукованого кальцієвого вивільнення із цистерн саркоплазматичного ретикулулу в механізми гіпоксичної легеневої вазоконстрикції [40].

1.1.3. Особливості легеневої вентиляції

Дихання є комплексом фізіологічних процесів, яким властива злагодженість і неоднорідність: на тлі обміну газів між тканинами та зокрема їх мітохондріями і кров'ю відбувається постійний обмін газів між альвеолярним повітрям та кров'ю. Зовнішнє дихання зводиться до постійного оновлення суміші газів у альвеолах для ефективного споживання кисню тканинами організму та виведення метаболітів [41].

Вентиляція легень включає в себе фази вдиху та видиху, які разом складають дихальний цикл – їх тривалість і співвідношення змінюється залежно від потреб і станів організму. Разом ці компоненти дихального циклу називаються патерном дихання [42]. До патерну дихання належать такі часові і об'ємні показники, як кількість дихальних циклів за хвилину або частота дихання (f), тривалість окремого дихального циклу (T_T), тривалість інспіраторної та експіраторної фаз (T_I , T_E), дихальний об'єм (V_T), середні (\bar{V}_I , \bar{V}_E) та пікові ($\dot{V}_{I\text{ pic}}$, $\dot{V}_{E\text{ pic}}$) швидкості експіраторного та інспіраторного потоку повітря, та хвилинний об'єм дихання (\dot{V}_E) [42].

Фізіологічна роль легеневої вентиляції полягає у газообміні, який включає в себе такі показники як загальна вентиляція легень (V), що у свою чергу складається із суми вентиляційного мертвого простору (V_D) та альвеолярної вентиляції (V_A). Оптимальним для зовнішнього дихання і газообміну є таке співвідношення альвеолярної вентиляції до загальної вентиляції легень (V_A/V_E), за якого найкраще між собою співвідносяться глибина і частота дихання і використовується мінімальна кількість енергії на обмін 1 літру повітря (VEq). Як відомо [42], зі збільшенням дихального об'єму ступінь розтягненості легень збільшується, а з ним і роль еластичної тяги легень. Таким чином, чим більший дихальний об'єм, тим більший спротив еластичних сил тканини легень, т. з. еластичний компонент роботи дихання. Водночас зміна патерну дихання на поверхневе і неглибоке (зменшення V_T на тлі збільшення f призводить до зростання долі опору дихальних шляхів – т. з. резистивного компоненту роботи дихання. Подальше зростання роботи дихання і хвилинного об'єму дихання є нелінійним – оскільки зростає як еластичний так і резистивний компоненти роботи. Резистивний компонент роботи при цьому внаслідок подразнення механорецепторів дихальних шляхів може знижуватися при зростанні дихального об'єму (V_T), але не частоти дихання [40, 44].

Перебудова зовнішнього дихання (зміна патерну) може бути ізовентиляторною або стеновентиляторною. Перший тип зміни патерну (ізовентиляторний) розвивається переважно внаслідок гіпо- або гіпертермії, змін спротиву диханню внаслідок морфологічних змін тканини легень, тонусу дихальних шляхів або дихальних м'язів. Ізовентиляторна перебудова дихання відбувається переважно внаслідок впливу імпульсації на периферичні хеморецептори, наслідком чого є або збільшення V_T на тлі зниження f , або зростання f на тлі зменшення V_T . Стеновентиляторні зміни зовнішнього дихання виникають переважно за умов змін складу вдихуваного повітря або змін метаболізму – збільшення споживання кисню і т. д. [42, 45]. Стеновентиляторна перебудова дихання передбачає збільшення легеневої

вентиляції, в більшості випадків за рахунок зростання $i f$, і V_T , збільшення інспіраторного потоку повітря, а також збільшення частки вдиху у дихальному циклі (T_I/T_{tot}), внаслідок чого зростає величина альвеолярної вентиляції. При цьому варто зазначити, що у людини зростання частки вдиху у дихальному циклі при збільшенні частоти дихання відбувається переважно за рахунок скорочення частки видиху (T_E/T_{tot}) [42-43].

Центр регуляції дихання розташований у стовбурі головного мозку. У вентромедулярній частині довгастого мозку розташована зона пре-Ботцингера, яка має нейрони здатні до спонтанної електричної активності, і які ініціюють вдих. Нейрони, ретротрапецієвидного ядра/парафаціальна респіраторна група (RTN/pFRG) забезпечує ритмічний стимул видиху. Ростральніше, у мості, розташовані нейрони групи Кьолікера-Ф'юза (Kölliker-Fuse, KF) і парабрахіальні ядра - які є релейними ядрами для рефлекторної регуляції дихання вищими відділами ЦНС, зокрема гіпоталамусом. Також KF зона отримує численні аференти від блукаючого і язикового нервів і регулює фазовий перехід між вдихом та видихом, їх співвідношення та тонус верхніх дихальних шляхів [45]. Парафаціальна група ядер у довгастому мозку, маючи хеморецептори, тонічно збуджує нейрони Ботцингера, забезпечуючи ритмогенез дихання [45-46]. Регуляція дихання знаходиться під впливом нейромедіаторів, зокрема ацетилхоліну, норадреналіну, серотоніну, пептидних медіаторів та ГАМК [46].

Регуляція дихання забезпечується також за участі центральних і периферичних хеморецепторів. Центральні хеморецептори локалізовані у нижніх відділах стовбура мозку і забезпечують 2/3 рецепції парціального тиску CO_2 та рівня рН крові [47]. Периферичні хеморецептори представлені специфічними нейронами у точках біфуркації крупних артерій, зокрема каротидними тільцями у ділянці біфуркації сонної артерії. Периферичні хеморецептори детектують зміни у крові парціального тиску не лише вуглекислого газу (P_{ACO2}), але і кисню (P_{AO2}) [48]. Цікаво також те, що каротидні тільця активно залучені в регуляцію дихання за умов гіпоксії,

зокрема при зниженні тиску кисню менше 60 мм рт.ст. [49]. Центральні та периферичні хеморецептори перебувають у взаємозв'язку, реагуючи на зміни парціального тиску як вуглекислого газу, так і кисню, що дозволяє підлаштовувати дихання до різних умов та різного складу вдихуваного повітря [44, 48-49].

Таким чином, процес вентиляції легень та його параметри змінюються у залежності від метаболічних потреб організму та змін навколишнього середовища і знаходяться під контролем складних механізмів нервової регуляції та складу крові, що омиває дихальні центри.

1.1.4. Зміни зовнішнього дихання при гіпоксичних станах

Відповідь організму на гіпоксичний вплив залежить головним чином від інтенсивності та тривалості гіпоксії. Тканинна гіпоксія розвивається уже за декілька хвилин після зниження напруження кисню в тканині, тому дослідження відповіді тканини на короткотривалу гіпоксію можна проводити одразу після припинення дії гіпоксичного впливу. Гіпоксична вентиляторна відповідь (HVR) на гостру короткотривалу гіпоксію, тривалістю від секунд до хвилин, не залежить від нейронної пластичності [50-51]. При збільшенні тривалості гіпоксії (від хвилин до 1 години) спостерігається зниження вентиляції у відповідь на гіпоксичні впливи (HVD), яке виникає за участі нейронної пластичності – короткотривалої потенціації та кооткотривалої депресії, а також довготривалої потенціації [52-53]. Це відбувається за участі дофамінергійних та ГАМК-ергійних нейронів стовбура мозку, які мають синапси із каротидними тільцями [52]. Вентиляційна адаптація до гіпоксії (VAN), яка триває від години до декількох тижнів і більше, досить подібна у людей і щурів, порівняно із іншими ссавцями. Вона відбувається переважно за рахунок збільшення VT і це пов'язано зі збільшення чутливості центральних хеморецепторів до парціального тиску кисню у крові [51, 53]. Спостерігається збільшення сигналізації від дофамінергійних нейронів до каротидних тілець,

що, у свою чергу, уповільнює дихання [54]. Посилення експресії фактора HIF-1 відбувається вже через 1 годину гіпоксичного впливу [55]. Подальша його експресія викликає збільшення вазоконстриктора ендотеліну-1 у кров'яному руслі, що теж є проявом вентиляційної адаптації до гіпоксії [55-57].

Загалом вентиляційна акліматизація відбувається внаслідок посилення чутливості хеморецепторів, посилення аферентації до дихальних центрів у ЦНС, збільшення експресії еритропоетинів із залученням фактора HIF та посилення еферентної відповіді [58-59]. Адаптація до тривалої періодичної або хронічної гіпоксії передбачає так зване прогресивне збільшення (PA – progressive augmentation) показників зовнішнього дихання, що, імовірно, пов'язано із зростанням імпульсації серотонінергійних нейронів на гломусні клітини каротидного синуса. Показано також, що періодичний вплив такої імпульсації з часом викликає довготривале полегшення (LTF – long-term facilitation), яке полягає у збільшенні базального рівня легеневої вентиляції – зростання частоти дихання, дихального об'єму, хвилинного об'єму дихання і хвилиної вентиляції після періодичного впливу гіпоксії або гіперкапнії на організм [51, 57].

Отже, окрім механізму легеневої вазоконстрикції (див. розділ 1.1.2), зміна зовнішнього дихання у відповідь на гіпоксію розвивається також за участі нейрогенних механізмів із залученням каротидних тілець та інших хеморецепторів, а також центральної нервової системи. Залежно від тривалості гіпоксії змінюється складність відповіді організму: від впливу метаболітів до посилення експресії генів, індукованих гіпоксією (зокрема родини HIFs). Адаптація до нестачі кисню на рівні клітини є ключовим фактором для пригнічення апоптозу, тому ключова роль сенсора кисню в організмі належить саме мітохондріям.

1.2. Дихання і енергетичний метаболізм при інсулінорезистентності

1.2.1. Інсулінорезистентність

Як відомо, інсулінорезистентність – це нездатність інсулін-залежних тканин реагувати на фізіологічні рівні інсуліну. Даний стан є характерним для численних розладів метаболізму, зокрема цукрового діабету II типу [60].

На сьогоднішній день добре вивчені механізми дії інсуліну – продукту β -клітин острівців підшлункової залози. У скелетних м'язах інсулін опосередковує транспорт глюкози і синтез глікогену, оскільки збільшує активність глюкозного транспортера GLUT-4 через індукцію везикулярного транспорту із залученням Akt-кіназного шляху і малих ГТФазних Rab білків, внаслідок чого GLUT-4 вмонтовується у плазматичну мембрану [60]. Це відбувається також із залученням малих ГТФаз RAC1, які відповідають за реорганізацію актинових філаментів для транспорту субодиниць глюкозного транспортера [61]. Також інсулін у скелетних м'язах регулює синтез глікогену через активацію глікоген-синтази із залученням Akt шляху, в якому фосфорилується кіназа-3 глікоген-синтаза (GSK3) [60-61].

В печінці інсулін викликає активацію тирозин-кінази інсулінового рецептора (IRTK), внаслідок чого через *субстрати інсулінового рецептора* (IRS1, IRS2) активується Akt2 шлях [62], що призводить до пригнічення *синтезу глікогену печінкою* (HGP) та до активації ліпогенезу за участі транскрипційних факторів. При цьому головною функцією інсуліну в печінці буде саме пригнічення синтезу глікогену через інгібування глюконеогенезу за участі транскрипційного фактора FOXO1, який є необхідним для роботи ферментів глюконеогенезу – глюкозо-6-фосфатази та фосфоенолпіруваткарбоксилази [62]. Також інсулін пригнічує глюконеогенез печінки через інгібування ліполізу у жировій тканині, як наслідок печінка не отримує від жирової тканини субстрати для глюконеогенезу [63]. Більше того, через пригнічення синтезу глікогену печінкою інсулін може викликати синтез

глікогену через регуляцію глікоген-фосфорилази за участі GSK3 і стимулювати ліпогенез через транскрипційний фактор SREBP-1c – активатор ліпогенезу de novo у печінці. SREBP-1c відповідає за експресію білків ліпогенезу – ацетил-КоА-карбоксилази-1 та синтази жирних кислот [64].

У білій жировій тканині інсулін пригнічує ліполіз, впливаючи у таких спосіб на HGP. Це призводить до зменшення концентрації субстратів глюконеогенезу, що опосередковується фосфодіестеразою-3, яка у свою чергу впливає на активність PKA, внаслідок чого знижується концентрація цАМФ у адипоцитах [65-66]. Окрім цього протеїн фосфатази (PP1 та PP2a), впливаючи на P13K шлях індукції ліполізу, пригнічують його, фосфорилуючи білки-регулятори ліполізу. Інсулін також сприяє ліпогенезу в білій жировій тканині, активуючи SREBP-1c і опосередковуючи в такий спосіб транслокацію білків транспорту глюкози або жирних кислот, а також сприяє етерифікації жирних кислот і стимулює адипогенез через PPAR γ -рецептори [64-68].

Розвиток інсулінорезистентності у різних інсулін-залежних тканинах

Оскільки інсулінорезистентність визначають як неспроможність деяких тканин реагувати на фізіологічні рівні інсуліну, при такому стані, відповідно, потрібні рівні інсуліну вищі за норму для основних інсулінових впливів на метаболізм: пригнічення синтезу глікогену печінкою та ліполізу, транспорт глюкози всередину клітин та синтез глікогену [69]. Через те що скелетні м'язи кількісно найбільш залежні від інсуліну, а печінка та жирова тканина є центральними органами у регуляції інсулін-залежного обміну глюкози, механізми інсулінорезистентності варто розглядати з урахуванням особливостей усіх цих тканин.

Інсулінорезистентність скелетних м'язів системно в організмі проявляється найбільше. Виникнення даного стану пов'язують із делецією у гені IRTK та/або GLUT-4, що в експерименті на тваринах проявляється схильністю до стеатозу печінки та ожиріння [69-70]. Показано також, що інсулінорезистентність скелетних м'язів пов'язана із порушення транслокації

GLUT-4 у плазматичну мембрану. Проте при цукровому діабеті II типу можлива стимульована гіпоксією та фізичним навантаженням транслокація GLUT-4 у плазматичну мембрану міоцитів за участі AMP-кінази та везикулярного транспорту [71], що свідчить скоріше про аномалії сигнального шляху інсуліну, а не про дефекти глюкозного транспортера. Порушення транспорту глюкози при ожирінні/діабеті у піддослідних тварин, а також обстежуваних людей спостерігалися при дефектах тирозин-кінази інсуліну, що підтверджує дане припущення [72]. Більше того, показано, що фосфорилування тирозину IRS1 і IRS1-залежна активність PI3K є зниженими при інсулінорезистентності [73], що суттєво впливає на транспорт глюкози у міоцити.

Печінка регулює постпрандіальний рівень вуглеводів (рівень після прийому їжі) через пригнічення синтезу глікогену, а також є основним джерелом глюкози для організму при голодуванні [74]. У пацієнтів із цукровим діабетом II типу та інсулінорезистентністю причиною гіперглікемії є підвищений рівень глюконеогенезу на тлі несприйнятливості гепатоцитів до інсуліну. В той же час резистентність до інсуліну також пов'язана з дефектами інсулін-індукованої стимуляції синтезу глікогену, так наприклад у пацієнтів із ЦД II типу спостерігається нижчий вміст глікогену в печінці натще та після їжі [75]. Також печінкова інсулінорезистентність знижує рівень метаболізму печінкового глікогену, індукованого голодуванням і споживанням їжі [76].

Варто зазначити і те, що далеко не всі шляхи інсулінової сигналізації залежать від власне інсуліну. Так наприклад ряд шляхів інсулінової сигналізації досить чутливі до фізіологічних рівнів інсуліну на тлі інсулінорезистентності. Дане явище отримало назву «селективної інсулінорезистентності» або «вибіркової чутливості до інсуліну». В такому випадку інсулін не пригнічує печінковий синтез глікогену, а лише стимулює ліпогенез, що призводить до гіперглікемії та гіперліпідемії, і, як наслідок, до стеатозу печінки [77-79]. Можливий механізм селективної резистентності до інсуліну в печінці включає неоднакову чутливість SREBP-1c до інсуліну та, як

наслідок, пригнічення гліюконеогенезу, що свідчить про те, що реакції інсулін-залежних тканин потребують певних рівнів інсуліну. Нещодавні дослідження показали, що регульований інсуліном печінковий ліпогенез, (а не гліюконеогенез), опосередковується стабілізацією плекстринового домену *збагаченої лейциновими повторами протеїн фосфатази-2* (PHLPP-2) – мішені інсулін-індукованої Akt. При застосуванні високожирової дієти спостерігалось зниження стабільності PHLPP-2, що у свою чергу сприяло тривалій активації Akt після впливу збільшеного рівня інсуліну. Оскільки активація Akt на ранніх стадіях інсулінової сигналізації пригнічує печінковий синтез гліюкогену, а на пізніх посилює ліпогенез *de novo*, спостерігається саме ця картина – печінковий синтез гліюкогену не порушується на тлі інтенсифікації ліпогенезу [80-81].

Таким чином, механізми розвитку інсулінорезистентності в організмі включають перебудову обміну речовин в печінці, м'язовій та жировій тканинах, і супроводжуються гіперліпідемією та порушенням утилізації гліюкози. На тлі інсулінорезистентності в інсулін-залежних тканинах змінюється не лише обмін вуглеводів, але стимулюється ліпогенез (зокрема в печінці), що може бути спровоковано гіперінсулінемією і дефектами інсулінової сигналізації через Akt-сигнальний шлях.

1.2.2. Зміни зовнішнього дихання при інсулінорезистентності

Зміни дихальної функції організму при інсулінорезистентності нерозривно пов'язані зі змінами обміну речовин та його регуляції. Так, наприклад, рівень адипонектину, що експресується епітеліоцитами дихальних шляхів, знижується при ожирінні та інсулінорезистентності [82]. Проте, існують суперечливі дані щодо впливу рівнів адипонектину на функцію легень [83]. Відомо також, що ожиріння викликає зниження рівня гормону росту, внаслідок негативного зворотного зв'язку через IGF-I [82, 84], що може викликати порушення респіраторної функції легень.

При метаболічному синдромі, який супроводжується інсулінорезистентністю, жирова тканина не здатна ефективно регулювати накопичення жиру, внаслідок чого тригліцериди (ТГ) і вільні жирні кислоти (ВЖК) залишаються циркулювати у кров'яному руслі [83]. Як наслідок, може розвинутися ліпотоксичний стан [84], оскільки ці ВЖК можуть активувати вроджену імунну відповідь за допомогою безлічі запальних механізмів, таких як патерн-розпізнавальні рецептори (PRR), внутрішньоклітинні сигнальні шляхи та стрес ендоплазматичного ретикулуму [81, 83], а отже може розвиватися ураження легень.

Сукупність ознак метаболічного синдрому, таких як ожиріння, системна гіпертензія, цукровий діабет та гіперліпідемія, є факторами ризику для всіх форм легеневих захворювань і дисфункції правого шлуночка [86], з якого починається легеневе коло кровообігу. Цей зв'язок було показано на моделі мишей із нокаутом Аро Е, які перебували на високожировій дієті, внаслідок чого розвинулась пульмональна гіпертензія [87].

Порушення респіраторної функції легень корелює зі зниженням життєвої ємності легень або об'єму форсованого вдиху при ожирінні, інсулінорезистентності, метаболічному синдромі та цукровому діабеті II типу [88]. Ключовим фактором у зниженні легеневої вентиляції та обструктивному захворюванні легень при цукровому діабеті II типу є резистентність до інсуліну [89-90]. Зниження об'єму форсованого видиху і співвідношення ЖЄЛ /об'єм форсованого видиху пов'язані із розвитком інсулінорезистентності, і цей зв'язок посилюється з віком [91].

Дихальний коефіцієнт (RQ) має знижуватися в нічні години при відсутності споживання їжі (нижчий RQ натще), проте за умов інсулінорезистентності та цукрового діабету II типу спостерігається підвищення RQ натще [92]. При цьому не виявлено залежності між RQ натще та інсулін-стимульованим споживанням глюкози у здорових суб'єктів. Окрім впливу енергетичного балансу та складу дієти, на RQ також впливають концентрації макронутрієнтів у плазмі крові (наприклад, глюкози, ВЖК).

Таким чином, у результаті гіперглікемії глюкозозалежне поглинання глюкози м'язами може посилюватись, що призводить до вищого RQ [92].

Збільшення RQ впродовж доби (ΔRQ) відображає кількість глюкози, яка надходить у клітини та доступна для енергетичного метаболізму. Вживання їжі із високим вмістом жирів спричиняє підвищення RQ внаслідок вищої щільності енергії у таких продуктів. При цьому перевантаження ліпідами представляє проблему для метаболізму на тлі інсулінорезистентності [93-94]. Цікаво також те, що у контрольних осіб із експериментальною високожировою дієтою впродовж 3 діб спостерігалось зниження RQ протягом доби, проте це зниження було порівняно меншим ніж в осіб, у яких не було батьків із цукровим діабетом II типу і резистентністю до інсуліну [94]. Отже, інсулінорезистентність пов'язана зі змінами RQ та RQ впродовж доби, зокрема при вживанні високоенергетичних субстратів, таких як жири. Також збільшення RQ корелює із попередньою наявністю ожиріння, проте зв'язок між змінами маси тіла і змінами RQ є суперечливим [95].

При цьому варто зазначити, що питання взаємозв'язку між дефектами мітохондрій та метаболічної негнучкості й резистентності до інсуліну на сьогодні є відкритим і потребує подальших досліджень [92].

Отже, розвиток інсулінорезистентності пригнічує респіраторну функцію внаслідок прямого чи опосередкованого ураження легень та серцево-судинної системи, а також порушення регуляції обміну ліпідів та глюкози.

1.2.3. Зміни енергетичного метаболізму при інсулінорезистентності

Як уже було зазначено вище, печінкова резистентність до інсуліну виникає на тлі підвищеного вмісту внутрішньоклітинних ліпідів, причому порушення окиснювального метаболізму відіграють ймовірну, але погано зрозумілу роль [96].

Імовірним механізмом ушкодження печінки, на думку одних авторів, є протеїн-кіназа-C – залежне (PKC) фосфорилування інсулінового рецептора

через її активацію продуктами катаболізму ліпідів – діацилгліцеролом, ацетил-КоА та церамідами [97-99]. На думку інших авторів, печінкова інсулінорезистентність пов'язана із неалкогольним жировим переродженням печінки (NAFL), а ушкодження шляхів інсулінової сигналізації у гепатоциті – із активними формами кисню, які накопичуються в клітині внаслідок активного катаболізму ліпідів [100-101].

На тлі інсулінорезистентності рівень окиснювального метаболізму в печінці є достатнім для активації процесів запалення, які, у свою чергу, ще більше порушують сигнальні шляхи інсуліну [102-104]. Вживання дієти, збагаченої поліненасиченими жирними кислотами (пальмітату), може спровокувати інсулінорезистентність печінки через посилення окиснювальних процесів у гепатоцитах [105], провокуючи подальший розвиток метаболічного синдрому [97].

Попри різні уявлення щодо механізмів розвитку печінкової резистентності до інсуліну, наслідками такої інсулінорезистентності є ультраструктурне ушкодження мітохондрій печінки та ферментів дихального ланцюга [106]. Це відбувається внаслідок пошкодження активними формами кисню через транскрипційний фактор FOXO1, який, у свою чергу, активує ферментативне ураження дихальних комплексів мітохондрій [107-108]. Порушення впливу інсуліну передбачає підвищений окислювальний метаболізм (наприклад, через PGC-1 α) [109], а роз'єднання дихання із фосфорилуванням теоретично має посилити окиснювальний метаболізм. Декілька досліджень мітохондрій печінки мишей, які перебували на високожировій дієті (ВЖД) підтверджують посилення дихання [110], що може збільшити споживання кисню та викликати розвиток тканинної гіпоксії печінки [111]. Однак інші дослідження вказують на те, що респіраторна дисфункція пов'язана з дезактивацією сиртуїнів і PGC-1 α , які, у свою чергу, пригнічують окислення жиру в печінці та викликають її стеатоз [106-107, 111-113].

В експериментальних дослідженнях на мишах із 16-32 тижневою ВЖД спостерігається активація циклу окиснювального метаболізму в інсулінорезистентній печінці [96]. Обмін кетонів натще посилюється при помірній інсулінорезистентності, в той час як при тривалій інсулінорезистентності порушується [96, 114]. Запит на кисень відповідно до посилення кетогенезу в печінці при інсулінорезистентності, індукованій високожировою дієтою, зростає. Також на тлі інсулінорезистентності збільшується активність супероксиддисмутази та концентрація ТБК-реактивних продуктів, що свідчить про гіперпродукцію АФК та активацію системи антиоксидантного захисту в печінці [96].

Таким чином, в результаті розвитку інсулінорезистентності печінка, перевантажена ліпідами, посилює процеси кетогенезу, які, у свою чергу, призводять до про- та антиоксидантних процесів в її клітинах та запалення. Пошкодження гепатоцитів активними формами кисню сприяє пригніченню дихальної функції мітохондрій, але може посилювати споживання кисню і метаболізм в цілому. На жаль, більшість висновків про вплив гіпоксії на розвиток інсулінорезистентності базується на вивченні дихання ізольованих мітохондрій або вивченні окиснення жирів, залишаючи незрозумілою фізіологічну функцію печінкового окислювального метаболізму в стані резистентності до інсуліну.

1.3. Дихання та енергетичний метаболізм при гіпоксії та інсулінорезистентності

За умов резистентності до інсуліну та метаболічного синдрому при гіпоксичних впливах також відбуваються зміни легеневої вентиляції. Є дані про зниження V_T , V_E та f у щурів, які знаходились на 12-тижневій високожировій дієті при впливі гіпоксичної гіпоксії (дихання сумішшю із 7% O_2). При цьому гіперкапінія стимулює дихання у щурів, які перебували на високожировій дієті – дихальний об'єм та хвилинний об'єм дихання не

відрізняються від такого у щурів на нормальній дієті, в той час як частота дихання стає вірогідно вищою. Також відбувається скорочення фази видиху, що, ймовірно, залежить від збільшення моторної активності м'язів черевної порожнини, тобто видих стає активним [115].

Інсулін і сам по собі, задіяний в активацію хеморецепторів (каротидних тілець), оскільки не лише має там свої рецептори, але і викликає збільшення вивільнення каротидними тільцями дофаміну та АТФ. Це відбувається зокрема за рахунок змін рівня внутрішньоклітинного кальцію. Було показано, що внутрішньовенне введення інсуліну у щурів посилює вентиляцію через безпосередню активацію каротидних тілець, при цьому каротидні тільця не реагують на зміни рівня глюкози у крові. Центральна нервова система також не задіяна у впливи інсуліну на легеневу вентиляцію [116-117].

Гіпервентиляція, індукована гіпоксією, є більш вираженою при моделюванні інсулінорезистентності високожировою дієтою, ніж при моделюванні інсулінорезистентності дієтою із високим вмістом глюкози [116]. Це може пояснюватись залученням лептинової сигналізації у регуляцію каротидних тілець, і збільшенням прозапальних цитокінів IL-1 β , TNF α і IL-6 на тлі гіперліпідемії та впливу періодичної гіпоксії [118-119]. При цьому денервація каротидних тілець знижує чутливість до інсуліну у здорових тварин, що свідчить про роль каротидних тілець у контролі метаболізму також і за фізіологічних умов [120]. Ключовим фактором підвищення рівня лептину є саме інсулінорезистентність, а не ожиріння.

Посилення хемосенсорної імпульсації каротидних тілець помічено як у щурів при моделюванні інсулінорезистентності та ожиріння, так і з модельованою інсулінорезистентністю без наявності ожиріння. Модель інсулінорезистентності із наявним ожирінням спричиняла більш виражені зміни вентиляції та збільшення маси каротидних тілець в порівнянні із тваринами без ожиріння [115, 121].

Переривчаста гіпоксія має коригуючий вплив при інсулінорезистентності за умов розвитку метаболічного синдрому та цукрового діабету II типу. Так,

було показано [10], що активність печінкової глікокінази, ключового ферменту утилізації глюкози, у щурів із індукованим цукровим діабетом зростала, тоді як активність фосфоенолпіруваткарбоккінази, ключового ферменту глікоконезу, пригнічувалась. Це відбувалось із залученням переважно транскрипційного фактора HIF-1 α , який є ключовим у відповіді на гіпоксію при інсулінорезистентності.

Показано також, що у щурів, дефіцитних на пролілгідроксилазу, залучену у відповідь на гіпоксію, спостерігається розвиток ожиріння та жирового переродження печінки [122]. Є дані, які свідчать, що порушення відповіді на гіпоксію є причиною метаболічних розладів, зокрема розвитку резистентності до інсуліну та ожиріння [4]. За даними інших авторів, тривалий вплив гіпоксії на організм, навпаки, провокує ожиріння, і цей процес нівелюється через інгібування пролілгідроксилази [123]. Але беззаперечним лишається той факт, що інсулін залучений у регуляцію не лише енергетичного метаболізму, але і зовнішнього дихання, а розвиток інсулінорезистентності пов'язаний не лише із ожирінням, а із ураженням печінки і легень.

1.3.1. Роль кальцієвої сигналізації у відповідь на гіпоксію при інсулінорезистентності

Повільні кальцієві канали, імовірно, безпосередньо не залучені у регуляцію вентиляції через периферичні хеморецептори [124]. Існують також суперечливі дані про роль кальцієвих каналів L-типу в адаптації до гіперкапнії та алкалозу нейронів блакитної плями, залученою у центральну регуляцію дихання. Зокрема, застосування паксиліну спричиняло посилення альвеолярної вентиляції (V_E) при гіперкапнії, але у нормакапнічних умовах не впливало на дихання. Це відбувалось внаслідок зростання як частоти дихання, так і дихального об'єму на тлі зниження середнього артеріального тиску [125].

Відомо також [13], що повільні кальцієві канали (Ca^{2+} -канали L-типу), які залучені у механізми кальцій-індукованого кальцієвого транспорту, сприяють

розвитку аутофагії у печінці на тлі неалкогольного жирового переродження печінки та інсулінорезистентності. Це відбувається також внаслідок збільшення вмісту ВЖК у крові, які посилюють входження кальцію до гепатоцитів із подальшою активацією кальцієвих транспортерів SERCA та виходу кальцію із ендоплазматичного ретикулуму [126]. Це, у свою чергу, викликає злиття аутофагосом із лізосомами [14], що підтверджується пригніченням аутофагії через використання блокаторів повільних кальцієвих каналів, зокрема верапамілу та амлодіпіну [13-14]. Також відомо, що застосування блокаторів повільних кальцієвих каналів при інсулінорезистентності чинить протективний вплив на організм і на печінку опосередковано, внаслідок блокування генерації активних форм кисню через РІЗК-залежний шлях [127-128].

Зважаючи на вищезазначене, можна стверджувати, що кальцій, залучений у всі сигнальні процеси всередині клітини, відіграє важливу роль у відповіді на гіпоксію при інсулінорезистентності.

