

УДК 612.014.464:612.015.348
DOI 10.34014/2227-1848-2020-1-108-117

ПОКАЗАТЕЛИ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПИЩЕВОГО СТАТУСА

А.А. Черных¹, Н.Н. Потолицына¹, Э.А. Бурых², Е.Р. Бойко¹

¹ Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Коми научный центр»

Уральского отделения Российской академии наук, г. Сыктывкар, Россия;

² ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, г. Санкт-Петербург, Россия

Цель исследования: изучить воздействие острой нормобарической гипоксии на метаболизм свободных аминокислот (АК) плазмы крови у добровольцев, участвовавших в исследовании натощак и после лёгкого завтрака.

Материалы и методы. Первая группа добровольцев (22–32 года, n=13) участвовала в исследовании утром натощак, вторая группа (22–32 года, n=9) – через 2–3 ч после лёгкого безжирового завтрака. Гипоксия создавалась путём подачи через маску дыхательной смеси, содержащей 9 % O₂ и 91 % N₂. В соответствии с протоколом проводился периодический забор крови из локтевой вены для анализа. Оценка уровней свободных АК плазмы крови производилась с помощью аминокислотного анализатора Atacis.

Результаты. До начала гипоксии, на 5-й и 20-й мин гипоксии уровни свободных АК в первой и второй группах значимо не различались (p>0,05). На 10-й мин гипоксии между первой и второй группами наблюдались статистически значимые различия уровней четырёх АК: глутамина, серина, треонина и гистидина (p<0,05).

Это, вероятно, было обусловлено изменениями в работе «гармонизирующих» мембранных транспортёров (ASCT1 (SLC1A4), ASCT2 (SLC1A5) и LAT1 (SC7A5)), для которых эти АК являются обменными субстратами. Можно предположить, что данные изменения были опосредованы пока неясными механизмами быстрой регуляции активности этих транспортёров, зависящими от питания.

Выводы. Мы полагаем, что полученные результаты могут иметь значение для обеспечения адаптации организма человека к острой гипоксии и эффективной коррекции последствий гипоксического воздействия.

Ключевые слова: острая нормобарическая гипоксия, свободные аминокислоты плазмы крови, человек.

Введение. Гипоксия – снижение парциального давления кислорода в тканях – один из наиболее универсальных патологических факторов, воздействующих на живые организмы. Целый ряд профессий сопряжён с повышенным риском развития острой гипоксии: экипажи самолётов, персонал горноспасательных команд, горнолыжных курортов, работники высокогорных рудников, пожарные [1]. Адаптация к гипоксии обеспечивается одновременной активацией сложных, координированных и взаимосвязанных процессов, охватывающих множество различных анатомиче-

ских и функциональных систем [2–4]. Эти изменения в гомеостазе нацелены на поддержание жизненно важных функций в условиях дефицита кислорода.

Адаптивные процессы в тканях при гипоксии включают изменения множества метаболических путей, в т.ч. метаболизма белков и аминокислот [5]. Аминокислоты (АК) являются субстратами для синтеза функциональных и структурных белков организма, для энергетического метаболизма. Помимо этого, было показано, что свободные АК участвуют в поддержании работы и регуляции ключевых

метаболических путей, которые обеспечивают жизнедеятельность, рост, развитие, иммунитет и размножение организмов [6], регулируют экспрессию генов, метилирование ДНК, активацию mTOR [7].

С одной стороны, полагают, что системный гомеостаз АК у человека жёстко регулируется, даже в условиях недостаточного поступления белка [8–10]. С другой стороны, в организме человека отсутствует истинное депо АК, поэтому пул свободных АК плазмы крови (рис. 1) играет очень важную роль в обмене и межорганном транспорте АК [11]. Ранее было показано, что пул АК плазмы реагирует на гипоксию: у морских пехотинцев США было обнаружено значимое снижение уровня свободного триптофана плазмы после подъёма на высоту 2130 м и тренировок на высотах от 2400 до 3000 м над уровнем моря [12]. В другой работе было показано, что во время пребывания на высоте 5300 м над уровнем моря в плазме крови повышались уровни свободных пролина, аланина, гидроксипролина и метионина и снижались уровни свободного валина [13].

Вместе с тем единого взгляда на метаболизм свободных АК при гипоксических состояниях до настоящего времени нет, особенно в ситуации острой гипоксии. Также не выяснено, каким образом может отразиться прием пищи на метаболизме свободных АК при острой гипоксии.

Цель исследования. Изучить воздействие острой нормобарической гипоксии на метаболизм свободных аминокислот плазмы крови у добровольцев, участвовавших в исследовании натошак и после лёгкого завтрака.

