

DOI: 10.26693/jmbs03.07.243

УДК 612.223:616.127:616.379-008.64

Портніченко А. Г.<sup>1,2</sup>, Василенко М. І.<sup>1,2</sup>,  
 Лапікова-Бригінська Т. Ю.<sup>1,2</sup>, Бабічева В. В.<sup>2</sup>,  
 Портніченко Г. В.<sup>1,2</sup>, Колчева М. Г.<sup>1,2</sup>, Портніченко В. І.<sup>1,2</sup>

## IGF-1-ЗАЛЕЖНІ ПРОТЕКТОРНІ МЕХАНІЗМИ ПРИ ГІПОКСІЇ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ДІАБЕТИ

<sup>1</sup> МЦ АМЕД НАН України, Київ

<sup>2</sup> Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ, Україна

port@biph.kiev.ua

Інсуліноподібний фактор росту IGF-1 може діяти як стимулятор транспорту глюкози та окиснення жирних кислот. Компоненти системи інсуліноподібних факторів росту відносяться до гіпоксія-індуцибельних генів, проте особливості їх гіпоксичної регуляції недостатньо досліджені.

Метою роботи було оцінити індукцію білка IGF-1 в міокарді при адаптації та деадаптації до впливу середньогірної та періодичної гіпоксії у інтактних щурів, а також при експериментальному цукровому діабеті.

Щурів-самців лінії Вістар, інтактних та при стрептозотин-індукованому діабеті, піддавали 3-тижневій адаптації до дії середньогірної гіпоксії (2100 м над рівнем моря), частина щурів кожної групи додатково зазнавала 2-тижневої дії періодичної гіпоксії (5600 м, 1 год кожні 3 д). Експресію білка визначали методом імуноблотингу.

При впливі середньогірної гіпоксії значне зростання експресії білка відбувалося у міокарді щурів з діабетом, що супроводжувалося зменшенням гіперглікемії на 33%. Комбінований гіпоксичний вплив призводив до транзиторної індукції білка IGF-1 і у контрольних, і у діабетичних щурів, більш значно у правому шлуночку серця.

Встановлено транзиторне посилення IGF-1-опосередкованих захисних механізмів в шлуночках серця при адаптації до комбінованого гіпоксичного впливу. При експериментальному діабеті виявлено сприятливе посилення експресії IGF-1 у шлуночках серця внаслідок застосування середньогірної та періодичної гіпоксії. Гіпокситерапія може бути перспективним методом стимуляторного впливу на систему IGF-1 завдяки попередженню надмірної її активації.

**Ключові слова:** гіпоксія, експериментальний діабет, інсуліноподібний фактор росту.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дане дослідження є фрагментом НДР МЦ АМЕД НАНУ «Молекулярно-генетичні

механізми метаболічної адаптації та деадаптації до впливу гіпоксії» (№ держ. реєстрації 0112U008196), «Фазові зміни енергетичного метаболізму на різних етапах тривалої адаптації до гіпоксичного середовища» (№ держ. реєстрації 0117U004054), та Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАНУ «Механізми розвитку та компенсації гіпоксичних та оксидативних тканинних пошкоджень при нейродегенеративних і метаболічних розладах» (№ держ. реєстрації 0116U004474).

**Вступ.** Однією з регуляторних систем, залучених до розвитку метаболічної адаптації, визнають систему інсуліноподібних факторів росту (IGF) [1–3]. Інсуліноподібний фактор росту-1 (IGF-1) – пептид, структурно подібний до інсуліну, але відмінний за ефектами дії. На метаболічному рівні IGF-1 координаційно пов'язує дію гормону росту й інсуліну і прямим чином впливає на проміжний метаболізм, є важливим стимулятором синтезу білка в м'язах, регулятором обміну вуглеводів і ліпідів [2–5].

