

І.І. Панчук, Л.С. Язловицька

СТРЕСОВІ ФАКТОРИ ТА АДАПТАЦІЯ У РОСЛИН І ТВАРИН



Міністерство освіти і науки України
Чернівецький національний університет
імені Юрія Федьковича

І.І. Панчук, Л.С. Язловицька

СТРЕСОВІ ФАКТОРИ ТА АДАПТАЦІЯ У РОСЛИН І ТВАРИН

Навчальний посібник



Чернівці
Чернівецький національний університет
імені Юрія Федьковича
2024

УДК 57.017(075.8)
П 168

Друкується за ухвалою вченої ради
Чернівецького національного університету
імені Юрія Федьковича
(протокол № 17 від 20.12.24)

Рецензенти:

Стасик О. О., доктор біологічних наук, член-кореспондент НАН України, завідувач відділу фізіології та екології рослин Інституту фізіології рослин і генетики НАН України;

Столяр О. Б. – доктор біологічних наук, професор, професор кафедри хімії та методики її навчання Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка.

Панчук І.І., Язловицька Л.С.

П 168 Стресові фактори та адаптація у рослин і тварин : навч. посібник /
І.І. Панчук, Л.С. Язловицька. Чернівці : Чернівець. нац. ун-т ім. Ю. Федьковича,
2024. – 264 с.
ISBN 978-966-423-940-7

Зміст видання відповідає вузівській програмі нормативного курсу «Адаптогенез у біологічних системах». Розглянуто функціональні та молекулярні механізми пристосування живих організмів до факторів зовнішнього середовища, особливості теплообмінних процесів та терморегуляції, газообміну, водно-сольового обміну тварин у нормальних умовах та за дії екстремальних абіотичних факторів; аналізуються молекулярно-генетичні процеси формування біоритмів у живих організмах.

Для студентів біологічних факультетів вузів, учителів біології, широкого кола науковців, які цікавляться сучасними підходами до еволюційного розвитку біологічних систем.

УДК 57.017(075.8)

ISBN 978-966-423-940-7

© Чернівецький національний університет
імені Юрія Федьковича, 2024
© Панчук І.І., Язловицька Л.С., 2024

ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНІ ПОНЯТТЯ СТРЕСУ ТА СТРЕСОВИХ ФАКТОРІВ	5
РОЗДІЛ 2. ВІДПОВІДЬ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ НА СТРЕСОВІ ФАКТОРИ.....	12
2.1. АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ ТА ЇХ ЗНЕШКОДЖЕННЯ	12
2.2. ВПЛИВ НАДМІРНОГО ОСВІТЛЕННЯ.....	35
2.3. ТЕПЛОВИЙ СТРЕС.....	41
2.4. СТРЕС, ВИКЛИКАНИЙ ІОНАМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ	65
2.5. СТІЙКІСТЬ ДО ЗАСОЛЕННЯ	74
РОЗДІЛ 3. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ, БІОХІМІЧНІ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСНОВИ АДАПТАЦІЇ ТВАРИН ДО АБІОТИЧНИХ ФАКТОРІВ	84
3.1. ВИДИ ТА ЗНАЧЕННЯ АДАПТАЦІЙ ДЛЯ ЖИТТЄДІЯЛЬНОСТІ ТВАРИН	84
3.2. ПЕРІОДИЧНІ ЗМІНИ ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНИХ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ В ОРГАНІЗМІ.....	105
3.3. ЕКОЛОГО-ФІЗІОЛОГІЧНІ, МОЛЕКУЛЯРНО-БІОХІМІЧНІ ТА ГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ АДАПТАЦІЇ ЖИВИХ ОРГАНІЗМІВ ДО ТЕМПЕРАТУРИ СЕРЕДОВИЩА ІСНУВАННЯ.....	157
3.4. ЕКОЛОГО-ФІЗІОЛОГІЧНІ, МОЛЕКУЛЯРНО-БІОХІМІЧНІ ТА ГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ АДАПТАЦІЯ ТВАРИН ДО НЕСТАЧІ КИСНЮ	207
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	252

ВСТУП

Стресові фактори – невід’ємна частина середовища існування організмів. Як рослини, так і тварини постійно стикаються з несприятливими умовами, які впливають на їхній ріст, розвиток і життєздатність. Ці умови вимагають від живих систем складних адаптаційних механізмів для забезпечення виживання та збереження функціональності у змінних або екстремальних умовах.

Цей навчальний посібник присвячений вивченню стресових факторів і механізмів адаптації у рослин і тварин. У ньому розглядаються абіотичні стресові впливи, молекулярно-генетичні та біохімічні механізми стійкості, а також загальні закономірності адаптаційних процесів у біологічних системах.

Рослини і тварини демонструють складні адаптаційні відповіді на стресові фактори, які включають активацію певних генів та синтез хімічних речовин, що допомагають їм зберігати життєздатність у несприятливих умовах.

Розуміння механізмів стресу та адаптації критично важливі у сучасній біології, агрономії та екології. Це знання допомагає вирішувати практичні завдання, пов’язані зі збереженням біорізноманіття, підвищенням стійкості культурних рослин і продуктивності тварин, а також розробкою стратегій для протистояння змінам клімату.

Метою навчального посібника є забезпечення студентів базовими знаннями щодо: природи стресу і стресових факторів; механізмів стійкості рослин до несприятливих умов навколишнього середовища; закономірностей і форм адаптації у тварин; молекулярних, біохімічних та фізіологічних механізмів адаптації до екстремальних умов

РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНІ ПОНЯТТЯ СТРЕСУ ТА СТРЕСОВИХ ФАКТОРІВ

Стрес – це складна фізіологічна реакція на внутрішні або зовнішні виклики, які зазвичай називають стресорами. Це адаптивний механізм, який готує організм до подолання труднощів, котрі можуть варіюватися від негайних загроз до тривалих навантажень. Хоча помірна кількість стресу може поліпшити продуктивність і виживання, хронічний або надмірний стрес може мати негативні наслідки. Поняття стрес було вперше введено Гансом Сельє в 1936 році у контексті фізіології людини. Сельє визначив стрес як неспецифічну відповідь організму на будь-які зовнішні виклики, які зазвичай називають стресорами або стресовими факторами.

Реакція на дію стресу у рослин і тварин має певні спільні риси, але також суттєво відрізняється через відмінності у фізіології та способі життя.

1. Мобільність:

- Тварини можуть уникати стресових факторів через переміщення. Наприклад, мігрувати в інші регіони, щоб уникнути посухи або холоду.
- Рослини – це фіксовані організми і не мають можливості втекти від стресу, тому їх виживання залежить від здатності адаптуватися.

2. Сигнальні системи:

- У тварин стресові реакції регулюються нервовою системою і гормональними сигналами, такими як адреналін і кортизол, котрі забезпечують швидку відповідь.
- У рослин немає нервової системи. Вони покладаються на хімічні сигнали, такі як фітогормони (абсцизова кислота, саліцилова кислота), і електричні сигнали, які передають інформацію між тканинами.

3. Реакції на стрес:

- Тварини часто демонструють поведінкові реакції, наприклад уникнення хижака чи пошук їжі в стресових умовах.

- Реакції рослин фізіологічні: закриття продихів для збереження води, синтез осмопротекторів, активація антиоксидантних ферментів тощо.

4. Тривалість впливу:

- Тварини можуть швидко відновлюватися після короткочасного стресу.
- У рослин вплив стресу часто триває довше, що може викликати хронічні зміни на рівні геному (епігенетичні модифікації) для підвищення стійкості.

5. Перехресна толерантність:

- У рослин є здатність до перехресної толерантності, коли вплив одного стресового фактору підвищує стійкість до інших. У тварин подібний механізм менше виражений (розділ 3).

Хоча концепція стресу спочатку була розроблена для тварин, вона ефективно переноситься на рослини, оскільки останні також демонструють систематичні фізіологічні та молекулярні відповіді на різні стресові фактори навколишнього середовища. Так, рослини, попри відсутність нервової системи, використовують хімічні сигнали і складні молекулярні шляхи для відповіді на стресові фактори, що дає змогу застосовувати поняття стресу в контексті рослин. Наприклад, фітогормони, такі як абсцизова кислота (АВА), етилен і жасмонова кислота (JA), відіграють основну роль у регуляції адаптивних реакцій. АВА стимулює закриття продихів під час водного дефіциту, тоді як JA активує захист від патогенів і травоядних. Крім того, реактивні форми кисню (ROS) слугують сигнальними молекулами, які ініціюють антиоксидантний захист і регуляцію генів, пов'язаних зі стресом. Ці механізми дозволяють застосовувати поняття стресу в контексті рослин.