Материалы и методы. Дизайн исследования и протокол гипоксического воздействия соответствовали положениям Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации [14] и были одобрены комитетом по этике Института физиологии Коми НЦ УрО РАН (г. Сыктывкар). Участники – здоровые молодые мужчины (22–32 года) – получили всю необходимую информацию о протоколе исследования, используемых процедурах, возможном риске и дискомфорте, связанных с воздействием гипоксии. Они также были проин-

формированы, что могут отказаться от участия в исследовании в любой момент без каких-либо последствий. После полного инструктажа все добровольцы-участники дали письменное информированное согласие.

Подробно процедура исследования была описана нами ранее [15]. Все исследования проводились в лаборатории отдела экологической и медицинской физиологии Института физиологии Коми НЦ УрО РАН в апреле, в первую половину дня, при температуре 20 °С. Добровольцы из первой группы (n=13) участвовали в исследовании утром натошак (после 12 часов без приёма пищи), добровольцы из второй группы (n=9) – через 2–3 ч после лёгкого безжирового завтрака. Для проведения исследования участники размещались в медицинском кресле «КМ» («Диакос», Россия). Для отбора образцов крови на анализ в локтевую вену устанавливался периферический катетер (TROGE MEDICAL GmbH, Германия). В промежутках между заборами крови по катетеру осуществлялась медленная инфузия физиологического раствора хлорида натрия для обеспечения проходимости катетера и восполнения потерь объема циркулирующей крови. Гипоксия создавалась путём подачи через маску дыхательной смеси, содержащей 9 % O₂ и 91 % N₂ (ГГС-9). Схема гипоксического воздействия и забора крови приведена на рис. 1.

Забор крови осуществлялся до начала гипоксии (фон), на 5-й, 10-й и 20-й мин гипоксии. В каждой точке отбиралось 2–3 мл крови из локтевой вены. После забора образцы крови центрифугировались при 3000 об/мин для отделения форменных элементов. Плазма отбиралась, расфасовывалась в пробирки-эппендорфы и замораживалась для дальнейшего анализа.

Оценка уровней свободных АК в плазме крови участников производилась с помощью классического метода ионообменной градиентной жидкостной хроматографии с постколоночной дериватизацией нингидрином на специализированном аминокислотном анализаторе Aracus (MembraPure GmbH, Германия). Для учёта полученных хроматограмм использовалась программа AminoPeak (MembraPure GmbH, Германия).

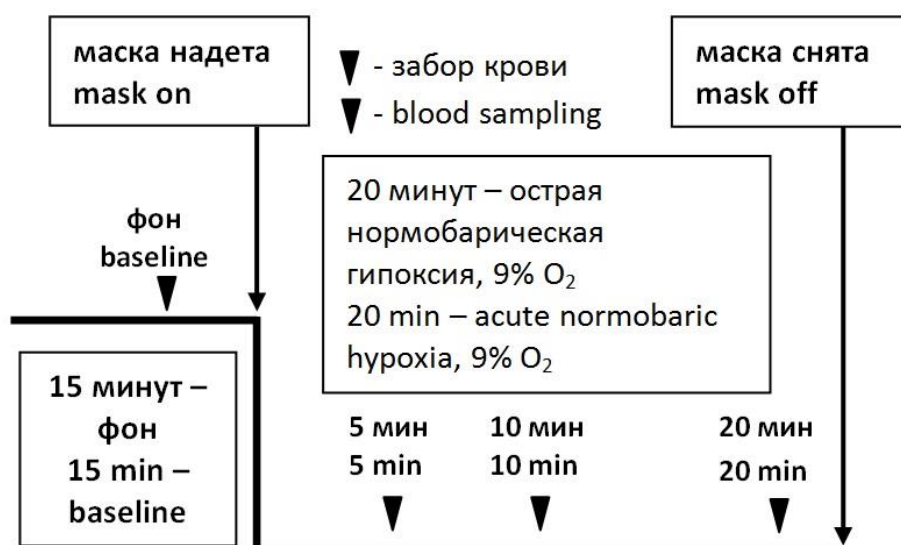


Рис. 1. Схема эксперимента и протокол забора образцов крови

Fig. 1. Experimental and blood sampling protocols

Статистическая обработка результатов производилась с применением статистической программы R (v.3.6.0, R Development Core Team, 2018) с помощью пакетов WRS2 (v.1.0-0, Mair P., Wilcox R.R., 2019), PMCMR-plus (v.1.4.2, Pohlert T., 2018). Графики создавались с помощью пакета ggplot2 (v. 3.2.1, Wickham H., 2016). Значимость различий между первой и второй группами оценивалась по критерию Баумгартнера–Вайса–Шиндлера. Данные представлены как медиана, 25-й и 75-й перцентили: Me (25 %; 75 %).

Результаты. До начала гипоксического воздействия и на 5-й мин гипоксии уровни свободных АК в первой и второй группах значимо не различались ($p > 0,05$, табл. 1). На 10-й мин гипоксии между первой и второй группами наблюдались статистически значимые различия уровней четырёх АК: глутамина, серина, треонина и гистидина. На 20-й мин гипоксии различия по уровням АК нивелировались ($p > 0,05$, табл. 1).