З точки зору компенсації порушень вуглеводного обміну важливою є дія цього фактору як інсуліннезалежного стимулятора транспорту глюкози та використання жирних кислот. У м'язовій тканині IGF-I може безпосередньо стимулювати транспорт глюкози через рецептори IGF-I (IGF-1R) та гібридні інсулін/IGF-1R [5, 6]. Сигнальний шлях IGF-1R/PI3K/Акт також опосередковує дію IGF як потужних мітогенів, що регулюють процеси пренатального та постнатального росту, клітинну проліферацію, диференціацію, запобігають механізмам клітинної смерті, що відіграє ключову роль у рості і ремоделюванні тканин, в тому числі, сприяє гіпертрофічному та пухлинному росту [1–6]. Ці ефекти можуть регулюватися тиреоїдним гормоном Т4, який інгібує IGF-I-стимульований транспорт глюкози та клітинну проліферацію в міобластах [7]. Важливо, що компоненти системи IGF відносяться до гіпоксія-індуцибельних генів [4], проте особливості їх гіпоксичної регуляції недостатньо досліджені. Однак визначено негативну кореляцію між рівнем IGF-1

плазми крові і поширеністю метаболічного синдрому, а також асоційованих серцево-судинних ускладнень [1]. Наведені факти вказують на необхідність поглибленого вивчення молекулярних месенджерів метаболічної перебудови при гіпоксії, як можливих ланок протекторних механізмів попередження та компенсації метаболічних розладів.

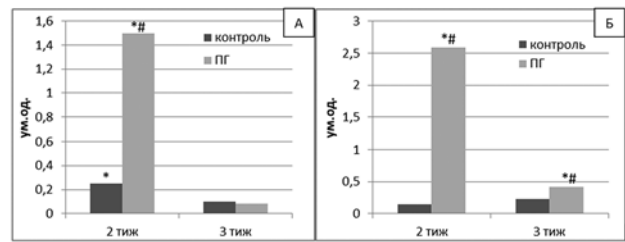
**Метою роботи** було оцінити індукцію білка IGF-1 в міокарді при адаптації та деадаптації до впливу середньогірної та періодичної гіпоксії у інтактних щурів, а також при експериментальному цукровому діабеті.

**Матеріали та методи дослідження.** Експерименти проведено на 40 щурах-самцях лінії Вістар віком 6 міс, масою 300–350 г, неадапованих до гіпоксії. У щурів дослідної групи моделювали діабет за допомогою введення стрептозотоцину (50 мг/кг в/ч), глікемію визначали за допомогою глюкометра One Touch Select. Контрольна та дослідна групи піддавалися тритижневій адаптації до дії середньогірної гіпоксії (2100 м н.р.м.). У режимі комбінованого впливу частина щурів кожної групи додатково зазнавала 2-тижневої дії періодичної гіпоксії (ПГ), а саме 5 сеансів «підйому» в барокамері на «висоту» 5600 м протягом 1 год кожні 3 доби. Експресію білка визначали у лівому та правому шлуночках серця, вилученого під уретановим наркозом, методом імуноблотингу з використанням обладнання та протоколів фірми BioRad Labs та специфічних антитіл згідно з рекомендаціями виробника. Відносний рівень експресії білка розраховували по відношенню до рівня стандартного house-keeping білка GAPDH у відповідних зразках та обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006, ст. 26), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

**Результати дослідження та їх обговорення.** Встановлено, що комбінований вплив гіпоксії значно підвищував експресію IGF-1 в шлуночках серця, а після тижневої деадаптації його рівень знижувався (рис. 1 А, Б). За відсутності гіпоксичного впливу виявляли тільки сліди експресії білка.

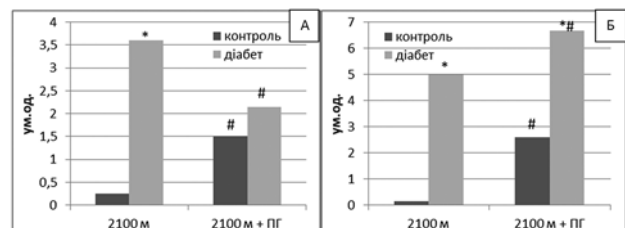
При впливі середньогірної гіпоксії у шлуночках серця щурів з діабетом спостерігали значне зростання експресії білка (рис. 2, А, Б), що вказувало на активацію інсуліннезалежних механізмів транспорту глюкози в міокарді та супроводжувалося