У природі рослини постійно зазнають впливу стресових факторів, які зумовлюють складні адаптаційні процеси, впливають на їхній ріст, розвиток і життєздатність. Ці фактори можуть бути як абіотичними (несприятливі умови навколишнього середовища), так і біотичними (взаємодія з іншими

організмами). Існує кілька причин, чому рослини зазнають саме постійного впливу стресових факторів.

1. **Фіксованість у просторі:** рослини не можуть переміщуватися, щоб уникнути стресових факторів, як це роблять тварини. Вони змушені пристосовуватися до середовища, в якому перебувають.
2. **Залежність від навколишніх умов:** Рослини є автотрофами, що означає їхню залежність від доступності світла, води, поживних речовин та вуглекислого газу. Будь-які зміни в цих умовах створюють стрес.
3. **Екологічна взаємодія:** У природі рослини взаємодіють з іншими організмами, включно з патогенами, шкідниками, симбіотичними організмами та конкурентами. Наприклад, атака комах-шкідників може викликати біотичний стрес, що потребує активації захисних механізмів.

Рослинна відповідь на дію стресу може бути різною. Реакція клітини залежить від багатьох причин.

Характеристики рослини

1. Генотип: генетична спадковість визначає стійкість рослин до певних стресових умов. Наприклад, сорти пшениці, адаптовані до посухи, мають ефективніші механізми збереження води та антиоксидантного захисту. Дослідження демонструють, що певні гени (наприклад, DREB, який кодує регулятори стресу) відповідають за адаптацію рослин до абіотичних факторів, таких як температура або засолення.

2. Стадія розвитку: реакція рослини на стрес значно змінюється залежно від її фізіологічного стану. Молоді проростки чутливіші до посухи через ще не розвинену кореневу систему, а дорослі рослини легше реагують на водний дефіцит завдяки глибшим кореням. У період цвітіння рослини особливо чутливі до температурних стресів, які можуть порушувати процес запилення.

3. Органи рослин: стресові фактори по-різному діють на корені, листя, плоди або генеративні органи. Наприклад, посуха переважно впливає на листя, викликаючи закриття продихів для зменшення втрати води, а засолення —

найчастіше на кореневу систему, обмежуючи поглинання води. Температурний стрес може пошкоджувати як меристематичні тканини, так і тканини, відповідальні за ріст і розмноження.

Характеристики стресу

1. **Тривалість стресу.** Тривалість впливу стресових факторів відіграє вирішальну роль у визначенні реакції рослин. Короткочасний стрес, наприклад посуха протягом кількох днів, може бути подоланий завдяки тимчасовим адаптаціям, таким як закриття продихів. Натомість тривалий стрес (хронічний) призводить до виснаження ресурсів рослини, зниження фотосинтетичної активності та зрештою – до відмирання.

2. **Жорсткість стресу.** Високі рівні стресових факторів, таких як екстремальні температури чи сильне засолення, викликають значні пошкодження клітинних структур. Рослини реагують на такі умови через збільшення продукції антиоксидантів та осмопротекторів, однак при надмірній жорсткості стрес стає фатальним.

3. **Комбінація стресів.** У природі рослини часто піддаються одночасному впливу кількох стресових факторів. Наприклад, посуха може супроводжуватися високою температурою, а засолення — патогенними інфекціями. Комбіновані стреси вимагають інтегрованих механізмів адаптації. Як адаптивний механізм, котрий забезпечує виживання в умовах одночасного впливу різних стресових факторів у рослин розвивається перехресна толерантність (cross-tolerance). Вона зумовлена здатністю рослин активувати спільні сигнальні шляхи та механізми захисту при впливі одного типу стресу, що підвищує стійкість до інших стресів.

Основні причини розвитку перехресної толерантності:

1. **Універсальність захисних механізмів.** Реакція рослин на стрес часто пов'язана з виробленням спільних захисних молекул. Наприклад, активні форми кисню (ROS) можуть діяти як сигнальні молекули при посузі, засоленні чи інфекції патогенами. Це стимулює антиоксидантні ферменти, такі як каталаза чи супероксиддисмутаза, які нейтралізують шкідливий вплив ROS.

2. **Роль фітогормонів.** Фітогормони, такі як абсцизова кислота (ABA), саліцилова кислота (SA), жасмонова кислота (JA) та етилен, регулюють адаптацію до стресів. Наприклад, ABA активується при водному дефіциті та одночасно може впливати на стійкість до патогенів через взаємодію з іншими гормональними сигналами.

3. **Епігенетичні зміни.** Повторний вплив стресу може спричинити епігенетичні модифікації, такі як метилювання ДНК або модифікації гістонів. Ці зміни впливають на експресію генів, які відповідають за стійкість до стресів, забезпечуючи довготривалу адаптацію.

4. **Активація білків теплового шоку (HSPs).** HSPs, які синтезуються при температурному стресі, також можуть захищати клітинні білки від пошкодження при інших стресах, таких як засолення чи посуха.

Існує також взаємозв'язок між біотичним і абіотичним стресами: інфекція патогенами може підвищити стійкість рослин до посухи через активацію системних сигнальних шляхів, таких як ті, котрі залучають саліцилову кислоту. Тобто перехресна толерантність – приклад того, як рослини ефективно використовують обмежені ресурси для адаптації до багатofакторних стресових умов.

Стрес у рослин – це не тільки загроза, а й стимул для еволюції. Постійна взаємодія з несприятливими умовами сприяє селекції стійких особин, які можуть вижити у складному середовищі. Саме тому рослини розвинули складні механізми сприйняття стресових сигналів і адаптації до них, що допомагає їм зберігати життєздатність навіть у несприятливих умовах. Рослини розвинули чимало морфологічних та анатомічних пристосувань, які сприяють уникненню або мінімізації впливу стресових факторів.

- **Ксероморфні листя.** У рослин посушливих регіонів, таких як кактуси, листя мають товсту кутикулу або редукуються до колючок, що зменшує втрату води через транспірацію.

- **Глибока коренева система.** Багато рослин, наприклад акація, розвивають глибокі корені, які дають їм змогу досягати води в нижніх шарах ґрунту.

- **Опушеність листя.** Опушеність або воскове покриття на поверхні листя зменшує випаровування і захищає від перегрівання. Такі адаптації характерні для рослин у середземноморському кліматі.

- **Закриття продихів.** Регуляція відкривання і закриття продихів допомагає рослинам уникати втрати води в умовах дефіциту вологи.

- **Сукуленти.** Рослини, такі як алое або агава, накопичують воду в спеціалізованих тканинах, що дає їм змогу виживати під час тривалих періодів посухи.

- **Анатомічні зміни в провідних тканинах.** У засолених умовах деякі рослини, наприклад галофіти, адаптуються завдяки розвитку спеціалізованих клітин для транспортування іонів або відкладання солей у вакуолях.

Стресові фактори не тільки впливають на окремі рослини, але й визначають структуру та функціонування екосистем. Рослини, які краще адаптовані до стресу, домінують у природних угрупованнях і визначають біорізноманіття. Зміни клімату, такі як глобальне потепління чи посухи, ще більше загострюють ці процеси, призводячи до викликів для виживання багатьох видів.

Отже, постійний вплив стресових факторів – основний елемент життя рослин у природі. Хоча стрес створює значні труднощі, він також є рушієм адаптації та еволюції. Перехресна толерантність демонструє, як рослини використовують спільні механізми захисту для виживання в складних умовах. Дослідження цих механізмів важливе для виведення стійких сільськогосподарських культур та збереження екосистем у змінних кліматичних умовах.