Обсуждение. Данные литературы свидетельствуют, что системный гомеостаз АК в организме человека достаточно жёстко регулируется, даже в условиях недостаточного поступления белка [8, 9]. Это подтверждается тем, что кратковременное голодание не ведёт к снижению уровней отдельных АК в плазме,

и даже длительное голодание вызывает достаточно умеренные изменения профиля АК плазмы [10]. Вместе с тем нет единого мнения относительно влияния приема пищи на содержание свободных АК плазмы крови у человека; ряд исследователей считают, что только при высокобелковой диете обнаруживается их значимое постпрандиальное повышение [16].

В ряде работ было продемонстрировано изменение уровней отдельных свободных АК плазмы крови при различных воздействиях, в т.ч. гипоксических [12, 13, 17]. Так, в частности, нами ранее было показано, что острое гипоксическое воздействие (ГГС-9, 20 мин) приводит к значимым изменениям уровней ряда АК плазмы у добровольцев в динамике гипоксического воздействия и восстановительного периода после него.

Таким образом, можно говорить о высокой эффективности гомеостаза АК в человеческом организме. Такой контроль требует наличия взаимосвязанных и взаимозависимых процессов, включающих всасывание поступивших извне АК в ЖКТ, синтез АК *de novo* в тканях организма, высвобождение АК при деградации внутри- и внеклеточных белков, обмен АК между цитоплазмой и межклеточной жидкостью, плазмой крови с помощью специфических белков-переносчиков.

Таблица 1
Table 1

Уровни свободных глутамина, серина, треонина и гистидина плазмы крови у добровольцев в динамике гипоксического эксперимента, мкмоль/л

Plasma levels of free glutamine, serine, threonine, and histidine in volunteers during a hypoxic experiment, $\mu\text{mol/l}$

Группа Group	Фон Baseline	Гипоксия Hypoxia		
		5-я мин гипоксии 5 th minute of hypoxia	10-я мин гипоксии 10 th minute of hypoxia	20-я мин гипоксии 20 th minute of hypoxia
Глутамин Glutamine				
Первая группа Group 1	416,1 (326,0; 533,9)	432,3 (356,5; 504,5)	478,1 (429,0; 526,8)*	442,3 (385,6; 508,9)
Вторая группа Group 2	439,0 (369,2; 460,0)	425,1 (401,6; 471,4)	437,2 (380,7; 440,1)*	397,2 (359,4; 451,7)
Серин Serine				
Первая группа Group 1	76,9 (67,9; 92,5)	81,9 (67,0; 92,0)	86,2 (75,4; 97,9)*	77,3 (73,1; 91,7)
Вторая группа Group 2	82,2 (60,7; 88,6)	77,5 (71,8; 83,5)	73,5 (54,3; 87,6)*	67,4 (57,7; 78,2)
Треонин Threonine				
Первая группа Group 1	138,5 (113,4; 150,6)	131,6 (125,8; 147,5)	148,7 (129,3; 160,6)*	132,9 (118,5; 150,4)
Вторая группа Group 2	132,2 (92,4; 135,1)	110,4 (104,1; 144,8)	127,2 (83,9; 142,8)*	107,63 (95,9; 131,0)
Гистидин Histidine				
Первая группа Group 1	58,1 (53,9; 69,7)	62,3 (48,8; 67,8)	63,9 (59,8; 70,7)*	56,7 (55,1; 71,5)
Вторая группа Group 2	54,4 (51,3; 58,7)	55,2 (52,5; 59,5)	57,2 (51,0; 62,1)*	51,8 (48,7; 61,7)

Примечание. * – различия между первой и второй группами достоверны при $p < 0,05$.

Note. * – the differences between Group 1 and Group 2 are significant at $p \leq 0.05$.

В проведённом исследовании две группы добровольцев подвергались гипоксическому воздействию либо с утра натощак (первая группа), либо после лёгкого безжирового завтрака (вторая группа). Известно, что при ограничении поступления АК в организм внутриклеточная концентрация незаменимых АК, особенно метионина, АК с разветвлённой цепью, увеличивается [18]. Такие изменения объясняют двумя механизмами: активацией

высвобождения этих АК из внутриклеточных белков в результате аутофагии и увеличением их транспорта в клетки извне [19].

Согласно полученным результатам, между группами не наблюдалось различий по показателям большинства АК, включая большую часть незаменимых АК, ни до гипоксии, ни в течение 20 мин гипоксического воздействия. Это говорит о том, что регуляторные механизмы в целом эффективно справляются

с поддержанием гомеостаза АК даже на фоне острой гипоксии, несмотря на различия между первой и второй группами. Статистически значимые различия были выявлены только для четырёх АК: глутамина, серина, треонина и гистидина – и только на 10-й мин гипоксии (рис. 2). При этом изменения были сходны: уровни этих свободных АК плазмы были зна-

чимо выше в первой группе по сравнению со второй. Такая избирательность в отношении отдельных АК свидетельствует о наличии специфического механизма. Предположительно, наблюдаемая картина объясняется различиями работы транспортных систем АК, осуществляющих перенос молекул АК через клеточную мембрану.