**Рис. 1.** Відносний рівень експресії білка IGF-1 у лівому (А) та правому (Б) шлуночках серця щурів при адаптації (2 тиж) та деадаптації (3 тиж) до комбінованого впливу гіпоксії

**Примітки:** \*P < 0,05 у порівнянні з вихідними значення; #P < 0,05 у порівнянні з контрольною групою.

зменшенням гіперглікемії на 33%. Комбінований гіпоксичний вплив призводив до індукції білка IGF-1 і у контрольних, і у діабетичних щурів (рис. 2 А, Б). Надмірна індукція і можливий прогіпертрофічний вплив у лівому шлуночку при цьому обмежувалися (рис. 2, А). У правому шлуночку серця, функціонально більш навантаженому при гіпоксії, експресія білка IGF-1 була більш значною в обох групах і продовжила зростати у щурів з діабетом при впливі ПГ (рис. 2 Б).



**Рис. 2.** Відносний рівень експресії білка IGF-1 у лівому (А) та правому (Б) шлуночках серця щурів з експериментальним діабетом після комбінованого впливу гіпоксії

**Примітки:** \*P < 0,05 у порівнянні з контрольною групою; #P < 0,05 у порівнянні з впливом середньогірної гіпоксії без ПГ.

Одержані нами результати можуть свідчити про регульоване посилення IGF-1-опосередкованих захисних механізмів при експериментальному діабеті внаслідок застосування різних гіпоксичних режимів.

За даними клінічних досліджень, при діабеті I типу і особливо його тяжкому декомпенсованому перебігу рівень IGF-1 у плазмі знижений, а його нормалізація при терапії інсуліном корелює з покращенням глюкозного гомеостазису [5, 8]. IGF-1 виявив позитивну кореляцію зі зниженням рівня глюкози і підвищенням чутливості до інсуліну при діабеті типів I і II [2], що відповідає нашим результатам. Нами продемонстровано також активацію IGF-1-залежної кінази Akt та транспортерів глюкози, як

ланок сигнальних шляхів цитопротекції при дії середньогірної гіпоксії [9, 10].

Втручання, що підвищують рівень IGF-1 та відновлюють дисбаланс компонентів системи IGF, розглядаються останнім часом як перспективні для лікування діабету та попередження його ускладнень [3, 5, 8]. Останні клінічні дослідження демонструють відновлення синтезу та біодоступності IGF-I при введенні інсуліну у портальну систему. Лікування діабету препаратами інсуліну з високою афінністю до IGF-1R може спричинювати кардіопротекторний ефект через відновлення рівня IGF-1 в крові та тканинах [5].

Однак, виявлено патофізіологічні ризики, пов'язані з рівнем IGF-1. Зокрема, надмірна стимуляція IGF-1R при тривалій гіперінсулінемії понад терапевтичний рівень, потрібний для компенсації інсулінорезистентності, може підвищити кардіоваскулярний ризик, а також стимулювати мітогенну дію IGF-1 на клітини [2, 5]. Припускають, що нормальний рівень IGF-1 може бути біомаркером метабо-

лічного контролю при діабеті та, при поєднанні з HbA1c, підвищувати надійність критеріїв попередження серцево-судинного ризику [5]. З огляду на це, застосування гіпокситерапії може бути перспективним методом додаткового стимуляторного впливу на систему IGF-1 завдяки ендogenous регуляторним механізмам попередження надмірної її активації.

#### Висновки

1. Встановлено транзиторне посилення IGF-1-опосередкованих захисних механізмів в шлуночках серця при адаптації до комбінованого гіпоксичного впливу.
2. При експериментальному цукровому діабеті виявлено сприятливе посилення експресії IGF-1 у шлуночках серця внаслідок застосування середньогірної та періодичної гіпоксії.

**Перспективи подальших досліджень.** На підставі одержаних результатів планується розробка гіпокситерапевтичних підходів, пов'язаних зі стимуляцією інсуліннезалежних шляхів транспорту глюкози при цукровому діабеті.