Запитання для самоконтролю

1. Хто вперше ввів поняття "стрес", і як воно визначається?
2. Чому рослини не можуть уникати стресових факторів так, як це роблять тварини?
3. Опишіть основні відмінності у реакціях на стрес між рослинами та тваринами.
4. Які фітогормони беруть участь у стресових відповідях рослин? Які їх основні функції?
5. Як відрізняється тривалість впливу стресу на рослини та тварин? Які наслідки це має для їх адаптації?
6. Що таке перехресна толерантність у рослин, і як вона допомагає їм адаптуватися до стресових умов?
7. Як абіотичні стресові фактори впливають на фізіологічні процеси у рослин?
8. Поясніть, які морфологічні адаптації допомагають рослинам уникати впливу стресових факторів.
9. Як екологічна взаємодія з іншими організмами впливає на біотичний стрес у рослин?
10. Чому тривалість і жорсткість стресу є важливими для визначення реакції рослин?

РОЗДІЛ 2. ВІДПОВІДЬ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ НА СТРЕСОВІ ФАКТОРИ

2.1. АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ ТА ЇХ ЗНЕШКОДЖЕННЯ

Загальна характеристика активних форм кисню (АФК).

Поява молекулярного кисню (O_2) в атмосфері Землі призвела до виникнення аеробних організмів, які використовують кисень як універсальний кінцевий акцептор електронів та при окисненні різних субстратів. Зокрема, кисень життєво необхідний для всіх аеробних організмів для продукування енергії при перенесенні електронів у дихальному ланцюгу мітохондрій. Водночас кисень є джерелом утворення *in vivo* активних форм кисню (АФК), які мають високу реакційну здатність та у підвищених концентраціях виявляють токсичні властивості. В рослинній клітині АФК постійно утворюються у різних клітинних компартментах як нормальний метаболічний продукт. За оптимальних фізіологічних умов концентрація АФК підтримується на постійному рівні за рахунок збалансованого функціонування складної та високоспецифічної системи, що включає ферментативні та неферментативні антиоксидантні механізми, які задіяні у запобіганні утворенню вільних радикалів, їх нейтралізації та репарації викликаних ними ушкоджень. За дії низки факторів зовнішнього середовища може виникати дисбаланс між продукуванням АФК та їх знешкодженням, що призводить до надмірного зростання концентрації АФК, а отже – до оксидативного.

До основних видів АФК належать **синглетний кисень (1O_2)**, **супероксидний аніон-радикал ($O_2^{\bullet-}$)**, **пероксид водню (H_2O_2)** та **гідроксильний радикал ($HO^{\bullet}$)** (табл. 2.1.) Вони дають початок низці інших радикалів – окиснених галогенів ($ClO^{\bullet}$), оксидів азоту ($NO^{\bullet}$) та ініціюють вільнорадикальне пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ).

Синглетний кисень утворюється при переході хлорофілу з триплетного стану у звичайний і є найбільш реактивною формою кисню, яка може безпосередньо окислювати білки, ДНК та ліпіди.

Утворення кисневих радикалів можна подати як послідовні етапи одноелектронного відновлення молекулярного кисню до води. В результаті приєднання першого електрона виникає високоактивний, але нестабільний супероксид іон-радикал ($O_2^{\bullet-}$), який є джерелом утворення інших АФК. Вважається, що за оптимальних фізіологічних умов 1–2 % спожитого O_2 відновлюється до $O_2^{\bullet-}$. У клітині $O_2^{\bullet-}$ не може проходити крізь мембрани, проте після приєднання протона він перетворюється на незаряджену протоновану форму гідропероксидний радикал $HO_2^{\bullet}$, який має таку здатність. Тим не менш, вважається, що радіус міграції $O_2^{\bullet-}$ обмежений і він швидко дисмутує з утворенням H_2O_2 .

Таблиця 2.1

Характеристика основних видів активних форм кисню (АФК)

АФК	Стабільність	Активність
Синглетний кисень, 1O_2	4 мкс у воді, 100 мкс у неполярному оточенні	Дуже висока
Супероксид-радикал, $O_2^{\bullet-}$	2-4 мкс	Середня
Пероксид водню, H_2O_2	1 мс	Середня
Гідроксильний радикал, $OH^{\bullet}$	10^{-9}	Дуже висока

У клітині $O_2^{\bullet-}$ бере участь в окислювальному пошкодженні білків, зокрема - Fe-S кластерів у активних центрах ряду ферментів, які залучені у метаболізм пуринів, а також аконітази, сукцинатдегідрогенази, фередоксину, NADPH-дегідрогенази тощо.

H_2O_2 є стабільною молекулою з порівняно довгим (1 мс) періодом напівіснування. Залежно від умов H_2O_2 може виявляти властивості окисника або відновника і взаємодіяти з біологічними субстратами порівняно повільно. Його молекула є електронейтральною і має незначні розміри, тому пероксид водню здатний до вільної дифузії крізь гідрофобні мембрани.

H_2O_2 може перетворюватись у реакціях Фентона за участю іонів перехідних металів, таких як Cu^+ або Fe^{2+} на високоактивний гідроксил-радикал $\text{HO}^\bullet$. $\text{HO}^\bullet$ також може утворюватись при взаємодії H_2O_2 з $\text{O}_2^{\bullet-}$ у реакції Хабера-Вейса. $\text{HO}^\bullet$ радикал – найреактивніший оксидант: він ініціює ПОЛ і призводить до загибелі клітини.

Джерела виникнення АФК.

За нормальних умов АФК генеруються переважно в хлоропластах, мітохондріях та пероксисомах, а також для захисту від патогенів – у апопласті (Рис. 2.1).

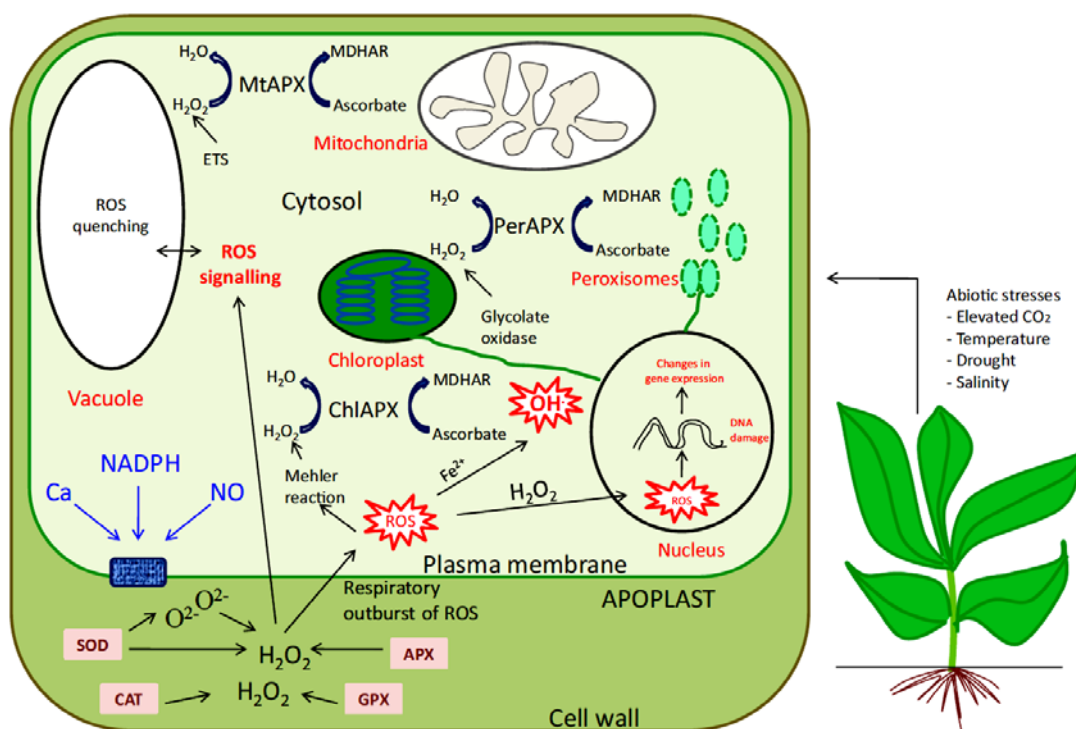


Рис. 2.1. Джерела утворення та детоксифікації АФК к різних клітинних компартментах (Chaudhry et al., 2022)

За умов освітлення хлоропласти є основним джерелом утворення АФК, передусім унаслідок відновлення кисню у фотосинтетичному електронтранспортному ланцюгу (ЕТЛ) фотосистем I та II. Зокрема, з'ясовано, що хлоропласти разом із пероксисомами беруть участь у генерації до 90 % загального H_2O_2 у фотосинтетично активних клітинах. Ще однією з АФК, яка утворюється в хлоропластах, є синглетний кисень ($^1\text{O}_2$). Ефективним його генератором є найважливіший пігмент фотосинтезу – хлорофіл, і в клітинах рослин завжди існує небезпека прояву його пошкоджуючої фотодинамічної дії.