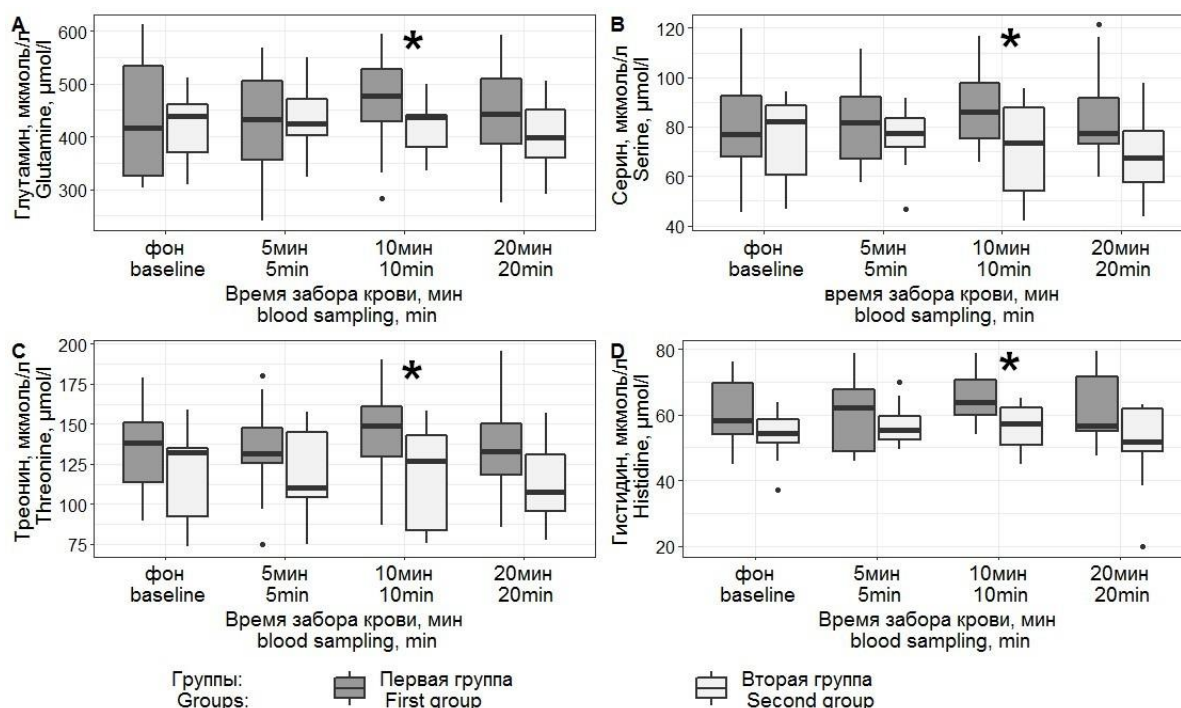


Рис. 2. Уровни свободных глутамина, серина, треонина и гистидина плазмы крови у добровольцев в динамике гипоксического эксперимента, $\mu\text{mol/l}$ (* – различия между первой и второй группами достоверны при $p < 0,05$)

Fig. 2. Plasma levels of free glutamine, serine, threonine, and histidine in volunteers during a hypoxic experiment, $\mu\text{mol/l}$ (* – the differences between Group 1 and Group 2 are significant at $p < 0.05$)

У человека имеется множество типов мембранных транспортёров АК, обладающих специфичностью в отношении переносимых АК [20]. Важную роль в системном гомеостазе АК играют универсально встречающиеся «гармонизирующие» транспортёры, ключевая функция которых – компенсация дисбалансов АК, возникающих в клетке при активном потреблении и недостаточном поступлении различных АК [8]. Эти транспортные системы работают по принципу антипорта, т.е. переносят молекулы определённых АК из внеклеточного

пространства в цитоплазму в обмен на молекулы других АК, которые таким образом выводятся из клетки («обменные субстраты») [20]. Движущей силой этих антипортов являются градиенты концентрации АК-обменных субстратов, существующие между цитоплазмой и межклеточной жидкостью (уровни АК в цитоплазме значительно превышают уровни в плазме) [21].

Четыре АК, уровни которых продемонстрировали значимые различия между группами, являются такими обменными субстра-

тами для важных «гармонизирующих» транспортеров: ASCT1 (SLC1A4), ASCT2 (SLC1A5) и LAT1 (SC7A5).