За даними літературних джерел молекулярні механізми розвитку інсулінорезистентності у окремих органах і в культурах клітин активно досліджуються. Проте взаємозв'язок механізмів розвитку резистентності до інсуліну між різними органами і системами досліджений не достатньо. Випускається із уваги аспект перебудови зовнішнього дихання при резистентності до інсуліну не залежно від наявності цукрового діабету II типу або метаболічного синдрому. Вплив гіпоксії на організм охарактеризовано одними авторами як ушкоджувальний, а іншими як коригуючий. Є численні дані про деструктивні зміни у мітохондріях та порушення їх окиснювальної функції, проте особливості перебудови енергетичного метаболізму висвітлені не достатньо. Мало з'ясованою є роль кальцієвих механізмів у перебудові зовнішнього дихання та енергетичного метаболізму печінки. Саме тому визначення особливостей перебудови зовнішнього дихання і енергетичного метаболізму при гіпоксії та інсулінорезистентності є актуальним завданням для наших досліджень.

II. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проводили на 50 щурах самцях лінії Wistar віком 6-7 місяців і середньою масою 330 г. Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до міжнародних принципів Європейської конвенції (Страсбург, 1986) та положення Комітету з біоетики Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАНУ. Тварини утримувались із вільним доступом питної води не більше 5 особин у клітці.

Реєстрація показників зовнішнього дихання і метаболічних показників проводилась одночасно в дослідних і контрольних групах впродовж усього дослідження. Виведення тварин з експерименту проводилось шляхом наркотизації уретаном (1,5 г/кг), після чого проводили вилучення фрагментів тканин із грудної і черевної порожнини.

2.1. Групи тварин

Тварин було розподілено на такі групи:

- 1) «контроль» - інтактні тварини (n=8);
- 2) «ВЖД» - тварини, які перебували на високожировій дієті впродовж 14 діб (n=6);
- 3) «БКК» – тварини, яким вводили блокатор повільних кальцієвих каналів верапаміл за 3 години перед вилученням зразків тканин (n=6);
- 4) «ГГ» (гостра гіпоксія) – тварини, яких «піднімали» у барокамері на «висоту» 5600 м над рівнем моря впродовж 3 годин (n=6);
- 5) «ВЖД+БКК» – тварини, що перебували на високожировій дієті впродовж 14 діб і яким вводили верапаміл за 3 години перед вилученням зразків тканин (n=6);
- 6) «ВЖД+ГГ» – тварини, які перебували на високожировій дієті впродовж 14 діб, після чого їх «піднімали» у барокамері на «висоту» 5600 м над рівнем моря впродовж 3 годин (n=6);

- 7) «ГГ+БКК» – тварини, яким вводили верапаміл, після чого «піднімали» у барокамері на «висоту» 5600 м над рівнем моря впродовж 3 годин (n=6);
- 8) «ВЖД+БКК+ГГ» – тварини, які перебували на високожировій дієті впродовж 14 діб, після чого їм вводили блокатор повільних кальцієвих каналів верапаміл і «піднімали» у барокамері на «висоту» 5600 м над рівнем моря впродовж 3 годин (n=6).

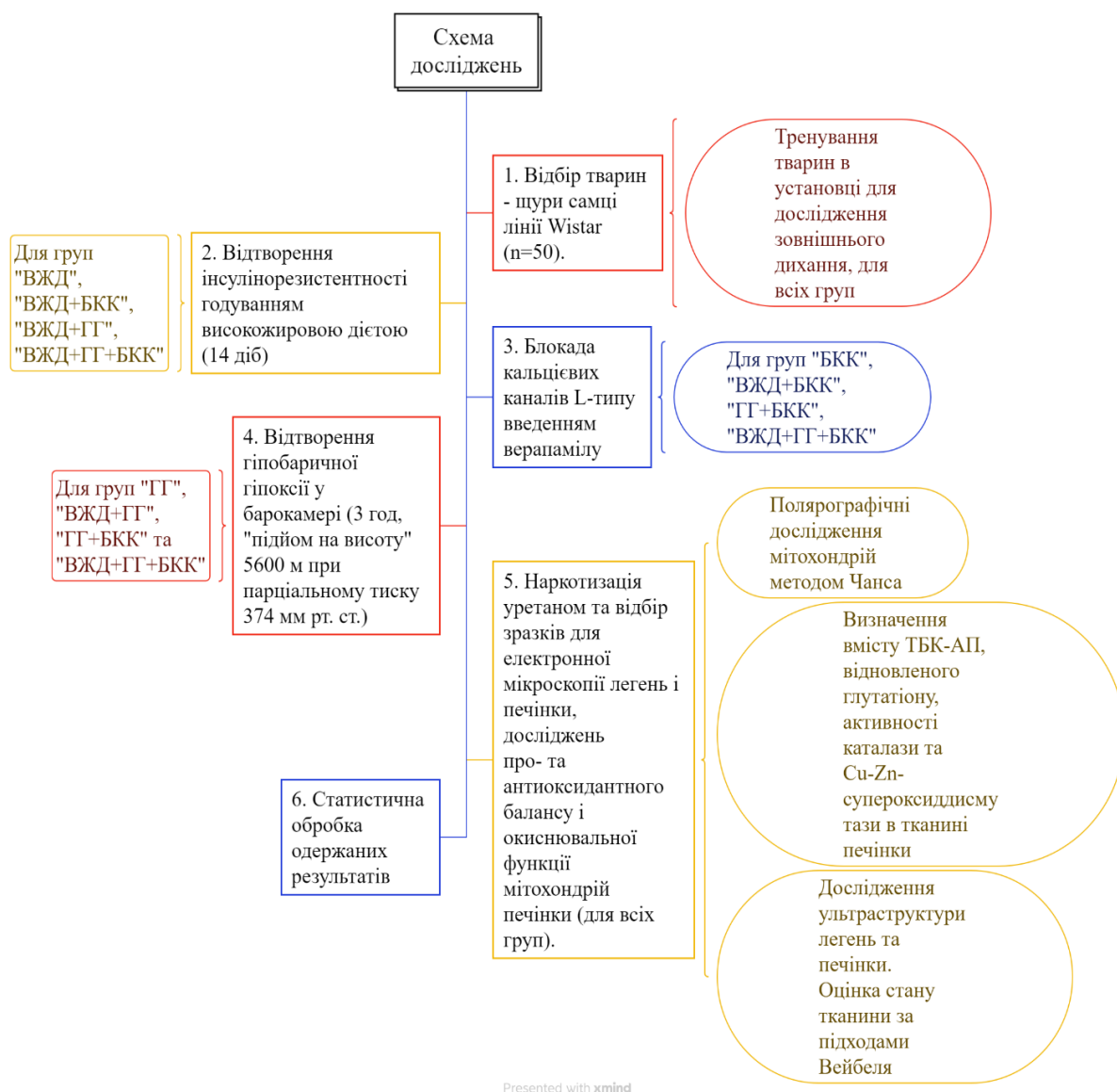


Рис. 2.1.1. Узагальнена схема досліджень.

2.2. Модель інсулінорезистентності

Інсулінорезистентність моделювали утриманням тварин на високожировій дієті із вмістом тваринного жиру 58% від загальної калорійності протягом 14 діб експерименту. Доступ тварин до води був вільним. Годування щурів стандартним кормом із домішкою нутрощевого жиру свині відбувалось щодня у один і той самий час доби (10:00). Кожного ранку впродовж годування відбувалось попереднє зважування корму із попередньої доби, і його залишок не перевищував 15% від отриманої за добу дози, в кожній дослідній клітці.

У наших дослідженнях було продемонстровано [129-130], що застосування такої дієти є достатнім для розвитку інсулінорезистентності, що підтверджується інсулінотолерантним тестом.

2.3. Глюкозотерія та інсулінотолерантний тест

Рівень глюкози в тварин визначали у периферичній крові за допомогою глюкометра OneTouch Select (США). Рівень резистентності до інсуліну оцінювали з використанням прямого модифікованого тесту на толерантність до інсуліну: після 2-годинної депривації від їжі щурам вводили інтраперитонеально інсулін (Sigma, США) у дозі 0,1 МЕ/кг та вимірювали рівень глюкози через 15, 30 та 60 хв [130].

2.4. Блокада повільних кальцієвих каналів

З метою блокади кальцієвих каналів L-типу використовували верапаміл, який вводили інтраперитонеально в дозі 1 мг/кг маси тіла тварини за 3 години до вилучення зразків тканин печінки та легень [131]. Контрольним тваринам вводили фізіологічний розчин за 3 години до вилучення зразків у тому ж об'ємі.

2.5. Відтворення гіпобаричної гіпоксії

Вплив гострої гіпобаричної гіпоксії здійснювали шляхом «підйому» у барокамері на «висоту» 5600 м (що відповідає 10, 3% кисню в атмосферному повітрі при парціальному тиску 374 мм рт. ст.) впродовж 3 годин (Табл. 2.1).

Зниження тиску у барокамері здійснювали ступінчато [132]: із середньою «швидкістю» 500 м / хв. Підвищення тиску у барокамері під час «спуску» дослідних тварин на рівнину здійснювали із такою самою швидкістю. Таким чином, тварини перебували в умовах атмосферного тиску повітря 374 мм рт. ст. впродовж 2 год 48 хв, 6 хв тривав «підйом» на «висоту», і 6 хв «спуск» на рівнину – підвищення атмосферного тиску в барокамері до 760 мм рт.ст.

Таблиця 2.1.

Атмосферний тиск та вміст кисню залежно від висоти над рівнем моря [133].

Атмосферний тиск повітря, мм рт. ст.	Висота над рівнем моря, м	Вміст O ₂ , %
760	0	20,96
675	900	18,65
515	3000	14,25
374	5600	10,30
308	7000	8,75
230	9000	6,50

2.6. Реєстрація об'ємно-часових показників зовнішнього дихання

Дані показники реєстрували у ненаркотизованих щурів за допомогою комп'ютерної установки із зовнішнім контуром реєстрації патерну дихання і газообміну для дрібних тварин із датчиком тиску MPX5050 та маспектрографом MX-6202 (Україна). Сигнал від пневмотахографа та маспектрометра подавався через аналогово-цифровий перетворювач на

комп'ютер, де оброблявся програмою «Oscillograph 2.0». Вимірювання показників зовнішнього дихання для всіх груп тварин здійснювали в однакових умовах в один і той же час доби [134].

За допомогою пневмотахографії реєстрували такі об'ємні та часові показники як частота дихання (f), дихальний об'єм вдиху та видиху, а також загальний дихальний об'єм (V_T), хвилиний об'єм дихання (V_A), час вдиху (T_I) та видиху (T_E).

Розраховували співвідношення тривалості вдиху до загального дихального циклу (T_I/T_T), співвідношення тривалості вдиху до видиху (T_I/T_E) та тривалості видиху до загальної тривалості дихального циклу (T_E/T_{tot}). Оцінювали також середню (\bar{V}_I) і пікову ($\dot{V}_{I\text{ pic}}$) швидкість вдиху та середню і пікову швидкість видиху – \bar{V}_E , $\dot{V}_{E\text{ pic}}$.

Методом маспектрографії визначали парціальний тиск кисню (P_{AO_2}) і вуглекислого газу (P_{ACO_2}) в альвеолах. Визначали показники ефективності дихання: вентиляційний еквівалент (VEq) – кількість повітря, вдихнутого для транспорту в альвеоли 1 л кисню, а також показник V_{O_2RC} – кількість кисню, спожитого за 1 дихальний цикл. Альвеолярну вентиляцію (V_E) розраховували по кисню за рівнянням Бора. Також визначали співвідношення альвеолярної вентиляції до хвилиного об'єму дихання (V_A/V_E)

Базові показники дихальних об'ємів та легеневої вентиляції перераховували у відношенні до кг маси тіла. Показники об'ємів приводилися до системи BTPS (температура тіла, тиск насиченого парами повітря), а показники газообміну – до системи STPD (стандартна температура та тиск сухого повітря).

2.7. Дослідження окиснювальної функції мітохондрій

З метою дослідження окиснювальної функції мітохондрій печінки та міокарду готували гомогенат. Вилучені у наркотизованих уретаном (1,5 г/кг) щурів фрагменти печінки негайно розміщували на льоду і гомогенізували за

допомогою механічного гомогенізатора із додаванням 0,9% холодного розчину KCl (4°C). Середовище виділення мітохондрій містило (ммоль/л): KCl – 120, HEPES – 10, K₂CO₃ – 2, EGTA-1 (pH 7,2), а середовище інкубації – KCl – 120, HEPES – 10, K₂CO₃ – 2, KH₂PO₄ – 2 (pH 7,2). Процеси дихання та окисного фосфорилування у мітохондріях досліджували полярографічним методом за Chance і Williams [22, 135-137].

Для полярографічних досліджень використовували прилад «Oxugraph+» (Hansatech Instruments, США, 2010) із срібно-платиновим електродом Кларка та сертифікованим програмним забезпеченням від виробника. Для калібрування приладу використовували поглинач кисню Na₂SO₃ у концентрації 2 г на 1 мл перфузату у полярографічній комірці. Реєстрували напруження кисню у камері (максимальна його концентрація) і мінімальне значення напруження кисню приймали за «0» приладу. У полярографічну комірку поміщали 1 мл гомогенату і додавали 1 мл середовища інкубації та відповідну дозу субстрату окиснення, після чого реєстрували зміни напруження кисню з часом [нмоль O₂*мг⁻¹*хв⁻¹].

В якості субстратів окиснення використовували (ммоль/л):

1) сукцинат (Ск) – 0,35; 2) глутамат – 3 та малат – 2,5 (Г+М); 3) піруват – 3 та малат – 2,5 (П+М); 4) пальмітоїл- DL-карнітин – 25 та малат – 2,5 (Пм+М). Дихання стимулювали введенням 200 мкмоль/л АДФ. Визначали швидкість дихання мітохондрій при окисненні субстратів у стані спокою (V₂), швидкість фосфорилувального/АДФ-стимульованого (V₃) та контрольованого (V₄) дихання, дихальний контроль за Чансом і Вільямсом (V₃/V₄) [22, 135].

2.8. Дослідження про- та антиоксидантного гомеостазу в тканинах печінки

У гомогенатах печінки щурів вивчали вміст вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), які реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реактивні продукти), вміст відновленого глутатіону (GSH),

активності каталази та Cu, Zn-супероксиддисмутази (СОД) загальноприйнятими методами [138-141].

2.9. Морфологічні дослідження

Фіксацію, заливку та контрастування матеріалу для електронномікроскопічного вивчення тканини легень проводили у відповідності до загальноприйнятих методичних підходів [142].

Зразки тканини піддавали префіксації глутаральдегідом протягом 3 годин при зниженій температурі з подальшою промивкою у фосфатному буфері двічі по 5 хв, далі фіксували 2 години при зниженій температурі у розчині Колфілда (на основі 2% розчину чотириокису осмію, рН-7,4) протягом 2 годин (реактиви фірми Sigma, США). В подальшому промивали у фосфатному буфері двічі по 5 хвилин та зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації (50% - 10 хв, 60% - 10 хв, 70% - 10 хв, 85% - 10 хв, 96% - 20 хв, 100% (абсолютний спирт) - 30 хв). Далі витримували в абсолютному ацетоні два рази по 30 хв.

Після цього здійснювали просочення у суміші епоксидних смол (Epon-Araldit) з ацетоном (1:1), яку залишали для відстоювання на ніч (Fluka, Швейцарія).

На наступний день проводили просочення у суміші смол з ущільнювачем на відкритому повітрі протягом 24 годин. Далі препарати поміщали у капсули і полімеризували у термостаті. [143].

Ультратонкі зрізи товщиною 40-60 нм для перегляду в електронному мікроскопі контрастували 1% розчином уранілацетату і 0,4% розчином цитрату свинцю (Sigma, США) за методикою Рейнольдса [143].

Перегляд препаратів здійснювали за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К (Україна). Дослідження ультраструктури тканини проводили за допомогою програми для морфометричних підрахунків Image Tool Version 3 (США) на 130-150 полях для кожного досліджуваного впливу, базуючись на підходах Вейбеля [144].

2.10. Статистична обробка результатів

Для статистичної обробки отриманих даних використовували загальноприйнятні методи варіаційної статистики з використанням програми GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, Inc., USA). Дані перевіряли на нормальність за допомогою тестів Шапіро-Уїлка та Колмогорова-Смірнова залежно від величини вибірки. Динамічні параметри оцінювали за допомогою two-way або three-way analysis of variance (ANOVA) для нормально розподілених даних і post hoc з поправкою Tukey. Рівень статистичної значущості приймали за $p \leq 0.05$. Результати представляли у вигляді $M \pm m$ або $M \pm SD$.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Зміни зовнішнього дихання при гіпоксії та інсулінорезистентності

З метою нівелювання впливу циркадних ритмів, змін атмосферного тиску та температури повітря впродовж експерименту при аналізі одержаних даних ми нормалізували одержані показники зовнішнього дихання до показників референтної групи (контроль), які приймали за 100%. Дані по групах будуть представлені у вигляді % від контролю.

У щурів із інсулінорезистентністю (ВЖД) спостерігались наступні ізовентиляторні зміни [42] патерну дихання і газообміну. Частота дихання (f) мала тенденцію до зростання на 10% в порівнянні з контролем, а дихальний об'єм (V_T) – тенденцію до зниження на 20,5%. В результаті хвилиний об'єм дихання (\dot{V}_E) також мав тенденцію до зниження на 11,5% (Рис. 3.1.1). Альвеолярна вентиляція (\dot{V}_A) також мала тенденцію до зниження (12%,) тому співвідношення \dot{V}_A/\dot{V}_E змін не зазнавало змін. Споживання кисню (\dot{V}_{O_2}) не змінювалось, тоді як виділення вуглекислого газу (\dot{V}_{CO_2}) мало тенденцію до зниження на 15%. Як наслідок, дихальний коефіцієнт знижувався не вірогідно на 12% (Рис. 3.1.2).

Парціальний тиск кисню (P_{AO_2}) в альвеолах не відрізнявся від контрольних значень, тоді як парціальний тиск вуглекислого газу в альвеолах (P_{ACO_2}) мав тенденцію до зниження (6,5%). Вентиляційний еквівалент (VEq) змін не зазнав, а кисневий ефект дихального циклу (\dot{V}_{O_2RC}) невірогідно знижувався на 15% в порівнянні з контролем (Рис. 3.1.3). Екстракція кисню в альвеолах мала тенденцію до зростання (10%), при цьому доставка кисню в альвеоли не зазнавала змін.

Співвідношення тривалості вдиху до тривалості видиху (T_I/T_E) не відрізнялось від контрольних значень, так само як співвідношення тривалості видиху до загальної тривалості дихального циклу (T_E/T_{tot}). При цьому

потужність вдиху (dV_I/dt) мала тенденцію до зниження (12%), в той час як потужність видиху змін не зазнавала (dV_E/dt). Пікова швидкість вдиху ($\dot{V}_{I\text{pic}}$) не відрізнялась від контрольних значень, тоді як середня швидкість вдиху (\bar{V}_I) мала тенденцію до зниження (12%). Пікова швидкість видиху ($\dot{V}_{E\text{pic}}$) та середня швидкість видиху (\bar{V}_E) також мали тенденцію до зниження – на 10% і 13%, відповідно. За умов інсулінорезистентності імовірно зростає еластичний опір легень, тому регуляція дихання відбувається за рахунок змін частоти дихальних рухів і зниження глибини дихання.

Вплив гострої гіпобаричної гіпоксії (ГГ) призводив до наступних змін патерну дихання і газообміну. Частота дихання не зазнавала змін, тоді як дихальний обмін вірогідно знижувався на 49% ($P<0.05$). Як наслідок \dot{V}_E вірогідно знижувався ($P<0.05$) відносно контролю на 47% (Рис. 3.1.1). Об'єм спожитого кисню вірогідно знижувався на 45% ($P<0.05$), а об'єм виділеного вуглекислого газу мав лише тенденцію до зниження (14%). У зв'язку із цим RQ мав тенденцію до зростання на 28% відносно контролю (Рис. 3.1.2). Альвеолярна вентиляція вірогідно знижувалась на 51% в порівнянні з контролем ($P<0.05$). Як наслідок відношення альвеолярної вентиляції до хвилинного об'єму дихання мало тенденцію до зниження на 8%, а вентиляційний еквівалент – тенденцію до зниження на 15% відносно контролю.

Парціальний тиск кисню в альвеолах мав тенденцію до зниження (10%), тоді як парціальний тиск вуглекислого газу вірогідно зростав на 47% в порівнянні з контролем ($P<0.05$). Кисневий ефект дихального циклу (\dot{V}_{O_2RC}) невірогідно знижувався на 37% (Рис. 3.1.3). Доставка кисню в альвеоли вірогідно знижувалась в порівнянні з контролем на 50% ($P<0.05$), в той час як екстракція кисню з альвеол мала тенденцію до зростання на 35%. Співвідношення T_I/T_E та T_I/T_{tot} змін не зазнали.

Також мали тенденцію до зниження потужності вдиху та видиху в порівнянні з контролем (на 29% та 39%, відповідно). Спостерігались

тенденцію до зниження пікової (37%) та середньої швидкості вдиху (43%), пікова та середня швидкості видиху також невірогідно знижувались (на 47% і 46%, відповідно).

Таким чином, за умов гострої гіпобаричної гіпоксії спостерігаються ізовентиляторні зміни зовнішнього дихання: зниження споживання кисню на тлі зменшення дихального об'єму і зниження швидкості видиху та вдиху. Хоча загальна тривалість дихального циклу суттєво не змінюється, спостерігається зниження легеневої та альвеолярної вентиляції – дихання стає більш поверхневим.

Вплив гострої гіпобаричної гіпоксії на щурів із інсулінорезистентністю (ВЖД+ГГ) викликав наступну перебудову зовнішнього дихання. Вірогідно зростали ($P < 0.05$) частота дихання (47%) і дихальний об'єм (99%). Хвилиний об'єм дихання вірогідно зростав на 163% в порівнянні з контролем і на 173 та 198% в порівнянні з групами ВЖД та ГГ відповідно ($P < 0.05$) (Рис. 3.1.1).

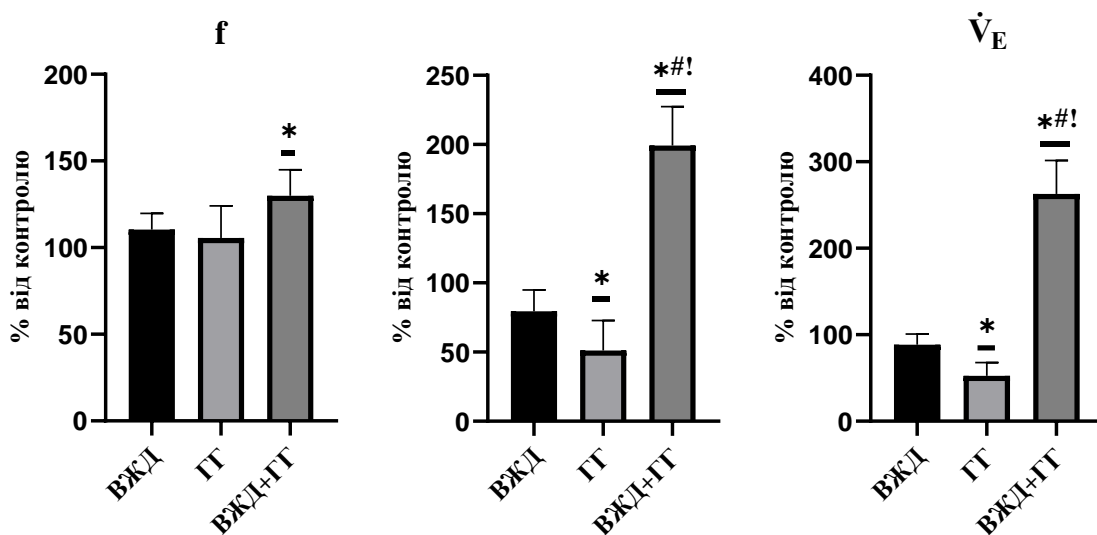


Рис. 3.1.1. Зміни частоти дихання (f), дихального об'єму (VT) та хвилиного об'єму дихання (\dot{V}_E) при гострій гіпобаричній гіпоксії (ГГ) та інсулінорезистентності (ВЖД). $M \pm SD$. $n=18$. **Примітка:** ($P < 0,05$) * – відносно контролю; # – відносно групи ВЖД; ! – відносно групи ГГ.

Споживання кисню вірогідно зростало на 166% в порівнянні з контролем, та на 168 і 201% відносно груп ВЖД і ГГ ($P < 0.05$). Також вірогідно зростало виділення CO_2 на 54% відносно контролю, і на 69 та 68% відносно груп ВЖД та ГГ ($P < 0.05$). Як наслідок, дихальний коефіцієнт вірогідно знижувався на 41% відносно контролю і на 68% відносно групи ГГ ($P < 0.05$) (Рис. 3.1.2.)

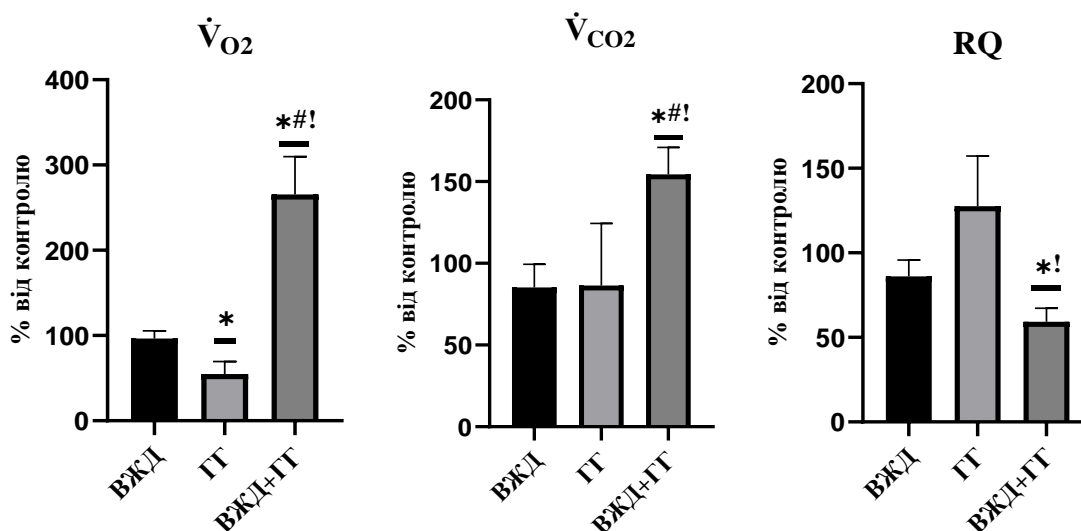


Рис. 3.1.2. Зміни об'єму спожитого кисню (\dot{V}_{O_2}), виділеного вуглекислого газу (\dot{V}_{CO_2}) та дихального коефіцієнту (RQ) при гострій гіпобаричній гіпоксії (ГГ) та інсулінорезистентності (ВЖД). $M \pm SD$. $n=18$.

Примітка: ($P < 0,05$) * – відносно контролю; ! – відносно групи ГГ.

Спостерігалось вірогідне збільшення ($P < 0.05$) альвеолярної вентиляції в порівнянні з контролем (149%) та відносно груп ВЖД (160%) і ГГ (199%). При цьому співвідношення альвеолярної вентиляції до хвилинного об'єму дихання (\dot{V}_A/\dot{V}_E) не зазнавало змін. Парціальний тиск кисню в альвеолах не відрізнявся від контрольних значень, тоді як парціальний тиск вуглекислого газу в альвеолах вірогідно знижувався на 41% в порівнянні з контролем, і на 88% відносно групи ГГ ($P < 0.05$). Вентиляційний еквівалент не відрізнявся від контролю. Кисневий ефект дихального циклу ($\dot{V}_{\text{O}_2\text{RC}}$) вірогідно зростав, як в порівнянні з контролем (96%), так і відносно груп ВЖД (111%) та ГГ (133%) ($P < 0.05$) (Рис. 3.1.3).

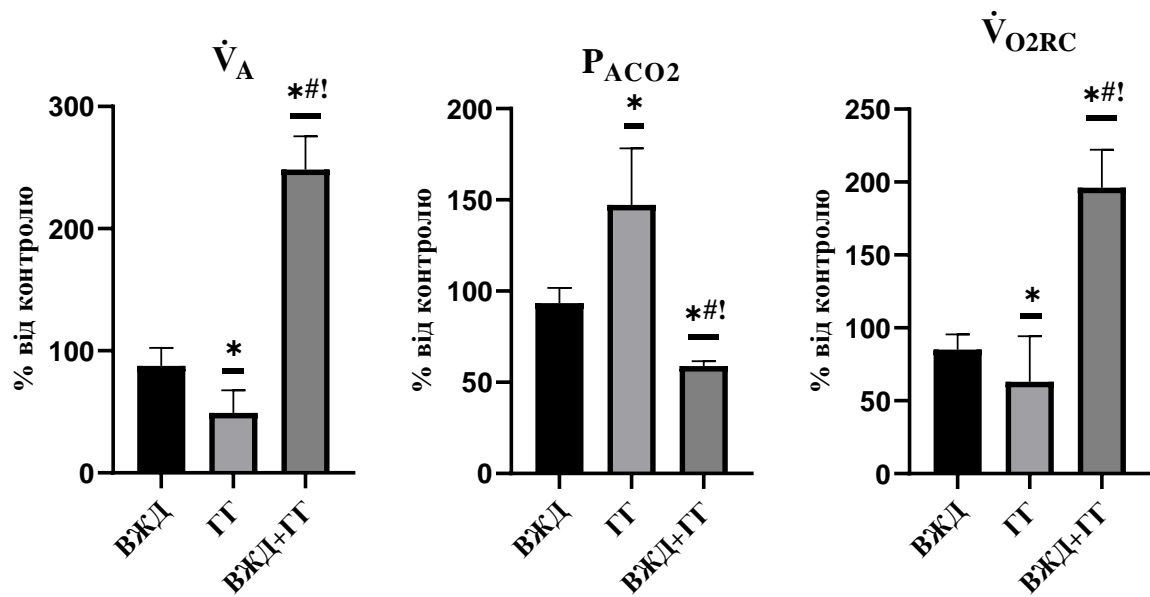


Рис. 3.1.3. Зміни альвеолярної вентиляції (\dot{V}_A), парціального тиску вуглекислого газу в альвеолах (P_{ACO_2}) та кисневого ефекту дихального циклу (\dot{V}_{O_2RC}) при гострій гіпобаричній гіпоксії (ГГ) та інсулінорезистентності (ВЖД). $M \pm SD$. $n=18$.

Примітка: ($P < 0,05$) * – відносно контролю; # – відносно групи ВЖД; ! – відносно групи ГГ.

Доставка кисню в альвеоли вірогідно зростала відносно контрольних значень на 149%, а також була вірогідно більшою за таку у групі ВЖД (150%) та ГГ (199%) ($P < 0.05$).