В хлоропластах утворення $\text{O}_2^{\bullet-}$ відбувається внаслідок перенесення одного електрона на молекулу кисню від відновлених ферредоксину та тіоредоксину за дефіциту $\text{НАД}(\Phi)^+$ у фотосистемі I та через фотоліз H_2O у фотосистемі II. Крім того, утворення $\text{O}_2^{\bullet-}$ може відбуватися під час псевдоциклічного фотофосфорилування. Проте продукування АФК у хлоропластах значно посилюється у рослинній клітині за стресових умов, які сприяють перевідновленню ЕТЛ хлоропластів та/або обмежують фіксацію CO_2 та регенерацію $\text{НАД}(\Phi)^+$, зокрема за дії посухи, засолення, знижених або підвищених температур та надлишкового освітлення.

Пероксисоми є компартментом, де утворюються та надходять у цитозоль такі АФК, як $\text{O}_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , $\text{NO}^\bullet$. Ці сполуки генеруються у пероксисомах як за нормальних умов, так і за дії стресових факторів різної природи.

У пероксисомах було виявлено 2 сайти генерації $\text{O}_2^{\bullet-}$: один – в матриксі, де основним джерелом АФК є ксантиноксидаза та другий (НАДФН-залежний) сайт – у мембранах пероксисом. Ксантиноксидаза каталізує окислення ксантину і гіпоксантину до сечової кислоти, продукуючи при цьому $\text{O}_2^{\bullet-}$. Крім того, в утворенні $\text{O}_2^{\bullet-}$ можуть брати участь пероксидази, амінооксидаза та інші ферменти, локалізовані у пероксисомах.

У зелених листках пероксид водню в пероксисомах генерується переважно в процесі фотодихання в результаті ферментативних реакцій за участю гліколатоксидази. H_2O_2 може також утворюватись за участю ацетил-

коензим А-оксидази під час β -окислення жирних кислот у проростаючому насінні, оксалатоксидази в процесі перетворення оксалату та кисню на молекулу води і вуглекислого газу, а також НАДФН-оксидази в процесі переносу електронів від НАДФН до молекулярного кисню. Також H_2O_2 може утворюватись через відновлення $\text{O}_2^{\bullet-}$ за участю різноманітних низькомолекулярних відновників, таких як аскорбат, глутатіон, тіоли.

Значний внесок у продукування АФК належить дихальному ланцюгу в мітохондріях, особливо у темряві. Утворення $\text{O}_2^{\bullet-}$ в ЕТЛ мітохондрій рослин пов'язане із передачею одного електрона на кисень. При цьому потенційними джерелами $\text{O}_2^{\bullet-}$ можуть бути комплекси I (НАДФ-дегідрогеназа) та III (убіхінон-цитохром *bc1* редуктаза) внутрішньої мембрани мітохондрій. За низької концентрації АДФ інгібується синтез АТФ, що призводить до підвищення мембранного потенціалу $\text{mt}\Delta\psi$, це в свою чергу викликає підвищене продукування АФК. Утворення H_2O_2 у мітохондріях здебільшого відбувається через дисмутацію $\text{O}_2^{\bullet-}$ за участю мітохондріальних Mn-вмісних SOD.

Порівняно з пероксисомами та хлоропластами, інтенсивність мітохондріальної продукції H_2O_2 у рослин в умовах сильного освітлення порівняно невелика. Проте у нефотосинтезуючих тканинах, позбавлених хлорофілу, мітохондрії можуть слугувати основним джерелом H_2O_2 і АФК загалом.

В утворенні АФК також беруть участь ядерна мембрана, клітинна стінка та інші частини клітини. В цих випадках АФК продукуються за рахунок надмірної активності багатьох ферментів, таких як мембранно-зв'язана NADPH оксидаза, пероксидаза клітинної стінки та амінооксидаза. Важлива роль також і системи цитохрому P-450, локалізованої в ендоплазматичній сітці. Зокрема, NADPH оксидаза забезпечує швидке генерування та накопичення АФК у міжклітинному просторі при пораненні рослин. Також показана індукція експресії двох генів NADPH оксидази у арабідопсису *AtRbohD* та *AtRbohF* в

замикаючих клітинах в умовах осмотичного стресу. Отже, за оптимальних умов росту рослини, АФК продукуються в рослинній клітині у малих кількостях, переважно, в ЕТЛ хлоропластів і мітохондрій, а також у пероксисомах. Проте за дії стресових чинників у клітині відбувається різке зростання концентрації АФК, яке призводить до виникнення оксидативного стресу.

Це зростання може бути пов'язане як із посиленою генерацією АФК у хлоропластах, мітохондріях та пероксисомах, так і з активацією NADPH оксидаз.

Механізм дії АФК на клітину.

Внаслідок високої електронегативності АФК взаємодіють із різними клітинними компонентами, такими як ліпіди, ініціюючи їх пероксидне окислення, та білками, модифікуючи бічні групи амінокислот. Крім того, АФК здатні інактивувати тіоловмісні ферменти. Гідроксильні радикали можуть впливати на білки і робити їх доступнішими для протеолітичної атаки. H_2O_2 спричинює специфічні типи пошкоджень окремих амінокислот у поліпептидному ланцюзі. Наприклад, окислення білків може призвести до перетворення гістидину на 2-оксогістидин, залишків тирозину, валіну – у гідрокси- і дигідрокси похідні. Діючи на ДНК, АФК викликають пошкодження азотистих основ і дезоксирибози, ініціюють одонитчасті й двонитчасті розриви, а також беруть участь в утворенні ковалентних «зшивок».

Практично всі АФК являють собою сильні мутагени. Аналогічні властивості мають і продукти взаємодії АФК з ліпідами – ліпоперокси. На рівні цілої рослини, АФК викликають погіршення життєздатності пилку, проростання насіння, росту кореня і призводять до старіння листків та сенесценсу рослин.

Хоча з АФК пов'язують в основному пошкоджувальні ефекти, було показано, що екзогенний ПВ у низьких концентраціях здатний підвищувати

стійкість рослин до стресу. Протекторна дія ПВ зумовлена насамперед тим, що він відіграє важливу роль в індукції експресії генів, які кодують антиоксидантні білки. Так, було показано, що ПВ посилює експресію генів *OsApx8*, *OsGr2* та *OsGr3* у коренях рису.

Зростання активності антиоксидантних ферментів у відповідь на стресові впливи пов'язують з тим, що АФК відіграють ключову роль у передачі сигналів, викликаючи реакцію-відповідь рослинної клітини на дію патогенів та абіотичних стресових факторів, наприклад інтенсивного освітлення, а також беруть участь у регуляції процесів розвитку та індукції програмованої смерті клітини.

З'ясуванню молекулярних механізмів передачі сигналів, пов'язаних із ПВ, за останні роки було приділено значну увагу. Доведено, що зростання концентрації H_2O_2 є сигналом для активації захисних систем, зокрема - сигнального каскаду MAP-кіназ (МАРКК). Також було показано, що H_2O_2 відіграє важливу роль у трансдукції сигналів абсцизової кислоти (АБК) в *Arabidopsis* через регулювання активності фосфатаз. Встановлено, що H_2O_2 *in vitro* модифікує цистеїнові залишки фосфатази 2С (PP2С) та транскрипційних факторів ABI1 і ABI2, що, можливо, є рецепторами для H_2O_2 у вищих рослин.

Посилення генерації АФК також може бути пов'язане зі зміною кальцієвого статусу клітин, яка належить до ранніх стресових реакцій. За умов зростання концентрації H_2O_2 відбувається вихід кальцію в цитозоль, що може зумовлювати активацію НАДФН-оксидази, яка генерує H_2O_2 .

Знешкодження АФК у рослинній клітині.

Для протидії АФК рослини у всіх субклітинних компартментах мають захисні системи, які складаються із ферментів і низькомолекулярних антиоксидантів. До останніх належать водорозчинні аскорбат (AS), глутатіон

(γ -глутаміл-L-цистеїнілглїцин, GSH), антоціанїни та жиророзчинні каротиноїди і токоферолї.

AsA має надзвичайно широкий спектр антиоксидантних властивостей: він безпосередньо взаємодїє та знешкоджує HOCl, $O_2^{\bullet-}$, $HO_2^{\bullet}$, 1O_2 , $HO^{\bullet}$, а також відновлює α -токоферольний радикал, тим самим повертаючи йому антиоксидантні властивості. AsA може виступати в ролі як донора, так і акцептора атомів гідрогену (H), завдяки наявності в структурі молекули двох енольних груп. В присутності іонів перехідних металів, таких як залізо (III) або мідь (II) AsA може слугувати сильним прооксидантом. Прояв AsA анти- або прооксидантних властивостей залежить також від концентрації субстрату та умов перебігу окислювальних реакцій. Така функціональна пластичність важлива для підтримки в біологічних системах окисно-відновного гомеостазу. Проте AsA найперше розглядають як антиоксидантну сполуку, що має протекторні властивості. Так, показано, що трансгенні рослини *Arabidopsis*, у яких вміст аскорбату у 2–4 рази вище, ніж у дикого типу, зазнавали менше пошкоджень за дії окисдативного стресу.

GSH є низькомолекулярною речовиною, яка виконує у вищих рослин каталітичні, синтетичні й транспортні функції, більшість яких притаманна відновленій формі GSH. Антиоксидантні властивості GSH визначаються його безпосередньою неензиматичною взаємодією з АФК. Крім того, як складова аскорбат-глутатіонового циклу (цикл Асада – Хеллівела, рис. 2.2) глутатіон є субстратом моно- та дегідроаскорбат редуктаз (MDAR та DHAR). Ці ферменти відновлюють AsA, який необхідний для знищення ПВ за участю аскорбат пероксидази (APX). Дія різних стресових факторів призводить до зміни рівня GSH у клітині.

Специфічну групу водорозчинних вторинних метаболітів, які відіграють важливу роль у захисті організму від шкідливої дії АФК, представляють численні фенольні сполуки. Антиоксидантні властивості фенолів зумовлені їх здатністю виступати як донор гідрогену або електронів, а також властивістю

фенольного радикала стабілізувати та делокалізувати неспарений електрон. Крім того, феноли можуть хелатувати іони металів, гальмуючи реакцію Фентона. Вміст фенолів може відрізнятись у різних органах рослин, а також змінюватись в умовах стресу.

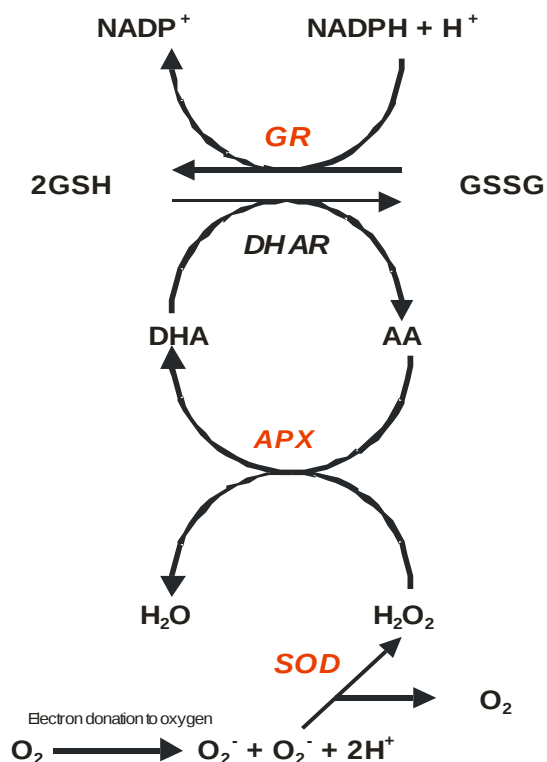


Рис.2.2. Аскорбат-гуллатіоновий цикл клітина використовує для знешкодження АФК.

Серед речовин, які мають антиоксидантні властивості, важливе місце посідають каротиноїди, зосереджені у мембрані хлоропластів. З одного боку, вони є допоміжними пігментами світлозбиральної антени, які вловлюють сонячне світло певного спектрального діапазону. З іншого – каротиноїди виконують захисні функції: вони приймають на себе енергію від надлишкової кількості збуджених молекул хлорофілу та розсіюють її у вигляді теплової енергії безпечним для фотосинтетичного апарату способом.

Антиоксидантні властивості у мембранах хлоропластів має також α -токоферол. Він дезактивує АФК, які утворюються під час фотосинтезу, головню $^1\text{O}_2$ та $\text{OH}^\bullet$, а також обмежує ПОЛ, знешкоджуючи ліпідний пероксирадикал у мембрані тилакоїдів. Рівень α -токоферолу диференційно змінюється у відповідь на стресові чинники, причому ці зміни залежать від дози та тривалості стресового фактору. Зміни вмісту α -токоферолу зумовлені змінами експресії генів, залучених у метаболічні шляхи цієї сполуки.

Крім низькомолекулярних антиоксидантів, захист від АФК забезпечують численні ферменти, які поділяють на три групи залежно від механізму їх впливу на оксидативні пошкодження у клітині. До першої лінії захисту належать ферменти, задіяні у зменшенні продукції АФК, зокрема – альтернативні оксидази (АОХ) та «непомпуючі» дегідрогенази зовнішньої та внутрішньої мембрани мітохондрій, які активуються в умовах стресу. До другої лінії захисту відносять супероксиддисмутазу (SOD), каталазу (CAT), пероксидази та пероксиредоксини, які безпосередньо знешкоджують АФК і тим самим обмежують окислення макромолекул на стадії ініціації вільнорадикального ланцюга. Нарешті третю лінію захисту становлять ферменти, задіяні у ліквідації наслідків оксидативних пошкоджень: вони репарують/деградують вже уражені макромолекули, безпосередньо не взаємодіючи з АФК. До ферментів третьої лінії належать, зокрема, моно- та дегідроаскорбатредуктази (MDAR, DHAR), глутатіонредуктаза (GR), глутатіон-S-трансферази (GST), тіоредоксини тощо.

На сьогодні для кількох ферментів другої лінії захисту, зокрема – для SOD доведена участь у протидії від оксидативного стресу. SOD – гомодимерний білок з молекулярною масою 32-34/86-90 кДа, котрий каталізує реакцію дисмутації супероксидних радикал-аніонів до більш стабільного H_2O_2 . SOD обриває ланцюг вільнорадикальних реакцій ще на стадії їх ініціювання. За вмістом в активних центрах молекул атомів металів SOD у рослин поділяються на три класи: Cu/Zn-, Fe- та Mn-SOD. Вони відрізняються молекулярною

масою, чутливістю до інгібіторів та різною компартменталізацією в рослинній клітині.

Відомо, що активність SOD у різних видів рослин може зростати зі старінням. За дії різноманітних абіотичних та біотичних факторів помічено, що активність SOD змінювалась різноспрямовано залежно від виду, тривалості та інтенсивності дії стресового фактору. Так, збільшення активності ферменту встановлено за дії теплового стресу, засоленні, дії важких металів, абсцизової кислоти. Однак за подальшого впливу стресових чинників відбувається зростання рівня оксидативного стресу в клітині, що призводить до зниження активності SOD. Так, у листках пшениці в умовах посухи спочатку було помічено активацію ферменту, проте зростанням тривалості дії стресора відбувалось зниження активності SOD. Така ж тенденція спостерігалася не лише при збільшенні тривалості дії стресового фактору, але й при збільшенні його інтенсивності – за дії сольового стресу, теплового стресу, водного дефіциту.

У рослин виділено та вивчено гени, які кодують різні ізоформи SOD, зокрема у кукурудзи (*Zea mays* L.), тютюну (*Nicotiana glauca* L.), арабідопсису (*Arabidopsis thaliana* L.) та рису (*Oryza sativa* L.). Встановлено, що в листках *Z. mays* ізоформи SOD кодуються дев'ятьма неалельними генами, з яких чотири гени кодують цитозольні форми Cu/Zn-SOD, інші чотири гени – мітохондріальні Mn-SOD та один ген – хлоропластну Cu/Zn-SOD. Гени, котрі кодують різні ізоформи SOD у рослин, зокрема, у *A. thaliana* організовані у мультигенну родину, в якій гени *Fsd 1-3* кодують ізоформи Fe-SOD, гени *Msd 1* та *Mn-SOD-like* – Mn-SOD, а гени *Csd 1-3* – Cu/Zn-SOD.

Літературні дані свідчать про те, що регуляція активності SOD відбувається на різних рівнях: на рівні транскрипції, трансляції і/або через посттрансляційну модифікацію молекул ферменту. Показано, що за дії на рослини кукурудзи метилвіологену активація SOD в листках зумовлена зростанням транскрипції відповідних генів. Паралельне зростання активності

SOD та кількості відповідних транскриптів за дії стресових факторів також було відмічено й іншими авторами. Однак не завжди зміни активності SOD корелюють із відповідними змінами в кількості транскриптів.

З літератури також відомо, що потенційними ланками сигнального шляху активації експресії генів SOD є АФК, іони кальцію, оксид азоту, глутатіон, абсцизова та саліцилова кислоти.

В результаті детоксикації $O_2^{\bullet-}$ за участю SOD у клітині утворюється порівняно стабільний H_2O_2 , вміст якого у рослин контролюється каталазами та пероксидазами.

Каталаза (CAT) – фермент класу оксидоредуктаз, який каталізує реакції дисмутації пероксиду водню до молекули води та кисню. Особливістю ферменту є те, що він може проявляти пероксидазну активність, в процесі якої CAT вступає в реакцію двоелектронного окислення різних молекул – донорів водню, тоді як істинні пероксидази каталізують послідовне двоетапне одноелектронне окислення субстратів. Субстратами CAT для такої реакції можуть слугувати етанол, діамінобензидин, прості органічні гідроперекиси.

CAT – досить поширений фермент, який знайдено майже у всіх аеробних та у деяких анаеробних організмах. CAT переважно локалізована в пероксисомах, зокрема в гліюксисомах, рідше – в цитозолі клітин еукаріот.

Для CAT характерна множинність ізоформ. Наприклад, у сім'ядолях соняшника виявлено вісім ізоформ CAT, в рослин *A. thaliana* та *Z. mays* – три.

Серед ізоформ CAT *A. thaliana* найбільш експресованою є CAT2, на долю якої припадає 70 % загальної каталазної активності у тканинах мезофілу листків. Активність CAT3 виявляється лише у васкулярних тканинах, а CAT1 – у листках під час старіння, коренях і проростаючому насінні. Також показано, що всі три ізоформи CAT арабідопсису є високоспорідненими з ізоформами CAT інших рослин.

Експресія генів *Cat* залежить від освітлення і часу доби. При дослідженні експресії генів *Cat1* та *Cat2* у пшениці та кукурудзи та *Cat1* у *A. thaliana*

виявлено, що їх транскрипція залежить від інтенсивності світла. Так, індукція *Cat2* відбувається вранці, в той час як пік експресії гена *Cat3* спостерігається вночі. Експресія гена *Cat1* не залежить від циркадних ритмів. Регуляція транскрипції генів *Cat* дає змогу точно контролювати рівень пероксиду водню у листках. В умовах інтенсивного освітлення експресія генів *Cat1* та *Cat2* подвоюється і, як результат, змінюється активність САТ.

З літературних джерел відомо, що активність САТ може змінюватись у відповідь на дію різноманітних стресових факторів абіотичної природи. Так, відомості стосовно впливу сольового стресу на активність САТ досить неоднозначні, що пояснюється різною стійкістю до нього рослин. Показано, що при вирощуванні проростків томатів на високому рівні засолення середовища в листках резистентного виду спостерігається посилення активності САТ, тоді як у солечутливого – її зниження. Зменшення активності САТ за дії стресового чинника також виявлено у проростках рису, хоча інші дослідники, які працювали з таким об'єктом, не виявили за таких умов змін активності САТ ні в листках, ні в коренях.

Вивчення впливу водного дефіциту на оливкові дерева (*Olea europea*) показало, що в умовах помірної посухи (4–8 днів) активність САТ зростала як у листках, так і в коренях рослин, тоді як за дії сильної посухи (20 днів), помічено зростання активності САТ лише у листках рослин.

Характер експресії генів *Cat* змінюється за дії стресових факторів різної природи, що, очевидно, пов'язане з необхідністю активізації антиоксидантного захисту. Так, показано індукцію генів *Cat* у *A. thaliana* за дії озону, засолення, посухи та після обробки АБК.

Важливими ферментами утилізації пероксиду водню у рослинній клітині також є **пероксидази**, які каталізують двоелектронне відновлення пероксиду водню, використовуючи як донор електронів різноманітні сполуки. Вони задіяні у метаболізмі ауксинів, окисно-відновних процесах на плазматичних мембранах, модифікації клітинних стінок. У рослинах пероксидази виявлено в

різних компартментах – клітинних стінках, пероксисомах, мітохондріях, хлоропластах, цитоплазмі та вакуолях, що свідчить про поліфункціональність цієї групи ферментів.

Пероксидази поділяються на три класи на основі гомології амінокислотних послідовностей. До I класу належать APX, бактеріальні каталази-пероксидази і цитохром-с-пероксидази у *Saccharomices cerevisiae*. Пероксидази класу II представлені Mn-пероксидазами грибів і лігнінпероксидазами. До пероксидаз класу III належать «класичні» пероксидази рослин – POD. Отже, у клітинах рослин трапляються пероксидази I та III класів.

Аскорбат пероксидаза (APX) є представником I класу пероксидаз, ключовим ферментом у аскорбат-глутатіоновому циклі хлоропластів і цитозолі рослин. APX – гемопротеїн, який складається з двох ідентичних субодиниць, кожна з яких має молекулярну масу 27–30 кДа.

Основною функцією APX є утилізація пероксиду водню у клітині. Розщеплення пероксиду водню відбувається у кілька етапів. На першій стадії APX каталізує одновалентне окиснення донору електронів – AsA пероксидом водню з утворенням первинного продукту – радикала монодегідроаскорбату. На другій стадії монодегідроаскорбатний радикал окислюється до дегідроаскорбінової кислоти – кінцевого продукту реакції.

Відомо, що APX надзвичайно чутливі до концентрації AsA в середовищі: якщо вона дуже низька (менше 20 μM), то ферменти втрачають свою активність. Отже, високий рівень ендogenous AsA необхідний для ефективної роботи антиоксидантної системи.

Рослинні APX розрізняються за молекулярною масою, оптимумом pH та стабільністю молекули. Ізоформи APX виявлені у мікросомах, хлоропластах, цитозолі та мітохондріях рослин. Субклітинна локалізація APX визначається наявністю сигнальних пептидів і трансмембранних доменів в N- і C-термінальних ділянках білків. Встановлено, що мікросомальні ізоензими APX залучені в процеси детоксикації H_2O_2 , який утворюється в результаті β -

окислення жирних кислот та фотодихання, хлоропластні АРХ виконують функцію захисту компонентів фотосинтетичного апарату від оксидації, тоді як цитозольним АРХ властива більш загальна протекторна дія.

У рослин АРХ кодуються мультигенними родинами. В *A. thaliana* розрізняють 9 генів, які кодують три цитозольні ізоформи АРХ (АРХ1, АРХ2, АРХ6), три мікосомальні (АРХ3, АРХ4, АРХ5), дві хлоропластного типу (sАРХ, tАРХ) і одну мітохондріальну (АРХ7). Встановлено, що експресія індивідуальних генів *Arx* диференційно регулюється протягом сенесценсу у рослин *A. thaliana*.

Ген цитозольної АРХ1 високотранскрибований за оптимальних умов, проте за дії різноманітних стресових факторів рівень його транскрипції може додатково зростати. Наприклад, у рослин *A. thaliana* збільшення експресії гена *Arx1* помічено за дії озону, діоксиду сірки, надлишкового освітлення та накопичення заліза.

Встановлено, що цитозольні АРХ відіграють важливу роль в антиоксидантному захисті рослинних клітин за дії абіотичних і біотичних стресових факторів. Зокрема, показано, що втрата функцій АРХ1 у мутантних лініях *A. thaliana* призводила до зниження інтенсивності фотосинтезу, уповільнення росту та цвітіння. Іншими дослідниками показано, що в умовах інтенсивного освітлення у клітинах, в яких відсутня АРХ1, відбувається посилена продукція пероксиду водню, що призводить до посиленого окислення білків.

З літератури відомо, що у різних видів рослин активність АРХ зростає за дії різноманітних стресових факторів, таких як посуха, надлишок світла, УФ-опромінення, дія озону, вплив іонів заліза, надлишок солі.

Встановлено, що зниження загальної АРХ активності у рослин *A. thaliana* на стадії бутонізації пов'язане саме зі зміною активності АРХ1, хоча змін мРНК у АРХ1 за даних умов не виявлено. Це свідчить про посттранскрипційну регуляцію АРХ1 в рослин *A. thaliana* протягом їх розвитку.

Посттранскрипційна модуляція активності цитозольних АРХ виявлена для різних видів рослин за дії посухи, сольового стресу та протягом патоген-індукованої запрограмованої клітинної загибелі.

Arx2 є типовим стресовим геном, транскрипція якого за нормальних умов практично не відбувається. Проте за дії різних стресових факторів, зокрема надлишкового освітлення експресія *Arx2* значно зростає. Важливо, що рівень транскрипції *Arx2* змінюється залежно від внутрішньоклітинної концентрації абсцизової кислоти та окисно-відновного статусу пулу пластохінону.

Іншою групою пероксидаз є пероксидази класу III або **гваякол пероксидази (POD)**, знайдені у рослин. У реакціях, які вони каталізують, пероксид водню є акцептором електронів і бере участь в окисленні багатьох субстратів, зокрема більшості фенолів, ароматичних амінів й деяких легкоокислювальних сполук. Також POD задіяні у метаболізмі ауксинів, окисно-відновних процесах на плазматичних мембранах, модифікації клітинних стінок.

Пероксидази класу III кодуються великою мультигенною родиною, яка становить щонайменше 73 гени у *A. thaliana* та 138 генів у *Oryza sativa*, продукти експресії яких виявлено в цитозолі, вакуолях, апопласті, клітинній стінці. Також численні гени POD знайдені у *G.hirsutum*. Встановлено, що в шеститижневих рослин *A. thaliana* із 73 POD генів активно експресуються 66.

POD необхідні для нормального функціонування рослинної клітини. Їх активація як відповідь на стрес – один із найважливіших процесів у формуванні й розвитку захисних реакцій у рослинних клітинах. POD є одним із надзвичайно функціонально лабільних ферментів, який реагує на порушення гомеостазу клітинного метаболізму за дії різноманітних стресорів. Значне збільшення пероксидазної активності спостерігається під час водного дефіциту, механічних пошкоджень, у процесі старіння, при патогенезі, за дії високої температури.

Відомо, що експресія деяких генів *Pod* активується або ж знижується за дії патогенів, етилену, саліцилової кислоти, посухи, холодового стресу чи надлишкового освітлення.

Виявлено зростання кількості білків, які кодуються генами *Pod*, зокрема *PER22* (At2g38380) та *PER23* (At2g38390) в коренях рослин *A. thaliana* за дії 150 mM NaCl протягом 6 та 48 годин. Раніше було показано, що більшість генів *Pod* у коренях *A. thaliana* на транскрипційному рівні задіяні у відповіді на сольовий стрес. Зокрема, встановлено, що ген *AtPrx03*, який кодує одну з POD у *A. thaliana*, задіяний у відповідь на холодострес та засолення. В рослин *A. thaliana* з підвищеним рівнем експресії гена *AtPrx03*, окрім холодостійкості, спостерігали збільшення стійкості до засолення та дегідратації.

Також встановлено, що ген *ZmPox2*, який кодує одну з POD у *Z. mays*, індукується механічним пошкодженням та етиленом, але не метил-жасмонатом, який є сигнальною сполукою при механічному пошкодженні. Зазначене дає змогу припустити існування спільних механізмів POD-опосередкованого захисту рослин від дії різних стресорів і, водночас, складної регуляції, через різні сигнальні шляхи індивідуальних генів POD. Отже, індукція різних генів POD має комплексний характер, тобто здійснюється через спеціальні механізми та зумовлена особливостями стресового впливу.

Окрім зазначених ферментів, рівень АФК регулюється й іншими антиоксидантними ферментами, кожен із яких у геномах вищих рослин кодується мультигенними родинами. До них належать ферменти аскорбат-глутатіонового циклу MDAR, DHAR та GR; глутатіон-S-трансферази (GST), а також пероксидази, які в ролі донора електронів використовують глутатіон (глутатіонпероксидази – GPX), або тіоредоксин (тіоредоксинпероксидази).

Монодегідроаскорбат редуктаза (MDAR) відновлює аскорбат із монодегідроаскорбату, використовуючи NADH/NADPH як донор електронів. В умовах стресу експресія генів та активність цього білка може зростати. Так, наприклад, у гороху за дії знижених температур експресія генів MDAR зростає

удвічі, а активність ферменту збільшується за умов надмірного освітлення. Показано, що надекспресія MDAR підвищує толерантність тютюну до сольового та осмотичного стресів, а плодів томату – до охолодження. Одна із ізоформ, MDAR4, відіграє важливу роль у проростанні насіння арабідопсису.

Ще один фермент аскорбат-глутатионового циклу, **дегідроаскорбат редуктаза (DHAR)** відновлює дегідроаскорбат до аскорбату, використовуючи GSH відновлювальний агент. Надекспресія цього гена у тютюні забезпечує толерантність до надлишку алюмінію, сольового стресу, дії понижених температур та стресу, викликаного дією метилвіологену.

Поряд із вищеназваними ферментами важливу роль у знешкодженні пероксиду водню відіграє також **глутатіон редуктаза (GR)**, захисну роль якої було показано в умовах оксидативного стресу, зокрема в умовах зневоднення, сольового та холодового стресів. Антиоксидантні властивості описані також і для пероксидредоксинів, які відіграють важливу роль у відповіді клітини на дію пероксиду водню. Для розщеплення пероксидів вони використовують сульфогідрильні групи цистеїну.

Отже, різні антиоксидантні ферменти, залучені в метаболізм АФК, локалізуються майже у всіх клітинних компартментах та є складовими стресової відповіді рослин на дію різних абіотичних факторів. АФК, зокрема пероксид водню, виконують сигнальну роль у індукції експресії генів антиоксидантних ферментів.

Низькомолекулярні антиоксиданти відіграють ключову роль у захисті рослинних клітин від окислювального стресу, спричиненого активними формами кисню (АФК). Низькомолекулярні антиоксиданти діють синергічно з антиоксидантними ферментами, утворюючи комплексну систему захисту клітини від окислювального стресу. Вони не лише безпосередньо нейтралізують АФК, але й служать субстратами для ферментативних реакцій, що забезпечує ефективне знешкодження потенційно шкідливих сполук.

Дослідження показують, що підвищення вмісту низькомолекулярних антиоксидантів у рослинних клітинах може підвищити стійкість рослин до різних стресових факторів, включано з патогенними інфекціями та несприятливими умовами середовища. До основних низькомолекулярних антиоксидантів належать:

Аскорбінова кислота (вітамін С). Водорозчинний антиоксидант, є кофактором для АРХ. Аскорбат наявний у всіх клітинних компартментах, зокрема хлоропластах, мітохондріях, пероксисомах та цитозолі. У хлоропластах концентрація аскорбату може досягати 20 мМ, що підкреслює його важливість у захисті фотосинтетичного апарату від окислювальних пошкоджень. Аскорбат тісно взаємодіє з іншими низькомолекулярними антиоксидантами, такими як глутатіон та α -токоферол. У рамках аскорбат-глутатіонового циклу аскорбат діє як первинний антиоксидант, тоді як глутатіон забезпечує регенерацію аскорбату з його окислених форм. Ця взаємодія забезпечує ефективне знешкодження АФК та підтримання окисно-відновного балансу в клітині. Під впливом абіотичних стресових факторів, таких як засуха, висока інтенсивність світла чи забруднення, рівень АФК у клітинах підвищується. Аскорбат відіграє вирішальну роль у мінімізації окислювальних пошкоджень за цих умов, підтримуючи функціональність клітинних структур і процесів. Крім того, аскорбат бере участь у регуляції росту та розвитку рослин, впливаючи на синтез гормонів та інші сигнальні шляхи.