Известно, что ASCT1 (SLC1A4) и ASCT2 (SLC1A5) транспортируют небольшие нейтральные АК и могут использовать в качестве обменных субстратов заменимый серин и незаменимый треонин [8]. Другой важный транспортер – LAT1 (SC7A5) – обеспечивает перенос большей части незаменимых АК – триптофана, фенилаланина, гистидина, лейцина, изолейцина, валина, метионина (а также тирозина) – внутрь клетки также по механизму антипорта [20]. При этом гистидин является одним из основных обменных субстратов для LAT1, и считается, что именно градиент по гистидину между цитоплазмой и межклеточной жидкостью движет переносом других АК через мембрану при участии LAT1. Глутамин – это АК, «объединяющая» транспортеры ASCT2 (SLC1A5) и LAT1 (SC7A5) и способная выступать обменным субстратом в обеих системах. Таким образом, эта АК может обмениваться на незаменимые АК из межклеточной среды, если клетка испытывает потребность в них [22].

Можно предположить, что причиной наблюдавшихся различий уровней четырёх АК на 10-й мин гипоксии послужили различия в активности упомянутых переносчиков АК между двумя группами.

В литературе внимание преимущественно уделяется регуляции экспрессии генов этих транспортных белков – ключевому регуляторному механизму, не способному, однако, обеспечить кратковременное изменение активности. В то же время имеются свидетельства наличия быстрой регуляции: для транспортеров семейства А был продемонстриро-

ван рекрутинг транспортеров в мембраны [23], в т.ч. под действием таких гормонов, как инсулин [24]. Для ASCT1, в частности, было показано быстрое изменение активности под действием лейкотриена D4 [25]. Ещё большие пробелы остаются в понимании регуляции активности LAT1 [20], но было показано, что изменение содержания холестерина в мембране влияет на работу этого переносчика [25].

Заключение. Полученные данные свидетельствуют об удовлетворительном поддержании гомеостаза АК у двух групп добровольцев, подвергавшихся воздействию острой нормобарической гипоксии натошак и после лёгкого завтрака. Выявленные на 10-й мин острой гипоксии значимые различия между группами в уровнях ряда свободных АК плазмы крови могли быть обусловлены изменениями в работе «гармонизирующих» мембранных транспортеров, для которых эти АК – глутамин, серин, треонин и гистидин – являются обменными субстратами. Известно, что на работу переносчиков АК оказывают влияние быстрые механизмы изменения их активности, в т.ч. и опосредованные питанием. Можно заключить, что острая нормобарическая гипоксия у добровольцев-мужчин при различном статусе питания (натошак и после лёгкого завтрака) оказывает разнонаправленное влияние на уровни отдельных свободных АК плазмы крови. Наблюдаемые изменения уровней свободных АК при гипоксии, вероятно, отражают срочные адаптивные перестройки обмена АК в ответ на воздействие экстремального раздражителя. Мы полагаем, что это может иметь значение для обеспечения адаптации организма человека к острой гипоксии и эффективной коррекции последствий гипоксического воздействия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Küpper T., Milledge J.S., Hillebrandt D., Kubalová J., Hefti U., Basnyat B. Work in hypoxic conditions-consensus statement of the Medical Commission of the Union Internationale des Associations d'Alpinisme (UIAA MedCom). Ann. Occup. Hyg. 2011; 55 (4): 369–386.
2. Сороко С.И., Бурых Э.А., Бекшаев С.С., Сергеева Е.Г. Комплексное многопараметрическое исследование системных реакций организма человека при дозированном гипоксическом воздействии. Физиология человека. 2005; 31 (5): 88–109.