#### References

1. Ren J, Anversa P. The insulin-like growth factor I system: physiological and pathophysiological implication in cardiovascular diseases associated with metabolic syndrome. *Biochem Pharmacol.* 2015 Feb 15; 93(4): 409-17. PMID: 25541285. DOI: 10.1016/j.bcp.2014.12.006
2. Clemmons DR. Metabolic actions of insulin-like growth factor-I in normal physiology and diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2012 Jun; 41(2): 425-43, vii-viii. PMID: 22682639. PMID: PMC3374394. DOI: 10.1016/j.ecl.2012.04.017
3. Aguirre GA, De Ita JR, de la Garza RG, Castilla-Cortazar I. Insulin-like growth factor-1 deficiency and metabolic syndrome. *J Transl Med.* 2016 Jan 6; 14: 3. PMID: 26733412. PMID: PMC4702316. DOI: 10.1186/s12967-015-0762-z
4. Tazuke SI, Mazure NM, Sugawara J, Carland G, Faessen GH, Suen LF, Irwin JC, Powell DR, Giaccia AJ, Giudice LC. Hypoxia stimulates insulin-like growth factor binding protein 1 (IGFBP-1) gene expression in HepG2 cells: a possible model for IGFBP-1 expression in fetal hypoxia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998 Aug 18; 95(17): 10188-93. PMID: 9707622. PMID: PMC21483
5. Giustina A, Berardelli R, Gazzaruso C, Mazziotti G. Insulin and GH-IGF-I axis: endocrine pacer or endocrine disruptor? *Acta Diabetol.* 2015 Jun; 52(3): 433-43. PMID: 25118998. DOI: 10.1007/s00592-014-0635-6
6. Baserga R, Peruzzi F, Reiss K. The IGF-1 receptor in cancer biology. *Int J Cancer.* 2003; 107: 873-7. PMID: 14601044. DOI: 10.1002/ijc.11487
7. Incerpi S, Hsieh MT, Lin HY, Cheng GY, De Vito P, Fiore AM, Ahmed RG, Salvia R, Candelotti E, Leone S, Luly P, Pedersen JZ, Davis FB, Davis PJ. Thyroid hormone inhibition in L6 myoblasts of IGF-I-mediated glucose uptake and proliferation: new roles for integrin  $\alpha\beta3$ . *Am J Physiol Cell Physiol.* 2014 Jul 15; 307(2): C150-61. PMID: 24808494. DOI: 10.1152/ajpcell.00308.2013
8. Jehle PM, Jehle DR, Mohan S, Böhm BO. Serum levels of insulin-like growth factor system components and relationship to bone metabolism in Type 1 and Type 2 diabetes mellitus patients. *J Endocrinol.* 1998 Nov; 159(2): 297-306. PMID: 9795371. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1590297>
9. Portnichenko VI, Portnychenko AH, Surova OV. Hypoglycemia and gene induction in rat myocardium and lungs at hypobaric hypoxia. *Achiev Clin Exp Med.* 2009; 2: 65-8.
10. Portnychenko AH, Lapikova-Bryhinska TYu, Vasylenko MI, Portnichenko HV, Maslov LN, Moibenko OO. Cardiac hypoxic remodeling and preconditioning impact on protein kinase B (Akt) expression in left and right heart ventricles. *Intern J Physiol Pathophysiol.* 2014; 5(4): 345-54. <https://doi.org/10.1615/IntJPhysPathophys.v5.i4.70>

УДК 612.223:616.127:616.379-008.64

#### IGF-1-ЗАВИСИМЫЕ ПРОТЕКТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПРИ ГИПОКСИИ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИАБЕТЕ

Портниченко А. Г., Василенко М. И., Лапикова-Бригинская Т. Ю.,

Бабичева В. В., Портниченко Г. В., Колчева М. Г., Портниченко В. И.

**Резюме.** Инсулиноподобный фактор роста IGF-1 может действовать как стимулятор транспорта глюкозы и окисления жирных кислот. Компоненты системы инсулиноподобных факторов роста относятся к

гипоксия-индуцибельным генам, однако особенности их гипоксической регуляции недостаточно исследованы.