При цьому екстракція кисню з альвеол не відрізнялась від контролю. Потужності вдиху та видиху вірогідно зростали в порівнянні з контролем на 102 та 130%, відповідно. Потужність вдиху ($d\dot{V}_I/dt$) була також вірогідно вищою за таку у групі ВЖД (114%) та ГГ (130%). Потужність видиху ($d\dot{V}_E/dt$) у свою чергу була вірогідно вищою за таку у групі ВЖД (135%) та групі ГГ (169%) (Рис. 3.1.4). Співвідношення тривалості вдиху до тривалості видиху (T_I/T_E) не зазнавало змін, як і співвідношення тривалості видиху до загальної тривалості дихального циклу (T_E/T_{tot}).

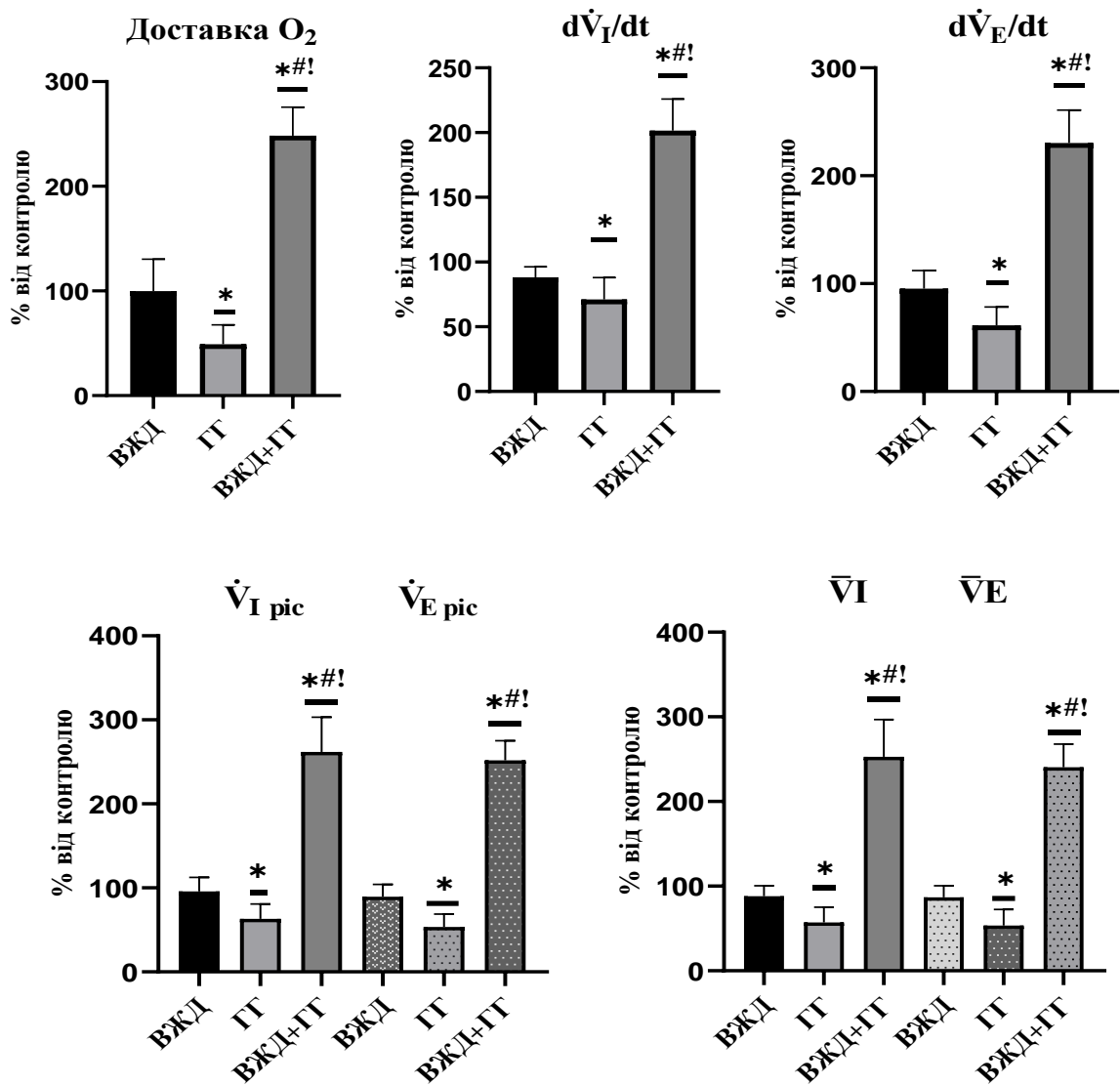


Рис. 3.1.4. Зміни доставки кисню, потужності вдиху ($d\dot{V}_I/dt$) та потужності видиху ($d\dot{V}_E/dt$) пікової швидкості вдиху ($\dot{V}_{I \text{ pic}}$) та видиху ($\dot{V}_{E \text{ pic}}$) та середньої швидкості вдиху (\bar{V}_I) та видиху (\bar{V}_E) при гострій гіпобаричній гіпоксії (ГГ) та інсулінорезистентності (ВЖД). $M \pm SD$. $n=18$.

Примітка: ($P < 0,05$) * – відносно контролю; # – відносно групи ВЖД; ! – відносно групи ГГ.

Вірогідно зростала пікова швидкість вдиху ($\dot{V}_{I \text{ pic}}$) та видиху ($\dot{V}_{E \text{ pic}}$) відносно контролю на 162 та 152% відповідно ($P < 0,05$). Середня швидкість

вдиху (\bar{V}_I) та видиху (\bar{V}_E) також вірогідно зростали – на 153 та 140% в порівнянні з контролем ($P < 0.05$) (Рис. 3.1.4).

Таким чином при впливі гострої гіпобаричної гіпоксії на зовнішнє дихання у щурів з інсулінорезистентністю спостерігалась стеновентиляторна перебудова дихання [42]: посилювалась альвеолярна вентиляція за рахунок збільшення частоти дихання і дихального об'єму, при цьому було відмічено зниження дихального коефіцієнту у зв'язку із посиленням виділенням вуглекислого газу. Зниження парціального тиску CO_2 у альвеолах може свідчити про наявність гіперпноє. Доставка кисню збільшується за рахунок збільшення площі поперечного перерізу дихальних шляхів та підвищення активності дихальною мускулатури: перше проявляється у зростанні потужності вдиху та видиху, друге – у збільшенні пікової та середньої швидкості вдиху та видиху.

За умов блокади повільних кальцієвих каналів (БКК) у щурів спостерігалась ізовентиляторна перебудова зовнішнього дихання [42]. Так, частота дихання мала слабо виражену тенденцію до зростання (10%), при цьому дихальний об'єм вірогідно знижувався в порівнянні з контролем на 21% ($P < 0.05$). Як наслідок, хвилинний об'єм дихання невірогідно зменшився на 12%. Виявлено статистично незначуще зниження споживання кисню (\dot{V}_{O_2}) на 14% та достовірне зниження виділення вуглекислого газу (\dot{V}_{CO_2}) в порівнянні з контролем на 32% ($P < 0.05$). Як наслідок, вірогідно знижувався і дихальний коефіцієнт – на 20% ($P < 0.05$) (Рис. 3.1.9).

Альвеолярна вентиляція знижувалась відносно контролю невірогідно (17%), а співвідношення \dot{V}_A/\dot{V}_E не зазнавало змін. Парціальний тиск кисню в альвеолах не відрізнявся від контрольних значень, тоді як парціальний тиск вуглекислого газу вірогідно знижувався на 20% ($P < 0.05$). Вентиляційний еквівалент не відрізнявся від контролю, а кисневий ефект дихального циклу мав тенденцію до зниження на 23%.

Доставка кисню в альвеоли мала тенденцію до зниження на 17% в порівнянні з контролем, а екстракція кисню з альвеол невірогідно зростала на 6%. Співвідношення T_I/T_E вірогідно знижувалось в порівнянні з контролем на 9%, а співвідношення T_E/T_{tot} вірогідно зростало на 5% ($P<0.05$). Це відбувалось за рахунок подовження видиху. Потужність вдиху мала тенденцію до зниження на 12%, тоді як потужність видиху вірогідно знижувалась на 49% в порівнянні з контролем ($P<0.05$).

Пікова та середня швидкість вдиху характеризувалися недостовірним зниженням на 15% та 21% в порівнянні з контролем. Пікова швидкість видиху вірогідно зростала відносно контролю на 41% ($P<0.05$), а середня швидкість видиху – на 33%, але невірогідно (Рис. 3.1.10).

Таким чином, за умов впливу БКК спостерігається більш часте і неглибоке дихання (зокрема за рахунок вкорочення видиху), яке суттєво не позначається на вентиляції легень. Така перебудова дихання може бути спричинена не лише впливом на серцево-судинну систему [145], а і зміною тонусу дихальних шляхів [146]. Незначне збільшення доставки кисню при зниженні його екстракції могло бути обумовлене збільшенням запиту тканин на кисень.

За умов блокади кальцієвих каналів L-типу у інсулінорезистентних щурів (ВЖД+БКК) спостерігались наступні зміни зовнішнього дихання. Частота дихання мала тенденцію до зростання на 15%, тоді як дихальний об'єм вірогідно знижувався на 43% в порівнянні з контролем, та на 12% відносно групи ВЖД ($P<0.05$). Як наслідок, невірогідно знижувався хвилинний об'єм дихання: на 32% відносно контролю, та на 20% відносно групи ВЖД.

Об'єм спожитого кисню мав тенденцію до зниження відносно контролю (20%) і відносно групи ВЖД (17%), при цьому вірогідно знижувався об'єм виділеного вуглекислого газу – на 53 та 33%, відповідно. Як наслідок вірогідно зменшувався RQ на 43% відносно контролю, на 19% відносно групи ВЖД та на 13% відносно групи БКК (Рис. 3.1.9).

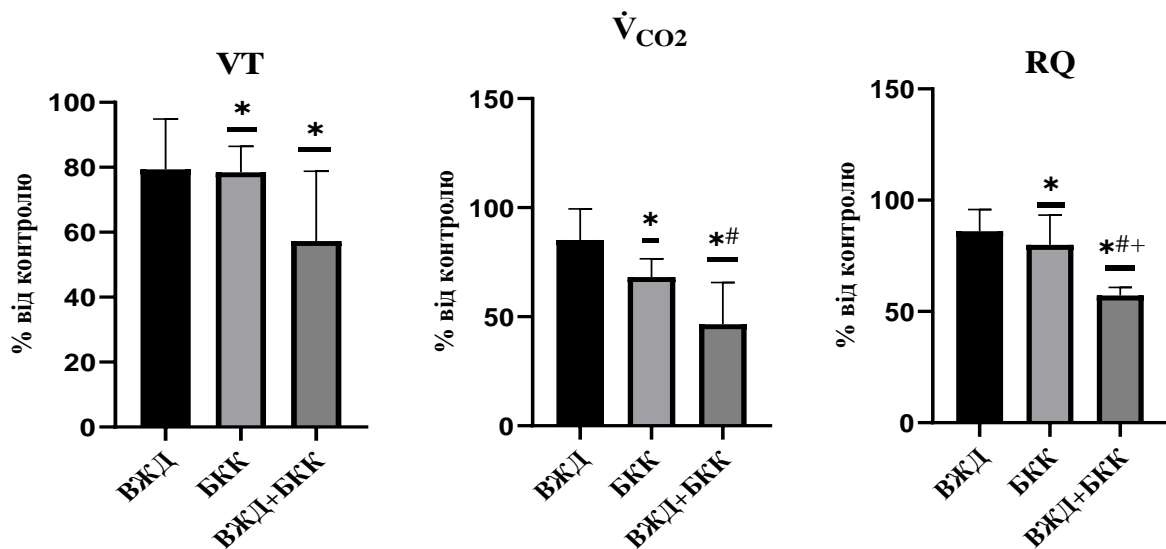


Рис. 3.1.9. Зміни дихального об'єму (VT), виділення вуглекислого газу (\dot{V}_{CO_2}) та дихального коефіцієнта (RQ) за умов блокади повільних кальцієвих каналів (БКК) та інсулінорезистентності (ВЖД). $M \pm SD$. $n=18$.

Примітка: ($P < 0,05$) * – відносно контролю; # – відносно групи ВЖД; + – відносно групи БКК.

Альвеолярна вентиляція мала тенденцію до зниження щодо контролю (32%), а співвідношення \dot{V}_A/\dot{V}_E не зазнавало змін. Парціальний тиск кисню (P_{AO_2}) і вуглекислого газу (P_{ACO_2}) в альвеолах невірогідно знижувались на 11 та 24%, відповідно. Спостерігалась також тенденція до зниження вентиляційного еквіваленту (VEq) на 13%. Кисневий ефект дихального циклу мав тенденцію до зниження в порівнянні з контролем на 30%, доставка кисню в альвеоли – на 32%, водночас екстракція кисню з альвеол мала тенденцію до зростання (32%) відносно контролю.

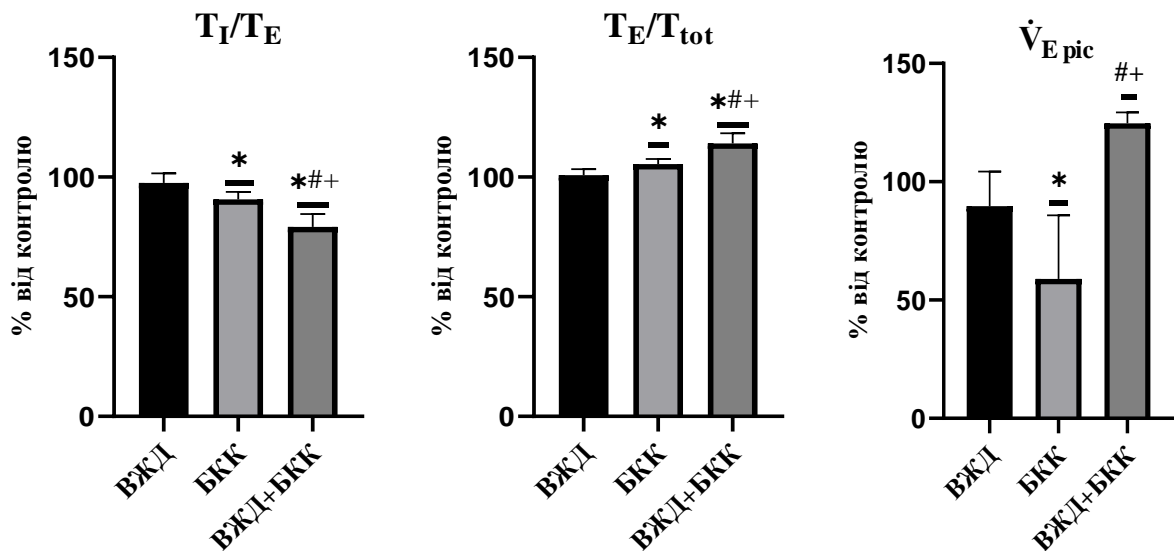


Рис. 3.1.10. Зміни співвідношення тривалості вдиху до видиху (T_I/T_E), співвідношення тривалості видиху до загальної тривалості дихального циклу (T_E/T_{tot}) та пікової швидкості видиху (\dot{V}_{Epic}) за умов блокади повільних кальцієвих каналів (БКК) та інсулінорезистентності (ВЖД). $M \pm SD$. $n=18$.

Примітка: ($P < 0,05$) * – відносно контролю; # – відносно групи ВЖД; + – відносно групи БКК.

Спостерігалось вірогідне зниження співвідношення T_I/T_E відносно контролю (21%), відносно групи ВЖД (18%) та БКК (11%) ($P < 0.05$). Водночас співвідношення T_E/T_{tot} вірогідно зросло в порівнянні з таким у контролі (14%), у групі ВЖД (13%) та групі БКК (9%) ($P < 0.05$). Потужність вдиху (dV_I/dt) і видиху (dV_E/dt) мали тенденцію до зниження відносно контролю на 16% та 44% відповідно. Пікова швидкість вдиху мала тенденцію до зростання відносно контрольних значень на 14%, а середня швидкість вдиху – на 10%. Пікова швидкість видиху також мала тенденцію до зростання в порівнянні з контролем (25%) і вірогідно зростала відносно групи БКК (66%) ($P < 0.05$) (Рис. 3.1.10).

Отже, застосування блокади повільних кальцієвих каналів у інсулінорезистентних щурів викликало стеновентиляторні зміни зовнішнього дихання: збільшення частоти дихання на тлі зниження дихального об'єму, що

призводило до зниження хвилинного об'єму дихання та альвеолярної вентиляції. БКК призводила до зниження доставки кисню, імовірно збільшуючи опір дихальних шляхів у інсулінорезистентних щурів більшою мірою, ніж у контрольних. Головним чином це позначилось на глибині дихання: воно стало більш поверхневим, швидкість і тривалість видиху при цьому зросла – дихання стало менш ефективним. Водночас запит на кисень тканинами в інсулінорезистентних тварин зростає. Можна припустити, що при наявності інсулінорезистентності регуляція патерну дихання більшою мірою залежить від кальцієвих механізмів, ніж за умов відсутності інсулінорезистентності.

При застосуванні блокади повільних кальцієвих каналів на тлі гіпобаричної гіпоксії (ГГ+БКК) спостерігались наступні зміни патерну дихання і газообміну. Частота дихання (f) вірогідно зростала в порівнянні з контролем на 24% ($P < 0.05$), водночас дихальний об'єм (V_T) вірогідно знижувався відносно контрольних значень (43%) та відносно групи БКК (22%) ($P < 0.05$). Як наслідок, вірогідно знижувався хвилинний об'єм дихання (V_E) у порівнянні з контролем на 25% (Рис. 3.1.11).

Споживання кисню (\dot{V}_{O_2}) виражених змін не зазнавало, водночас виділення вуглекислого газу (\dot{V}_{CO_2}) вірогідно знижувалось в порівнянні із контролем (55%), групою БКК (23%) та ГГ (41%) ($P < 0.05$). В результаті вірогідно знижувався і дихальний коефіцієнт (RQ) відносно контролю на 51% і відносно групи ГГ на 37% ($P < 0.05$) (Рис. 3.1.11).

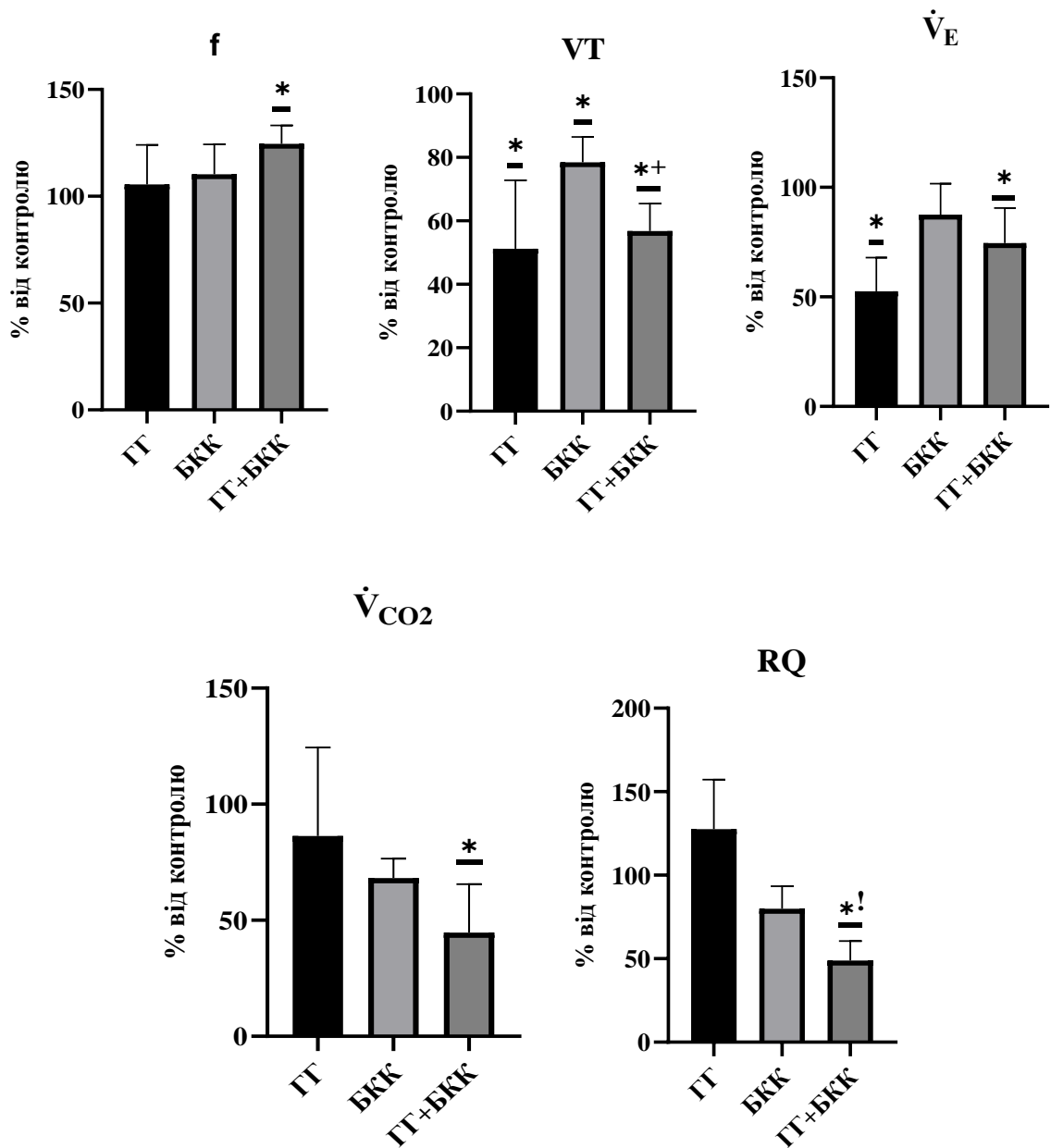


Рис. 3.1.11. Зміни частоти дихання (f), дихального об'єму (VT) хвилиного об'єму дихання (\dot{V}_E), виділення вуглекислого газу (\dot{V}_{CO_2}) та дихального коефіцієнту (RQ) за умов впливу гострої гіпобаричної гіпоксії (ГГ) та блокади повільних кальцієвих каналів (БКК). $M \pm SD$. $n=18$.

Примітка: ($P < 0,05$) * – відносно контролю; ! – відносно групи ГГ; + – відносно групи БКК.

Альвеолярна вентиляція (\dot{V}_A) мала тенденцію до зниження в порівнянні з контролем, тоді як співвідношення \dot{V}_A/\dot{V}_E мало тенденцію до зростання

відносно контролю на 11%, і було вірогідно вищим за таке відносно груп БКК (16%) та ГГ (15%). Парціальний тиск кисню у альвеолах не зазнав змін, тоді як парціальний тиск вуглекислого газу в альвеолах (P_{ACO_2}) був вірогідно нижчим за контрольні значення (48%) та відносно групи ГГ (42%) ($P < 0.05$). Вентиляційний еквівалент (VEq) мав тенденцію до зниження на 16% в порівнянні з контролем, також тенденцію до зниження спостерігались у кисневого ефекту дихального циклу (V_{O_2RC}) – на 38% в порівнянні з контролем. Екстракція кисню з альвеол не зазнавала змін, тоді як доставка кисню в альвеоли мала тенденцію до зниження на 17% в порівнянні з контролем. Співвідношення T_I/T_E мало тенденцію до зростання відносно контролю (15%) і було вірогідно вищим відносно групи БКК (25%) ($P < 0.05$), а співвідношення T_E/T_{tot} хоча і не відрізнялось від контрольних значень, було вірогідно нижчим відносно групи ГГ (12%) ($P < 0.05$).

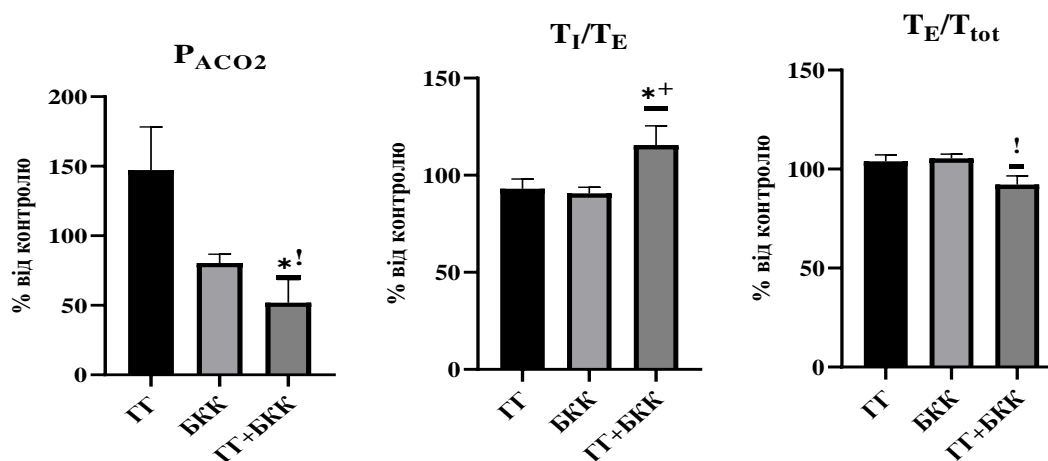


Рис. 3.1.12. Зміни парціального тиску вуглекислого газу в альвеолах (P_{ACO_2}), співвідношення тривалості вдиху до видиху (T_I/T_E), співвідношення тривалості видиху до загальної тривалості дихального циклу (T_E/T_{tot}) за умов впливу гострої гіпобаричної гіпоксії (ГГ) та блокади повільних кальцієвих каналів (БКК). $M \pm SD$. $n=18$.

Примітка: ($P < 0,05$) * – відносно контролю; ! – відносно групи ГГ; + – відносно групи БКК.

Пікова та середня швидкість вдиху мала тенденцію до зниження в порівнянні з контролем на 28 та 44%, відповідно. Аналогічні тенденції

спостерігались для пікової та середньої швидкості видиху – на 20 і на 21% відносно контрольних значень.

Таким чином, вплив БКК на тлі гострої гіпобаричної гіпоксії призводив до ізовентиляторних змін: перебудова дихання відбувалась за рахунок збільшення частоти дихання і зменшення дихального об'єму – дихання ставало більш поверхневим. Вдих ставав довшим за видих, хоча потужність вдиху і видиху не змінювалась, як це спостерігається при впливі ГГ без блокатора. При цьому спостерігалось значне підвищення виведення вуглекислого газу із організму. Запит тканин на кисень при цьому не змінювався, постачання кисню в тканини при цьому ставало меншим. Можна припустити, що блокада повільних кальцієвих каналів сприяє адаптації тканин до умов гіпоксії.

Вплив гострої гіпобаричної гіпоксії в інсулінорезистентних щурів на тлі дії блокади кальцієвих каналів L-типу (ВЖД+ГГ+БКК) викликав наступні зміни зовнішнього дихання. Частота дихання не відрізнялась від контрольних значень, тоді як дихальний об'єм (V_T) мав тенденцію до зростання в порівнянні з контролем на 36% і був вірогідно більшим за такий у групах ВЖД (57%), ГГ (85%), БКК (58%), ВЖД+БКК (79%) та ГГ+БКК (80%) ($P<0.05$). При цьому дихальний об'єм був вірогідно нижчим за такий у групі ВЖД+ГГ на 64% ($P<0.05$).

Зростав і хвилинний об'єм дихання (\dot{V}_E) – невірогідно відносно контролю (36%) і вірогідно відносно груп ВЖД (47%), ГГ (82%), БКК (48%), ВЖД+БКК (67%) та ГГ+БКК (60%) ($P<0.05$). При цьому хвилинний об'єм дихання був вірогідно нижчим за такий у групі ВЖД+ГГ на 128% ($P<0.05$) (Рис. 3.1.13).

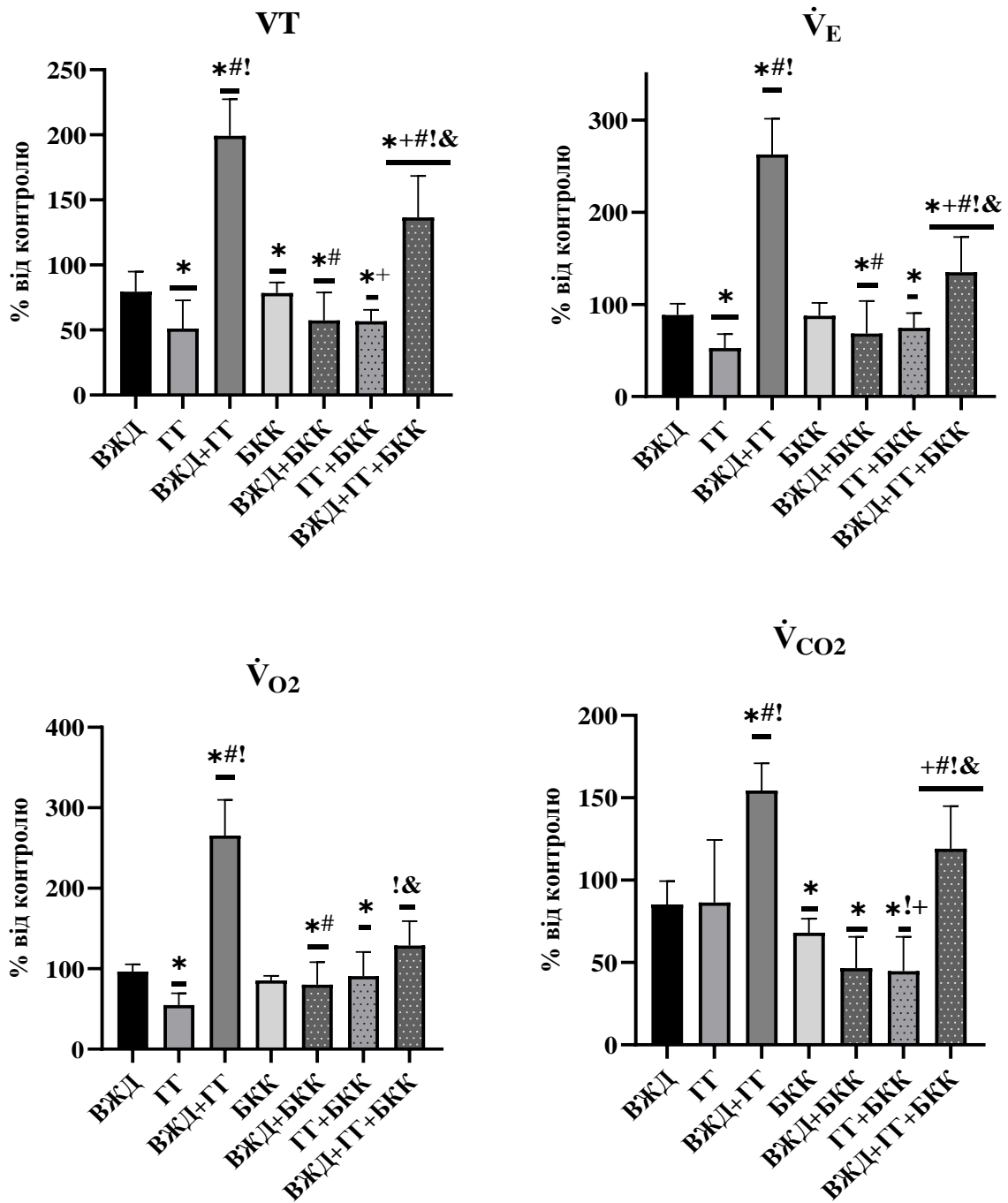


Рис. 3.1.13. Зміни дихального об'єму (VT) хвилинного об'єму дихання (\dot{V}_E), споживання кисню (\dot{V}_{O_2}) та виділення вуглекислого газу (\dot{V}_{CO_2}) при дії гіпобаричної гіпоксії (ГГ) за умов блокади повільних кальцієвих каналів (БКК) на тлі інсулінорезистентності (ВЖД). $M \pm SD$. $n=50$.

Примітка: ($P < 0,05$) * – відносно контролю; # – відносно групи ВЖД; + – відносно групи БКК; ! – відносно групи ГГ; & – відносно групи ВЖД+ГГ.

Споживання кисню (\dot{V}_{O_2}) мало тенденцію до зростання в порівнянні з контролем на 29%, було вірогідно вищим за такий у групі ГГ (65%) ($P < 0.05$) і вірогідно нижчим відносно групи ВЖД+ГГ (137%) ($P < 0.05$). Виділення вуглекислого газу (\dot{V}_{CO_2}) не відрізняючись від контрольних значень було вірогідно вищим за таке у групах ВЖД (34%), ГГ (33%), БКК (51%), ВЖД+БКК (72%) та ГГ+БКК (74%) ($P < 0.05$) (Рис. 3.1.13). Як наслідок, дихальний коефіцієнт не відрізнявся від контрольних значень.

Альвеолярна вентиляція невірогідно зростала в порівнянні з контролем на 33%, а співвідношення \dot{V}_A/\dot{V}_E не змінювалось. Не зазнавав змін і вентиляційний еквівалент, в той час як кисневий ефект дихального циклу невірогідно зростав на 30%. Екстракція кисню з альвеол не відрізнялась від контрольних значень, а доставка кисню мала тенденцію до зростання на 33%. Співвідношення T_I/T_E та T_E/T_{tot} не зазнавали змін.

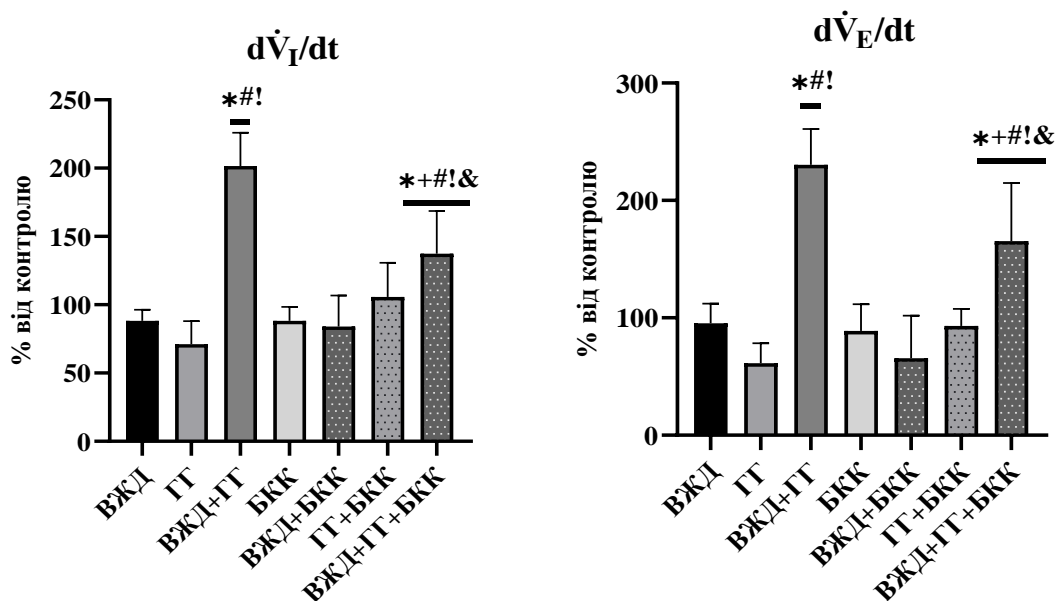


Рис. 3.1.14. Зміни потужності вдиху ($d\dot{V}_I/dt$) та видиху ($d\dot{V}_E/dt$) при дії гострої гіпобаричної гіпоксії (ГГ) за умов блокади повільних кальцієвих каналів (БКК) на тлі інсулінорезистентності (ВЖД). $M \pm SD$. $n=50$.

Примітка: ($P < 0,05$)* – відносно контролю; # – відносно групи ВЖД;

+ – відносно групи БКК; ! – відносно групи ГГ; & – відносно групи ВЖД+ГГ.

При цьому потужність вдиху ($d\dot{V}_I/dt$) вірогідно зростала в порівнянні з контролем (37%) і була значуще вищою за таку відносно груп ВЖД (59%) ГГ (66%), БКК (49%) та ВЖД+БКК (53%) ($P<0.05$), і одночасно вірогідно знижувалась відносно групи ВЖД+ГГ на 65% ($P<0.05$). Потужність видиху ($d\dot{V}_E/dt$) також вірогідно зростала в порівнянні з контролем (65%) ($P<0.05$), і була вірогідно вищою за таку у групах ВЖД (70%), ГГ (103%), БКК (114%), ВЖД+БКК (99%) ($P<0.05$), та вірогідно нижчою відносно групи ВЖД+ГГ на 65% ($P<0.05$) (Рис. 3.1.14).

Парціальний тиск кисню та вуглекислого газу в альвеолах не відрізнявся від контрольних значень.

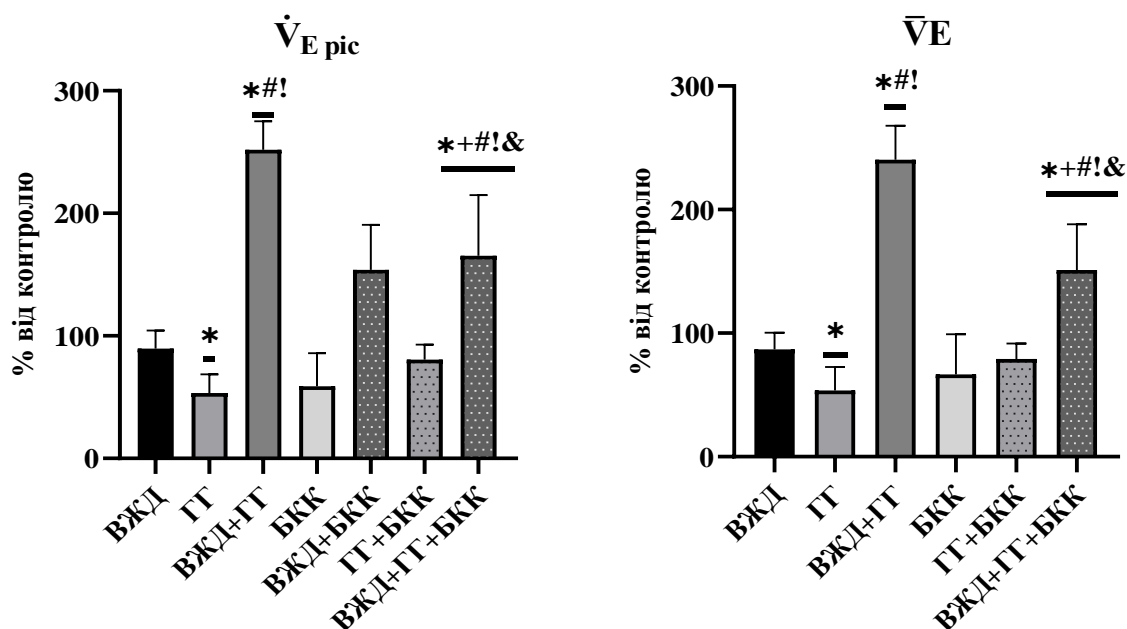


Рис. 3.1.15. Зміни пікової ($\dot{V}_{E\text{pic}}$) та середньої (\bar{V}_E) швидкостей видиху при дії гострої гіпобаричної гіпоксії (ГГ) за умов блокади повільних кальцієвих каналів (БКК) на тлі інсулінорезистентності (ВЖД). $M\pm SD$. $n=50$.

Примітка: ($P < 0,05$) * – відносно контролю; # – відносно групи ВЖД; + – відносно групи БКК; ! – відносно групи ГГ; & – відносно групи ВЖД+ГГ.

Пікова швидкість вдиху мала тенденцію до зростання відносно контролю на 43%, а середня швидкість вдиху – на 41%. Пікова швидкість видиху ($\dot{V}_{E\text{pic}}$) вірогідно зростала в порівнянні з контролем на 54% ($P<0.05$), а також була

вірогідно вищою відносно груп ВЖД (64%), ГГ (101%), БКК (95%) та ГГ+БКК (74%) ($P < 0.05$). При цьому $\dot{V}_{E_{\text{ріс}}}$ вірогідно знижувалась в порівнянні з такою у групі ВЖД+ГГ на 98%. Середня швидкість видиху (\bar{V}_E) вірогідно зростала відносно контролю на 51% ($P < 0.05$), і була вірогідно вищою за таку відносно груп ВЖД (64%), ГГ (97%), БКК (84%) та ГГ+БКК (72%) ($P < 0.05$). При цьому \bar{V}_E вірогідно знижувалась в порівнянні з такою у групі ВЖД+ГГ на 89% ($P < 0.05$) (Рис. 3.1.15).

Отже, за умов впливу гострої гіпобаричної гіпоксії в інсулінорезистентних щурів на тлі блокади кальцієвих каналів L-типу спостерігались стеновентиляторні зміни зовнішнього дихання: зростав дихальний об'єм на тлі незмінної частоти дихання, зростали хвилинний об'єм дихання та альвеолярна вентиляція, збільшувалась доставка кисню в альвеоли і його споживання. Це відбувалось за рахунок збільшення глибини вдиху і вкорочення видиху. При цьому посилення виділення CO_2 з організму на тлі незмінного його парціального тиску в альвеолах може свідчити про інтенсифікацію енергетичного метаболізму і перехід на більш «енерговмісні» субстрати окиснення. Таким чином, блокада кальцієвих каналів впливає на перебудову зовнішнього дихання при гострій гіпобаричній гіпоксії в інсулінорезистентних щурів.

3.2. Зміни енергетичного метаболізму при гіпоксії та інсулінорезистентності

Було проведено дослідження окиснювальної функції мітохондрій печінки у щурів полярографічним методом за Чансом і одержано наступні результати.

В інсулінорезистентних щурів (ВЖД) спостерігались наступні зміни показників окиснювальної функції мітохондрій. Споживання кисню у спокої (рівень V_2) мало тенденцію до зростання як при використанні НАД-залежних окиснювальних субстратів ($\Gamma+M$ – 22,2%), ($\Pi+M$ – 21,9%), ($\Pi m+M$ – 11,1%) так і ФАД-залежного сукцинату (17%). Швидкість АДФ-стимульованого дихання при цьому значуще пригнічувалась при окисненні сумішей $\Gamma+M$ (42%) та $\Pi+M$ (38%), а також S_k (41,3%) ($P < 0.05$) (Табл.3.2.1, Табл. 3.2.2, Табл. 3.2.3). Водночас спостерігалось недостовірне зростання споживання кисню при окисненні суміші $\Pi m+M$ (16,8%). Контрольоване дихання (V_4) мало тенденцію до зростання при окисненні ФАД-залежного сукцинату (22%) та НАД-залежного $\Pi m+M$ (30,5%), і не зазнавало змін при окисненні $\Gamma+M$. Водночас застосування для окиснення суміші $\Pi+M$ призводило до значущого зниження дихального контрольованого дихання (31,7%) ($P < 0.05$) (Табл. 3.2.3). Дихальний контроль (V_3/V_4) вірогідно знижувався при окисненні усіх дихальних субстратів: $\Gamma+M$ (55,3%), S_k (51,5%), $\Pi+M$ (34,3%) і $\Pi m+M$ (40,1%) ($P < 0.05$) (Табл.3.2.1, Табл. 3.2.2., Табл. 3.2.3., Табл. 3.2.4).. При цьому варто зазначити, що це зниження пов'язане як із зниженням активного дихання (S_k , $\Gamma+M$), так і з одночасним зниженням рівня контрольованого дихання ($\Pi+M$) а також із зростанням рівня контрольованого дихання відносно активного дихання – при окисненні суміші $\Pi m+M$.

Таблиця 3.2.1.

Показники окиснювальної функції мітохондрій із використанням ФАД-залежного субстрату окиснення сукцинату
M±SD, n=50.

Група	V2, нмоль/мг ⁻¹ *хв ⁻¹	V3, нмоль/мг ⁻¹ *хв ⁻¹	V4, нмоль/мг ⁻¹ *хв ⁻¹	V3/V4, нмоль/мг ⁻¹ *хв ⁻¹	V2	V3	V4	V3/V4
					ANOVA			
Сукцинат (5 ммоль/л)								
Контроль	7.55±1.60	36.50±8.85	6.16±0.62	5.09±0.53	–	–	–	–
ВЖД	9.10±1.43	20.76±5.95*	7.90±1.52	2.47±0.61*	F=2.575 P=0.1259	F=7.512 P=0.0122	F=2.416 P=0.1350	F=9.970 P=0.0046
ГГ	7.53±2.81	32.20±9.23	8.10±0.90	3.92±0.70*	F=0.2945 P=0.5940	F=1.153 P=0.2951	F=0.6497 P=0.4293	F=0.7992 P=0.3810
ВЖД+ГГ	10.03±1.79	32.93±2.66*#	10.47±2.66*	3.28±0.83*	F=5.809 P=0.0269	F=13.41 P=0.0015	F=1.487 P=0.2362	F=9.013 P=0.0066
БКК	10.2±2.32	29.78±2.88	9.0±1.26*	3.33±0.43*	F=2.464 P=0.1339	F=12.77 P=0.0018	F=4.188 P=0.0534	F=2.804 P=0.1082
ВЖД+БКК	6.30±0.73+	15.25±5.12*+	6.5±1.36	2.40±0.89*	F=2.284 P=0.1480	F=0.3035 P=0.5875	F=4.650 P=0.0428	F=6.253 P=0.0203
ГГ+БКК	5.40±0.92+	21.20±3.39*	6.53±1.72	3.25±0.08*	F=0.8182 P=0.3777	F=0.4268 P=0.5206	F=5.042 P=0.0356	F=2.240 P=0.1487
ВЖД+ГГ+БКК	8.63±2.15	24.67±3.51	7.13±2.80	3.83±1.61	F=4.100 P=0.0580	F=0.002364 P=0.9617	F=1.474 P=0.2381	F=0.1894 P=0.6676

Примітка: (P<0.05) * – відносно контролю; # – відносно групи ВЖД; + – відносно групи БКК.

При впливі гострої гіпоксії (ГГ) показники окиснювальної функції мітохондрій змінювались наступним чином. Споживання кисню у спокої (рівень V2) невірогідно змінювалось при окисненні НАД-залежних субстратів – суміші П+М (+14,7%) і суміші Пм+М – -20,9%) і не змінювалось для НАД-залежних Г+М та ФАД-залежного Ск. Швидкість АДФ-стимульованого дихання при цьому вірогідно знижувалась при окисненні НАД-залежних П+М (21,6%) і Пм+М (17,7%) ($P < 0.05$) (Табл. 3.2.3, Табл. 3.2.4), а також мала тенденцію до зниження при окисненні суміші Г+М (25,1%). Водночас при окисненні ФАД-залежного Ск виражених змін енергізації мітохондрій в порівнянні з контролем не відбулось. Рівень контрольованого дихання (V4) невірогідно зростав при окисненні ФАД-залежного сукцинату (23,9%) та НАД-залежних Г+М (9,6%) та Пм+М (20,5%), і не мав виражених змін при окисненні П+М. Співвідношення V3/V4 вірогідно знижувалось при окисненні усіх дихальних субстратів: Ск (23%), Г+М (36,4%), П+М (37,2%) і Пм+М (48,1%) ($P < 0.05$) (Табл.3.2.1, Табл. 3.2.2., Табл. 3.2.3., Табл. 3.2.4).. При цьому варто зазначити, що це зниження пов'язане як із зниженням активного дихання (НАД-залежні субстрати), так і внаслідок зростання рівня V4 – для Ск, Г+М та Пм+М. Варто наголосити, що найменш вразливим до впливу гострої гіпоксії виявилось окиснення сукцинату, яке відбувається за участі ІІ комплексу ЕТЛ.

Таблиця 3.2.2.

**Показники окиснювальної функції мітохондрій із використанням НАД-залежної суміші субстратів окиснення
Глутамат+Малат (Г+М)
M±SD, n=50.**

Група	V2, нмоль/мг ⁻¹ 1*XB ⁻¹	V3, нмоль/мг ⁻¹ 1*XB ⁻¹	V4, нмоль/мг ⁻¹ 1*XB ⁻¹	V3/V4, нмоль/мг ⁻¹ 1*XB ⁻¹	V2	V3	V4	V3/V4
					ANOVA			
Глутамат (5 ммоль/л)+Малат (2,5 ммоль/л)								
Контроль	6.52±1.61	28.44±5.38	5.68±1.31	5.12±0.70	–	–	–	–
ВЖД	8.98±2.30	17.86±5.15*	8.08±2.8	2.02±0.36*	F=0.3702 P=0.5501	F=4.728 P=0.0419	F=1.177 P=0.2903	F=26.38 P<0.0001
ГГ	6.50±2.13	21.30±4.58	6.28±1.47	3.25±0.17*	F=0.2945 P=0.5940	F=0.03799 P=0.8474	F=2.205 P=0.1525	F=2.418 P=0.1342
ВЖД+ГГ	8.60±1.44	23.87±5.37*	7.33±1.46	2.65±0.51*	F=1.398 P=0.2517	F=6.285 P=0.0209	F=1.479 P=0.2375	F=3.210 P=0.0870
БКК	7.67±0.29	19.50±3.48*	6.98±1.36	3.04±0.51*	F=6.053 P=0.0236	F=11.10 P=0.0033	F=1.832 P=0.1902	F=1.019 P=0.3237
ВЖД+БКК	4.40±0.60#	13.67±4.04*	4.37±0.81	3.41±0.86*	F=6.818 P=0.0172	F=2.163 P=0.1569	F=1.321 P=0.2633	F=10.76 P=0.0034
ГГ+БКК	5.57±0.93	24.13±9.68	7.90±2.17	3.43±0.21*	F=0.001377 P=0.9708	F=0.1710 P=0.6836	F=0.04578 P=0.8326	F=1.610 P=0.2178
ВЖД+ГГ+БКК	6.0±3.16	15.97±2.99*	5.73±0.12	2.57±0.80*	F=2.054 P=0.1681	F=0.01367 P=0.9081	F=4.302 P=0.050	F=15.01 P=0.0008

Примітка: (P<0.05) * – відносно контролю; # – відносно групи ВЖД.

Внаслідок впливу гострої гіпобаричної гіпоксії у інсулінорезистентних щурів (ВЖД+ГГ) спостерігались наступні зміни показників окиснювальної функції мітохондрій. Споживання кисню у спокої (рівень V2) невірогідно зростало при окисненні НАД-залежних Г+М (24,2%) та П+М (+13,7%) а також ФАД-залежного сукцинату (24,5%). Водночас спостерігалось недостовірне зниження V2 при застосуванні суміші Пм+М (11,3%). Швидкість АДФ-стимульованого дихання при цьому вірогідно знижувалась при окисненні як НАД-залежних Г+М (23,8%), П+М (27,3%) та Пм+М (26,8%) так і ФАД-залежного Ск (9,8%) (P<0.05) (Табл.3.2.1, Табл. 3.2.2, Табл. 3.2.3, Табл. 3.2.4). Контрольоване дихання (V4) вірогідно зростало при окисненні ФАД-залежного сукцинату (41,2%) (P<0.05) (Табл. 3.2.1.) і невірогідно зростав при окисненні НАД-залежного Пм+М (22,4%). При застосуванні інших окиснювальних субстратів рівень V4 змін не зазнав. Співвідношення V3/V4 вірогідно знижувалось при окисненні усіх дихальних субстратів: Ск (35,6%), Г+М (48,2%), П+М (44,6%) і Пм+М (38,2%) (P<0.05) (Табл.3.2.1, Табл. 3.2.2., Табл. 3.2.3., Табл. 3.2.4). Варто відмітити, що зниження ефективності мітохондріального дихання (V3/V4) пов'язане зі зниженням швидкості АДФ-стимульованого дихання (усі окиснювальні субстрати), і зі зростанням швидкості контрольованого дихання при окисненні Ск і Пм+М.

Таблиця 3.2.2.

Показники окиснювальної функції мітохондрій із використанням НАД-залежної суміші субстратів окиснення Піруват+Малат (П+М)

M±SD, n=50.

Група	V2, нмоль/мг ⁻¹ *хв ⁻¹	V3, нмоль/мг ⁻¹ *хв ⁻¹	V4, нмоль/мг ⁻¹ *хв ⁻¹	V3/V4, нмоль/мг ⁻¹ *хв ⁻¹	V2	V3	V4	V3/V4
					ANOVA			
	Піруват (5 ммоль/л)+Малат (2,5 ммоль/л)							
Контроль	6.23±1.21	22.83±1.94	8.05±1.38	3.79±0.29	–	–	–	–
ВЖД	7.98±2.28	14.15±2.30*	6.38±1.44	2.43±0.18*	F=4.879 P=0.0370	F=4.728 P=0.0419	F=3.219 P=0.0872	F=0.02466 P=0.8770
ГГ	7.30±2.52	17.90±3.26	7.50±1.31	2.38±0.03*	F=0.1980 P=0.6604	F=5.501 P=0.0289	F=0.2517 P=0.6211	F=2.273 P=0.1490
ВЖД+ГГ	7.23±2.45	17.90±3.26*	7.90±1.39	2.10±0.26*	F=1.416 P=0.2457	F=3.466 P=0.0767	F=1.241 P=0.2779	F=3.449 P=0.0797
БКК	7.07±1.16	18.75±3.48*	6.50±0.87	2.75±0.22	F=9.608 P=0.0049	F=4.083 P=0.0562	F=17.22 P=0.0005	F=2.247 P=0.1512
ВЖД+БКК	3.98±0.61#	17.67±6.67	5.33±0.82*	3.27±0.88	F=12.18 P=0.0019	F=3.794 P=0.0649	F=0.2432 P=0.6270	F=11.68 P=0.0031
ГГ+БКК	6.98±2.38	15.33±4.50*	5.47±1.04	2.44±0.36*	F=0.4786 P=0.4957	F=1.845 P=0.1888	F=2.240 P=0.1494	F=2.342 P=0.1433
ВЖД+ГГ+БКК	2.57±0.80*#+!&%	13.10±0.85*	4.40±1.71*!&	3.59±1.61#&	F=0.03704 P=0.8490	F=1.152 P=0.2953	F=1.007 P=0.3271	F=0.3885 P=0.5409

Примітка: (P<0.05) * – відносно контролю; # – відносно ВЖД; + – відносно БКК; ! – відносно ГГ;

& – відносно БКК+ВЖД; % – відносно ВЖД+ГГ

При застосуванні блокатора повільних кальцієвих каналів (БКК) у щурів спостерігались тенденції до зростання дихання мітохондрій у спокої (V2): для НАД-залежних субстратів Г+М (25,1%), П+М (26,7%), а також для ФАД-залежного Ск (26%). Водночас спостерігалось пригнічення окиснювальної функції мітохондрій при АДФ-стимульованому диханні: Ск – 18,4%, Г+М – 15,2%, П+М – 17,9%, Пм+М – 8,1% (P<0.05) (Табл.3.2.1, Табл. 3.2.2, Табл. 3.2.3, Табл. 3.2.4). Рівень контрольованого дихання зростав відносно контролю вірогідно для ФАД-залежного Ск (31,6%) (P<0.05) (Табл. 3.2.1) і мав тенденцію до зростання для НАД-залежних Г+М (28,1%) і Пм+М (27,2%), а для П+М виражених змін не демонстрував. Як наслідок спостерігалось зниження ефективності мітохондріального дихання на для всіх окиснювальних субстратів – Ск (34,6%, P<0.05), Г+М (40,6%, P<0.05), Пм+М (46,6%, P<0.05) і П+М (30,7%), яке не було значущим лише для П+М (Табл. 3.2.1, Табл. 3.2.2, Табл. 3.2.4). Таким чином можна припустити, що кальцієві механізми залучені у регуляцію мітохондріального дихання через зміни стану V4 (контрольоване дихання).

При застосуванні блокатора повільних кальцієвих каналів у інсулінорезистентних щурів (ВЖД+БКК) було виявлено зниження споживання кисню в усіх метаболічних станах та при застосуванні всіх окиснювальних субстратів. Так, дихання в спокої (V2) невірогідно знижувалось для НАД-залежних субстратів Г+М (27,1%), П+М (36,1%) і Пм+М (37,4%), а також для ФАД-залежного Ск (16,6%). Водночас спостерігалось достовірне пригнічення окиснювальної функції мітохондрій при АДФ-стимульованому диханні: Ск на 58,2% і Пм+М на 48,2% відносно контролю (P<0.05) (Табл. 3.2.1, Табл.3.2.4). Окрім цього рівень V3 для цих субстратів був вірогідно нижчим і відносно групи ВЖД та БКК (P<0.05) (Табл.3.2.1, Табл. 3.2.4), що може вказувати на залежність I та II комплексів ЕТЛ у мітохондріях печінки від кальцієвих механізмів. Окиснювальна функція на рівні V3 мала тенденцію до зниження при застосуванні інших НАД-

залежних субстратів – Г+М (44,6%) та П+М (26,6%). Рівень контрольованого дихання вірогідно знижувався при використанні НАД-залежних Г+М (15,8%), П+М (33,8%) і Пм+М (27%) і був відповідно нижчим від такого у груп БКК та ВЖД ($P<0.05$) (Табл. 3.2.2, Табл. 3.2.3, Табл. 3.2.4). Водночас рівень V4 для Ск від контролю не відрізнявся. Як наслідок, спостерігалось зниження ефективності мітохондріального дихання при використанні всіх окиснювальних субстратів – Ск (52,8%), Г+М (36,7%), Пм+М (38,4%) і П+М (17,4%) ($P<0.05$) (Табл. 3.2.1, Табл. 3.2., Табл. 3.2.3, Табл. 3.2.4). Таким чином, можна припустити, що кальцієві механізми залучені у регуляцію окиснювальної функції у щурів з інсулінорезистентністю більшою мірою, ніж у контрольних тварин.

Застосування гострої гіпоксії на тлі дії блокатора повільних кальцієвих каналів (ГГ+БКК) викликало наступні зміни показників окиснювальної функції мітохондрій. Споживання кисню мітохондріями у спокої (стан V2) змінювалось лише при окисненні НАД-залежних субстратів: вірогідно зростало для суміші П+М (10,7%) ($P<0.05$) (Табл. 3.2.3), і мало тенденцію до зниження при окисненні Пм+М (16,24%). Швидкість АДФ-стимульованого дихання при цьому вірогідно знижувалась при окисненні як НАД-залежних П+М (32,9%) і Пм+М (27,7%), так і ФАД-залежного Ск (41,9%) ($P<0.05$) (Табл.3.2.3, Табл. 3.2.4, Табл. 3.2.1), а також мала тенденцію до зниження при окисненні суміші Г+М (39,2%). Контрольоване дихання (V4) мало тенденцію до зростання при окисненні НАД-залежних Г+М (22,5%), Пм+М (22,4%), і тенденцію до зниження при окисненні суміші П+М, і не мало виражених змін при окисненні ФАД-залежного Ск. Дихальний контроль вірогідно знижувався при окисненні усіх дихальних субстратів: Ск (23%), Г+М (36,4%), П+М (37,2%) і Пм+М (48,1%) ($P<0.05$) (Табл. 3.2.1, Табл. 3.2.2, Табл. 3.2.3, Табл. 3.2.4). При цьому варто зазначити, що це зниження пов'язане як із зниженням активного дихання (усі окиснювальні субстрати), так і внаслідок зростання рівня V4 – для Ск, Г+М та Пм+М (Табл. 3.2.1, 3.2.2, 3.2.3, 3.2.4).

При впливі гострої гіпоксії у інсулінорезистентних щурів за умов блокади кальцієвих каналів L-типу (ВЖД+ГГ+БКК) спостерігались наступні зміни енергетичного метаболізму печінки. Рівень V2 мав тенденцію до зростання при окисненні ФАД-залежного сукцинату (12,5%), вірогідно знижувався при окисненні НАД-залежного П+М (58,7%) ($P < 0.05$) (Табл. 3.2.3) та мав тенденцію до зниження при окисненні Пм+М (38,3%). Рівень АДФ-стимульованого дихання вірогідно знижувався при окисненні НАД-залежного П+М (37,9%) ($P < 0.05$) (Табл.3.2.3) та ФАД-залежного сукцинату (32%) ($P < 0.05$) (Табл. 3.2.1), і невірогідно знижувався при окисненні Г+М (32,4%) і Пм+М (14,4%). Контрольоване дихання (V4) мало тенденцію до зниження при окисненні Г+М (13,6%) та Ск (15,2%) і вірогідно знижувалось при окисненні П+М (45,3%) ($P < 0.05$) (Табл. 3.2.3), а при окисненні Пм+М змін виявлено не було. Як наслідок, вірогідно знижувалась ефективність дихання при окисненні НАД-залежних Г+М (49,8%) та Пм+М (30,4%) ($P < 0.05$) (Табл. 3.2.2, Табл. 3.2.4) і невірогідно при окисненні ФАД-залежного Ск (25,1%).

Таблиця 3.2.4.

**Показники окиснювальної функції мітохондрій із використанням НАД-залежної суміші субстратів окиснення
Пальмітоїл+Малат (Пм+М)
M±SD, n=50.**

Група	V2, нмоль/мг ⁻¹ 1*XB ⁻¹	V3, нмоль/мг ⁻¹ 1*XB ⁻¹	V4, нмоль/мг ⁻¹ 1*XB ⁻¹	V3/V4, нмоль/мг ⁻¹ 1*XB ⁻¹	V2	V3	V4	V3/V4
					ANOVA			
Пальмітоїл (25 ммоль/л)+Малат (2,5 ммоль/л)								
Контроль	7.08±1.07	22.57±2.20	5.30±1.23	5.36±0.11	–	–	–	–
ВЖД	7.96±2.58	27.13±6.14*	8.62±1.26	3.21±0.63*	F=0.02628 P=0.8727	F=15.36 P=0.0007	F=0.4373 P=0.5160	F=5.322 P=0.0313
ГГ	7.30±2.52	24.93±3.24*	6.67±0.96	2.78±0.78*	F=2.546 P=0.1248	F=3.779 P=0.0648	F=0.6608 P=0.4258	F=0.01501 P=0.9037
ВЖД+ГГ	6.28±2.76	19.33±2.08	6.83±2.76	3.75±0.36*	F=0.03398 P=0.8554	F=9.131 P=0.0063	F=1.765 P=0.1989	F=4.076 P=0.0564
БКК	6.20±1.85	20.75±6.15	6.73±0.60	2.86±0.79*	F=6.908 P=0.0153	F=9.467 P=0.0055	F=3.334 P=0.0828	F=2.658 P=0.1179
ВЖД+БКК	4.80±0.35	11.68±2.0*+&	3.87±0.68	3.30±1.14*	F=0.5601 P=0.4621	F=2.397 P=0.1358	F=2.050 P=0.1677	F=15.02 P=0.0009
ГГ+БКК	6.98±2.38	15.85±1.99!	4.80±0.81	3.50±0.53*	F=0.004006 P=0.9501	F=0.5999 P=0.4469	F=1.457 P=0.2414	F=3.386 P=0.0799
ВЖД+ГГ+БКК	4.33±0.80*	19.33±2.52&	5.37±1.0	3.33±0.43*	F=0.5939 P=0.4491	F=5.304 P=0.0311	F=3.225 P=0.0877	F=4.350 P=0.0494

Примітка: (P<0.05) * – відносно контролю; # – відносно ВЖД; + – відносно БКК; ! – відносно ГГ;

& – відносно БКК+ВЖД.

3.3. Зміни показників про- та антиоксидатного балансу у тканині печінки

Було досліджено вміст ТБК-реактивних продуктів та відновленого глутатіону, а також активність каталази та Cu-Zn-супероксиддисмутази у тканині печінки щурів.

У щурів з інсулінорезистентністю (ВЖД) спостерігалось вірогідне підвищення вмісту в печінці ТБК-реактивних продуктів на 12,7% в порівнянні з контролем ($P < 0.05$). Водночас вміст відновленого глутатіону знижувався на 28,5% ($P < 0.05$), а активність каталази вірогідно зростала на 38,7% ($P < 0.05$), тоді як активність супероксиддисмутази не демонструвала значущих змін (Рис. 3.3.1, Рис. 3.3.2).

Внаслідок впливу гострої гіпоксії (ГГ) у щурів не спостерігалось змін вмісту ТБК-реактивних продуктів та відновленого глутатіону і активності супероксиддисмутази, але активність каталази мала тенденцію до зростання в порівнянні з контролем (23,6%) (Рис. 3.3.3.).

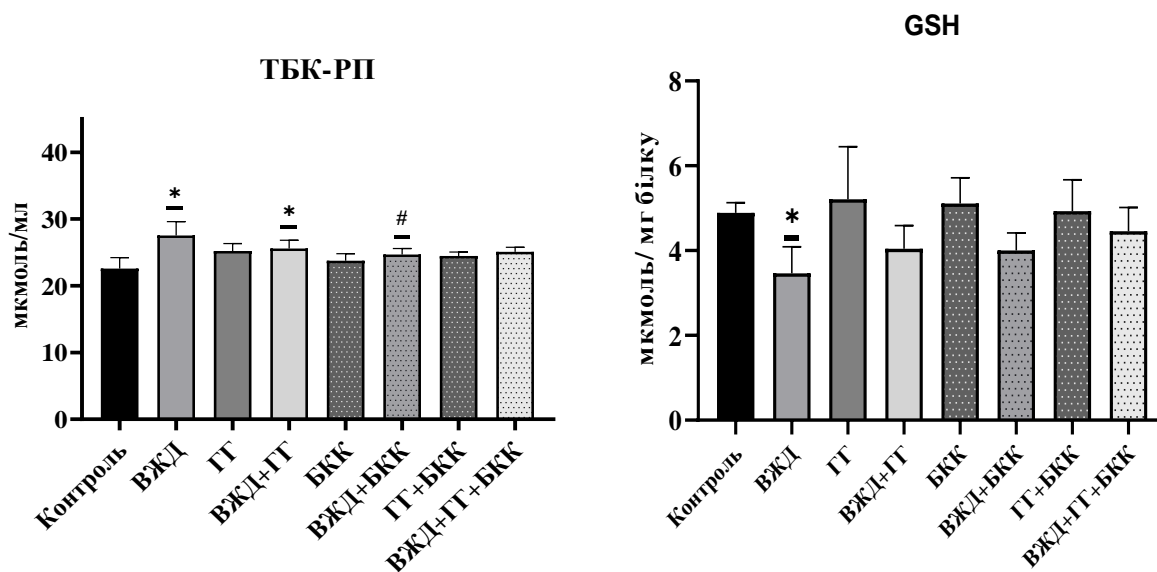


Рис. 3.3.1. Вміст реактивних продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК-РП) та відновленого глутатіону (GSH) у тканині печінки щурів. $M \pm SD$, $n=50$.

* – $P < 0.05$ відносно контролю; # – $P < 0.05$ відносно групи ВЖД.

У інсулінорезистентних щурів після впливу гіпобаричної гіпоксії (ВЖД+ГГ) спостерігалось вірогідне підвищення вмісту ТБК-АП на 12,6% ($P<0.05$) та активності каталази на 34,3% ($P<0.05$) в порівнянні з контролем, тоді як вміст GSH і активність SOD значуще не змінювались (Рис. 3.3.1, Рис. 3.3.2).

У печінці щурів під впливом блокатора повільних кальцієвих каналів (БКК) не виявлено змін показників про- та антиоксидантного статусу у порівнянні з контрольною групою.

При цьому застосування блокатора кальцієвих каналів L-типу у щурів із інсулінорезистентністю (ВЖД+БКК) викликало вірогідне збільшення у тканині печінки активності каталази в порівнянні з контролем 36,1% ($P<0.05$) та відносно дії блокатора повільних кальцієвих каналів у контрольних щурів – на 38,7% ($P<0.05$). Рівень ТБК-реактивних продуктів не відрізнявся від контролю, але був вірогідно нижчим за такий у щурів з інсулінорезистентністю без впливу блокатора (ВЖД) на 10,4% ($P<0.05$) (Рис. 3.3.1, Рис. 3.3.2).

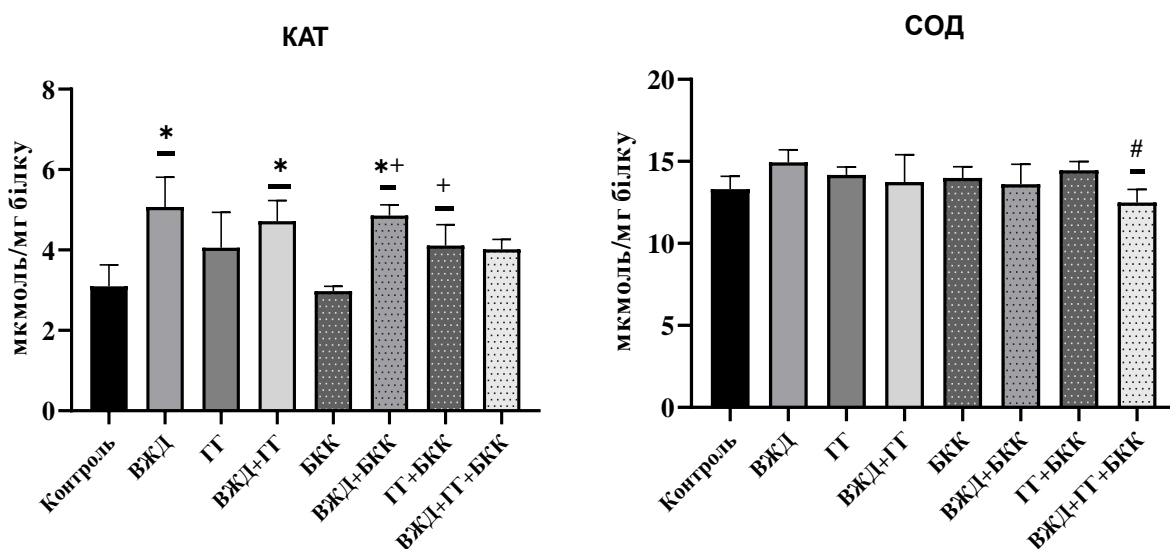


Рис. 3.3.2. Активність каталази (КАТ) та супероксиддисмутази (СОД) у тканині печінки щурів. ($M\pm SD$).

* – $P<0.05$ відносно контролю; + – $P<0.05$ відносно групи БКК;

– $P < 0.05$ відносно групи ВЖД.

У інсулінорезистентних щурів вплив гострої гіпоксії на тлі блокатора повільних кальцієвих каналів (ВЖД+ГГ+БКК) не призводив до значущих змін показників про- та антиоксидантного балансу в порівнянні з контролем. Проте спостерігалось вірогідне зниження активності СОД відносно такої у групі ВЖД на 16,5%.

Таблиця 3.3.1

Фактори інсулінорезистентності (ВЖД), блокади повільних кальцієвих каналів (БКК), гострої гіпобаричної гіпоксії (ГГ) та їх взаємодії у про- та антиоксидантному гомеостазі печінки щурів

Показник	ВЖД	ГГ	ВЖД+ГГ	БКК	ВЖД+БКК	ГГ+БКК	ВЖД+ГГ+БКК
ТБК-АП	F=9.886 P=0.0047	F=0.03613 P=0.8510	F=3.877 P=0.0617	F=6.425 P=0.0189	F=1.825 P=0.1905	F=1.219 P=0.2815	F=2.683 P=0.1156
GSH	F=14.49 P=0.0010	F=1.269 P=0.2721	F=0.5697 P=0.4584	F=0.7167 P=0.4064	F=0.8212 P=0.3746	F=0.3865 P=0.5405	F=0.1539 P=0.6986
КАТ	F=35.94 P<0.0001	F=1.507 P=0.2326	F=19.85 P=0.0002	F=1.767 P=0.1974	F=1.329 P=0.2613	F=0.1825 P=0.6734	F=0.8382 P=0.3698
СОД	F=1.100 P=0.3056	F=0.8803 P=0.3583	F=5.190 P=0.0328	F=1.908 P=0.1810	F=4.910 P=0.0374	F=0.002349 P=0.9618	F=0.005286 P=0.9427

Підсумовуючи ефекти інсулінорезистентності, гострої гіпобаричної гіпоксії, блокади повільних кальцієвих каналів та їх взаємодії (Табл. 3.3.1) варто відмітити наступне. За умов інсулінорезистентності в печінці спостерігається посилення продукції прооксидантів (рівень ТБК-АП), та відповідно зменшувався вміст відновленого глутатіону і підвищувалась активність каталази – останнє може свідчити про активацію процесів перекисного окиснення ліпідів. При цьому активність супероксиддисмутази не зазнавала значущих змін.

Не відбувається суттєвих змін про- та антиоксидантного балансу печінки за впливу гострої гіпоксії, що може свідчити про достатній резерв систем антиоксидантного захисту в тканині печінки на разовий вплив гіпоксії у контрольних щурів. При цьому за умов інсулінорезистентності гостра гіпоксія

сприяє позитивному ефекту: зменшується концентрація ТБК-РП та гальмується падіння рівня відновленого глутатіону. Блокада кальцієвих каналів у інтактних щурів не мала впливу на про-та антиоксидантний гомеостаз. Проте, імовірно, кальцієві механізми були залучені в активацію супероксиддисмутази при інсулінорезистентності, а особливо при впливі гострої гіпоксії на інсулінорезистентних щурів (Рис. 3.3.2). Також варто додати, що найбільш дієвим компонентом антиоксидантного захисту в печінці у відповідь на гіпоксію та інсулінорезистентність є каталаза. Блокада кальцієвих каналів при цьому не впливає на її активність як у контрольних, так і у інсулінорезистентних щурів незалежно від впливу гіпоксії.

3.4. Морфологічні зміни тканин легень та печінки за умов інсулінорезистентності, впливів гіпоксії та блокади повільних кальцієвих каналів

3.4.1. Зміни ультраструктури тканин легень

Після отримання даних про зовнішнє дихання, енергетичний метаболізм печінки та зміни показників її про- та антиоксидантного балансу було проведено морфологічне дослідження тканин легень та печінки методом електронної контрастної мікроскопії. Оскільки будова тканини визначає її функцію, доцільно оцінити зміни морфології за умов інсулінорезистентності, впливу гострої гіпобаричної гіпоксії та блокаторів повільних кальцієвих каналів.

Було встановлено, **у щурів з інсулінорезистентністю** спостерігалось накопичення жиру у вигляді крапель в тканині легень (Рис. 3.4.1.А). Також мали місце ознаки набряку, що могло призвести до погіршення еластичності та розтяжності легень, чому могло сприяти просочування рідини безпосередньо у тканину легень. Одночасно зростала кількість вільних рибосом, що є свідченням зростання інтенсивності синтезу білка, необхідне при наявних структурних пошкодженнях (Рис. 3.4.1.В). Варто відмітити також,

що на тлі наявності значної кількості ліпідів відбувалося зменшення синтезу легеневого сурфактанту із утворенням порожнин – ламелярних тілець в пневмоцитах II типу (Рис. 3.4.1.Г). Зниження синтезу сурфактантів сприяє погіршенню вентиляторної функції легень та доставки кисню до газообмінної поверхні.

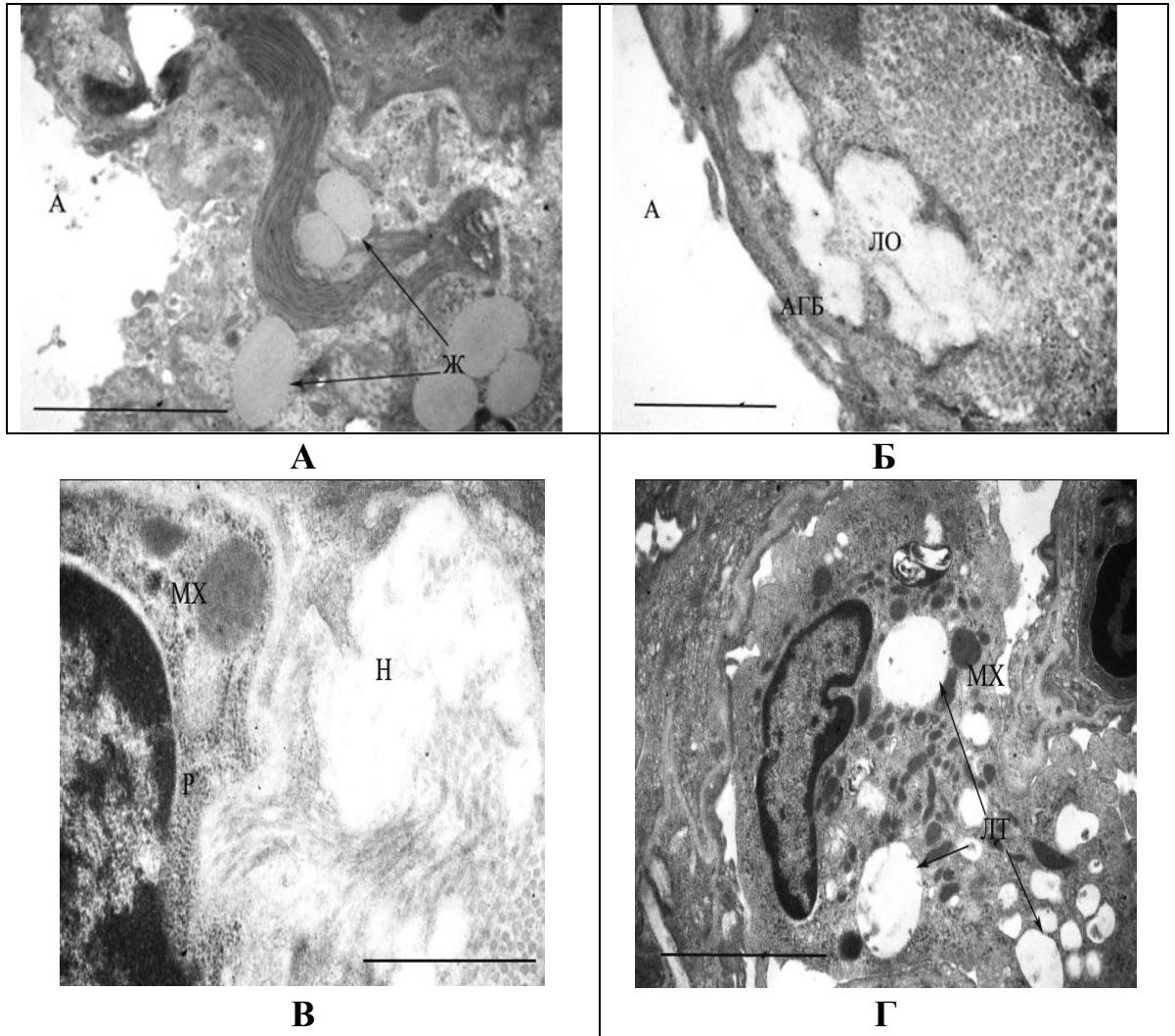


Рис. 3.4.1. Ультрамікроскопічне зображення тканини легень щурів за умов інсулінорезистентності **А:** Накопичення жирових крапель в тканині легень. А – порожнина альвеол, Ж – жирові краплі. **Б:** Гіпергідратація аерогематичного бар'єру при інсулінорезистентності. А – порожнина альвеоли, ЛО – локальний набряк; АГБ – аерогематичний бар'єр. **В:** Набряк тканини легень та зростання кількості вільних рибосом. Н – набряк, МХ – мітохондрії; Р – вільні рибосоми. **Г:** Набряк тканини легень і утворення ламелярних тілець. МХ – мітохондрії, ЛТ – ламелярні тільця. Масштаб 1 мкм.

Слід звернути увагу на позитивний факт – більшість мітохондрій мали нативну ультраструктуру, що ймовірно пов'язано з достатньою кількістю «будівельного» матеріалу у вигляді ліпідів, необхідних для підтримання ультраструктури органел.

Також у інсулінорезистентних щурів мала місце гіпергідратація аерогематичного бар'єру (Рис. 3.4.1.Б), що призводило до виникнення структурного компонента ендотеліальної дисфункції.

Вплив гострої гіпобаричної гіпоксії у контрольних щурів викликав гіпергідратацію аерогематичного бар'єру та строми легень, а також вакуалізацію мітохондрій. Мало також місце утворення порожнин у ламелярних тільцях, що може свідчити про порушення функції утворення легеневого сурфактанту. (Рис. 3.4.1. А, Б).

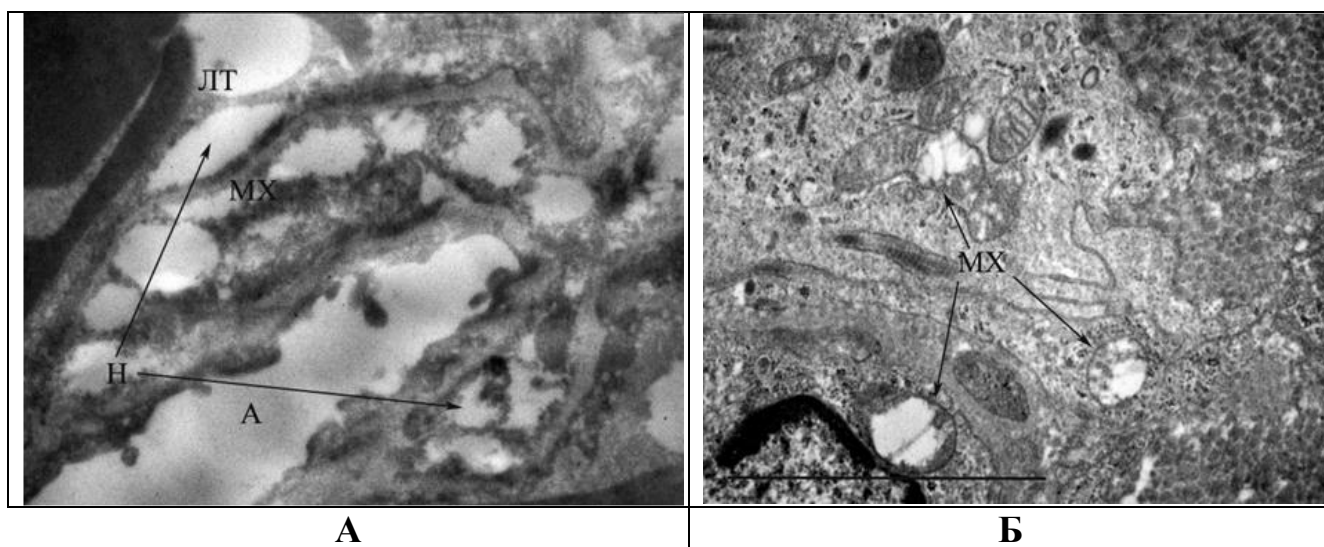


Рис. 3.4.2. Ультрамікроскопічне зображення тканини легень щурів за умов гострої гіпоксії. **А:** Тканина легень при гострій гіпоксії. ЛТ – ламелярне тільце, МХ – мітохондрії, А – порожнина альвеоли, Н – набряк. **Б:** Ультраструктурні зміни мітохондрій в тканині легень при гострій гіпоксії. МХ – мітохондрії. Масштаб 1 мкм.

Вплив гострої гіпобаричної гіпоксії у інсулінорезистентних щурів призводив до збільшення кількості легеневого сурфактанту, хоча при цьому і

залишався наявним локальний набряк під ендотелієм та розвивався внутрішньоальвеолярний набряк. (Рис. 3.4.3)

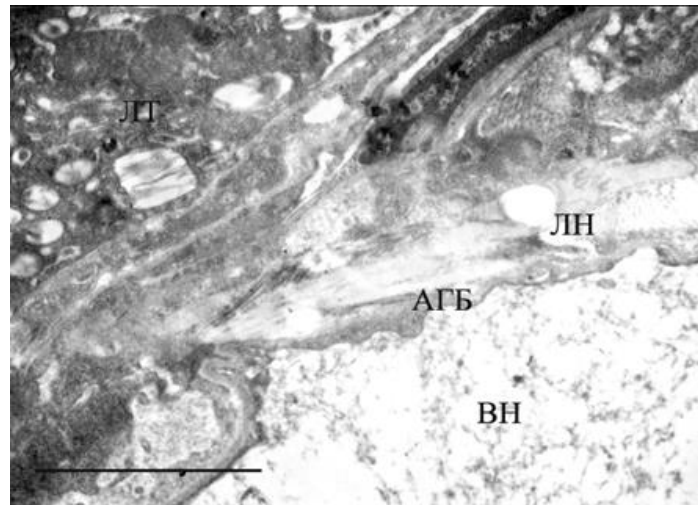


Рис. 3.4.3. Тканина легень у за умов інсулінорезистентності при впливі гіпоксії. ЛТ – ламелярні тільця, ЛН – локальний набряк, АГБ – аерогематичний бар'єр, ВН – внутрішньоальвеолярний набряк. Маштаб 1 мкм.

Також спостерігалось збільшення кількості мітохондрій на різних стадіях мітофагії (Рис. 3.4.5 А), частина з яких знаходились у напруженому стані – про що свідчить розширення та просвітлення матриксу мітохондрій (Рис. 3.4.5 Б).

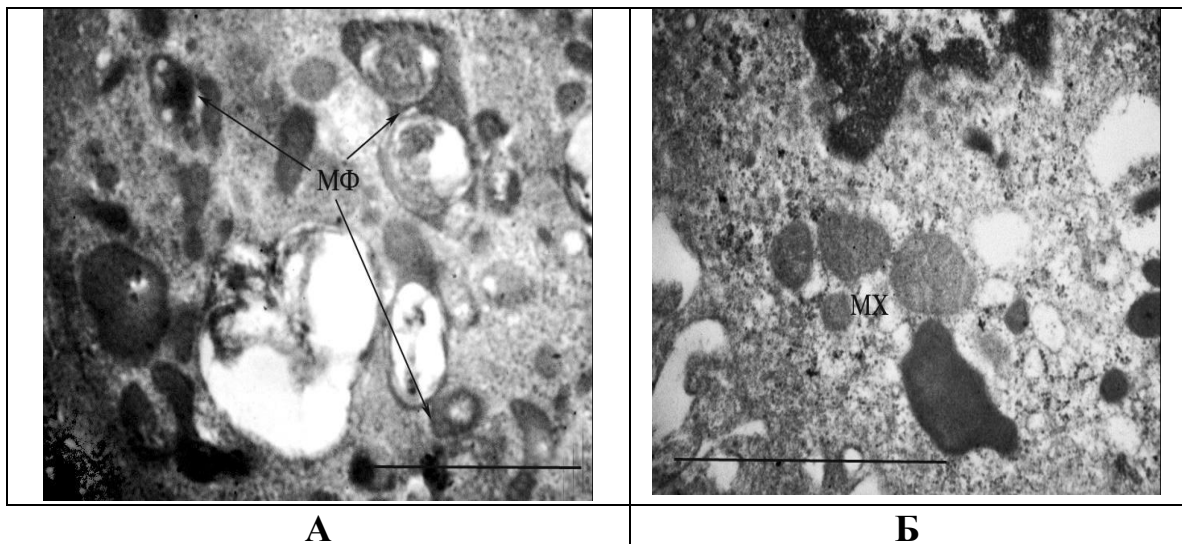


Рис. 3.4.5. Ультраструктурні зміни мітохондрій в тканині легень при гострій гіпоксії за умов інсулінорезистентності. **А:** Ознаки мітофагії у тканині легень. **Б** – розширення матриксу між кристами мітохондрій. МФ – мітофагосоми, МХ – мітохондрії. Масштаб 1 мкм.

За умов блокади повільних кальцієвих каналів у контрольних щурів не спостерігалось виражених змін ультраструктури легень. Проте вплив блокади повільних кальцієвих каналів на тканину легень у щурів із модульованою інсулінорезистентністю також викликав розростання цистерн ЕПР на тлі розвитку локального набряку (Рис. 3.4.6)

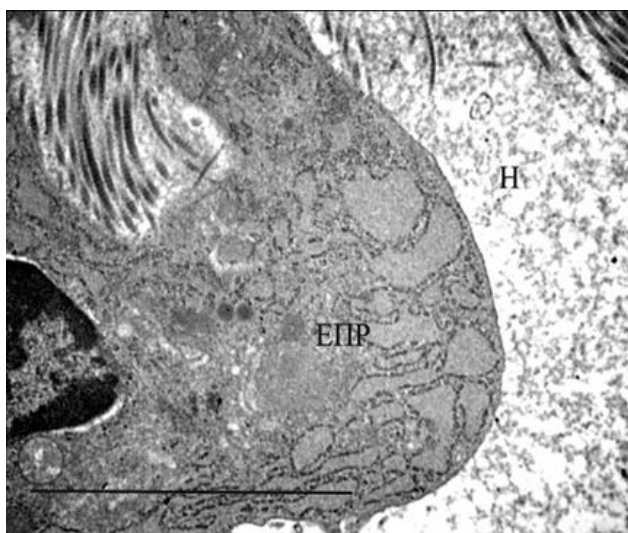


Рис. 3.4.6. Тканина легень за умов інсулінорезистентності та впливу блокади повільних кальцієвих каналів. ЕПР – ендоплазматичний ретикулум. Н – набряк. Машстаб 1 мкм.

Вплив гострої гіпоксії на тлі блокади повільних кальцієвих каналів у щурів з інсулінорезистентністю викликав погіршення ультраструктури легень. Спостерігається не лише гіпергідратація легеневої тканини, як це відбувалось без впливу блокатора (Рис. 3.4.7. А), а і часткова деструкція аерогематичного бар'єру та внутрішньоальвеолярний набряк із крововиливами (Рис. 3.4.7. Б). У багатьох ділянках легеневої тканини спостерігається збільшення цистерн ендоплазматичного ретикулуму, що може свідчити про його активацію у зв'язку із блокадою повільних кальцієвих каналів. Оскільки гладкий ЕПР є кальцієвим депо у клітині, нестача входу кальцію із позаклітинного середовища за необхідності в кальції для внутрішньоклітинного сигналіngu може спричинити вихід кальцію із депо.

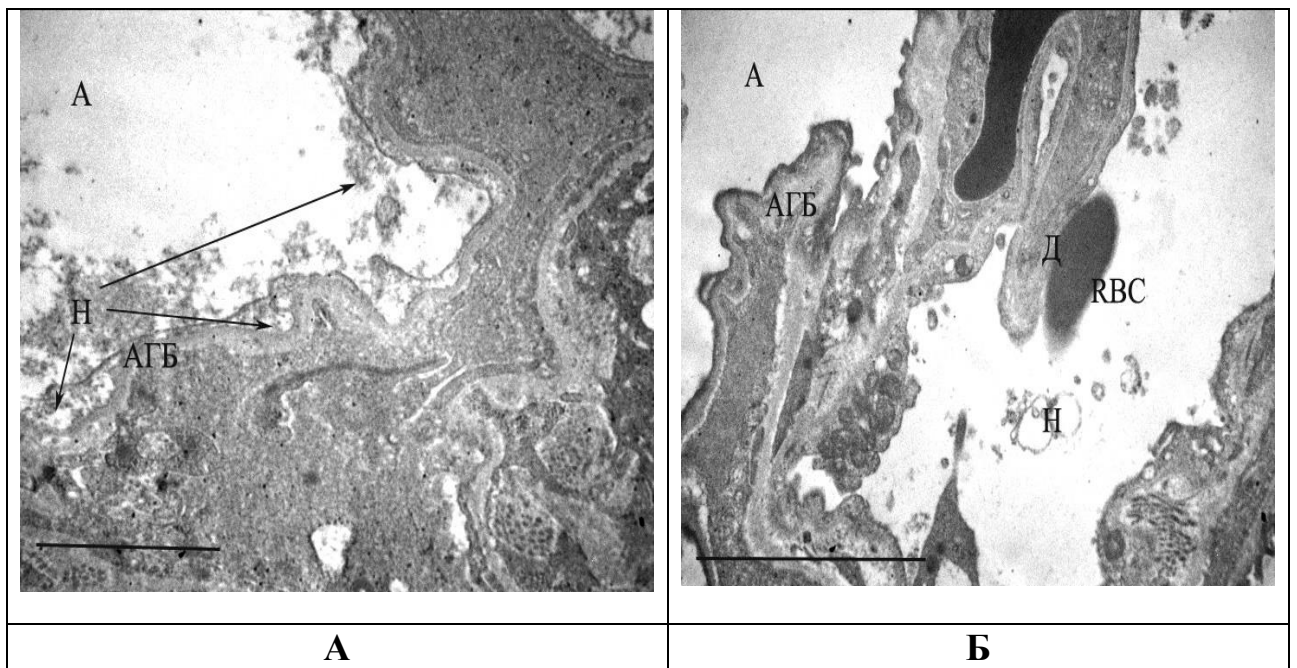


Рис. 3.4.7. Ультраструктура легень при інсулінорезистентності за умов **А:** блокади повільних кальцієвих каналів, **Б:** впливу гострої гіпоксії на тлі блокади повільних кальцієвих каналів. А – альвеола, АГБ – аерогематичний бар'єр, Н – набряк, Д – деструкція аерогематичного бар'єру, RBC – еритроцит. Масштаб 1 мкм.

Отже, при загальному погіршенні ультраструктури легеневої тканини слід зазначити, що морфофункціональний стан мітохондріального апарату залишався близьким до притаманного для контрольних тварин завдяки наявності ліпідів, що можуть слугувати будівельним матеріалом для пошкоджених органел. Паралельно з цим відбувається компенсаторна активація ЕПР, котра завдячує каскаду подій в наслідок, як вказувалось, недостатнього виходу кальцію із позаклітинного середовища при блокаді повільних кальцієвих каналів, що вимагає його виходу з депо. При цьому активація ЕПР при вплив блокади повільних кальцієвих каналів може приймати участь у репаративних процесах щодо структурно пошкоджених мітохондрій, або органел в стані перенапруження, оскільки ЕПР щільно огортає значно зруйновані МХ.

Вважається, що розміщені вільно в цитоплазмі рибосоми та полісоми синтезують білок для потреб самої клітини. Прикріплені ж до мембран гранулярної ендоплазматичної сітки рибосоми, котрі щільно вкривають мембранні поверхні ЕПР, синтезують білок на експорт для екзоцитозу [147]. При застосуванні БКК цей репаративний механізм ймовірно задіяний у легеневій тканині.

3.4.2. Зміни ультраструктури тканин печінки

У інсулінорезистентних щурів спостерігалось накопичення жирових краплин у паренхімі печінки, що може вказувати на початкову стадію її жирового переродження (Рис. 3.4.8). Мітохондрії здебільшого зберігали нативну структуру (рис. 3.4.9 А), розташовувалися у приядерній зоні, приймаючи участь у між'ядерному транспорті, що вважається показником високої активності клітин в тканині. У гепатоцитах, в тому числі поряд із мітохондріями, спостерігалася значна кількість рибосом, часто поєднаних в розетки, що вказує на активний синтез білка. Також постерігався виражений перинуклеарний набряк (Рис. 3.4.9 Б).

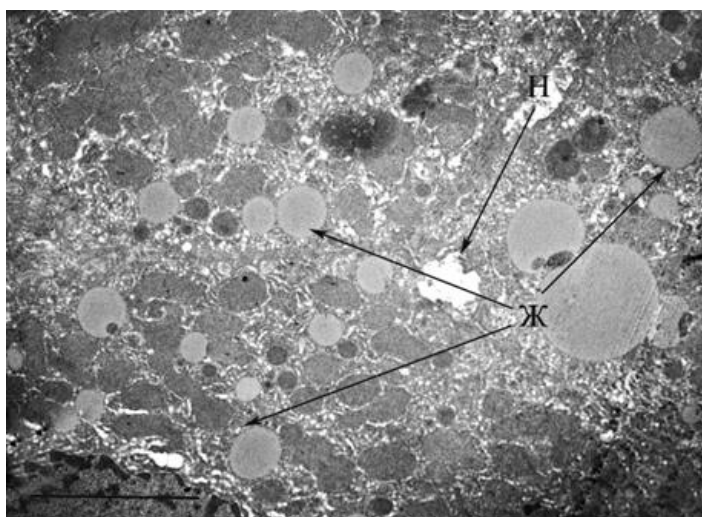


Рис. 3.4.8. Ультраструктура паренхіми печінки за умов інсулінорезистентності: Ж – краплі жиру, Н – набряк. Масштаб 1 мкм.

В цілому можна стверджувати, що у за умов інсулінорезистентності спостерігається ушкодження паренхіми печінки та без виражених ознак змін пулу мітохондрій, на тлі чого відбуваються активні метаболічні процеси і синтез білка.

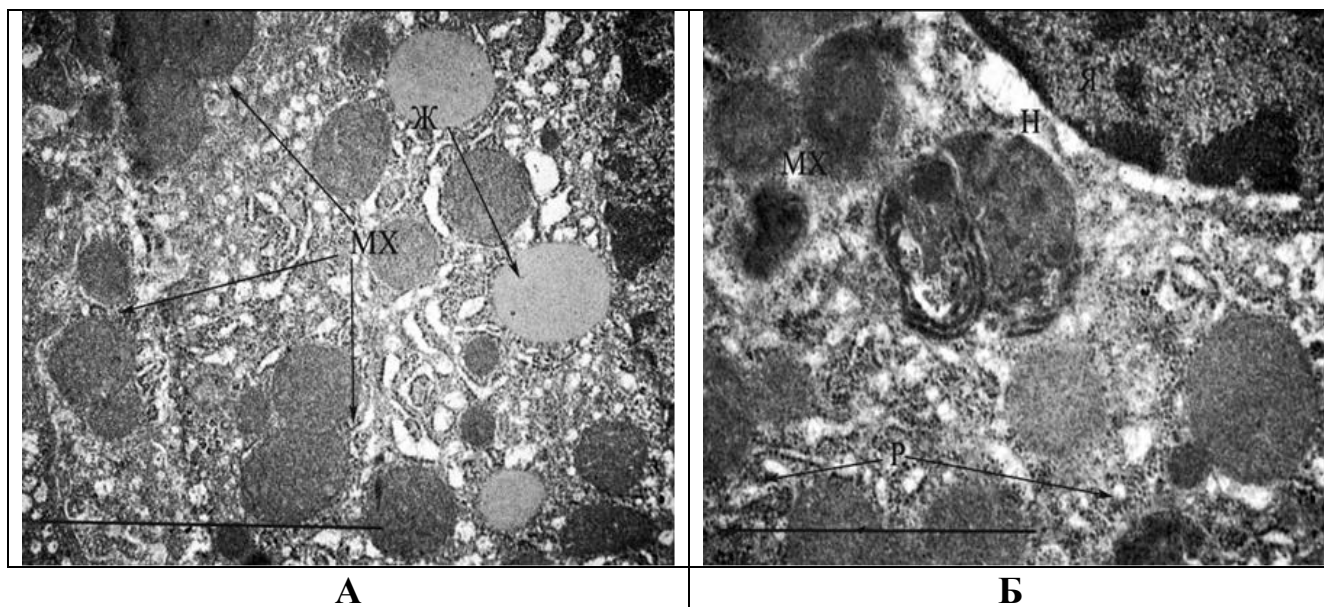


Рис. 3.4.9. Ультраструктура тканини печінки за умов інсулінорезистентності. **А:** мітохондрії у периферичній зоні гепатоцита. **Б:** мітохондрій у перинуклеарній зоні гепатоцита. МХ – мітохондрії, Н – перинуклеарний набряк, Ж – жирові краплі, Р – рибосоми, Я – ядро. Масштаб 1 мкм.

Вплив гострої гіпобаричної гіпоксії призводив до гіпергідратації гепатоцитів з ділянками просочування в тканину рідини та утворення гетерогенного матриксу; мітохондрії подекуди були погано структуровані, виявлявся лізис мітохондріальних мембран та крист (Рис. 3.4.10).

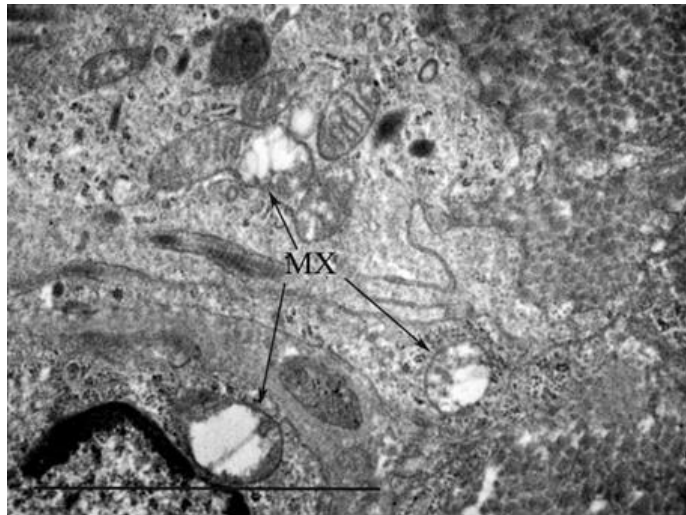


Рис. 3.4.10. Зміни ультраструктури гепатоцита на тлі гострої гіпоксії. МХ – мітохондрії. Масштаб 1 мкм.

У інсулінорезистентних щурів гостра гіпоксія також викликала гіпергідратацію і набряки у гепатоцитах (Рис. 3.4.11 А).

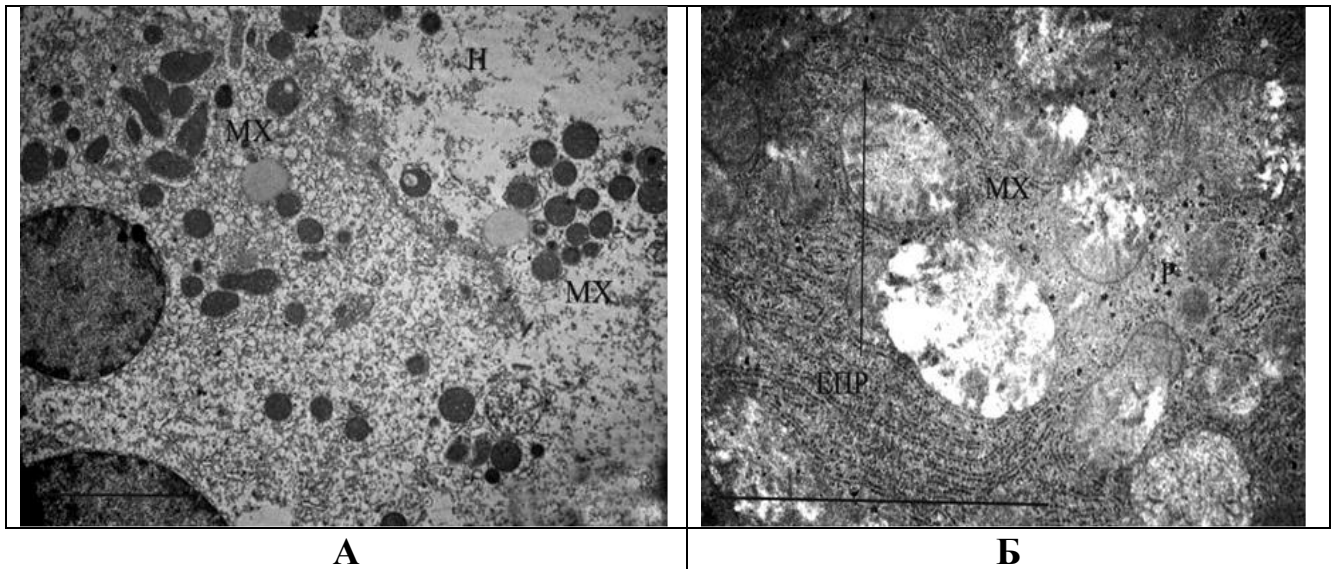


Рис. 3.4.11. Ультраструктура печінки при впливі гострої гіпоксії за умов інсулінорезистентності. **А:** Мітохондрії печінки за умов інсулінорезистентності та гіпоксії; **Б:** Активація синтетичних процесів у гепатоцитах. МХ – мітохондрії, Н – набряк, ЕПР – ендоплазматичний ретикулум, Р – рибосоми. Масштаб 1 мкм.

При цьому мітохондрії в гепатоцитах, хоч і не завжди, зберігали свою нативну ультраструктуру. Крім цього виявлялась часткова, рідше повна, їх вакуолізація (Рис. 3.4.11 Б). Жирові краплі були часто розташовані близько до мітохондрій: імовірно мітохондрії використовують наявні ліпіди в якості будівельного матеріалу, тобто реалізується компенсаторний механізм також, як і зростання синтезу білка – збільшення кількості рибосом та полісом в тканині (Рис. 3.4.11 А, Б).

За умов впливу блокади повільних кальцієвих каналів у контрольних щурів спостерігалась активація гранулярного і агранулярного ЕПР у гепатоцитах, як і у тканині легень. **У щурів з інсулінорезистентністю при впливі гострої гіпоксії блокада повільних кальцієвих каналів** також викликала збільшення площі ендоплазматичного ретикулуму. Набрякові процеси не усувались впливом гіпоксії. При цьому спостерігалось збільшення у розмірах мітохондрій гепатоцитів та їх вакуолізація, а також поява мітохондрій атипової форми (Рис. 3.4.12 А, Б).

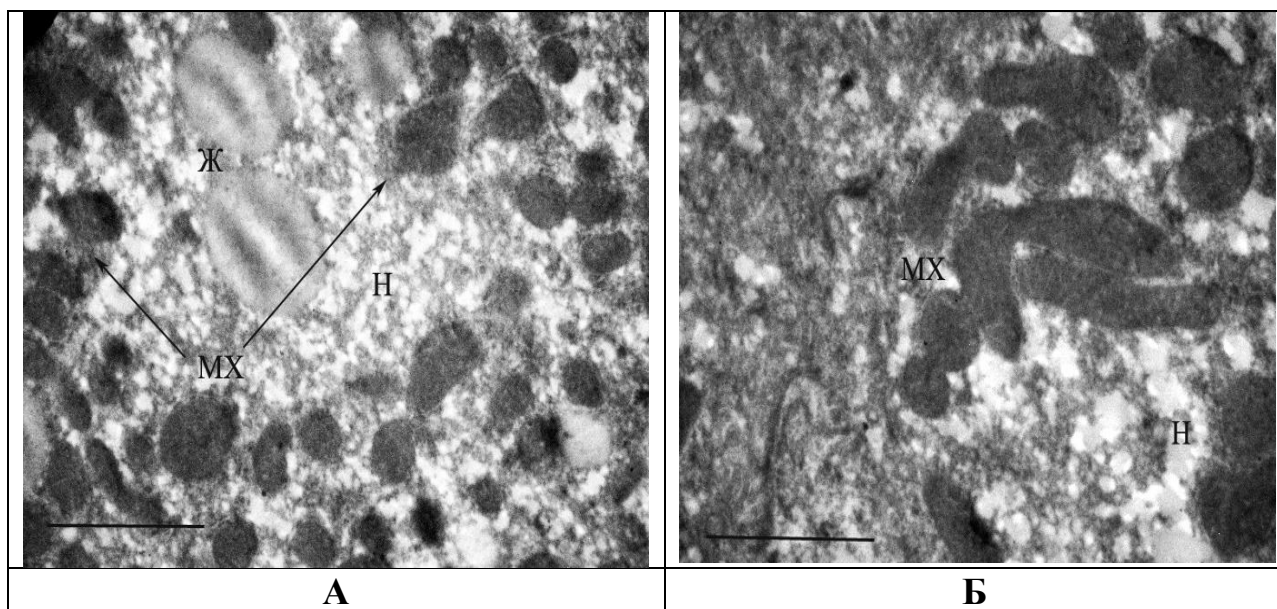


Рис. 3.4.12. Ультраструктура гепатоцитів за умов інсулінорезистентності та блокади повільних кальцієвих при впливі гострої гіпоксії. **А:** Вакуолізація мітохондрій; **Б:** мітохондрії атипової форми. Ж – жирові краплі, МХ – мітохондрії, Н – набряк. Масштаб 1 мкм.

Також було виявлено мітохондрії та цистерни ендоплазматичного ретикулуму у перинуклеарному просторі, що вказує на посилення обмінних процесів в гепатоциті (Рис. 3.4.13).

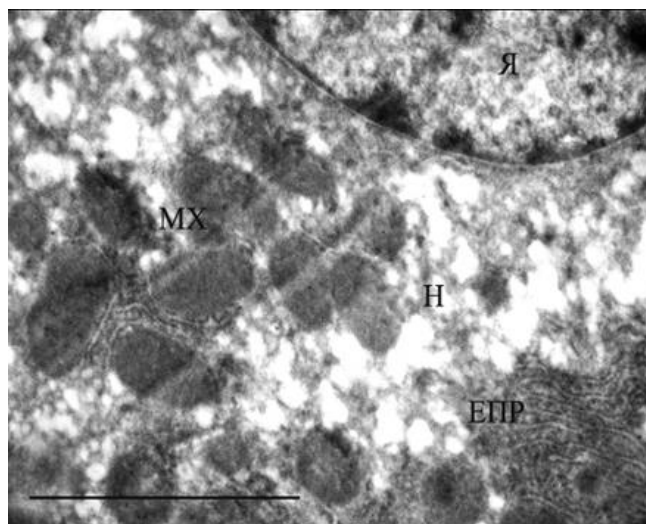


Рис. 3.4.13. Ендоплазматичний ретикулум та мітохондрії у перинуклеарному просторі за умов інсулінорезистентності та гострої гіпоксії при впливі блокади повільних кальцієвих каналів. МХ – мітохондрії, Н – набряк, ЕПР – ендоплазматичний ретикулум, Я – ядро. Масштаб 1 мкм.

Часткова фрагментація ендоплазматичного ретикулуму (Рис. 3.4.13) може свідчити про активацію проапоптичних процесів у гепатоциті, хоча системних ознак апоптозу у тканині виявлено не було.

Отже, за умов розвитку інсулінорезистентності у тканинах легень та печінки спостерігається накопичення жирових включень та зміна функціонального стану мітохондрій. Інсулінорезистентність негативно позначається на морфології аерогематичного бар'єру та призводить до набряків як тканин легень, так і тканин печінки. При цьому за умов впливу гострої гіпоксії у інсулінорезистентних тварин спостерігаються позитивні зміни будови легень та печінки. У тканинах легень жирові включення використовуються для побудови сурфактанту альвеол, а гепатоцити

використовують жирові включення для стабілізації мембран клітинних органел, зокрема мітохондрій.

За умов блокади кальцієвих каналів як в легенях так і у печінці контрольних щурів виникає збільшення об'єму ендоплазматичного ретикулуму, що може свідчити про зміну кальцієвого балансу клітини, і, можливо синтетичних процесів. У інсулінорезистентних щурів блокада кальцієвих каналів призводить до активації синтетичних процесів, переважно у печінці. При впливі гострої гіпоксії посилюється напруження енергопродукції в печінці, про що свідчить збільшення площі мітохондрій та поява мітохондрій і атиповою морфологією. У легенях спостерігається деструкція аерогематичного бар'єру, що, можливо, може призводити до збільшення його проникності, але функціональний стан тканини і її мітохондрій залишається стабільним.

ЗАКЛЮЧНИЙ РОЗДІЛ

Проаналізувавши зміни патерну зовнішнього дихання і газообміну, про- та антиоксидатного балансу в печінці і її енергетичного метаболізму, а також зміни ультраструктури легень і печінки варто відмітити наступне.

За умов інсулінорезистентності, імовірно, зростає еластичний опір легень, тому регуляція дихання відбувається за рахунок збільшення частоти дихання і зниження глибини дихання (ізовентиляторні зміни) [42, 45]. Це підтверджується даними електронної мікроскопії, за якими спостерігається гіпергідратація тканини легень, що може бути пов'язаним із процесами ушкодження легень, які є характерними для інсулінорезистентності [7, 85] та пов'язані зі збільшенням циркуляції у крові вільних жирних кислот та тригліцеридів. Попри це, такі зміни структури легень та патерну дихання призводили до незначного зниження ефективності дихання, що впливає із тенденцій до зниження показників V_{O_2RC} та вентиляційного еквіваленту. При цьому в тканині печінки спостерігалось пригнічення окисного фосфорилування в мітохондріях при застосуванні усіх дихальних субстратів, особливо АДФ-стимульованого дихання (стан V3), на тлі підвищення рівня контрольованого дихання (V4) і, відповідно, вірогідного зниження ефективності мітохондріального дихання (V3/V4). Це може бути пов'язане із зниженням функції як I так і II комплексу ЕТЛ мітохондрій, властивих жировому переродженню печінки [77-78, 101-104], що також узгоджується із даними електронної мікроскопії гепатоцитів – наявність великої кількості жирових включень у клітині та часткова втрата мітохондріями нативної структури. Також у щурів з інсулінорезистентністю спостерігається збільшення концентрації ТБК-реактивних продуктів і напруження системи антиоксидатного захисту, пов'язане із процесами перекисного окиснення ліпідів, що узгоджується із даними літератури [102-103]. Про активацію обміну ліпідів свідчить також зменшення дихального коефіцієнту за рахунок

зниження швидкості виділення вуглекислого газу (\dot{V}_{CO_2}), що було показано у наших попередніх дослідженнях [148].

За умов впливу гострої гіпобаричної гіпоксії у контрольних щурів спостерігаються ізовентиляторні зміни зовнішнього дихання: зниження споживання кисню на тлі зменшення дихального об'єму і зниження швидкості вдиху та видиху. Хоча загальна тривалість дихального циклу суттєво не змінюється, проте зниження легеневої та альвеолярної вентиляції свідчить про більш поверхневе дихання. Електронно-мікроскопічні дослідження вказують на утворення порожнин у ламелярних тільцях, пов'язаних із порушенням утворення легеневого сурфактанту. Зниження показників вентиляції легень можна пояснити тривалістю впливу гострої гіпоксії (3 год), оскільки за літературними даними у регуляцію вентиляторної відповіді на гіпоксію залучається короткотривала депресія у нейронах дихального центру [51]. Вентиляційна адаптація до гіпоксії (VAH) при цьому не спостерігається, оскільки вона проявляється у збільшенні дихального об'єму і хвилинного об'єму дихання у відповідь на тривалу гіпоксію [51, 53].

Як відомо [39-40], при дії гіпоксії в легенях знижується концентрація кисню в альвеолах $F_{I O_2}$, що призводить до включення рефлексу фон Ейлера-Лілієнстранда і автоматичного підвищення тону легневих судин, внаслідок чого виникає гіпоксична вазоконстрикція. Виникнення цього стану накладає суттєве навантаження на праві відділи серця, перенавантаження яких тривалий час може призвести до переключення на більш низький рівень загального енергетичного метаболізму і зниження споживання кисню [132]. У нашому дослідженні спостерігалось зменшення альвеолярної вентиляції, швидкості доставки кисню в легені, зменшення швидкісних показників патерну дихання та зменшення споживання кисню, що свідчить про зниження навантаження на легені і зменшення енергетичного метаболізму при впливі гострої гіпобаричної гіпоксії.

Гіпобарична гіпоксія тривалістю 3 години не викликала виражених змін про- та антиоксидантного балансу печінки, хоча впливала на структуру мітохондрій, які збільшувались у розмірах і втрачали нативну структуру. Це позначалось на процесах окисного фосфорилування: спостерігалось пригнічення активного дихання (V_3) у I комплексі ЕТЛ, в той час як окиснення ФАД-залежного субстрату сукцинату та функціонування II комплексу було менш вразливим до впливу гіпоксії, що узгоджується із даними літератури [32-33]. Оскільки IV комплекс ЕТЛ також пошкоджується гіпоксією [32], витік електронів має спровокувати утворення АФК проте цього не спостерігалось. Імовірно, це пояснюється активацією редукційного декарбоксілювання у мітохондріях, яке має місце за умов впливу гіпоксії [21, 29-31].

Вплив гострої гіпоксії на інсулінорезистентних щурів викликав зростання рівня газообміну в організмі: підвищувалося споживання кисню і видалення діоксиду вуглецю, а дихальний коефіцієнт знизився. Як відомо, гіпоксія при високожировій дієті викликає посилене виділення вуглекислого газу [116], що і спостерігалось у нашому дослідженні. Збільшення об'єму спожитого кисню на тлі зростання його доставки в альвеоли може вказувати не лише на збільшення його споживання тканинами. Це може свідчити і про посилення імпульсації з хеморецепторів, оскільки збільшення кількості інсуліну у крові безпосередньо може активувати каротидні тільця разом із збільшенням напруження вуглекислого газу у крові, що є причиною збільшення об'єму виділення CO_2 та збільшення його парціального тиску в альвеолах [116-117]. Посилення імпульсації із каротидних тілець пов'язують із розвитком саме інсулінорезистентності: вона призводить до збільшення рівня лептину та прозапальних цитокінів $IL-1\beta$, $TNF\alpha$ та $IL-6$, незалежно від наявності ожиріння [120]. Також є дослідження, в яких показано, що розвиток ожиріння при наявній інсулінорезистентності у щурів провокує більш виражені зміни легеневої вентиляції при гіпоксії, ніж за нормоксичних умов [121].

Внаслідок зростання рівня енергетичного обміну, спостерігалось посилення легеневої вентиляції за рахунок стеновентиляторної перебудови дихання [42]: зростали як частота дихання, так і дихальний об'єм. Доставка кисню в легені збільшувалась за рахунок підвищення активності дихальної мускулатури: це проявлялось у збільшенні пікової та середньої швидкості вдиху та видиху і узгоджується із даними літератури [41-43].

На думку деяких авторів стимулятором дихання за умов вживання високожирової дієти є гіперкапнія, тоді як гіпоксія радше пригнічує дихання при моделюванні інсулінорезистентності високожировою дієтою у тварин [115]. У нашому дослідженні вживання корму тваринами із високим вмістом нутрощового жиру тривало 2 тижні [130], тоді як за даними Speretta et al [115] – 12 тижнів, тому за наявної інсулінорезистентності збільшення рівня ліпідів у крові може активно використовуватись тканинами при навантаженні на організм, зокрема серцем, що показано в інших дослідженнях [149-151]. Зростання споживання кисню може бути обумовлено зростанням потужності серця при високожировій дієті. Відомо [1], що головним субстратом окиснення для міокарду є ліпіди. При впливі гіпоксії інтенсивно працюючий міокард може ушкоджуватись вільними радикалами, проте було показано, що при додаванні поліненасичених жирних кислот (ω -3) у раціон спостерігається пригнічення процесів перекисного окиснення. Окрім цього зникає ефект пригнічення гіпоксією супероксиддисмутази, важливого ензиму антиоксидантного захисту при гіпоксії [152].

За даними електронної мікроскопії легень спостерігались процеси мітофагії альвеолах, що, імовірно, ініціюється за участі транскрипційного фактора HIF-1 [25-26]. У гепатоцитах виявлено вакуалізацію мітохондрій, розростання цистерн ЕПР та збільшення кількості полірибосом і жирових включень. Останні розташовувались біля мітохондрій. Це може свідчити про використання ліпідних включень мітохондріями у якості будівельного матеріалу. При цьому буде відбуватися посилення синтезу білків-адаптерів до гіпоксії, індукованих HIF-залежними механізмами [25, 33].

Щодо енергетичного метаболізму в тканинах печінки показано, що вплив гострої гіпобаричної гіпоксії при інсулінорезистентності здійснювався на I комплекс ЕТЛ, зокрема на окиснення ліпідного субстрату пальмітоїлу, при цьому окиснення гліколітичного субстрату пірувату знижувалось. Окиснення глутамату в порівнянні з групою ВЖД без впливу гіпоксії також посилювалось, хоча не досягало контрольних значень. Вплив на II комплекс ЕТЛ та окиснення ФАД-залежного субстрату сукцинату був менш вираженим – дещо посилювалось роз'єднання окиснення із фосфорилуванням (збільшення V2 порівняно з контролем) без суттєвих змін для ефективності дихання (V3/V4), що узгоджується із даними отриманими Oliveira et al [153]. Це могло спровокувати потік електронів із ЕТЛ і утворення активних форм кисню, що підтверджується даними біохімії: зростала концентрація реактивних продуктів тіобарбітурової кислоти та активність КАТ, а також рівень відновленого глутатіону, хоча причиною збільшення рівня відновленого глутатіону та зростання активності каталази, імовірно, є саме інсулінорезистентність [97], а не гіпоксія (Табл. 3.3.1).

Таким чином, вплив гострої гіпоксії за умов інсулінорезистентності підвищує споживання кисню, відбувається посилення вентиляції і доставки кисню до тканин організму, на відміну від впливу гіпоксії без інсулінорезистентності, для якого характерно зниження споживання кисню, зниження рівня метаболізму та гіпоглікемія [Портніченко, 2012]. Напротивагу іншим дослідникам [Mesarvi, 2019] ми показали, що навантаження на організм гострою гіпоксією при інсулінорезистентності призводить до зниження дихального коефіцієнту, що свідчить про підвищення вживання жиркових субстратів організмом. Це ілюструється стабільним окисненням ліпідних субстратів у печінці, на фоні зниження окиснення інших субстратів. Це узгоджується із даними про вплив хронічної гіпоксії на виникнення і перебіг жирового переродження печінки і ріст новоутворень у печінці [154] та залежності метаболізму ліпідів від NIF [155]. Також раніше було показано, що

в печінці за впливу гострої гіпоксії відбувається перемикання метаболізму у мітохондріях на використання ліпідів [9].

На тлі блокади кальцієвих каналів L-типу у контрольних щурів спостерігалось більш часте і неглибоке дихання (зокрема за рахунок подовження видиху), яке суттєво не позначалось на вентиляції легень. Ці зміни патерну дихання можуть бути спричинені зміною тонусу дихальних шляхів [131, 146]. Незначне збільшення доставки кисню при зниженні його екстракції могло бути обумовлене збільшенням запиту тканин на кисень. При цьому показники ефективності зовнішнього дихання на тлі блокади повільних кальцієвих каналів (V_{Eq} , \dot{V}_{O2RC}) знижувались відносно контрольних тварин.

Морфологічні зміни на тлі впливу БКК не проявлялись у тканинах легень і печінки. У контрольних щурів блокада повільних кальцієвих каналів не впливала на гомеостаз про- та антиоксидантів.

Спостерігалось незначне зниження активності окисного фосфорилування в мітохондріях печінки, зокрема активного дихання (рівень V3) на всіх окиснювальних субстратах. Імовірно, це пов'язано із зниженням доставки кисню до печінки, що підтверджується даними про зниження його екстракції із альвеол. Цим також пояснюється зростання рівня контрольованого дихання (V4) в порівнянні з контролем при окисненні кисень-залежного субстрату сукцинату, і недостовірне підвищення відносно контрольної групи рівня V4 при окисненні суміші піруват+малат, продуктів гліколізу. Зниження доставки кисню до печінки посилює у ній процесі анаеробного дихання, що узгоджується із даними літератури [22, 32]. Окрім цього опосередкованого впливу, блокада кальцієвих каналів L-типу може впливати на Купферівські та зірчасті непаренхіматозні клітини печінки, що позначатиметься на синтетичній активності гепатоцитів, а отже енергізації мітохондрій [156-158].

Застосування блокади повільних кальцієвих каналів у інсулінорезистентних щурів викликало стеновентиляторні зміни зовнішнього дихання [148]: спостерігалось збільшення частоти дихання на тлі зниження дихального об'єму, що призводило до зниження хвилинного об'єму дихання і альвеолярної вентиляції. БКК знижувала доставку кисню, імовірно збільшуючи тонус дихальних шляхів у інсулінорезистентних щурів більшою мірою, ніж у контрольних щурів [131, 146]. Головним чином це позначилось на глибині дихання: воно стало більш поверхневим, швидкість і тривалість видиху при цьому зросла – дихання стало менш ефективним. При цьому запит на кисень тканинами у інсулінорезистентних тварин зростав. Можна припустити, що при наявності інсулінорезистентності регуляція патерну дихання більшою мірою залежить від кальцієвих механізмів, ніж за умов відсутності інсулінорезистентності.

Дослідження ультраструктури легень за умов впливу БКК на щурів із інсулінорезистентністю виявило появу набряку в альвеолах і розростання цистерн ЕПР. Таким чином, стрес ендоплазматичного ретикулуму, який розвивається за умов збільшення ВЖК та ТГ при інсулінорезистентності [7, 85] не усувається блокадою повільних кальцієвих каналів, як це відбувається, наприклад, у β -клітинах підшлункової залози [159].

Цікаво, що в печінці інсулінорезистентних щурів блокада повільних кальцієвих каналів позначалась на утворенні ТБК-реактивних продуктів знижуючи їх продукцію, також спостерігалася тенденція до зниження активності супероксиддисмутази. Імовірно, за умов інсулінорезистентності БКК впливає на розвиток оксидативного стресу через зниження доставки кисню до тканин і зниження його споживання. Також відомо, що Купферівські клітини є основними продуцентами активних форм кисню в печінці і можуть викликати «кисневий вибух» [160] і вони мають рецептори повільних кальцієвих каналів L-типу [156]. Тому блокада повільних кальцієвих каналів може суттєво впливати на продукування ROS [161]. Це узгоджується із показниками енергізації мітохондрій печінки, оскільки блокада повільних

кальцієвих каналів вірогідно знижувала окиснення ліпідного субстрату пальмітоїлу (рівень V3), глутамату (рівень V2 та V3) впливаючи на потік електронів через I комплекс ЕТЛ, і більшою мірою окиснення кисень-залежного сукцинату (II комплекс ЕТЛ). При цьому окиснення продукту гліколізу пірувату хоча і було вірогідно нижчим на рівні V3, але це не позначилось вірогідно на ефективності окисного фосфорилування (V3/V4) в порівнянні з контролем. Отже, БКК опосередковано впливає на окисне фосфорилування в печінці при інсулінорезистентності, знижуючи рівень клітинного дихання і генерацію ROS, що було продемонстровано у дослідженнях на мишах та щурах і відбувається через пригнічення РІЗК [128, 162] і такий вплив БКК на печінку при інсулінорезистентності можна вважати протективним. Інший позитивний вплив БКК на печінку виявлений у щурів, а також у мишей, через ініціацію процесів аутофагії, що сприяє регенерації тканини печінки внаслідок її ушкодження в умовах інсулінорезистентності [13-14, 126-127].



Рис. 4.1. Узагальнююча схема впливу інсулінорезистентності та блокади повільних кальцієвих каналів за нормоксичних умов на вентиляцію легень і окисне фосфорилування у печінці.

Вплив БКК на тлі гострої гіпобаричної гіпоксії призводив до ізовентиляторних змін: перебудова дихання відбувалась за рахунок збільшення частоти дихання і зменшення дихального об'єму – дихання ставало більш поверхневим. Вдих ставав довшим за видих, хоча потужність вдиху і видиху не змінювалась як це спостерігається при впливі ГГ без блокатора. При цьому спостерігалось значне зменшення виведення вуглекислого газу із організму і зниження дихального коефіцієнта – як відносно контролю, так і відносно групи щурів із впливом гострої гіпоксії без БКК. Запит тканин на кисень при цьому не змінювався, а постачання кисню в альвеоли ставало меншим.

Отже, БКК в поєднанні із гіпоксією призводить до покращення вентиляції, усуваючи порочне коло, яке спричинене посиленням навантаження на серце, зумовленого гіпоксичною вазоконстрикцією (рефлекс фон Ейлера-Лілієнстранда) [40]. За даними літератури, блокатори повільних кальцієвих каналів можуть бути використані при легеневій гіпертензії з метою покращення вентиляційно-перфузійного співвідношення оскільки БКК сприяє збільшенню функціональної ємності легень [163].

Морфологічних змін від впливу БКК в гіпоксичних умовах на легені в порівнянні з групою гострої гіпоксії виявлено не було. Також можна стверджувати, що при порівнянні цих груп блокада кальцієвих каналів не впливає на про- та антиоксидантний гомеостаз за умов гіпоксії, як і за умов нормоксії.

У тканині печінки спостерігалось зниження АДФ-стимульованого дихання (V3) при окисненні сукцинату, пірувату, і пальмітоїлу, але не глутамату. Зниження ефективності окисного фосфорилювання (V3/V4) спостерігалось при окисненні ФАД-залежного сукцинату більшою мірою, ніж при впливі гіпоксії без БКК. Також знижувалась ефективність окисного фосфорилювання для НАД-залежних субстратів – «жирового» пальмітоїлу та «гліколітичного» пірувату. Проте окиснення пальмітоїлу відбувається більш ефективно за умов дії гіпоксії із застосуванням БКК. Таким чином зниження дихального коефіцієнту у групі БКК+ГГ відносно групи ГГ може свідчити не

лише про зниження рівня метаболізму тканин організму, але і про перехід на окиснення більш «енерговмісних» субстратів.

За даними літератури, перфузія ізольованої печінки щурів верапамілом суттєво знижує рівень гліколізу та продукції лактату і пірувату, причому спостерігається дозозалежний ефект [164]. Таким чином БКК за умов впливу гіпоксії впливає на енергетичний метаболізм печінки як опосередковано – через серцево судинну систему, так і прямо – знижуючи рівень глюконеогенезу, і меншою мірою рівень глікогенолізу [164].

Отже, блокада повільних кальцієвих каналів при гострій гіпоксії сприяє оптимальній перебудові зовнішнього дихання та знижує рівень енергетичного метаболізму в печінці.

За умов впливу **гострої гіпобаричної гіпоксії у інсулінорезистентних щурів на тлі блокади кальцієвих каналів L-типу** спостерігались стеновентиляторні зміни зовнішнього дихання: зростав дихальний об'єм на тлі незмінної частоти дихання, зростав хвилинний об'єм дихання та альвеолярна вентиляція, збільшувалось споживання кисню і його доставка в альвеоли. Це відбувалось за рахунок збільшення глибини вдиху і вкорочення видиху.

Посилення легеневої вентиляції у інсулінорезистентних щурів при гіпоксії залежить від впливу блокади повільних кальцієвих каналів: легенева вентиляція зростає відносно контролю меншою мірою, ніж у групі ВЖД+ГГ, а також є вірогідно нижчою як відносно контролю, так і відносно групи ВЖД+ГГ. Споживання кисню не відрізняється від контролю, хоча без впливу БКК воно було вірогідно вищим. Так само виділення вуглекислого газу з організму зростає невірогідно, і, як наслідок, RQ не відрізняється від контрольних значень. Таким чином блокада кальцієвих каналів знижує рівень метаболізму у інсулінорезистентних щурів при гострій гіпобаричній гіпоксії.

Вакуолізація мітохондрій печінки та поява мітохондрій атипової форми у гепатоцитах, а також поява цистерн ЕПР у перинуклеарному просторі (Рис. 3.4.12, Рис. 3.4.13) свідчить про посилення процесів обміну речовин у

гепатоцитах та напруження енергопродукції. Незалежно від впливу БКК у інсулінорезистентних щурів за умов гіпоксії спостерігається посилення генерації активних форм кисню відносно контрольної групи. Цікаво, що при цьому БКК спричиняє зниження активності супероксиддисмутази у тканині печінки (Рис. 3.3.2). Імовірно, зниження активності СОД пов'язане із пригніченням кальцій-залежного білку регукальцину. Регукальцин сприяє активації СОД і залежить від рівня іонів кальцію в цитоплазмі [15]. Також є дослідження, які показали, що використання омега-3-жирних кислот сприяє усуненню пригнічення супероксиддисмутази при вільнорадикальному ушкодженні міокарду [165]. Отже, генерація активних форм кисню при інсулінорезистентності та гіпоксії не залежить від кальцієвих механізмів, проте є зв'язок між активністю СОД та блокадою повільних кальцієвих каналів – при БКК знижується активність СОД, яка зростала у інсулінорезистентних щурів.

Вплив БКК на інсулінорезистентних щурів за умов гострої гіпоксії, який супроводжувався посиленням виділення CO_2 з легень на тлі незмінного його парціального тиску в альвеолах, може свідчити про інтенсифікацію метаболізму і перехід на більш «енерговмісні» субстрати окиснення, а саме на пальмітоїл, на що вказують дані полярографії. Також спостерігається збільшення окиснення кисень-залежного субстрату сукцинату в порівнянні із таким у інсулінорезистентних щурів на тлі блокади кальцієвих каналів. При цьому споживання кисню тканиною печінки є нижчим в порівнянні із таким при інсулінорезистентності за умов гіпоксії без БКК, особливо при окисненні гліколітичного субстрату пірувату, що, як було згадано вище, опосередковується кальцієвими механізмами [164].



Рис. 4.2. Узагальнююча схема впливу інсулінорезистентності та блокади повільних кальцієвих каналів за гіпоксичних умов на вентиляцію легень і окисне фосфорилювання у печінці.

Підсумовуючи вищезазначене, варто додати, що БКК, впливаючи на серце, яке активно споживає ліпіди [1, 165] викликає не лише зниження частоти і сили серцевих скорочень, але і зниження рівня метаболізму, перешкоджаючи кальцій-індукованому вивільненню кальцію із ЕПР [12]. Це може, у свою чергу, позначатись і на енергетичному метаболізмі печінки, оскільки запит на кисень тканинами у щурів із інсулінорезистентністю при впливу гіпоксії та БКК не змінювався, як і не зазнали змін вентиляція легень та доставка кисню.

Таким чином, блокада кальцієвих каналів сприяє більш ефективному пристосуванню зовнішнього дихання до гострої гіпобаричної гіпоксії у інсулінорезистентних щурів.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі відповідно до поставлених завдань вирішено наукове питання перебудови зовнішнього дихання і енергетичного метаболізму печінки у щурів при гіпоксії та інсулінорезистентності та зроблено наступні висновки:

1. За умов інсулінорезистентності встановлено, що вентиляція легень знижується за рахунок зменшення дихального об'єму, пов'язаного зі збільшенням еластичного опору легень і локального набряку, визначено зниження енергетичного метаболізму. Окиснювальна функція мітохондрій печінки знижується за рахунок змін як I, так і II комплексу електронтранспортного ланцюга, що призводить до активації процесів перекисного окиснення ліпідів і порушення редокс-балансу на тлі ліпідної інфільтрації гепатоцитів.
2. Вплив гіпоксії на інсулінорезистентних щурів збільшує споживання кисню організмом, внаслідок чого спостерігається перебудова патерну дихання, зростає вентиляція легень, підвищується кількість спожитого кисню за один дихальний цикл у 2 рази без змін вентиляційного еквіваленту, знижується дихальний коефіцієнт на 40% відносно інсулінорезистентних тварин без впливу гіпоксії. Посилюється продукція сурфактанту, на відміну від тварин без інсулінорезистентності. Після впливу гіпоксії виявлена перебудова енергетичного метаболізму з переважанням використання мітохондріями жирних субстратів окиснення, в той час як окиснення пірувату знижується. Показано, що при гіпоксії II комплекс ЕТЛ мітохондрій активно залучається в енергетичний метаболізм як у контрольних, так і у інсулінорезистентних щурів. У останніх змінюється редокс-баланс печінки в бік переважання прооксидантних процесів.
3. Блокада кальцієвих каналів (БКК) за умов інсулінорезистентності сприяє перебудові енергетичного метаболізму печінки з активацією анаеробних

механізми синтезу АТФ. При цьому споживання кисню, виділення вуглекислого газу організмом та дихальний коефіцієнт знижуються. У тканині легень та печінки спостерігається розростання цистерн ендоплазматичного ретикулуму і посилення синтетичних процесів. Вміст вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів в печінці під дією блокади повільних кальцієвих каналів знижується на 11%, що супроводжується змінами антиоксидантних систем, зокрема активності каталази на 36%.

4. Після впливу гіпоксії в умовах блокади повільних кальцієвих каналів знижується індуковане гіпоксією споживання кисню у інсулінорезистентних щурів. БКК сприяє відновленню про- та антиоксидантного гомеостазу в печінці та оптимізує процеси окисного фосфорилування, внаслідок чого споживання кисню стає нижчим. Дихальний коефіцієнт не відрізняється від контролю, а об'ємні швидкості вдиху і видиху зростають в середньому на 50%, дихальний об'єм збільшується на 35% відносно контролю. У тканинах легень та печінки за умов БКК відмічаються процеси структурної регенерації у відповідь на гіпоксичні ушкодження. Отже, блокада повільних кальцієвих каналів чинить протективний вплив на зовнішнє дихання і енергетичний метаболізм при інсулінорезистентності та при впливі гіпоксії на організм щурів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Nelson, D.L., Cox, M.M. (2017). *Lehninger principles of biochemistry: International edition (7th ed.)*. New York, NY: W.H. Freeman.
2. Semenza GL. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. *Cell*. 2012 Feb 3;148(3):399-408.
3. Moris D, Pawlik TM. Liver hypoxia as a trigger to liver regeneration: No more than another piece of the puzzle. *Surgery*. 2017 Apr;161(4):1176-1177.
4. Ichiki T, Sunagawa K. Novel roles of hypoxia response system in glucose metabolism and obesity. *Trends Cardiovasc Med*. 2014 Jul;24(5):197-201.
5. Petersen MC, Shulman GI. Mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiol Rev* 2018;98:2133-223.
6. Gaspers LD, Pierobon N, Thomas AP. Intercellular calcium waves integrate hormonal control of glucose output in the intact liver. *J Physiol*. 2019 Jun;597(11):2867-2885.
7. Baffi CW, Wood L, Winnica D, Strollo PJ Jr, Gladwin MT, Que LG, Holguin F. Metabolic Syndrome and the Lung. *Chest*. 2016 Jun;149(6):1525-34.
8. Perry RJ, Camporez JG, Kursawe R, Titchenell PM, Zhang D, Perry CJ, et al. Hepatic acetyl CoA links adipose tissue inflammation to hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Cell* 2015;160:745-58.
9. O'Brien KA, McNally BD, Sowton AP, Murgia A, Armitage J, Thomas LW, Krause FN, Maddalena LA, Francis I, Kavanagh S, Williams DP, Ashcroft M, Griffin JL, Lyon JJ, Murray AJ. Enhanced hepatic respiratory capacity and altered lipid metabolism support metabolic homeostasis during short-term hypoxic stress. *BMC Biol*. 2021 Dec 15;19(1):265.
10. Tian YM, Liu Y, Wang S, Dong Y, Su T, Ma HJ, Zhang Y. Anti-diabetes effect of chronic intermittent hypobaric hypoxia through improving liver insulin resistance in diabetic rats. *Life Sci*. 2016 Apr 1;150:1-7.

11. Liss B, Striessnig J. The Potential of L-Type Calcium Channels as a Drug Target for Neuroprotective Therapy in Parkinson's Disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2019 Jan 6;59:263-289.
12. Lin Y, Ma L. Blood pressure lowering effect of calcium channel blockers on perioperative hypertension: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Nov;97(48):e13152.
13. Czaja MJ. A new mechanism of lipotoxicity: Calcium channel blockers as a treatment for nonalcoholic steatohepatitis? *Hepatology*. 2015 Jul;62(1):312-4.
14. Koga H, Kaushik S, Cuervo AM. Altered lipid content inhibits autophagic vesicular fusion. *FASEB J*. 2010;24:3052–3065.
15. Yamaguchi M. Regulatory role of regucalcin in heart calcium signaling: Insight into cardiac failure (Review). *Biomed Rep*. 2014 May;2(3):303-308.
16. Zimmerman JJ, Saint André-von Arnim A, McLaughlin, J. (2011). Cellular Respiration. *Pediatric Critical Care*, 1058–1072.
17. Gropper S, Smith JL. (2013). *Advanced Nutrition and Human metabolism*. (6th ed.). Wadsworth Central Learning, 21-29.
18. MacDonald MJ, Fahien LA, Brown LJ, Hasan NM, Buss JD, Kendrick MA. Perspective: emerging evidence for signaling roles of mitochondrial anaplerotic products in insulin secretion. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2005 Jan;288(1):E1-15.
19. Fuhrmann DC, Brüne B. Mitochondrial composition and function under the control of hypoxia. *Redox Biol*. 2017 Aug;12:208-215.
20. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995 Jun 6;92(12):5510-4.
21. Bargiela D, Burr SP, Chinnery PF. Mitochondria and Hypoxia: Metabolic Crosstalk in Cell-Fate Decisions. *Trends Endocrinol Metab*. 2018 Apr;29(4):249-259.
22. Chance B, Williams GR. A method for the localization of sites for oxidative phosphorylation. *Nature*. 1955 Aug 6;176(4475):250-4.

23. Ochiai D, Goda N, Hishiki T, Kanai M, Senoo-Matsuda N, Soga T, Johnson RS, Yoshimura Y, Suematsu M. Disruption of HIF-1 α in hepatocytes impairs glucose metabolism in diet-induced obesity mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011 Nov 25;415(3):445-9.
24. Goda N, Kanai M. Hypoxia-inducible factors and their roles in energy metabolism. *Int J Hematol*. 2012 May;95(5):457-63.
25. Semenza GL. Regulation of metabolism by hypoxia-inducible factor 1. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2011;76:347-53.
26. Shadel GS, Horvath TL. Mitochondrial ROS signaling in organismal homeostasis. *Cell*. 2015 Oct 22;163(3):560-9.
27. Fuhrmann DC, Wittig I, Heide H, Dehne N, Brüne B. Chronic hypoxia alters mitochondrial composition in human macrophages. *Biochim Biophys Acta*. 2013 Dec;1834(12):2750-60.
28. Kubli DA, Gustafsson AB. Mitochondria and mitophagy: the yin and yang of cell death control. *Circ Res*. 2012 Oct 12;111(9):1208-21.
29. Plecítá-Hlavatá L, Ježek P. Integration of superoxide formation and cristae morphology for mitochondrial redox signaling. *Int J Biochem Cell Biol*. 2016 Nov;80:31-50.
30. Jiang L, Shestov AA, Swain P, Yang C, Parker SJ, Wang QA, Terada LS, Adams ND, McCabe MT, Pietrak B, Schmidt S, Metallo CM, Dranka BP, Schwartz B, DeBerardinis RJ. Reductive carboxylation supports redox homeostasis during anchorage-independent growth. *Nature*. 2016 Apr 14;532(7598):255-8.
31. Metallo CM, Gameiro PA, Bell EL, Mattaini KR, Yang J, Hiller K, Jewell CM, Johnson ZR, Irvine DJ, Guarente L, Kelleher JK, Vander Heiden MG, Iliopoulos O, Stephanopoulos G. Reductive glutamine metabolism by IDH1 mediates lipogenesis under hypoxia. *Nature*. 2011 Nov 20;481(7381):380-4.
32. Wise DR, Ward PS, Shay JE, Cross JR, Gruber JJ, Sachdeva UM, Platt JM, DeMatteo RG, Simon MC, Thompson CB. Hypoxia promotes isocitrate dehydrogenase-dependent carboxylation of α -ketoglutarate to citrate to support

- cell growth and viability. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Dec 6;108(49):19611-16.
33. Lukyanova L.D. (2019). Signaling mechanisms of hypoxia. *M:RAS*, 215 p.
 34. Cheng Y, Gu XQ, Bednarczyk P, Wiedemann FR, Haddad GG, Siemen D. Hypoxia increases activity of the BK-channel in the inner mitochondrial membrane and reduces activity of the permeability transition pore. *Cell Physiol Biochem*. 2008;22(1-4):127-36.
 35. Laskowski M, Augustynek B, Kulawiak B, Koprowski P, Bednarczyk P, Jarmuszkiewicz W, Szewczyk A. What do we not know about mitochondrial potassium channels? *Biochim Biophys Acta*. 2016 Aug;1857(8):1247-1257.
 36. Furuya DT, Binsack R, Machado UF. Low ethanol consumption increases insulin sensitivity in Wistar rats. *Braz J Med Biol Res*. 2003; 36(1): 125-30.
 37. Dunham-Snary KJ, Wu D, Sykes EA, Thakrar A, Parlow LRG, Mewburn JD, Parlow JL, Archer SL. Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction: From Molecular Mechanisms to Medicine. *Chest*. 2017 Jan;151(1):181-192.
 38. Archer SL. Mitochondrial dynamics – mitochondrial fission and fusion in human diseases. *N Engl J Med*. 2013 Dec 5;369(23):2236-51.
 39. Weir EK, Archer SL. The mechanism of acute hypoxic pulmonary vasoconstriction: the tale of two channels. *FASEB J*. 1995 Feb;9(2):183-9.
 40. Ward JP, McMurtry IF. Mechanisms of hypoxic pulmonary vasoconstriction and their roles in pulmonary hypertension: new findings for an old problem. *Curr Opin Pharmacol*. 2009 Jun;9(3):287-96.
 41. Poole DC, Jones AM. Oxygen uptake kinetics. *Compr Physiol*. 2012 Apr;2(2):933-96.
 42. Breslav IS. (1984). Breathing patterns: physiology, extremal states, pathology. L:Nauka, 206 p.
 43. Petersson J, Glenny RW. Gas exchange and ventilation-perfusion relationships in the lung. *Eur Respir J*. 2014 Oct;44(4):1023-41.

44. Powers KA, Dhamoon AS. Physiology, Pulmonary Ventilation and Perfusion. 2023 Jan 23. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
45. Chowdhuri S, Badr MS. Control of Ventilation in Health and Disease. *Chest*. 2017 Apr;151(4):917-929.
46. Feldman JL, Mitchell GS, Nattie EE. Breathing: rhythmicity, plasticity, chemosensitivity. *Annu Rev Neurosci*. 2003;26:239-66.
47. Guyenet PG. The 2008 Carl Ludwig Lecture: retrotrapezoid nucleus, CO₂ homeostasis, and breathing automaticity. *J Appl Physiol* (1985). 2008 Aug;105(2):404-16.
48. Nattie E, Li A. Central chemoreceptors: locations and functions. *Compr Physiol*. 2012 Jan;2(1):221-54.
49. Dempsey JA, Smith CA, Blain GM, Xie A, Gong Y, Teodorescu M. Role of central/peripheral chemoreceptors and their interdependence in the pathophysiology of sleep apnea. *Adv Exp Med Biol*. 2012;758:343-49.
50. Prabhakar NR, Peng YJ, Kumar GK, Nanduri J, Di Giulio C, Lahiri S. Long-term regulation of carotid body function: acclimatization and adaptation--invited article. *Adv Exp Med Biol*. 2009;648:307-17.
51. Powell FL, Milsom WK, Mitchell GS. Time domains of the hypoxic ventilatory response. *Respir Physiol*. 1998;112(2):123-34.
52. Pamerter ME, Powell FL. Time Domains of the Hypoxic Ventilatory Response and Their Molecular Basis. *Compr Physiol*. 2016 Jun 13;6(3):1345-85.
53. Настенко АО, Веселовський МС. Механізми довготривалої потенціації в нейронах гіпокампа. *Фізіол.журн*. 2021;67(6):74-83.
54. Teppema LJ, Dahan A. The ventilatory response to hypoxia in mammals: mechanisms, measurement, and analysis. *Physiol Rev*. 2010 Apr;90(2):675-754.
55. Kumar P, Prabhakar NR. Peripheral chemoreceptors: function and plasticity of the carotid body. *Compr Physiol*. 2012 Jan;2(1):141-219.

56. Prabhakar NR, Semenza GL. Adaptive and maladaptive cardiorespiratory responses to continuous and intermittent hypoxia mediated by hypoxia-inducible factors 1 and 2. *Physiol Rev.* 2012 Jul;92(3):967-1003.
57. Powell FL, Fu Z. HIF-1 and ventilatory acclimatization to chronic hypoxia. *Respir Physiol Neurobiol.* 2008 Dec 10;164(1-2):282-7.
58. Vermeulen TD, Benbaruj J, Brown CV, Shafer BM, Floras JS, Foster GE. Peripheral chemoreflex contribution to ventilatory long-term facilitation induced by acute intermittent hypercapnic hypoxia in males and females. *J Physiol.* 2020 Oct;598(20):4713-4730.
59. Reeves SR, Gozal E, Guo SZ, Sachleben LR Jr, Brittian KR, Lipton AJ, Gozal D. Effect of long-term intermittent and sustained hypoxia on hypoxic ventilatory and metabolic responses in the adult rat. *J Appl Physiol.* 2003 Nov;95(5):1767-74.
60. Lee SH, Park SY, Choi CS. Insulin Resistance: From Mechanisms to Therapeutic Strategies. *Diabetes Metab J.* 2022 Jan;46(1):15-37.
61. Chiu TT, Jensen TE, Sylow L, Richter EA, Klip A. Rac1 signaling towards GLUT4/glucose uptake in skeletal muscle. *Cell Signal.* 2011 Oct;23(10):1546-54.
62. Dong XC, Copps KD, Guo S, Li Y, Kollipara R, DePinho RA, White MF. Inactivation of hepatic Foxo1 by insulin signaling is required for adaptive nutrient homeostasis and endocrine growth regulation. *Cell Metab.* 2008 Jul;8(1):65-76.
63. Perry RJ, Camporez JG, Kursawe R, Titchenell PM, Zhang D, Perry CJ, Jurczak MJ, Abudukadier A, Han MS, Zhang XM, Ruan HB, Yang X, Caprio S, Kaech SM, Sul HS, Birnbaum MJ, Davis RJ, Cline GW, Petersen KF, Shulman GI. Hepatic acetyl CoA links adipose tissue inflammation to hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Cell.* 2015 Feb 12;160(4):745-758.
64. Krycer JR, Sharpe LJ, Luu W, Brown AJ. The Akt-SREBP nexus: cell signaling meets lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab.* 2010 May;21(5):268-76.

65. Choi YH, Park S, Hockman S, Zmuda-Trzebiatowska E, Svennelid F, Haluzik M, Gavrilova O, Ahmad F, Pepin L, Napolitano M, Taira M, Sundler F, Stenson Holst L, Degerman E, Manganiello VC. Alterations in regulation of energy homeostasis in cyclic nucleotide phosphodiesterase 3B-null mice. *J Clin Invest.* 2006 Dec;116(12):3240-51.
66. Resjo S, Goransson O, Harndahl L, Zolnierowicz S, Manganiello V, Degerman E. Protein phosphatase 2A is the main phosphatase involved in the regulation of protein kinase B in rat adipocytes. *Cell Signal.* 2002 Mar;14(3):231-8.
67. Rahman MS, Hossain KS, Das S, Kundu S, Adegoke EO, Rahman MA, Hannan MA, Uddin MJ, Pang MG. Role of Insulin in Health and Disease: An Update. *Int J Mol Sci.* 2021 Jun 15;22(12):6403.
68. Petersen MC, Shulman GI. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiol Rev.* 2018 Oct 1;98(4):2133-223.
69. Kim JK, Michael MD, Previs SF, Peroni OD, Mauvais-Jarvis F, Neschen S, Kahn BB, Kahn CR, Shulman GI. Redistribution of substrates to adipose tissue promotes obesity in mice with selective insulin resistance in muscle. *J Clin Invest.* 2000 Jun;105(12):1791-7.
70. Kim JK, Zisman A, Fillmore JJ, Peroni OD, Kotani K, Perret P, Zong H, Dong J, Kahn CR, Kahn BB, Shulman GI. Glucose toxicity and the development of diabetes in mice with muscle-specific inactivation of GLUT4. *J Clin Invest.* 2001 Jul;108(1):153-60.
71. O'Neill HM, Maarbjerg SJ, Crane JD, Jeppesen J, Jørgensen SB, Schertzer JD, Shyroka O, Kiens B, van Denderen BJ, Tarnopolsky MA, Kemp BE, Richter EA, Steinberg GR. AMP-activated protein kinase (AMPK) beta1beta2 muscle null mice reveal an essential role for AMPK in maintaining mitochondrial content and glucose uptake during exercise. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011 Sep 20;108(38):16092-7.
72. Le Marchand-Brustel Y, Grémeaux T, Ballotti R, Van Obberghen E. Insulin receptor tyrosine kinase is defective in skeletal muscle of insulin-resistant obese mice. *Nature.* 1985 Jun 20-26;315(6021):676-9.

73. Frojdo S, Vidal H, Pirola L. Alterations of insulin signaling in type 2 diabetes: a review of the current evidence from humans. *Biochim Biophys Acta*. 2009 Feb;1792(2):83-92.
74. Lewis GF, Carpentier AC, Pereira S, Hahn M, Giacca A. Direct and indirect control of hepatic glucose production by insulin. *Cell Metab*. 2021 Apr 6;33(4):709-720.
75. Magnusson I, Rothman DL, Katz LD, Shulman RG, Shulman GI. Increased rate of gluconeogenesis in type II diabetes mellitus. A ¹³C nuclear magnetic resonance study. *J Clin Invest*. 1992 Oct;90(4):1323-7.
76. Krssak M, Brehm A, Bernroider E, Anderwald C, Nowotny P, Dalla Man C, Cobelli C, Cline GW, Shulman GI, Waldhäusl W, Roden M. Alterations in postprandial hepatic glycogen metabolism in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2004 Dec;53(12):3048-56.
77. Wu X, Chen K, Williams KJ. The role of pathway-selective insulin resistance and responsiveness in diabetic dyslipoproteinemia. *Curr Opin Lipidol*. 2012 Aug;23(4):334-44.
78. Li S, Brown MS, Goldstein JL. Bifurcation of insulin signaling pathway in rat liver: mTORC1 required for stimulation of lipogenesis, but not inhibition of gluconeogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Feb 23;107(8):3441-6.
79. Guertin DA, Stevens DM, Thoreen CC, Burds AA, Kalaany NY, Moffat J, Brown M, Fitzgerald KJ, Sabatini DM. Ablation in mice of the mTORC components raptor, rictor, or mLST8 reveals that mTORC2 is required for signaling to Akt-FOXO and PKCalpha, but not S6K1. *Dev Cell*. 2006 Dec;11(6):859-71.
80. Kim K, Qiang L, Hayden MS, Sparling DP, Purcell NH, Pajvani UB. mTORC1-independent Raptor prevents hepatic steatosis by stabilizing PHLPP2. *Nat Commun*. 2016 Jan 8;7:10255.
81. Kim K, Ryu D, Dongiovanni P, Ozcan L, Nayak S, Ueberheide B, Valenti L, Auwerx J, Pajvani UB. Degradation of PHLPP2 by KCTD17, via a Glucagon-

- Dependent Pathway, Promotes Hepatic Steatosis. *Gastroenterology*. 2017 Dec;153(6):1568-1580.e10.
82. Berryman DE, Glad CA, List EO, Johannsson G. The GH/IGF-1 axis in obesity: pathophysiology and therapeutic considerations. *Nat Rev Endocrinol*. 2013 Jun;9(6):346-56.
 83. Baffi CW, Wood L, Winnica D, Strollo PJ Jr, Gladwin MT, Que LG, Holguin F. Metabolic Syndrome and the Lung. *Chest*. 2016 Jun;149(6):1525-34.
 84. Lee H, Kim SR, Oh Y, Cho SH, Schleimer RP, Lee YC. Targeting insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor-binding protein-3 signaling pathways. A novel therapeutic approach for asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2014 Apr;50(4):667-77.
 85. Unger RH. Minireview: weapons of lean body mass destruction: the role of ectopic lipids in the metabolic syndrome. *Endocrinology*. 2003 Dec;144(12):5159-65.
 86. Talati M, Hemnes A. Fatty acid metabolism in pulmonary arterial hypertension: role in right ventricular dysfunction and hypertrophy. *Pulm Circ*. 2015 Jun;5(2):269-78.
 87. Hansmann G, Wagner RA, Schellong S, Perez VA, Urashima T, Wang L, Sheikh AY, Suen RS, Stewart DJ, Rabinovitch M. Pulmonary arterial hypertension is linked to insulin resistance and reversed by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation. *Circulation*. 2007 Mar 13;115(10):1275-84.
 88. Pugh ME, Robbins IM, Rice TW, West J, Newman JH, Hemnes AR. Unrecognized glucose intolerance is common in pulmonary arterial hypertension. *J Heart Lung Transplant*. 2011 Aug;30(8):904-11.
 89. Hsiao FC, Wu CZ, Su SC, Sun MT, Hsieh CH, Hung YJ, He CT, Pei D. Baseline forced expiratory volume in the first second as an independent predictor of development of the metabolic syndrome. *Metabolism*. 2010 Jun;59(6):848-53.
 90. Sagun G, Gedik C, Ekiz E, Karagoz E, Takir M, Oguz A. The relation between insulin resistance and lung function: a cross sectional study. *BMC Pulm Med*. 2015 Nov 6;15:139.

91. Mirrakhimov AE. Chronic obstructive pulmonary disease and glucose metabolism: a bitter sweet symphony. *Cardiovasc Diabetol*. 2012 Oct 27;11:132.
92. Kim SH, Kim HS, Min HK, Lee SW. Association between insulin resistance and lung function trajectory over 4 years in South Korea: community-based prospective cohort. *BMC Pulm Med*. 2021 Apr 1;21(1):110.
93. Galgani JE, Heilbronn LK, Azuma K, Kelley DE, Albu JB, Pi-Sunyer X, Smith SR, Ravussin E; Look AHEAD Adipose Research Group. Metabolic flexibility in response to glucose is not impaired in people with type 2 diabetes after controlling for glucose disposal rate. *Diabetes*. 2008 Apr;57(4):841-5.
94. Rolls BJ. The role of energy density in the overconsumption of fat. *J Nutr*. 2000 Feb;130(2S Suppl):268S-271S.
95. Ukropcova B, Sereda O, de Jonge L, Bogacka I, Nguyen T, Xie H, Bray GA, Smith SR. Family history of diabetes links impaired substrate switching and reduced mitochondrial content in skeletal muscle. *Diabetes*. 2007 Mar;56(3):720-7.
96. Goldenshluger A, Constantini K, Goldstein N, Shelef I, Schwarzfuchs D, Zelicha H, Yaskolka Meir A, Tsaban G, Chassidim Y, Gepner Y. Effect of Dietary Strategies on Respiratory Quotient and Its Association with Clinical Parameters and Organ Fat Loss: A Randomized Controlled Trial. *Nutrients*. 2021; 13(7):2230.
97. Satapati S, Sunny NE, Kucejova B, Fu X, He TT, Méndez-Lucas A, Shelton JM, Perales JC, Browning JD, Burgess SC. Elevated TCA cycle function in the pathology of diet-induced hepatic insulin resistance and fatty liver. *J Lipid Res*. 2012 Jun;53(6):1080-92.
98. Muoio DM, Newgard CB. Mechanisms of disease: Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008 Mar;9(3):193-205.
99. Savage DB, Petersen KF, Shulman GI. Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance. *Physiol Rev*. 2007 Apr;87(2):507-20.

100. Szendroedi J, Phielix E, Roden M. The role of mitochondria in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol.* 2011 Sep 13;8(2):92-103.
101. Zhang D, Liu ZX, Choi CS, Tian L, Kibbey R, Dong J, Cline GW, Wood PA, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction due to long-chain Acyl-CoA dehydrogenase deficiency causes hepatic steatosis and hepatic insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007 Oct 23;104(43):17075-80.
102. Pessayre D, Fromenty B. NASH: a mitochondrial disease. *J Hepatol.* 2005 Jun;42(6):928-40.
103. Serviddio G, Bellanti F, Tamborra R, Rollo T, Capitanio N, Romano AD, Sastre J, Vendemiale G, Altomare E. Uncoupling protein-2 (UCP2) induces mitochondrial proton leak and increases susceptibility of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) liver to ischaemia-reperfusion injury. *Gut.* 2008 Jul;57(7):957-65.
104. Gao D, Nong S, Huang X, Lu Y, Zhao H, Lin Y, Man Y, Wang S, Yang J, Li J. The effects of palmitate on hepatic insulin resistance are mediated by NADPH Oxidase 3-derived reactive oxygen species through JNK and p38MAPK pathways. *J Biol Chem.* 2010 Sep 24;285(39):29965-73.
105. Nakamura S, Takamura T, Matsuzawa-Nagata N, Takayama H, Misu H, Noda H, Nabemoto S, Kurita S, Ota T, Ando H, Miyamoto K, Kaneko S. Palmitate induces insulin resistance in H4IIEC3 hepatocytes through reactive oxygen species produced by mitochondria. *J Biol Chem.* 2009 May 29;284(22):14809-18.
106. Caldwell SH, de Freitas LA, Park SH, Moreno ML, Redick JA, Davis CA, Sisson BJ, Patrie JT, Cotrim H, Argo CK, Al-Osaimi A. Intramitochondrial crystalline inclusions in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2009 Jun;49(6):1888-95.
107. Cheng Z, Guo S, Copps K, Dong X, Kollipara R, Rodgers JT, Depinho RA, Puigserver P, White MF. Foxo1 integrates insulin signaling with mitochondrial function in the liver. *Nat Med.* 2009 Nov;15(11):1307-11.

108. Cheng Z, White MF. Targeting Forkhead box O1 from the concept to metabolic diseases: lessons from mouse models. *Antioxid Redox Signal*. 2011 Feb 15;14(4):649-61.
109. Gross DN, van den Heuvel AP, Birnbaum MJ. The role of FoxO in the regulation of metabolism. *Oncogene*. 2008 Apr 7;27(16):2320-36.
110. Poussin C, Ibberson M, Hall D, Ding J, Soto J, Abel ED, Thorens B. Oxidative phosphorylation flexibility in the liver of mice resistant to high-fat diet-induced hepatic steatosis. *Diabetes*. 2011 Sep;60(9):2216-24.
111. Mantena SK, Vaughn DP, Andringa KK, Eccleston HB, King AL, Abrams GA, Doeller JE, Kraus DW, Darley-Usmar VM, Bailey SM. High fat diet induces dysregulation of hepatic oxygen gradients and mitochondrial function in vivo. *Biochem J*. 2009 Jan 1;417(1):183-93.
112. Choudhury M, Jonscher KR, Friedman JE. Reduced mitochondrial function in obesity-associated fatty liver: SIRT3 takes on the fat. *Aging (Albany NY)*. 2011 Feb;3(2):175-8.
113. Kendrick AA, Choudhury M, Rahman SM, McCurdy CE, Friederich M, Van Hove JL, Watson PA, Birdsey N, Bao J, Gius D, Sack MN, Jing E, Kahn CR, Friedman JE, Jonscher KR. Fatty liver is associated with reduced SIRT3 activity and mitochondrial protein hyperacetylation. *Biochem J*. 2011 Feb 1;433(3):505-14.
114. Sunny NE, Satapati S, Fu X, He T, Mehdibeigi R, Spring-Robinson C, Duarte J, Potthoff MJ, Browning JD, Burgess SC. Progressive adaptation of hepatic ketogenesis in mice fed a high-fat diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010 Jun;298(6):E1226-35.
115. Speretta GF, Lemes EV, Vendramini RC, Menani JV, Zoccal DB, Colombari E, Colombari DSA, Bassi M. High-fat diet increases respiratory frequency and abdominal expiratory motor activity during hypercapnia. *Respir Physiol Neurobiol*. 2018 Dec;258:32-39.
116. Ribeiro MJ, Sacramento JF, Gonzalez C, Guarino MP, Monteiro EC, Conde SV. Carotid body denervation prevents the development of insulin resistance and

- hypertension induced by hypercaloric diets. *Diabetes*. 2013 Aug;62(8):2905-16.
117. Conde SV, Obeso A, Gonzalez C. Low glucose effects on rat carotid body chemoreceptor cells' secretory responses and action potential frequency in the carotid sinus nerve. *J Physiol*. 2007 Dec 15;585(Pt 3):721-30.
118. Messenger SA, Ciriello J. Effects of intermittent hypoxia on leptin signaling in the carotid body. *Neuroscience*. 2013 Mar 1;232:216-25.
119. Del Rio R, Moya EA, Iturriaga R. Contribution of inflammation on carotid body chemosensory potentiation induced by intermittent hypoxia. *Adv Exp Med Biol*. 2012;758:199-205.
120. Wehrwein EA, Basu R, Basu A, Curry TB, Rizza RA, Joyner MJ. Hyperoxia blunts counter regulation during hypoglycaemia in humans: possible role for the carotid bodies? *J Physiol*. 2010 Nov 15;588(Pt 22):4593-601.
121. Ribeiro MJ, Sacramento JF, Gallego-Martin T, Olea E, Melo BF, Guarino MP, Yubero S, Obeso A, Conde SV. High fat diet blunts the effects of leptin on ventilation and on carotid body activity. *J Physiol*. 2018 Aug;596(15):3187-3199.
122. Thomas A, Belaidi E, Aron-Wisnewsky J, van der Zon GC, Levy P, Clement K, Pepin JL, Godin-Ribuot D, Guigas B. Hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase 1 (PHD1) deficiency promotes hepatic steatosis and liver-specific insulin resistance in mice. *Sci Rep*. 2016 Apr 20;6:24618.
123. Rahtu-Korpela L, Karsikas S, Hörkkö S, Blanco Sequeiros R, Lammentausta E, Mäkelä KA, Herzig KH, Walkinshaw G, Kivirikko KI, Myllyharju J, Serpi R, Koivunen P. HIF prolyl 4-hydroxylase-2 inhibition improves glucose and lipid metabolism and protects against obesity and metabolic dysfunction. *Diabetes*. 2014 Oct;63(10):3324-33.
124. Langner-Hetmańczyk A, Tubek S, Niewiński P, Ponikowski P. The Role of Pharmacological Treatment in the Chemoreflex Modulation. *Front Physiol*. 2022 Jun 14;13:912616.

125. Imber AN, Patrone LGA, Li KY, Gargaglioni LH, Putnam RW. The Role of Ca^{2+} and BK Channels of Locus Coeruleus (LC) Neurons as a Brake to the CO_2 Chemosensitivity Response of Rats. *Neuroscience*. 2018 Jun 15;381:59-78.
126. Zhang J, Li Y, Jiang S, Yu H, An W. Enhanced endoplasmic reticulum SERCA activity by overexpression of hepatic stimulator substance gene prevents hepatic cells from ER stress-induced apoptosis. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2014 Feb 1;306(3):C279-90.
127. Fogari R, Maffioli P, Mugellini A, Zoppi A, Lazzari P, Derosa G. Effects of losartan and amlodipine alone or combined with simvastatin in hypertensive patients with nonalcoholic hepatic steatosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2012 Feb;24(2):164-71.
128. Yoshii T, Iwai M, Li Z, Chen R, Ide A, Fukunaga S, Oshita A, Mogi M, Higaki J, Horiuchi M. Regression of atherosclerosis by amlodipine via anti-inflammatory and anti-oxidative stress actions. *Hypertens Res*. 2006 Jun;29(6):457-66.
129. Tsapenko PK, Vasylenko MI, Aliiev RB, Zavhorodnii MO, Kozlovska MG, Topchaniuk LY, Sydorenko AM, Bratus LV, Bakunovskyj OM, Portnichenko V I, Portnychenko AG. Effects of High-Fat Diet on the Development of Insulin Resistance and Metabolic Syndrome in Rats. *Ukr J Med Biol Sport* 2020;5(3): 441-444.
130. Portnychenko AG, Vasylenko MI, Aliiev RB, Kozlovska MG, Zavhorodnii MO, Tsapenko PK, Rozova KV, Portnichenko VI. The prerequisites for the development of type 2 diabetes or prediabetes in rats fed a high-fat diet. *Regul Mech Biosyst*. 2023;14(1):16-22.
131. Chapman RW. Effect of verapamil on ventilation and chemical control of breathing in anesthetized rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 1985 Dec;63(12):1608-11.
132. Портніченко ВІ, Носар ВІ, Сидоренко АМ, Портніченко АГ, Маньковська ІМ. Тривала адаптація щурів до гіпобаричної гіпоксії попереджує

- стресорну гіперглікемію та оптимізує функціональний стан мітохондрій при гострій гіпоксії. *Фізіол.журн.* 2012; 58(5):56-64.
133. Jacob DJ. (1999). *Introduction to Atmospheric Chemistry*. Princeton University Press, 255 p.
134. Pozharov VP. Automatic installation for measuring the volume-time parameters of external respiration and gas exchange in small laboratory animals. *Fiziol.Zh.* 1989 Jul;35(4):119-21.
135. Chance B, Williams GR Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. Kinetics of oxygen utilization. *Ibid.* 1955; 217:383–393.
136. Kondrashova MN, Fedotcheva NI, Saakyan IR, Sirota TV, Lyamzaev KG, Kulikova MV, Temnov AV. Preservation of native properties of mitochondria in rat liver homogenate. *Mitochondrion.* 2001 Oct;1(3):249-67.
137. Kurhaluk N, Lukash O, Nosar V, Portnychenko A, Portnichenko V, Wszedybyl-Winklewska M and Winklewski P. Liver mitochondrial respiratory plasticity and oxygen uptake evoked by cobalt chloride in rats with low and high resistance to extreme hypobaric hypoxia. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 97: 392–399.
138. Gonchar OO, Maznychenko AV, Bulgakova NV, Vereshchaka IV, Tomiak T, Ritter U, Prylutskyi YI, Mankovska IM, Kostyukov AI. C60 Fullerene Prevents Restraint Stress-Induced Oxidative Disorders in Rat Tissues: Possible Involvement of the Nrf2/ARE-Antioxidant Pathway. *Oxid Med Cell Longev.* 2018 Nov 13;2018:2518676.
139. Buege J, Aust S. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978;52:302-10.
140. Huwiler M, Kohler H. Pseudo-catalytic degradation of hydrogen peroxide in the lactoperoxidase/H₂O₂/iodide system. *Eur J Biochem.* 1984 May 15;141(1):69-74.
141. Olinescu R., Nita S. Influence of hemoproteins on glutathione peroxidase activity. *Rev. Roum. Biochem.* 1973;10(2): 119-129.
142. Карупу ВЯ. (1984). *Електронна мікроскопія*. Київ: Вища школа, 208 с.

143. Weakley BS. (1972). *A Beginner's Handbook in Electron Microscopy*. – Edinburg and London: Churchill Livingstone, 228 p.
144. Weibel ER. Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. *Int Rev Cytol.*, 1969, 26 (2), 235-302.
145. Wilmshurst PT, Thompson DS, Juul SM, et al. Effects of verapamil on haemodynamic function and myocardial metabolism in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Heart* 1986;56:544-553.
146. Mustafa S, Abdulraheem A, Alsughayer A. Verapamil induces calcium influx in the trachea. *J Pharmacol Sci.* 2008 Apr;106(4):609-14.
147. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. (2007). *Molecular Biology of the Cell* (5th ed.). W.W. Norton & Company; 1392 p.
148. Завгородній МО, Цапенко ПК, Козловська МГ, Портниченко АГ, Портніченко ВІ. Вплив блокади кальцієвих каналів L-типу на патерн дихання та газообмін при моделюванні інсулінорезистентності у щурів. *Вісник Черкаського університету.* 2023, Vol.2: 95-101.
149. Shipp J. C., Opie L. H., and Challoner D. (1961) Fatty acid and glucose metabolism in the perfused heart. *Nature* 189, 1018 10.1038/1891018a0
150. Whitmer JT, Idell-Wenger JA, Rovetto MJ, Neely JR. Control of fatty acid metabolism in ischemic and hypoxic hearts. *J Biol Chem.* 1978 Jun 25;253(12):4305-9.
151. Schulze PC, Drosatos K, Goldberg IJ. Lipid Use and Misuse by the Heart. *Circ Res.* 2016 May 27;118(11):1736-51.
152. Шиш АМ, Портниченко ГВ, Максимчук ОВ, Лапикова-Бригінська ТЮ, Жуковська АС, Лагута ТІ, Горлова АП, Котлярова АБ. Вплив модуляції PPAR-рецепторів на експресію їхніх таргетних генів, мікро-РНК та інтенсивність вільнорадикальних процесів при розвитку серцевої недостатності у щурів. *Sciences of Europe*, 2021;(84-1):6-11.
153. Oliveira CP, Coelho AM, Barbeiro HV, Lima VM, Soriano F, Ribeiro C, Molan NA, Alves VA, Souza HP, Machado MC, Carrilho FJ. Liver mitochondrial

- dysfunction and oxidative stress in the pathogenesis of experimental nonalcoholic fatty liver disease. *Braz J Med Biol Res.* 2006 Feb;39(2):189-94
154. Sweeney NW, Gomes CJ, De Armond R, Centuori SM, Parthasarathy S, Martinez JD. Hypoxia Suppresses High Fat Diet-Induced Steatosis And Development Of Hepatic Adenomas. *Hypoxia (Auckl).* 2019 Oct 21;7:53-63.
155. Mylonis I, Simos G, Paraskeva E. Hypoxia-Inducible Factors and the Regulation of Lipid Metabolism. *Cells.* 2019 Mar 3;8(3):214
156. Hijioka T, Rosenberg RL, Lemasters JJ, Thurman RG. Kupffer cells contain voltage-dependent calcium channels. *Mol Pharmacol.* 1992 Mar;41(3):435-40.
157. Roth-Eichhorn S, Eberheim A, Bode HP, Gressner AM. Transformation-dependent calcium influx by voltage-operated calcium channels in stellate cells of rat liver. *J Hepatol.* 1999 Apr;30(4):612-20.
158. Reynaert H, Urbain D, Geerts A. Regulation of sinusoidal perfusion in portal hypertension. *Anat Rec (Hoboken).* 2008 Jun;291(6):693-8.
159. Šrámek J, Němcová V, Kovář J. Calcium channel blockers do not protect against saturated fatty acid-induced ER stress and apoptosis in human pancreatic β -cells. *Nutr Metab (Lond).* 2021 Jul 17;18(1):74.
160. Alban TE, Gyamfi D, van Golen RF, Heger M. Reactive Oxygen and Nitrogen Species and Liver Ischemia-Reperfusion Injury: An Overview. *The Liver,* 2018; 79-96
161. Naito Y, Shimozawa M, Manabe H, Nakabe N, Katada K, Kokura S, Yoshida N, Ichikawa H, Kon T, Yoshikawa T. Azelnidipine, a new calcium channel blocker, inhibits endothelial inflammatory response by reducing intracellular levels of reactive oxygen species. *Eur J Pharmacol.* 2006 Sep 28;546(1-3):11-8.
162. Snanoudj, S.; Torre, S. Sudrié-Arnaud, B.; Abily-Donval, L.; Goldenberg, A.; Salomons, G.S.; Marret, S.; Bekri, S.; Tebani, A. Heterogenous Clinical Landscape in a Consanguineous Malonic Aciduria Family. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 12633.

163. Fahimi F, Pourdowlat G, Behzadnia N, Mostofi SS, Forough AS, Parto O, Esmacili A. Clinical evaluation of nebulized verapamil in out-patients with pulmonary hypertension secondary to chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Respir J.* 2022 Dec;16(12):802-811.
164. Badr M. Effect of verapamil on glycogenolysis and gluconeogenesis in the perfused rat liver. *J Biochem Toxicol.* 1989 Spring;4(1):35-7.
165. Жуковська АС, Шиш АМ, Коцюрuba АВ. Вплив омега-3 поліненасичених жирних кислот на систему NOS, інтенсивність вільнорадикальних процесів та біоенергетичні функції мітохондрій серця щура. *Актуальні Проблеми Транспортної Медицини.* 2012;28(2):126-128.

ДОДАТОК 1

НАУКОВІ ПРАЦІ В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНО РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Tsapenko PK, Vasylenko MI, Aliiev RB, **Zavhorodnii MO**, Kozlovska MG, Topchaniuk LY, Sydorenko AM, Bratus LV, Bakunovskyj OM, Portnichenko VI, Portnychenko AG. Effects of High-Fat Diet on the Development of Insulin Resistance and Metabolic Syndrome in Rats. Ukr J Med Biol Sport 2020, 5(3): 441–444. <https://doi.org/10.26693/jmbs05.03.441>
(особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, опис та статистичне опрацювання результатів)
2. Portnychenko AG, Vasylenko MI, Aliiev RB, Kozlovska MG, **Zavhorodnii MO**, Tsapenko PK, Rozova KV, Portnichenko VI. The prerequisites for the development of type 2 diabetes or prediabetes in rats fed a high-fat diet. Regul Mech Biosyst. 2023;14(1),16-22. <https://doi.org/10.15421/022303>
(особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, опис та статистичне опрацювання результатів, графічна підготовка результатів до опублікування)
3. **Zavhorodnii MO**, Nosar VI, Gonchar OO, Tsapenko PK, Kozlovska MG, Vasylenko MI, Portnichenko VI, Portnychenko AG. Blockade of L-type calcium channels alters hepatic mitochondrial function in insulin-resistant rats. Fiziol. Zh. 2023; 69(6): 88-96. <https://doi.org/10.15407/fz69.06.088>
(особистий внесок здобувача: інформаційний пошук, експериментальні дослідження, опис та статистичне опрацювання результатів, графічна підготовка результатів та написання статті)
4. **Завгородній МО**, Цапенко ПК, Козловська МГ, Портниченко АГ, Портніченко ВІ. Вплив блокади кальцієвих каналів L-типу на патерн дихання та газообмін при моделюванні інсулінорезистентності у щурів. Вісник Черкаського університету. 2023, Vol.2: 95-101. <https://doi.org/10.31651/2076-5835-2018-1-2023-2-95-101>

(особистий внесок здобувача: інформаційний пошук, експериментальні дослідження, опис та статистичне опрацювання результатів, графічна підготовка результатів та написання статті)

ДОДАТОК 2

НАУКОВІ ПРАЦІ ЯКІ ЗАСВІДЧУЮТЬ АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

5. Mariia Kozlovska, **M.O. Zavorodnii**, V.I. Nosar, M.I. Vasylenko, P.K. Tsapenko, L.V. Bratus, A.G. Portnychenko. The effect of a high-fat diet on the activity of cardiomyocyte mitochondria during hypoxic preconditioning in rats. Congress on Cardiovascular, Kidney and Glycemic Outcomes – The Virtual CVOT Summit 2023, Munich, Germany, 30 Nov – 1 Dec 2023. *Diabetes, Metabolism, and the Heart* 2023; 32:19.
6. Козловська М.Г., **Завгородній М.О.**, Василенко М. І., Портниченко А. Г. Вплив високожирової дієти на розвиток інсулінорезистентності у спонтанно гіпертензивних щурів. Матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція». Харків, Україна, 16 листопада, 2023.
7. Козловська М.Г., **Завгородній М.О.**, Носар В.І., Цапенко П.К., Василенко М.І., Портниченко А.Г. Гіпоксичне прекодиціювання змінює функцію мітохондрій кардіоміоцитів у щурів з інсулінорезистентністю та гіпертрофією міокарда. Матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція». Харків, Україна, 16 листопада 2023 р.
8. A. Portnychenko, R. Aliiev, A. Zhukovska, **M. Zavorodnii**, M. Kozlovska, L. Topchanyuk, A. Shapovalova, M. Vasylenko, V. Nosar, K. Rozova, V. Portnichenko. Features and mechanisms of acute lung injury development on the background of type 2 diabetes: the role of hypoxia 16th International Conference “Advances in Pneumology”. Berlin, Germany, December 8-10, 2023.
9. V. Portnichenko, P. Tsapenko, R. Yanko, S. Pavlovich, **M. Zavorodnii**, M. Spivak, A. Portnychenko. Phase changes in the pattern of respiration, energy metabolism and lung injury in experimental pneumonia and its correction 16th

- International Conference “Advances in Pneumology”. Berlin, Germany, December 8-10, 2023.
10. Kozlovska M., Nosar V., **Zavhorodnii M.**, Vasylenko M., Rozova K., Portnychenko A. P 31 Hypoxic preconditioning changes the function of myocardial mitochondria in rats with insulin resistance and arterial hypertension. 8th Annual Summit on Cardiovascular, Renal and Glycemic Outcomes – The Virtual CVOT Summit 2022, Munich, Germany, 10-11 Nov 2022. Diabetes, Metabolism, and the Heart 2022; 31:27.
 11. **Завгородній М.О.**, Носар В.І., Цапенко П.К., Козловська М.Г., Василенко М.І., Портніченко В.І., Портниченко А.Г. Кальційзалежні механізми регуляції функції мітохондрій міокарду щурів при інсулінорезистентності. Матер. XIII наук.-практ. конф. «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.
 12. Алієв Р.Б., Василенко М.І., **Завгородній М.О.**, Козловська М.Г., Носар В.І., Портниченко А.Г. Лептинзалежна регуляція функції мітохондрій при цукровому діабеті 2 типу та запаленні. Матер. XIII наук.-практ. конф. «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.
 13. Aliiev R.B., Kozlovska M.G., Tsapenko P.K., Zavgorodnii M.O., Shapovalova A.S., Vasylenko M.I., Rozova K.V., Portnychenko A.G. Respiratory and metabolic peculiarities of LPS-induced inflammation on background of type 2 diabetes. IV scientific and practical conference of students and young scientists with international participation Матер. IV наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень Сучасної медицини і фармації» Харків, 19 травня 2022 р. – Х.: Вид-во НФаУ, 2022. – С.19.
 14. Kozlovska M., Nosar V., **Zavhorodniy M.**, Vasylenko M., Portnychenko A. Hypoxic preconditioning changes the function of myocardial mitochondria in rats with insulin resistance and arterial hypertension. Young Science Beyond Borders, Poland, 16-17 December 2021.

- 15.Портниченко А. Г., Портніченко В.І., Серебровська Т.В., Розова К.В., Василенко М.І., Гончар О.О., Цапенко П.К., Алієв Р.Б., **Завгородній М.О.** Козловська М.Г., Топчанюк Л.Я. Нові механізми розвитку цукрового діабету 2 типу та можливості його гіпокситерапевтичної корекції. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доп. VIII Нац. конгр. патофізіологів України з міжнар. участю (6-8 жовтня 2021 р.). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2021. Т.2. С. 169-171.
- 16.Цапенко П.К., Сидоренко А.М., **Завгородній М.О.**, Портніченко В.І., Портниченко А.Г. Кальційзалежні механізми регуляції патерну дихання та газообміну при інсулінорезистентності. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доп. VIII Нац. конгр. патофізіологів України з міжнар. участю (6-8 жовтня 2021 р.). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2021. Т.2. С. 209-211.
- 17.Алієв Р.Б., Топчанюк Л.Я., **Завгородній М.О.**, Василенко М.І., Портніченко В.І., Цапенко П.К., Сидоренко А.М., Портниченко А.Г. Інсулінонезалежні механізми компенсації метаболічних розладів у щурів при періодичній гіпоксії. II Галицькі читання і XII Наук.-практ. конф. «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присв. 100-р. проф. Бергера Е.Н. і 90-р. проф. Маркової О.О. – Тернопіль, 29-30 жовтня 2020 р. С. 8.
- 18.Портниченко А.Г., Василенко М.І., Портніченко Г.В., Лапікова-Бригінська Т.Ю., Цапенко П.К., Древицька Т.Ю., Сидоренко А.М., **Завгородній М.О.**, Портніченко В.І. Молекулярні механізми метаболічної перебудови у щурів при високогірній гіпоксії та діабеті 2 типу. II Галицькі читання і XII Наук.-практ. конф. «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присв. 100-р. проф. Бергера Е.Н. і 90-р. проф. Маркової О.О. – Тернопіль, 29-30 жовтня 2020 р. С. 89.
- 19.Носар В.І., Барановська О.І., **Завгородній М.О.**, Топчанюк Л.Я., Алієв Р.Б., Цапенко П.К., Сидоренко А.М., Братусь Л.В., Портніченко В.І., Портниченко А.Г. Вплив періодичної гіпоксії на розвиток мітохондріальної

- дисфункції в печінці щурів при експериментальному цукровому діабеті 2 типу. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доп. VIII Нац. конгр. патофізіологів України з міжнар. участю (13-15 травня 2020 р.). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2020. Т.1. С. 260-261.
- 20.Портніченко В.І., Цапенко П.К., Носар В.І., **Завгородній М.О.**, Сидоренко А.М., Портниченко А.Г. Вплив різних режимів періодичної гіпоксії на дихання і метаболізм у щурів при моделюванні діабету II типу. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доп. VIII Нац. конгр. патофізіологів України з міжнар. участю (13-15 травня 2020 р.). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2020. Т.1. С. 164-165.
- 21.Алієв Р.Б., Носар В.І., Розова К.В., Василенко М.І., Цапенко П.К., Сидоренко А.М., **Завгородній М.О.**, Братусь Л.В., Портниченко А.Г. Енергетичний метаболізм при ЛПС-індукованому запаленні на тлі діабету 2 типу // Матер. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Галицькі читання: Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми». Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 р. – С.3.
- 22.Портниченко А.Г., Гончар О.О., Розова К.В., Василенко М.І., Цапенко П.К., Алієв Р.Б., Сидоренко А.М., **Завгородній М.О.** Оксидативні та метаболічні порушення при пошкодженні легень щурів ендотоксином та їх корекція // Матер. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Галицькі читання: Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми». Івано-Франківськ, 19-20 вересня 2019 р. – С. 49-50.
- 23.Цапенко П.К., Портніченко В.І., Василенко М.І., Носар В.І., Гончар О.О., Розова К.В., Сидоренко А.М., **Завгородній М.О.**, Бабічева В.В., Алієв Р.Б., Портниченко А.Г. Порушення зовнішнього дихання та енергетичного обміну при ЛПС-індукованому запаленні у щурів // Матер. XX-го з'їзду Укр. фізіол. товариства ім. П.Г. Костюка з міжнар. участю, присв. 95-річчю з дня нар. акад. П.Г. Костюка. – Київ, 27-30 травня 2019 р. – Фізіол. журн. – 2019. – 65, №3 (дод). – С. 106.