3. Балыкин М.В., Сагидова С.А., Айзатулова Е.Д., Антипов И.В., Жарков А.В. Гипоксия: системные, органные, молекулярно-клеточные механизмы компенсации и адаптации. Ульяновский медико-биологический журнал. 2016; 4: 12–14.
4. Vemou A.H. Взаимодействие кислородчувствительных механизмов в клетке. Ульяновский медико-биологический журнал. 2019; 3: 52–62.
5. Solberg R., Enot D., Deigner H.P., Koal T., Scholl-Burgi S., Saugstad O.D. Metabolomic Analyses of Plasma Reveals New Insights into Asphyxia and Resuscitation in Pigs. *Plos One*. 2010; 5 (3): e9606.
6. Wu G. Functional amino acids in nutrition and health. *Amino Acids*. 2013; 45 (3): 407–411.
7. Dillon E.L. Nutritionally essential amino acids and metabolic signaling in aging. *Amino Acids*. 2012; 45 (3): 431–441.
8. Bröer S., Bröer A. Amino acid homeostasis and signalling in mammalian cells and organisms. *Biochemical Journal*. 2017; 474 (12): 1935–1963.
9. Cynober L.A. Plasma amino acid levels with a note on membrane transport: characteristics, regulation, and metabolic significance. *Nutrition*. 2002; 18 (9): 761–766.
10. Felig P., Owen O.E., Wahren J., Cahill G.F.Jr. Amino acid metabolism during prolonged starvation. *The Journal of clinical investigation*. 1969; 48 (3): 584–594.
11. Brosnan J.T. Interorgan amino acid transport and its regulation. *Journal of Nutrition*. 2003; 133 (6): 2068S–2072S.
12. Castell L.M., Thake C.D., Ensign W. Biochemical markers of possible immunodepression in military training in harsh environments. *Military medicine*. 2010; 175 (3): 158–165.
13. Liao W.T., Liu B., Chen J., Cui J.H., Gao Y.X., Liu F.Y. Metabolite Modulation in Human Plasma in the Early Phase of Acclimatization to Hypobaric Hypoxia. *Scientific reports*. 2016; 6: 22589.
14. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects. *Bull World Health Organ*. 2001; 79 (4): 373–374.
15. Бойко Е.Р., Людина А.Ю., Бурых Э.А., Потолицына Н.Н., Канева А.М., Пономарев М.Б., Шадрина В.Д., Паршукова О.И., Иржак Л.И., Сороко С.И. Изменение пула жирных кислот в плазме крови у человека при воздействии острой нормобарической гипоксии. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сечернова*. 2010; 96 (5): 441–454.
16. Milsom J.P., Morgan M.Y., Sherlock S. Factors affecting plasma amino acid concentrations in control subjects. *Metabolism*. 1979; 28 (4): 313–319.
17. Bailey D.M., Castell L.M., Newsholme E.A., Davies B. Continuous and intermittent exposure to the hypoxia of altitude: implications for glutamine metabolism and exercise performance. *British Journal of Sports Medicine*. 2000; 34 (3): 210–212.
18. Millward D.J., Nnanyelugo D.O., James W.P.T., Garlick P.J. Protein metabolism in skeletal muscle: the effect of feeding and fasting on muscle RNA, free amino acids and plasma insulin concentrations. *British Journal of Nutrition*. 1974; 32 (1): 127–142.
19. Mizushima N. The role of the Atg1/ULK1 complex in autophagy regulation. *Current Opinion in Cell Biology*. 2010; 22 (2): 132–139.
20. Scalise M., Galluccio M., Console L., Pochini L., Indiveri C. The Human SLC7A5 (LAT1): The Intriguing Histidine/Large Neutral Amino Acid Transporter and Its Relevance to Human Health. *Frontiers in Chemistry*. 2018; 6 (243).
21. Bergstrom J., Furst P., Noree L.O., Vinnars E. Intracellular free amino acid concentration in human muscle tissue. *J. Appl. Physiol*. 1974; 36 (6): 693–697.
22. Bhutia Y.D., Ganapathy V. Glutamine transporters in mammalian cells and their functions in physiology and cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2016; 1863 (10): 2531–2539.
23. Ling R., Bridges C.C., Sugawara M., Fujita T., Leibach F.H., Prasad P.D. Involvement of transporter recruitment as well as gene expression in the substrate-induced adaptive regulation of amino acid transport system A. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2001; 1512 (1): 15–21.
24. Hyde R., Peyrollier K., Hundal H.S. Insulin promotes the cell surface recruitment of the SAT2/ATA2 system A amino acid transporter from an endosomal compartment in skeletal muscle cells. *The Journal of biological chemistry*. 2002; 277 (16): 13628–13634.
25. Dickens D., Chiduzza G.N., Wright G.S.A., Pirmohamed M., Antonyuk S.V., Hasnain S.S. Modulation of LAT1 (SLC7A5) transporter activity and stability by membrane cholesterol. *Scientific reports*. 2017; 7: 43580.

Поступила в редакцию 19.12.2019; принята 15.01.2020.

Авторский коллектив

Черных Алексей Анатольевич – младший научный сотрудник отдела экологической и медицинской физиологии, Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Коми научный центр» Уральского отделения Российской академии наук. 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 50; e-mail: chernykh.al.an@gmail.com, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-1574-5588>.

Потолицына Наталья Николаевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела экологической и медицинской физиологии, Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Коми научный центр» Уральского отделения Российской академии наук. 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 50; e-mail: potol_nata@list.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-4804-6908>.

Бурых Эдуард Анатольевич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории сравнительных эколого-физиологических исследований, ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук. 194223, Россия, г. Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44; e-mail: edwb@newmail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-0407-8000>.

Бойко Евгений Рафаилович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом экологической и медицинской физиологии, Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Коми научный центр» Уральского отделения Российской академии наук. 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 50; e-mail: boiko60@inbox.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-8027-898X>.

Образец цитирования

Черных А.А., Потолицына Н.Н., Бурых Э.А., Бойко Е.Р. Показатели свободных аминокислот плазмы крови человека при нормобарической гипоксии в зависимости от пищевого статуса. Ульяновский медико-биологический журнал. 2020; 1: 108–117. DOI: 10.34014/2227-1848-2020-1-108-117.

LEVELS OF FREE PLASMA AMINO ACIDS UNDER ACUTE NORMOBARIC HYPOXIA IN VOLUNTEERS IN FASTED AND POSTPRANDIAL STATES

A.A. Chernykh¹, N.N. Potolitsyna¹, E.A. Burykh², E.R. Boyko¹

¹Institute of Physiology, Komi Science Centre of the Russian Academy of Sciences, Ural Branch, Syktывkar, Komi Republic, Russia;

²Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russia

The aim of the study was to assess the effect of acute normobaric hypoxia on free plasma amino acids (AA) in volunteers after overnight fasting and in the fed state.

Materials and Methods. Group 1 (n=13, aged 22–32) participated in the study in the morning after overnight fasting. Group 2 (n=9, aged 22–32) took part in the study after a light fat-free breakfast. Acute normobaric hypoxia was achieved by breathing a hypoxic gas mixture (9 % O₂ and 91 % N₂) through a mask. According to the experimental protocol, blood sampling from the cubital vein was performed for analysis. Free plasma amino acids were analyzed using the Aracus amino acid analyzer.

Results. Prior to the hypoxia onset, at the 5th and 20th minutes of hypoxia, no statistically significant differences in free AA levels were observed in the groups (p>0.05). At the 10th minute of hypoxia the levels of four AAs (serine, threonine, glutamine, and histidine) were significantly higher in Group 1 than in Group 2 (p<0.05).

This was probably due to differences in functioning of several key “harmonizing” AA transporters (ASCT1 (SLC1A4), ASCT2 (SLC1A5) and LAT1 (SC7A5)), for which the AAs were metabolic substrates. It can be assumed, that such changes were caused by currently unclear mechanisms of fast regulation of AA transporter activity, associated with nutritional status.

Conclusion. We believe that our findings may be important for providing better adaptation to hypoxia, and for more efficient correction of hypoxic negative effects.

Keywords: acute normobaric hypoxia, free plasma amino acids, human.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

References

1. Küpper T., Milledge J.S., Hillebrandt D., Kubalová J., Hefti U., Basnyat B. Work in hypoxic conditions—consensus statement of the Medical Commission of the Union Internationale des Associations d'Alpinisme (UIAA MedCom). *Ann. Occup. Hyg.* 2011; 55 (4): 369–386.
2. Soroko S.I., Burykh E.A., Bekshaev S.S., Sergeeva E.G. Kompleksnoe mnogoparametricheskoe issledovanie sistemnykh reaktsiy organizma cheloveka pri dozirovannom gipoksicheskom vozdeystvii [Comprehensive multi-parameter study of human systemic reactions under dosed hypoxic exposure]. *Fiziologiya cheloveka.* 2005; 31 (5): 88–109 (in Russian).
3. Balykin M.V., Sagidova S.A., Azyyatulova E.D., Antipov I.V., Zharkov A.V. Gipoksiya: sistemnye, organnye, molekulyarno-kletochnye mekhanizmy kompensatsii i adaptatsii [Hypoxia: systemic, organic and molecular-cellular mechanisms of compensation and adaptation]. *Ul'yanovskiy mediko-biologicheskii zhurnal.* 2016; 4: 12–14 (in Russian).
4. Vetosh A.N. Vzaimodeystvie kislorodchuvstvitel'nykh mekhanizmov v kletke [Interaction of oxygen-sensing mechanisms in cells]. *Ul'yanovskiy mediko-biologicheskii zhurnal.* 2019; 3: 52–62 (in Russian).
5. Solberg R., Enot D., Deigner H.P., Koal T., Scholl-Burgi S., Saugstad O.D. Metabolomic Analyses of Plasma Reveals New Insights into Asphyxia and Resuscitation in Pigs. *Plos One.* 2010; 5 (3): e9606.
6. Wu G. Functional amino acids in nutrition and health. *Amino Acids.* 2013; 45 (3): 407–411.
7. Dillon E.L. Nutritionally essential amino acids and metabolic signaling in aging. *Amino Acids.* 2012; 45 (3): 431–441.
8. Bröer S., Bröer A. Amino acid homeostasis and signalling in mammalian cells and organisms. *Biochemical Journal.* 2017; 474 (12): 1935–1963.
9. Cynober L.A. Plasma amino acid levels with a note on membrane transport: characteristics, regulation, and metabolic significance. *Nutrition.* 2002; 18 (9): 761–766.
10. Felig P., Owen O.E., Wahren J., Cahill G.F.Jr. Amino acid metabolism during prolonged starvation. *The Journal of clinical investigation.* 1969; 48 (3): 584–594.
11. Brosnan J.T. Interorgan amino acid transport and its regulation. *Journal of Nutrition.* 2003; 133 (6): 2068S–2072S.
12. Castell L.M., Thake C.D., Ensign W. Biochemical markers of possible immunodepression in military training in harsh environments. *Military medicine.* 2010; 175 (3): 158–165.
13. Liao W.T., Liu B., Chen J., Cui J.H., Gao Y.X., Liu F.Y. Metabolite Modulation in Human Plasma in the Early Phase of Acclimatization to Hypobaric Hypoxia. *Scientific reports.* 2016; 6: 22589.
14. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects. *Bull World Health Organ.* 2001; 79 (4): 373–374.
15. Boyko E.R., Lyudinina A.Yu., Burykh E.A., Potolitsyna N.N., Kaneva A.M., Ponomarev M.B., Shadrina V.D., Parshukova O.I., Irzhak L.I., Soroko S.I. Izmenenie pula zhirnykh kislot v plazme krovi u cheloveka pri vozdeystvii ostroy normobaricheskoy gipoksii. [Fatty acid of human plasma under the influence of acute strong normobaric hypoxia]. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechernova.* 2010; 96 (5): 441–454 (in Russian).
16. Milsom J.P., Morgan M.Y., Sherlock S. Factors affecting plasma amino acid concentrations in control subjects. *Metabolism.* 1979; 28 (4): 313–319.
17. Bailey D.M., Castell L.M., Newsholme E.A., Davies B. Continuous and intermittent exposure to the hypoxia of altitude: implications for glutamine metabolism and exercise performance. *British Journal of Sports Medicine.* 2000; 34 (3): 210–212.
18. Millward D.J., Nnanyelugo D.O., James W.P.T., Garlick P.J. Protein metabolism in skeletal muscle: the effect of feeding and fasting on muscle RNA, free amino acids and plasma insulin concentrations. *British Journal of Nutrition.* 1974; 32 (1): 127–142.
19. Mizushima N. The role of the Atg1/ULK1 complex in autophagy regulation. *Current Opinion in Cell Biology.* 2010; 22 (2): 132–139.
20. Scalise M., Galluccio M., Console L., Pochini L., Indiveri C. The Human SLC7A5 (LAT1): The Intriguing Histidine/Large Neutral Amino Acid Transporter and Its Relevance to Human Health. *Frontiers in Chemistry.* 2018; 6 (243).
21. Bergstrom J., Furst P., Noree L.O., Vinnars E. Intracellular free amino acid concentration in human muscle tissue. *J. Appl. Physiol.* 1974; 36 (6): 693–697.