*Целью работы* было оценить индукцию белка IGF-1 в миокарде при адаптации и деадаптации к воздействию среднегорной и периодической гипоксии у интактных крыс, а также при экспериментальном сахарном диабете.

*Материалы и методы.* Крыс-самцов линии Вистар, интактных и со стрептозотозин-индуцированным диабетом, подвергали 3-трехнедельной адаптации к действию среднегорной гипоксии (2100 м над уровнем моря), часть крыс каждой группы – дополнительно 2-недельному действию периодической гипоксии (5600 м, 1 ч каждые 3 сут). Экспрессию белка определяли методом иммуноблоттинга.

*Результаты.* При действии среднегорной гипоксии значительный рост экспрессии IGF-1 происходил в миокарде крыс с диабетом, сопровождаясь уменьшением гипергликемии на 33%. Комбинированное гипоксическое воздействие приводило к транзиторной индукции белка IGF-1 и у контрольных, и у диабетических крыс, более значительно в правом желудочке сердца.

*Выводы.* Установлено транзиторное усиление IGF-1-опосредованных защитных механизмов в желудочках сердца при адаптации к комбинированному гипоксическому воздействию. При экспериментальном диабете обнаружено благоприятное усиление экспрессии IGF-1 в желудочках сердца в результате применения среднегорной и периодической гипоксии. Гипокситерапия может быть перспективным методом стимуляции системы IGF-1 благодаря предупреждению чрезмерной ее активации.

**Ключевые слова:** гипоксия, экспериментальный диабет, инсулиноподобный фактор роста.

UDC 612.223:616.127:616.379-008.64

### **IGF-1-dependent Protective Mechanisms under Hypoxia and Experimental Diabetes**

**Portnychenko A. G., Vasylenko M. I., Lapikova-Briginska T. Yu.,**

**Babicheva V. V., Portnichenko G. V., Kolcheva M. G., Portnichenko V. I.**

**Abstract.** The insulin-like growth factor IGF-1 may act as an insulin-independent stimulator for glucose transport and fatty acid oxidation. The components of insulin-like growth factor system are hypoxia-inducible, but the peculiarities of their hypoxic regulation have not been sufficiently investigated.

*The purpose of the work* was to evaluate the induction of myocardial IGF-1 protein during adaptation to the effect of mild and periodic hypoxia in intact rats and in experimental diabetes.

*Materials and methods.* The male Wistar rats, intact and with streptozotocin-induced diabetes, were subjects to a three-week adaptation to the middle altitude hypoxia (2100 m above sea level). A half of the rats in each group were additionally subjects to 2 weeks of periodic hypoxia séances (combined regimen, 5600 m, 1 h every 3 d). We determined the protein expression by immunoblotting.

*Results.* The results of the study showed that a significant increase of IGF-1 protein expression in myocardium of diabetic rats were in middle altitude. This was accompanied by a decrease in hyperglycemia by 33%. Combined hypoxic treatment resulted in transient induction of the IGF-1 protein in both control and diabetic rats, more significantly in the right ventricle of the heart. The excessive induction of protein was limited.

*Conclusions.* However, we identified the pathophysiological risks associated with the level of IGF-1. In particular, over-stimulation of IGF-1R with prolonged hyperinsulinemia over the therapeutic level required to compensate for insulin resistance, which may increase cardiovascular risk and stimulate mitogenic IGF-1 activity on cells. It is believed that the normal level of IGF-1 may be a biomarker for metabolic control in diabetes and, in combination with HbA1c, increase the reliability of the criteria for the prevention of cardiovascular risk. In view of this, the use of hypoxia may be a promising method of additional stimulatory effects on the system IGF-1 due to endogenous regulatory mechanisms to prevent excessive activation. We noted transient intensification of IGF-1-mediated protective mechanisms in the ventricles of the heart during adaptation to combined influence of hypoxia. In experimental diabetes, we observed a favorable enhancement of IGF-1 expression in the heart ventricles after both middle altitude and periodic hypoxia.

**Keywords:** hypoxia, experimental diabetes, insulin-like growth factor.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 05.06.2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування