

УДК 612.26; 612.22

DOI 10.34014/2227-1848-2019-3-52-62

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КИСЛОРОДЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ В КЛЕТКЕ*

А.Н. Ветош

ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
г. Санкт-Петербург, Россия;

ФГБОУ ВО «Национальный государственный университет физической культуры, спорта и здоровья
им. П.Ф. Лесгафта», г. Санкт-Петербург, Россия;

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»,
г. Санкт-Петербург, Россия

e-mail: vjotnn@yahoo.com

Реакции организма человека на хроническую, острую или интервальную гипоксическую гипоксию различны и, возможно, запускаются отдельными внутриклеточными молекулярными механизмами. Для проверки этого предположения был проведен анализ литературных данных базы PubMed по ключевым словам «intracellular oxygen sensing». За период 1977–2019 гг. по данному вопросу было опубликовано почти 1000 работ, среди которых более 50 обзоров. Для анализа выбирались публикации, касающиеся молекулярной чувствительности к кислороду клеток тахитрофных тканей Metazoa, по преимуществу животных.

Реакции клеток на хроническую гипоксию определяются HIF-пулом, локализованным в их цитоплазме. Кислородная чувствительность клеток к острой гипоксии обусловлена молекулярными механизмами при участии калиевых каналов плазматических клеточных мембран и ассоциированных с ними околемембранных комплексов. Молекулярные внутриклеточные реакции на интервальную гипоксию запускаются путем активизации прооксидантных процессов в митохондриях клеток. В данном обзоре обсуждаются особенности взаимодействия этих трех механизмов кислородной чувствительности клеток.

Ключевые слова: кислород, HIF, калиевые каналы плазматических мембран, митохондрии, АФК.

Варьирование временными параметрами предъявления человеку обедненных кислородом дыхательных газовых смесей ведет к тому, что в практике клинической и экспериментальной физиологии дыхания складываются представления о трех формах гипоксического воздействия. Это хроническая гипоксия, острая гипоксия и промежуточная, включающая черты обеих крайних форм, – интервальная гипоксия [1–3]. Длительное время применение этих трех подходов осуществлялось изолированно. Успехи молекулярной биологии и цитологии позволяют сегодня поставить вопрос о степени общности механизмов реагирования клеток на предъявление гипоксического стимула с разным временным масштабом и периодичностью. Молекулярную базу

для анализа динамики внутриклеточных процессов в условиях гипоксии обеспечили работы Грега Семензы [4].

Хроническая гипоксия. Четверть века назад в терминологический обиход специалистов вошло понятие о внутриклеточном факторе, индуцированном гипоксией, – HIF. Было показано, что он имеется в цитоплазме всех клеток Metazoa [4]. Открытию HIF предшествовало многолетнее изучение роли эритропоэтина (Epo) в регуляции процессов кроветворения, завершившееся открытием Epo-гена, а затем и фактора цитоплазматической локализации, участвующего в процессах транскрипции этого гена [5, 6]. Более поздние исследования показали, что HIF инициирует запуск не одного, а множества генов в клетках млекопитающих на фоне снижения поступления кислорода в цитоплазму [7]. В условиях нормоксии, когда напряжение ки-

* Работа выполнена по Госзаданию АААА-А18-118012290373-3.

слорода в клетке колеблется в диапазоне 20–7 мм рт. ст., конститутивно присутствующие в цитоплазме молекулы HIF подвержены протеолизу. При этом фактор ингибирования HIF, который назвали FIH, отщепляет от фактора, ингибируемого гипоксией, аспарагиновый фрагмент при участии 2-оксиглутарата, аскорбиновой кислоты и Fe^{++} [8, 9].

В процессе нормоксического протеолиза HIF участвуют также пролилгидроксилаза, белок супрессии опухоли фон Хиппел–Линдау и убиквитин. В итоге молекулы фактора, индуцированного гипоксией, попадают в протеосому, где происходит их окончательная фрагментация [10].

Умеренное уменьшение напряжения кислорода в цитоплазме клетки изменяет катаболизм HIF. Проллилгидроксилаза перестает влиять на исход начального этапа деградации фактора. Промежуточные продукты метаболизма HIF- α и HIF- β теперь не доступны для протеосомальной деструкции [9, 10].

В условиях гипоксии начальные этапы протеолиза HIF становятся невозможными. При этом HIF- α и HIF- β вкуче с коактиватором транскрипции P300/CBP оказываются в ядре клетки, где включают транскрипцию большого количества генов. Эти гены участвуют в формировании клеточного ответа на гипоксию [9, 10]. Транскрипционный каскад, запускаемый HIF, может активировать до 1500 генов [11, 12].

Скорость вовлечения клеток в реакции на гипоксию с участием HIF не высока. Ранние результаты перестройки внутриклеточного метаболизма в ответ на интрацеллюлярную гипоксию проявляются через час [13]. Максимальное значение экспрессии генов в условиях хронической внутриклеточной гипоксии наблюдается спустя 24 ч [10]. Мыши, нокаутированные по HIF, погибают на десятый день эмбрионального развития. Следовательно, HIF-зависимый механизм реагирования на действие хронической гипоксии востребован уже на пренатальном этапе индивидуального развития [14].

Уменьшение внутриклеточной концентрации кислорода затрагивает метаболизм около 200 кислородчувствительных белков, активирующих каскады посттрансляционных изменений других белков. Среди кислород-

чувствительных белков выделяют гидроксилазы, из которых важнейшими являются пролилгидроксилазы. Последние гидроксилируют аминокислоту пролин в различных белковых молекулах [15].

Часть молекулы пролилгидроксилазы (PHD), ассоциированная с трансляцией молекул HIF в цитоплазме на фоне клеточной нормоксии, перманентно гидроксилирует пролин α -субъединиц данной гетеродимерной молекулы. Это приводит к кислородзависимой деградации HIF- α [13]. Следовательно, PHD играет роль ближайшего регулятора активности HIF [16]. Очевидно, что означенное распределение ролей между этими молекулами заставляет нас считать цитоплазматическим сенсором на кислород не HIF, а HIF-гидроксилазы, в т.ч. PHD [17].

Следовательно, у высших млекопитающих в цитоплазме клеток имеется кислородчувствительный метаболический пул (HIF-пул), включающий в себя субъединицы HIF- α и HIF- β . HIF- α имеет три вариации: HIF1- α , HIF2- α , HIF3- α . Первая из них экспрессируется во многих, если не во всех клетках млекопитающих, а вторая и третья присутствуют в некоторых видах эндотелия и соединительной ткани [18]. Помимо кислорода на молекулярные взаимоотношения в HIF-пуле влияют активные формы кислорода (АФК), NO, HSP90 и другие молекулы [19].

Таким образом, HIF-пул цитоплазмы клетки способен адекватно кооптировать многокомпонентный генетический ответ на предъявление продолжительного гипоксического стимула. Время реагирования этого пула велико и укладывается в диапазон от десятков минут до десятков часов.

Острая гипоксия. Молекулярные механизмы реагирования клеток на быстрое нарастание гипоксического стимула изучены в меньшей степени. Нобелевскую премию за обоснование роли хеморецепторов, чувствительных к содержанию кислорода и локализующихся в сонных артериях и аорте, Корнелу Хеймансу присудили еще в 1938 г. Однако молекулярные механизмы сенсорной трансдукции динамики напряжения кислорода в управляющие нервные импульсы еще 50 лет оставались неясными.

В 1988 г. Жозе Лопес-Барнео с сотрудниками опубликовал доказательства того, что большие кальцийзависимые калиевые каналы ($ВК_{Ca}$) клеточных мембран чувствительны к уменьшению напряжения кислорода (по сравнению со значением внутриклеточной нормы), т.е. чувствительны к гипоксии [20]. Их сообщение тщательно проверялось, и к 1997 г. появился первый обзор данных по кислородной чувствительности мембранных ионных каналов этого класса, цитирующий 73 публикации [21]. Авторы обзора показали, что $ВК_{Ca}$ перестают функционировать при понижении напряжения кислорода в околомембранном пространстве до значений менее 20 мм рт. ст. Этот эффект устойчиво воспроизводился в широком спектре клеточных моделей (нейронов коры гиппокампа и черной субстанции, гладкомышечных клеток артериальных сосудов, клеток нейроэпителиальных тел в бифуркациях бронхов, клеток первого типа каротидных тел). Было сделано предположение, что и другие типы ионных каналов плазматических мембран, возможно, также подвергаются модулирующему влиянию со стороны молекул кислорода. В дальнейшем это подтвердилось.

Последующие попытки найти кислородный сенсор внутри молекулярной структуры калиевых каналов не увенчались успехом [22]. К этому времени была сформулирована система взаимосвязанных вопросов, ответы на которые не удавалось получить в экспериментах с изолированными калиевыми каналами. Как эти каналы могут работать длительное время без митохондриальной поддержки при регистрации их активности в режиме patch clamp? Являются ли $ВК_{Ca}$ кислородными сенсорами или они только эффекторное звено в реакции на гипоксию? Почему $ВК_{Ca}$ реагируют на уменьшение напряжения кислорода в околомембранном пространстве клетки очень быстро (за несколько секунд)?

В поисках ответов на эти и другие актуальные вопросы начали складываться зачатки так называемой «мембранной гипотезы» [23–25]. В соответствии с этой гипотезой существуют неизвестные пока белковые ансамбли, прямо или дистантно связанные с $ВК_{Ca}$ и другими калиевыми каналами.

В дальнейшем экспериментально на клетках I типа каротидных тел крыс была показана тесная ассоциация молекулярной конструкции $ВК_{Ca}$ с белками гемоксигеназы-2 [26]. Последняя, преобразуя геминовые молекулы, продуцирует CO, биливердин и Fe^{++} . В условиях внутриклеточной нормоксии в качестве кофакторов участвуют NADP(H) и молекулярный кислород. Монооксид углерода в условиях нормоксии выступает в роли активатора $ВК_{Ca}$ [27].

При уменьшении напряжения кислорода в зоне вышеописанных молекулярных агрегатов тоническое влияние CO на ионные каналы ослабевает и их проводимость для ионов K^+ снижается. Молекулы гемоксигеназы-2 играют, таким образом, в этом околомембранном молекулярном ансамбле роль кислородного сенсора.

Другие группы авторов сумели экспериментально обосновать ингибирующее влияние H_2S в управлении $ВК_{Ca}$ на фоне гипоксии в клетках I типа каротидных тел мышей, крыс и человека [28, 29]. Это привело к необходимости включить в «мембранную гипотезу», объясняющую влияние гипоксии на работу мембранных калиевых каналов, два внутриклеточных газотрансмиттера – CO и H_2S [25].

Авторы «мембранной гипотезы» утверждают, что калиевые каналы являются эффекторным звеном сигнальной сети околомембранной локализации [22, 24, 25]. Чувствительными же к недостатку кислорода в клетке следует считать процессы взаимодействия ассоциированных с этими каналами белков, таких как гемоксигеназа-2, NADP(H), цистионин-гаммалиаза, гуанилатциклаза, циклический гуанозинмонофосфат и протеинкиназа G.

Уменьшение проводимости калиевых каналов при умеренной гипоксии и их закрытие по мере развития кислорододефицитных состояний нарушают динамику формирования мембранного потенциала клеток. Это относится и к гломусным клеткам каротидных тел. Как следствие, усиливается импульсация в соответствующей ветви языкоглоточного нерва, что ведет к увеличению вентиляции легких.

В реализации сенсорной трансдукции уровня кислорода в клетках с участием $ВК_{Ca}$ и некоторых других классов калиевых цито-

плазматических каналов участвуют несколько внутриклеточных газовых трансмиттеров. Это монооксид углерода, активирующий функционирование калиевых каналов при нормоксии, сероводород, ингибирующий проводимость этих каналов при гипоксии, и, возможно, монооксид азота, чье действие сходно с влиянием CO [25, 30]. Такой сложный многокомпонентный механизм мембранной и околосмембранной локализации обеспечивает оперативную клеточную реакцию на быстрые вариации экстра- и интрацеллюлярных концентраций кислорода. На основании этого механизма эволюционно сложилась система хеморецепции содержания O₂ в крови на основе каротидных тел, оперативно обслуживающая многоклеточный организм в плане снабжения кислородом.

Интервальная гипоксия. Курсовая интервальная гипоксическая терапия занимает промежуточное место между хроническим и острым форматом предъявления гипоксического стимула. Поэтому можно ожидать появления попыток объяснить молекулярные внутриклеточные механизмы гипоксического терапевтического действия в интервальной форме как комбинацию активности HIF-пула и околосмембранных процессов, связанных с активностью калиевых каналов. Действительно, такой подход намечен в нескольких главах известной монографии под редакцией T.V. Serebrovskaya и Lei Xi [3]. Несмотря на разнообразие исходных аналитических позиций, все авторы этой книги, рискнувшие затронуть вопрос о возможных молекулярных механизмах терапевтического действия недостатка кислорода в прерывистом режиме, сходятся во мнении, что существенную роль при этом играет прооксидантная система клетки на основе сигнальных функций АФК [31–33].

Убедительно доказано, что в условиях гипоксии митохондриями кардиомиоцитов и миоцитов стенок легочной артерии производятся избыточные количества АФК [34, 35]. В частности, ферментативный комплекс цепи окислительного фосфорилирования I генерирует чрезмерное количество супероксид-анион-радикалов, а комплекс III продуцирует в этих условиях сверхнормативное количество

H₂O₂ [36, 37]. Далее молекулы АФК выходят из митохондрий в цитозоль, где оказывают модулирующее влияние на один из важнейших компонентов HIF-пула – фермент пролилгидроксилазу-2. По мнению G. Waury et al. и их единомышленников, избыток АФК в этих условиях успевает частично денатурировать молекулы ферментов HIF-пула, что ведет к уменьшению их активности и прекращению гидролиза фактора, индуцируемого гипоксией [19].

Кроме того, избыток супероксид-анион-радикалов, денатурирующих цитоплазматические белки, может в соединении с оксидом азота генерировать очень активную форму азота – пероксинитрит [38]. И если вредоносное действие активных форм кислорода и азота носит умеренный характер, то клетки активируют цитоплазматический репаративный механизм на основе стрессовых белков или белков теплового шока (БТШ) [32, 39, 40]. Конститутивные БТШ осуществляют перманентную репарацию денатурированных внутриклеточных белковых агрегатов, а индуцибельные, способные появиться в цитоплазме клеток в течение 30–200 мин после предъявления гипоксического стимула, восстанавливают денатурационные повреждения, нанесенные АФК и пероксинитритом [38, 39].

Таким образом, при умеренной интенсивности гипоксического стимула в рамках протокола интервальной гипоксии клетки способны активизировать конститутивные и индуцибельные репарационные механизмы HSP-пула в цитоплазме. Более интенсивные гипоксические воздействия включают околосмембранный пул калиевых каналов. При длительном курсовом применении интервальной гипоксии клетки используют HIF-пул запуска генетического ответа на гипоксию. Все вышечисленные молекулярные механизмы находятся в режиме взаимного влияния.

Внутриклеточная сигнализация при адаптации к гипоксии. Цитоплазматические, околосмембранные и митохондриальные механизмы обеспечения кислородного гомеостаза клетки, являясь активными сторонами целлюлярного энергетического метаболизма, состоят в тесной сигнальной кооперации.

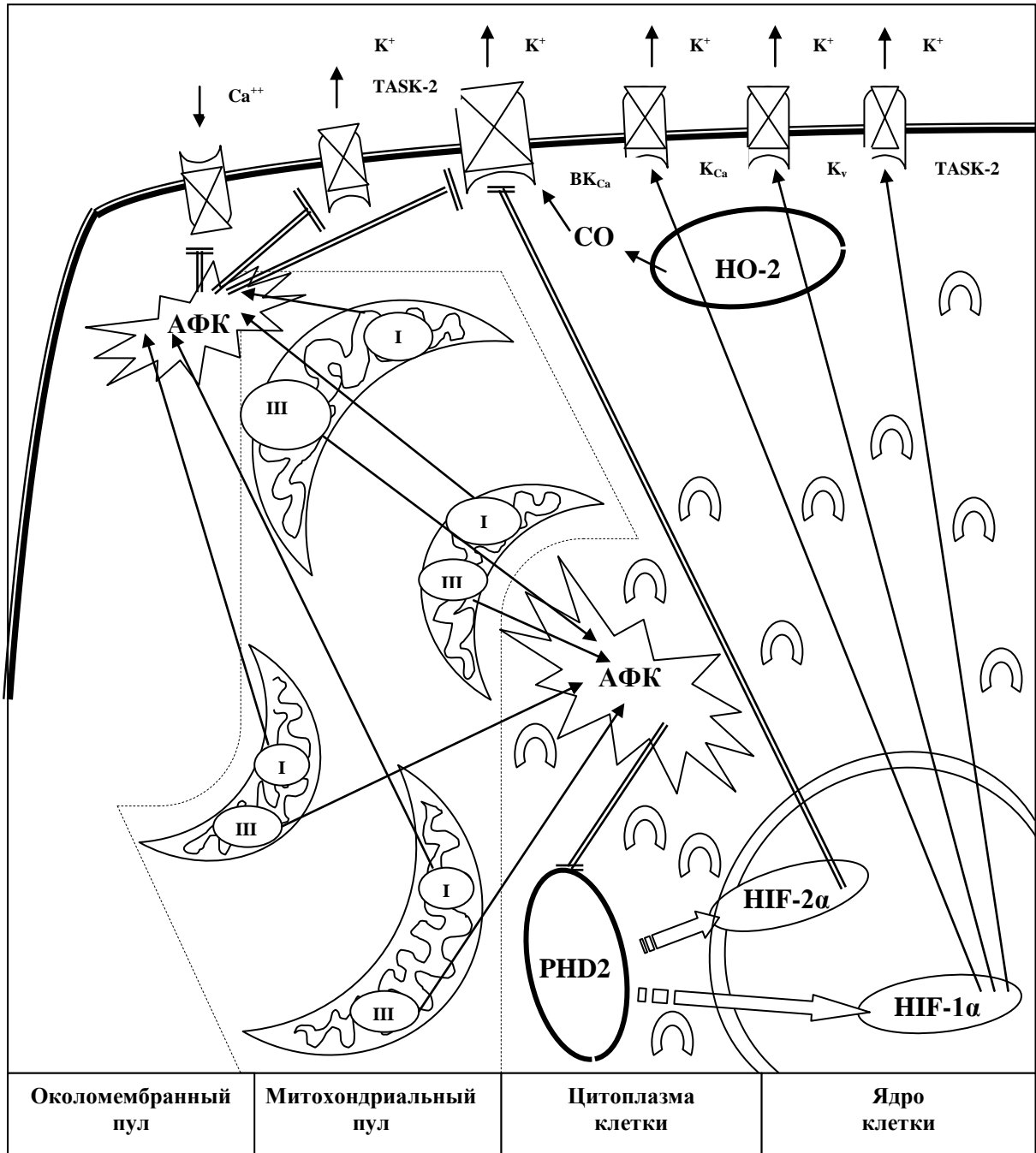


Рис. 1. Сигнальные отношения компонентов клеточного энергетического метаболизма:

⊗ – мембранные ионные каналы;

☪ – стрессовые белки;

⊙ I и ⊙ III – ферментативные комплексы I и III в цепи окислительного фосфорилирования митохондрий;

PHD2 – домен пролилгидроксилазы-2 (внутриклеточный сенсор на кислород);

HO-2 – домен гемоксигеназы-2 (внутриклеточный сенсор на кислород);

→ – активация; ⊥ – супрессия

Метаболический кластер цитоплазматических процессов, в которых мастером-регулятором является HIF, представлен на рис. 1. АФК, продуцируемые на фоне нормоксии, выходят из митохондрий, перемещаются в цитоплазме и оказывают умеренное супрессирующее влияние на активность PND2 [41]. На фоне предъявления клетке гипоксического стимула этот процесс усиливается, что заметным образом тормозит протеолитическую деградацию HIF. Как следствие, разновидности α и β индуцированного гипоксией фактора перемещаются в ядро клетки. Запускается транскрипция семейства «гипоксических» генов. В течение суток формируется клеточный гипоксический ответ, что может служить руководством для выбора интервала времени между сеансами при проведении гипокситерапии [42].

В свою очередь метаболический HIF-пул через активацию «гипоксических» генов способен по принципу положительной обратной связи уменьшать прооксидантный потенциал путем регулирования активности ацетилкоэнзима-А [43, 44].

В условиях быстро развивающейся гипоксии ферментативный комплекс I цепи окислительного фосфорилирования митохондрий увеличивает продукцию молекул супероксид-анион-радикалов [45, 46]. А они ингибируют проводимость кальциевых каналов, встроенных в плазматические мембраны клеток [45]. Избыток молекул супероксид-анион-радикалов вблизи внутренней поверхности оболочки клетки блокирует проводимость калиевых каналов семейства TASK-2 [47]. Эта же причина ведет к закрытию кальцийзависимых калиевых каналов высокой проводимости $ВК_{Ca}$ [19]. Таким образом, побочные продукты процесса окислительного фосфорилирования – АФК – в условиях гипоксии способствуют деполяризации плазматической мембраны клетки за счет ингибирования нескольких семейств калиевых каналов.

Особенности изменений в мембраносвязанных микродоменах, объединяющих каналы и митохондрии, активно исследуются в настоящее время. Вместе с тем не меньший интерес у специалистов вызывают внутриклеточные сигнальные отношения чувствительных к гипоксии околочембранных механиз-

мов и HIF-пула цитоплазмы клетки. Однако пока количество экспериментальных исследований в этой узкой области невелико. Нам не удалось найти ни одного обзора на эту тему.

Еще в 2006 г. появились данные о влиянии HIF-пула клеток культуры меланомы человека в ходе длительной гипоксии на увеличение проводимости кальцийзависимых калиевых каналов ($К_{Ca}$). Это происходило под действием избыточной экспрессии HIF-1 α в ответ на недостаток кислорода в среде культивирования [48]. Позднее аналогичный эффект был получен на культурах гладкомышечных клеток легочной артерии крыс для семейства потенциалзависимых калиевых каналов ($К_v$) [49] и WENI-231В-клеток мыши для TASK-2-калиевых каналов [50].

В доступной нам литературе имеются отдельные сведения о роли HIF-2 α в условиях хронической гипоксии. Этот сигнальный фактор блокирует активность генов, ответственных за синтез β_1 -субъединицы $ВК_{Ca}$, и тем самым обедняет вклад этих каналов в стабилизацию мембранного потенциала [51].

Данных о нисходящем влиянии околочембранных кластера с участием калиевых каналов на HIF-пул цитоплазмы клеток найти не удалось. Отсутствие таких сведений объясняется многократной разницей скоростей реагирования ионных каналов (несколько секунд) и метаболических ответов в HIF-пуле (десятки минут) на гипоксический стимул. При таком сочетании лабильностей сравниваемых систем медленные процессы могут оказывать эффективное влияние на быстрые, но не наоборот.

Активация конститутивно присутствующих в цитоплазме стрессовых белков, прежде всего семейств HSP70 и HSP90, происходит на начальных этапах развития гипоксии. В ходе эскалации гипоксического состояния к конститутивным стрессовым белкам добавляются индуцибельные за счет экспрессии соответствующих генов. Последнее характерно для продолжительных гипоксических экспозиций, когда длительный курс интервальной гипоксии переходит в хронический формат.

Таким образом, на сегодняшний день можно выделить три точки приложения действия гипоксического стимула внутри клеток

Metazoa. Во-первых, это гемоксигеназа-2 (HO-2) в ассоциированном с плазматической мембраной комплексе белков, центральным эффекторным звеном которых являются калиевые каналы различных семейств. Данный комплекс обеспечивает реакции клетки на быстро развивающуюся гипоксию.

Во-вторых, это пролилгидроксилаза-2 (PHD2) – сенсор на кислород в пуле метаболических реакций, где мастером-регулятором является HIF. Этот комплекс обеспечивает реакции клетки на хроническое гипоксическое воздействие.

В-третьих, это хорошо изученный митохондриальный пул генерации активных форм кислорода и азота, который наряду с прооксидантным потенциалом имеет и регуляторную миссию. В гипоксических условиях этот пул оказывает модулирующие влияния на первые два кластера внутриклеточного энергетического метаболизма. АФК также тесно взаимодействуют с репарационным потенциалом стрессовых белков.

Эти три полюса энергетического метаболизма клетки тесно взаимосвязаны и дополняют друг друга.

Литература

1. Малкин И.Б., Гиппенрейтер Е.Б. Острая и хроническая гипоксия. Т. 35. Москва: Наука; 1977. 319.
2. Колчинская А.З., Цыганова Т.Н., Остапенко Л.А. Нормобарическая интервальная гипоксическая тренировка в медицине и спорте. Москва: Медицина; 2003. 406.
3. Lei Xi, Serebrovskaya T.V., eds. Intermittent Hypoxia. N.Y.: Nova Science Publishers, Inc; 2009. 615.
4. Semenza G. Oxygen homeostasis. Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med. 2010; 2 (3): 336–361.
5. Lin F., Suggs S., Lin C., Browne J., Smalling R., Egrie J., Chen K., Fox G., Martin F., Stabinsky Z. Cloning and expression of the human erythropoietin gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1985; 82 (22): 7580–7584.
6. Semenza G., Wang G. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. Mol. Cell Biol. 1992; 12 (12): 5447–5454.
7. Bishop T., Ratcliffe P. Signaling hypoxia by hypoxia-inducible factor protein hydroxylases: a historical overview and future perspectives. Hypoxia (Auckl.). 2014; 2: 197–213.
8. Masson N., Willam C., Maxwell P., Pugh C., Ratcliffe P. Independent function of two destruction domains in hypoxia-inducible factor- α chains activated by prolyl hydroxylation. EMBO J. 2001; 20 (18): 5197–5206.
9. Анохина Е.Б., Буравкова Л.Б. Механизмы регуляции транскрипционного фактора при гипоксии (обзор). Биохимия. 2010; 75 (2): 185–195.
10. Samanta D., Prabhakar N., Semenza G. Systems biology of oxygen homeostasis. Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med. 2017; 9 (4): 1–15.
11. Semenza G. Dynamic regulation of stem cell specification and maintenance by hypoxia-inducible factors. Mol. Aspects Med. 2016; 47–48: 15–23.
12. Prabhakar N., Semenza G. Regulation of carotid body oxygen sensing by hypoxia-inducible factors. Pflugers Arch. 2016; 468 (1): 71–75.
13. Hirsilä M., Koivunen P., Günzler V., Kivirikko K., Myllyharju J. Characterization of the human prolyl 4-hydroxylases that modify the hypoxia-inducible factor. J. Biol. Chem. 2003; 278 (33): 30772–30780.
14. Maltepe E., Schmidt J., Baunoch D., Bradfield C., Simon M. Abnormal Angiogenesis and responses to glucose and oxygen deprivation in mice lacking the protein ARNT. Nature. 1997; 386 (6623): 403–407.
15. Townley-Tilson W., Pi X., Xie L. The Role of Oxygen Sensors, Hydroxylases, and HIF in Cardiac Function and Disease. Oxid. Med. Cell Longev. 2015; 2015: 676893.
16. Bell E., Chandel N. Mitochondrial Oxygen sensing: regulation of Hypoxia-inducible factor by mitochondrial generated reactive oxygen species. Essays Biochem. 2007; 43: 17–27.
17. Coleman M., Ratcliffe P.J. Oxygen sensing and Hypoxia-induced responses. Essays in Biochemistry. 2007; 43: 1–16.
18. Погодина М.В., Буравкова Л.Б. Особенности экспрессии HIF-1A в мультипотентных мезенхимных стромальных клетках при гипоксии (обзор). Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015; 159: 333–335.

19. *Waypa G., Smith K., Schumacher P.* O₂ sensing, mitochondria and ROS signaling: The fog is lifting. *Mol. Aspects Med.* 2016; 47–48: 76–89.
20. *Lopez-Barneo J., Lopez-Lopez J., Urena J., Gonzalez C.* Chemotransduction in the carotid body: K⁺ current modulated by PO₂ in type I chemoreceptor cells. *Science.* 1988; 241 (4865): 580–582.
21. *Haddad G., Jiang C.* O₂-sensing mechanisms in excitable cells: role of plasma membrane K⁺ channels. *Ann. Rev. Physiol.* 1997; 59: 23–42.
22. *Prabhakar N., Peers C.* Gasotransmitter regulation of ion channels: a key step in O₂ sensing by the carotid body. *Physiology (Bethesda).* 2014; 29 (1): 49–57.
23. *Hoshi T., Lahiri S.* Cell biology. Oxygen sensing: it's a gas! *Cell Biol.* 2004; 306 (5704): 2050–2051.
24. *Kemp P., Peers C.* Oxygen sensing by ion channels. *Essays Biochem.* 2007; 43: 77–90.
25. *Peers C., Wyatt C., Evans A.* Mechanisms for acute oxygen sensing in the carotid body. *Respiratory Physiology & Neurobiology.* 2010; 174 (3): 292–298.
26. *Williams S., Wootton P., Mason H., Bould J., Iles D., Riccardi D., Peers C., Kemp P.* Hemoxygenase-2 is an oxygen sensor for a calcium-sensitive potassium channel. *Science.* 2004; 306 (5704): 2093–2097.
27. *Hou S., Heinemann S., Hoshi T.* Modulation of BKCa channel gating by endogenous signaling molecules. *Physiology (Bethesda).* 2009; 24: 26–35.
28. *Peng Y., Nanduri J., Raghuraman G., Souvannakitti D., Gadalla M., Kumar G., Snyder S., Prabhakar N.* H₂S mediates O₂ sensing in the carotid body. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010; 107 (23): 10719–10724.
29. *Li Q., Sun B., Wang X., Jin Z., Zhou Y., Dong L., Jiang L., Rong W.* A crucial role for hydrogen sulfide in oxygen sensing via modulating large conductance calcium-activated potassium channels. *Antioxid. Redox Signal.* 2010; 12 (10): 1179–1189.
30. *Li Y., Zheng H., Ding Y., Schultz H.* Expression of neuronal nitric oxide synthase in rabbit carotid body glomus cells regulates large-conductance Ca₂₊-activated potassium currents. *J. Neurophysiol.* 2010; 103 (6): 3027–3033.
31. *Lukyanova L.D., Dudchenko A.V., Germanova E.L.* Mitochondrial signaling in formation of body resistance to hypoxia. In: *Lei Xi, Serebrovskaya T.V. (Eds.), Intermittent Hypoxia.* N.Y.: Nova Science Publishers, Inc.; 2009: 391–417.
32. *Sazontova T.G., Arkhipenko Y.V.* Intermittent hypoxia in resistance of cardiac membrane structures: role of reactive oxygen species and redox signaling. In: *Lei Xi, Serebrovskaya T.V. (Eds.), Intermittent Hypoxia.* N.Y.: Nova Science Publishers, Inc.; 2009: 113–150.
33. *Manukhina E.B., Vanin A.F., Malyshev I.Yu.* Intermittent hypoxia-Induced cardio- and vasoprotection: role of NO stores. In: *Lei Xi, Serebrovskaya T.V. (eds.), Intermittent Hypoxia.* N.Y.: Nova Science Publishers, Inc.; 2009: 79–112.
34. *Mansfield K., Guzy R., Pan Y., Young R., Cash T., Schumacker P., Simon M.* Mitochondrial dysfunction resulting from loss of cytochrome c impairs cellular oxygen sensing and hypoxic HIF- α activation. *Cell Metab.* 2005; 1 (6): 393–399.
35. *Guzy R., Mack M., Schumacker P.* Mitochondrial complex III is required for hypoxia-induced ROS production and gene transcription in yeast. *Antioxid. Redox Signal.* 2007; 9 (9): 1317–1328.
36. *Finkel T.* Signal transduction by mitochondrial oxidants. *J. Biol. Chem.* 2012; 287 (7): 4434–4440.
37. *Brand M.* Mitochondrial generation of superoxide and hydrogen peroxide as the source of mitochondrial redox signaling. *Free Radic. Biol. Med.* 2016; 100: 14–31.
38. *Vetouh A.H.* Биологическое действие азота. Санкт-Петербург; 2003. 231.
39. *Алексеева О.С., Ветову А.Н., Коржевский Д.Э., Косткин В.Б.* Влияние кверцетина на развитие азотного наркоза и накопление белков теплового шока в клетках коры головного мозга крыс. *Доклады академии наук.* 2010; 430 (3): 421–423.
40. *Zhong N., Zhang Y., Fang Q.Z., Zhou Z.N.* Intermittent hypoxia exposure-induced heat-shock protein 70 expression increases resistance of rat heart to ischemic injury. *Acta Pharmacol. Sin.* 2000; 21 (5): 467–472.
41. *Murphy M., Holmgren A., Larsson N., Halliwell B., Chang C., Kalyanaraman B., Rhee S., Thornalley P., Partridge L., Gem, D., Nyström T., Belousov V., Schumacker P., Winterbourn C.* Unraveling the biological roles of reactive oxygen Species. *Cell Metab.* 2011; 13 (4): 361–366.
42. *Semenza G.* Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. *Cell.* 2012; 148 (3): 399–408.
43. *Ivan M., Kaelin Jr.* The EGLN-HIF O₂-Sensing System: Multiple Inputs and Feedbacks. *Mol. Cell.* 2017; 66 (6): 772–779.

44. Kim J., Tchernyshyov I., Semenza G., Dang C. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metab.* 2006; (3): 177–185.
45. McElroy G., Chandel N. Mitochondria control acute and chronic responses to hypoxia. *Exp. Cell Res.* 2017; 356 (2): 217–222.
46. Fernández-Agüera M., Gao L., González-Rodríguez P., Pintado C., Arias-Mayenco I., García-Flores P., García-Pergañeda A., Pascual A., Ortega-Sáenz P., López-Barneo J. Oxygen Sensing by Arterial Chemoreceptors Depends on Mitochondrial Complex I Signaling. *Cell Metab.* 2015; 22 (5): 825–837.
47. Ward J. Oxygen sensors in context. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2008; 1777 (1): 1–14.
48. Tajima N., Schönherr K., Niedling S., Kaatz M., Kanno H., Schönherr R., Heinemann S. Ca²⁺-activated K⁺ channels in human melanoma cells are up-regulated by hypoxia involving hypoxia-inducible factor-1-alpha and the von Hippel-Lindau protein. *J. Physiol.* 2006; 571 (Pt 2): 349–359.
49. Don Q., Zhao N., Xia C., Fu X., Du Y. Hypoxia induces voltage-gated K⁺ (Kv) channel expression in pulmonary arterial smooth muscle cells through hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Bosn. J. Basic. Med. Sci.* 2012; 12 (3): 158–163.
50. Shin D., Lin H., Zheng H., Kim K., Kim J., Chun Y., Park J., Nam J., Kim W., Zhang Y., Kim S. HIF-1α-mediated upregulation of TASK-2 K⁺ channels augments Ca²⁺ signaling in mouse B cells under hypoxia. *J. Immunol.* 2014; 193 (10): 4924–4933.
51. Bautista L., Castro M., López-Barneo J., Castellano A. Hypoxia inducible Factor-2alpha stabilization and maxi-K⁺ channel beta1-subunit gene repression by hypoxia in cardiac myocytes: role in preconditioning. *Circ. Res.* 2009; 10 (12): 1364–1372.

INTERACTION OF OXYGEN-SENSING MECHANISMS IN CELLS

A.N. Vetosh

I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia;

Lesgaft National State University of Physical Education, Sport and Health, St. Petersburg, Russia;
North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

e-mail: vjotnn@yahoo.com

Reactions of the human body to chronic, acute or interval hypoxic hypoxia are different and may be triggered by certain intracellular molecular mechanisms. The authors analyzed PubMed database using the keywords "intracellular oxygen sensing" to verify the assumption. In 1977–2019, almost 1000 papers were published on the issue including more than 50 reviews. For their analysis, the authors chose articles on molecular oxygen sensing Metazoan tissue cells, mainly animals.

Cell responses to chronic hypoxia are determined by HIF-pool localized in the cytoplasm. Oxygen-sensing to acute hypoxia in cells is preconditioned by molecular mechanisms involving potassium channels of plasma cell membranes and associated juxtamembrane complexes. Molecular intracellular reactions to interval hypoxia are triggered by the prooxidant process activation in the mitochondria of cells. This review discusses the interactional characteristics of the three mechanisms of oxygen-sensing cells.

Keywords: oxygen, HIF, potassium channels of plasma membranes, mitochondria, ROS.

References

1. Malkin I.B., Gippenreyter E.B. *Ostraya i khronicheskaya gipoksiya* [Acute and chronic hypoxia]. Vol. 35. Moscow: Nauka; 1977. 319 (in Russian).
2. Kolchinskaya A.Z., Tsyganova T.N., Ostapenko L.A. *Normobaricheskaya interval'naya gipoksi-cheskaya trenirovka v meditsine i sporte* [Normobaric interval hypoxic training in medicine and sports]. Moscow: Meditsina; 2003. 406 (in Russian).
3. Lei Xi, Serebrovskaya T.V., eds. *Intermittent Hypoxia*. N.Y.: Nova Science Publishers, Inc; 2009. 615.
4. Semenza G. Oxygen homeostasis. *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.* 2010; 2 (3): 336–361.
5. Lin F., Suggs S., Lin C., Browne J., Smalling R., Egrie J., Chen K., Fox G., Martin F., Stabinsky Z. Cloning and expression of the human erythropoietin gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1985; 82 (22): 7580–7584.

6. Semenza G., Wang G. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol. Cell Biol.* 1992; 12 (12): 5447–5454.
7. Bishop T., Ratcliffe P. Signaling hypoxia by hypoxia-inducible factor protein hydroxylases: a historical overview and future perspectives. *Hypoxia (Auckl.)*. 2014; 2: 197–213.
8. Masson N., Willam C., Maxwell P., Pugh C., Ratcliffe P. Independent function of two destruction domains in hypoxia-inducible factor- α chains activated by prolyl hydroxylation. *EMBO J.* 2001; 20 (18): 5197–5206.
9. Anokhina E.B., Buravkova L.B. Mekhanizmy regulatsii transkriptsionnogo faktora pri gipoksii (obzor) [Transcription factor regulation mechanisms under hypoxia (review)]. *Biokhimiya*. 2010; 75 (2): 185–195 (in Russian).
10. Samanta D., Prabhakar N., Semenza G. Systems biology of oxygen homeostasis. *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.* 2017; 9 (4): 1–15.
11. Semenza G. Dynamic regulation of stem cell specification and maintenance by hypoxia-inducible factors. *Mol. Aspects Med.* 2016; 47–48: 15–23.
12. Prabhakar N., Semenza G. Regulation of carotid body oxygen sensing by hypoxia-inducible factors. *Pflugers Arch.* 2016; 468 (1): 71–75.
13. Hirsilä M., Koivunen P., Günzler V., Kivirikko K., Myllyharju J. Characterization of the human prolyl 4-hydroxylases that modify the hypoxia-inducible factor. *J. Biol. Chem.* 2003; 278 (33): 30772–30780.
14. Maltepe E., Schmidt J., Baunoch D., Bradfield C., Simon M. Abnormal Angiogenesis and responses to glucose and oxygen deprivation in mice lacking the protein ARNT. *Nature*. 1997; 386 (6623): 403–407.
15. Townley-Tilson W., Pi X., Xie L. The Role of Oxygen Sensors, Hydroxylases, and HIF in Cardiac Function and Disease. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2015; 2015: 676893.
16. Bell E., Chandel N. Mitochondrial Oxygen sensing: regulation of Hypoxia-inducible factor by mitochondrial generated reactive oxygen species. *Essays Biochem.* 2007; 43: 17–27.
17. Coleman M., Ratcliffe P.J. Oxygen sensing and Hypoxia-induced responses. *Essays in Biochemistry*. 2007; 43: 1–16.
18. Pogodina M.V., Buravkova L.B. Osobennosti ekspressii HIF-1A v mul'tipotentnykh mezenkhimnykh stromal'nykh kletkakh pri gipoksii (obzor) [Expression of HIF-1 α in multipotent mesenchymal stromal cells under hypoxia (review)]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2015; 159: 333–335 (in Russian).
19. Waypa G., Smith K., Schumacher P. O₂ sensing, mitochondria and ROS signaling: The fog is lifting. *Mol. Aspects Med.* 2016; 47–48: 76–89.
20. Lopez-Barneo J., Lopez-Lopez J., Urena J., Gonzalez C. Chemotransduction in the carotid body: K⁺ current modulated by PO₂ in type I chemoreceptor cells. *Science*. 1988; 241 (4865): 580–582.
21. Haddad G., Jiang C. O₂-sensing mechanisms in excitable cells: role of plasma membrane K⁺ channels. *Ann. Rev. Physiol.* 1997; 59: 23–42.
22. Prabhakar N., Peers C. Gasotransmitter regulation of ion channels: a key step in O₂ sensing by the carotid body. *Physiology (Bethesda)*. 2014; 29 (1): 49–57.
23. Hoshi T., Lahiri S. Cell biology. Oxygen sensing: it's a gas! *Cell Biol.* 2004; 306 (5704): 2050–2051.
24. Kemp P., Peers C. Oxygen sensing by ion channels. *Essays Biochem.* 2007; 43: 77–90.
25. Peers C., Wyatt C., Evans A. Mechanisms for acute oxygen sensing in the carotid body. *Respiratory Physiology & Neurobiology*. 2010; 174 (3): 292–298.
26. Williams S., Wootton P., Mason H., Bould J., Iles D., Riccardi D., Peers C., Kemp P. Hemoxygenase-2 is an oxygen sensor for a calcium-sensitive potassium channel. *Science*. 2004; 306 (5704): 2093–2097.
27. Hou S., Heinemann S., Hoshi T. Modulation of BKCa channel gating by endogenous signaling molecules. *Physiology (Bethesda)*. 2009; 24: 26–35.
28. Peng Y., Nanduri J., Raghuraman G., Souvannakitti D., Gadalla M., Kumar G., Snyder S., Prabhakar N. H₂S mediates O₂ sensing in the carotid body. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010; 107 (23): 10719–10724.
29. Li Q., Sun B., Wang X., Jin Z., Zhou Y., Dong L., Jiang L., Rong W. A crucial role for hydrogen sulfide in oxygen sensing via modulating large conductance calcium-activated potassium channels. *Antioxid. Redox Signal.* 2010; 12 (10): 1179–1189.
30. Li Y., Zheng H., Ding Y., Schultz H. Expression of neuronal nitric oxide synthase in rabbit carotid body glomus cells regulates large-conductance Ca₂₊-activated potassium currents. *J. Neurophysiol.* 2010; 103 (6): 3027–3033.

31. Lukyanova L.D., Dudchenko A.V., Germanova E.L. Mitochondrial signaling in formation of body resistance to hypoxia. In: Lei Xi, Serebrovskaya T.V. (Eds.). *Intermittent Hypoxia*. N.Y.: Nova Science Publishers, Inc.; 2009: 391–417.
32. Sazontova T.G., Arkhipenko Y.V. Intermittent hypoxia in resistance of cardiac membrane structures: role of reactive oxygen species and redox signaling. In: Lei Xi, Serebrovskaya T.V. (Eds.). *Intermittent Hypoxia*. N.Y.: Nova Science Publishers, Inc.; 2009: 113–150.
33. Manukhina E.B., Vanin A.F., Malyshev I.Yu. Intermittent hypoxia-Induced cardio- and vasoprotection: role of NO stores. In: Lei Xi, Serebrovskaya T.V. (eds.). *Intermittent Hypoxia*. N.Y.: Nova Science Publishers, Inc.; 2009: 79–112.
34. Mansfield K., Guzy R., Pan Y., Young R., Cash T., Schumacker P., Simon M. Mitochondrial dysfunction resulting from loss of cytochrome c impairs cellular oxygen sensing and hypoxic HIF- α activation. *Cell Metab.* 2005; 1 (6): 393–399.
35. Guzy R., Mack M., Schumacker P. Mitochondrial complex III is required for hypoxia-induced ROS production and gene transcription in yeast. *Antioxid. Redox Signal.* 2007; 9 (9): 1317–1328.
36. Finkel T. Signal transduction by mitochondrial oxidants. *J. Biol. Chem.* 2012; 287 (7): 4434–4440.
37. Brand M. Mitochondrial generation of superoxide and hydrogen peroxide as the source of mitochondrial redox signaling. *Free Radic. Biol. Med.* 2016; 100: 14–31.
38. Vetosh A.N. *Biologicheskoe deystvie azota* [Biological effects of nitrogen]. St. Petersburg; 2003. 231 (in Russian).
39. Alekseeva O.S., Vetosh A.N., Korzhevskiy D.E., Kostkin V.B. Vliyanie kvertsitina na razvitie azotnogo narkoza i nakoplenie belkov teplovogo shoka v kletkakh kory golovnogo mozga kryz [Quercetin effects on nitrogen anesthesia development and accumulation of heat shock proteins in cerebral cortex cells in rats]. *Doklady akademii nauk.* 2010; 430 (3): 421–423 (in Russian).
40. Zhong N., Zhang Y., Fang Q.Z., Zhou Z.N. Intermittent hypoxia exposure-induced heat-shock protein 70 expression increases resistance of rat heart to ischemic injury. *Acta Pharmacol. Sin.* 2000; 21 (5): 467–472.
41. Murphy M., Holmgren A., Larsson N., Halliwell B., Chang C., Kalyanaraman B., Rhee S., Thornalley P., Partridge L., Gem, D., Nyström T., Belousov V., Schumacker P., Winterbourn C. Unraveling the biological roles of reactive oxygen species. *Cell Metab.* 2011; 13 (4): 361–366.
42. Semenza G. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. *Cell.* 2012; 148 (3): 399–408.
43. Ivan M., Kaelin Jr. The EGLN-HIF O₂-Sensing System: Multiple Inputs and Feedbacks. *Mol. Cell.* 2017; 66 (6): 772–779.
44. Kim J., Tchernyshyov I., Semenza G., Dang C. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metab.* 2006; (3): 177–185.
45. McElroy G., Chandel N. Mitochondria control acute and chronic responses to hypoxia. *Exp. Cell Res.* 2017; 356 (2): 217–222.
46. Fernández-Agüera M., Gao L., González-Rodríguez P., Pintado C., Arias-Mayenco I., García-Flores P., García-Pergañeda A., Pascual A., Ortega-Sáenz P., López-Barneo J. Oxygen Sensing by Arterial Chemoreceptors Depends on Mitochondrial Complex I Signaling. *Cell Metab.* 2015; 22 (5): 825–837.
47. Ward J. Oxygen sensors in context. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2008; 1777 (1): 1–14.
48. Tajima N., Schönherr K., Niedling S., Kaatz M., Kanno H., Schönherr R., Heinemann S. Ca²⁺-activated K⁺ channels in human melanoma cells are up-regulated by hypoxia involving hypoxia-inducible factor-1- α and the von Hippel-Lindau protein. *J. Physiol.* 2006; 571 (Pt 2): 349–359.
49. Don Q., Zhao N., Xia C., Fu X., Du Y. Hypoxia induces voltage-gated K⁺ (K_v) channel expression in pulmonary arterial smooth muscle cells through hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Bosn. J. Basic. Med. Sci.* 2012; 12 (3): 158–163.
50. Shin D., Lin H., Zheng H., Kim K., Kim J., Chun Y., Park J., Nam J., Kim W., Zhang Y., Kim S. HIF-1 α -mediated upregulation of TASK-2 K⁺ channels augments Ca²⁺ signaling in mouse B cells under hypoxia. *J. Immunol.* 2014; 193 (10): 4924–4933.
51. Bautista L., Castro M., López-Barneo J., Castellano A. Hypoxia inducible Factor-2 α stabilization and maxi-K⁺ channel beta1-subunit gene repression by hypoxia in cardiac myocytes: role in preconditioning. *Circ. Res.* 2009; 10 (12): 1364–1372.