22. Bhutia Y.D., Ganapathy V. Glutamine transporters in mammalian cells and their functions in physiology and cancer. *Biochim. Biophys. Acta*. 2016; 1863 (10): 2531–2539.
23. Ling R., Bridges C.C., Sugawara M., Fujita T., Leibach F.H., Prasad P.D. Involvement of transporter recruitment as well as gene expression in the substrate-induced adaptive regulation of amino acid transport system A. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2001; 1512 (1): 15–21.
24. Hyde R., Peyrollier K., Hundal H.S. Insulin promotes the cell surface recruitment of the SAT2/ATA2 system A amino acid transporter from an endosomal compartment in skeletal muscle cells. *The Journal of biological chemistry*. 2002; 277 (16): 13628–13634.
25. Dickens D., Chiduzza G.N., Wright G.S.A., Pirmohamed M., Antonyuk S.V., Hasnain S.S. Modulation of LAT1 (SLC7A5) transporter activity and stability by membrane cholesterol. *Scientific reports*. 2017; 7: 43580.

Received 19 December 2019; accepted 15 January 2020.

Information about the authors

Chernykh Aleksey Anatol'evich, Junior Researcher, Department of Environmental and Medical Physiology, Institute of Physiology, Komi Science Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 167982, Russia, Syktyvkar, Pervomayskaya Street, 50; e-mail: chernykh.al.an@gmail.com, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-1574-5588>.

Potolitsyna Natalya Nikolaevna, Candidate of Sciences (Biology), Senior Researcher, Department of Environmental and Medical Physiology, Institute of Physiology, Komi Science Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 167982, Russia, Syktyvkar, Pervomayskaya Street, 50; e-mail: potol_nata@list.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-4804-6908>.

Burykh Eduard Anatol'evich, Candidate of Sciences (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Comparative Ecological and Physiological Studies, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences. 194223, Russia, Saint-Petersburg, Torez ave., 44; e-mail: edwb66@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-0407-8000>.

Boyko Evgeniy Rafailovich, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Head of Department of Environmental and Medical Physiology, Institute of Physiology, Komi Science Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 167982, Russia, Syktyvkar, Pervomayskaya Street, 50; e-mail: boiko60@inbox.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-8027-898X>.

For citation

Chernykh A.A., Potolitsyna N.N., Burykh E.A., Boyko E.R. Pokazateli svobodnykh aminokislot plazmy krovi cheloveka pri normobaricheskoy gipoksii v zavisimosti ot pishchevogo statusa [Levels of free plasma amino acids under acute normobaric hypoxia in volunteers in fasted and postprandial states]. *Ulyanovsk Medico-Biological Journal*. 2020; 1: 108–117. DOI: 10.34014/2227-1848-2020-1-108-117 (in Russian).