Глутатіон: трипептид, який складається з глутамату, цистеїну та гліцину, має унікальний пептидний зв'язок між γ -карбоксильною групою глутамату та аміногрупою цистеїну, що надає йому високу стабільність і функціональність.

Глутатіон є важливим компонентом аскорбат-глутатіонового циклу (див. вище); у хлоропластах відіграє ключову роль у захисті фотосинтетичного апарату від окислювальних пошкоджень та зменшення ефективності фотосинтезу, спричинених синглетним киснем та перекисом водню; як субстрат

для ферменту глутатіонпероксидази (GPX), він бере участь у перетворенні H_2O_2 на воду, запобігаючи пошкодженню білків, ліпідів і нуклеїнових кислот.

Глутатіон є основою для синтезу фітохелатинів, які утворюють комплекси з важкими металами, такими як кадмій, свинець і мідь, сприяючи їхньому знешкодженню та видаленню з клітини. Такі комплекси депонуються у вакуолях, запобігаючи токсичному впливу металів на клітинні структури. Співвідношення між відновленою (GSH) та окисленою (GSSG) формами глутатіону є індикатором окисно-відновного стану клітини: у стресових умовах зниження рівня GSH і підвищення GSSG може активувати сигнальні каскади, які запускають експресію захисних генів.

Глутатіон бере участь у детоксикації ксенобіотиків через фермент глутатіон-S-трансферазу (GST), яка каталізує зв'язування глутатіону з токсичними сполуками. Утворені кон'югати транспортуються до вакуолей або позаклітинного середовища.

Глутатіон функціонує як мобільна сигнальна молекула, яка передає інформацію між органелами (хлоропластами, мітохондріями) та ядром. Це допомагає рослині адаптуватися до змін у навколишньому середовищі, включно з активацією транскрипційних факторів, які регулюють експресію антиоксидантних ферментів.

Каротиноїди: ліпофільні пігменти, які містяться у хлоропластах, ефективно гасять синглетний кисень, переводячи його в менш реакційноздатний триплетний стан, захищаючи фотосинтетичний апарат від окислювальних пошкоджень. Вони також беруть участь у нефотохімічному гасінні, розсіюючи надлишкову енергію світла у вигляді тепла, запобігаючи утворенню АФК у хлоропластах. Вбудовуючись у ліпідний бішар мембран, каротиноїди підвищують їхню стабільність і зменшують проникність для АФК, захищаючи клітинні структури від окислювальних пошкоджень.

Фенольні сполуки є важливими вторинними метаболітами рослин: до них належать флавоноїди, фенольні кислоти та таніни, які можуть

нейтралізувати вільні радикали завдяки своїм редукційним властивостям. Фенольні сполуки здатні віддавати електрони або атоми водню, перетворюючи вільні радикали на менш реактивні молекули, що запобігає ланцюговим реакціям окислення.

Флавоноїди – найбільш вивчена група фенольних сполук. Ці сполуки виконують кілька функцій, зокрема абсорбцію ультрафіолетового випромінювання, регуляцію гормонів і посилення антиоксидантного захисту.

Деякі феноли, такі як каффеїнова та ферулова кислоти можуть хелатувати іони важких металів, таких як залізо та мідь, зменшуючи їхню здатність каталізувати утворення гідроксильних радикалів через реакції Фентона. Фенольні сполуки можуть індукувати експресію генів, котрі кодують антиоксидантні ферменти, підвищуючи загальну антиоксидантну здатність клітини.

Ці низькомолекулярні антиоксиданти діють синергічно з антиоксидантними ферментами, такими як супероксиддисмутаза, каталаза та аскорбатпероксидаза, утворюючи комплексну систему захисту клітини від окислювального стресу. Вони не лише безпосередньо нейтралізують АФК, але й служать субстратами для ферментативних реакцій, що забезпечує ефективне знешкодження потенційно шкідливих сполук.

Запитання для самоконтролю

- 1.Що таке активні форми кисню (АФК), і які їх основні типи?
- 2.Які основні клітинні компартменти є джерелами АФК у рослинній клітині?
- 3.Як утворюються супероксидний радикал ($O_2 \bullet^-$) та пероксид водню (H_2O_2)?
- 4.Як АФК впливають на основні клітинні компоненти, такі як ДНК, ліпіди та білки?
- 5.Опишіть механізм реакції Фентона та реакції Хабера- Проведіть аналіз, як АФК впливають на основні клітинні компоненти, такі як білки, ДНК, ліпіди.

6. Поясніть, як АФК взаємодіють із антиоксидантними ферментами, такими як супероксиддисмутаза (SOD) та каталаза.
7. Проаналізуйте роль пероксиду водню (H_2O_2) у передачі сигналів, наведіть приклади його впливу на експресію генів та роботу сигнальних каскадів.
8. Які ферментативні та неферментативні механізми використовуються для нейтралізації АФК?
9. Яку роль відіграють MAP-кінази (MAPK) у сигнальних каскадах, пов'язаних із АФК?
10. Як кальцієвий статус клітини впливає на генерацію АФК?
11. Чому генерація АФК під час стресу є як небезпечною, так і корисною для рослин?
12. Які основні шляхи знешкодження АФК у рослинній клітині (аскорбат-глутатіоновий цикл, роль супероксиддисмутази та каталази).
13. Порівняйте низькомолекулярні антиоксиданти (аскорбат, глутатіон, каротиноїди) за їх основними властивостями, локалізацією в клітині та механізмом дії.
14. Опишіть роль супероксиддисмутази (SOD) та каталази (CAT) у нейтралізації супероксидних радикалів та пероксиду водню.
15. Проведіть аналіз, як абіотичні фактори (наприклад, засуха, висока температура, надлишкове світло) впливають на активність антиоксидантних ферментів.
16. Проаналізуйте взаємозв'язок між аскорбат-глутатіоновим циклом та іншими шляхами нейтралізації АФК у рослинній клітині.
17. Які низькомолекулярні антиоксиданти відіграють ключову роль у знешкодженні АФК у рослинній клітині?
18. Як функціонує аскорбат-глутатіоновий цикл, і які ферменти в ньому беруть участь?
19. Яка основна функція супероксиддисмутази (SOD), і які ізоформи цього ферменту зустрічаються у рослинах?

20. Чим каталаза (CAT) відрізняється від аскорбатпероксидази (APX) у нейтралізації пероксиду водню?
21. Як аскорбат взаємодіє з іншими антиоксидантами, такими як глутатіон і токоферол?
22. Чому каротиноїди є важливими для захисту хлоропластів, і яка їхня роль у нейтралізації синглетного кисню?
23. Як фенольні сполуки сприяють захисту рослин від оксидативного стресу?
24. Які особливості регуляції активності антиоксидантних ферментів за дії стресових чинників?
25. Як співвідношення між відновленою (GSH) та окисленою (GSSG) формами глутатіону може вказувати на окисно-відновний стан клітини?

2.2. ВПЛИВ НАДМІРНОГО ОСВІТЛЕННЯ

Надмірне освітлення є значним стресовим фактором для рослин, що може призвести до пошкодження фотосинтетичного апарату та зниження продуктивності. Цей стрес виникає, коли інтенсивність світла перевищує оптимальні рівні, які рослина здатна ефективно використовувати для фотосинтезу. У таких умовах надлишкова світлова енергія може спричиняти утворення активних форм кисню (АФК), які пошкоджують клітинні структури. Цей тип стресу включає екологічні, кліматичні та антропогенні фактори.

Екологічні причини

- *Висока сонячна інсоляція.* У регіонах із тривалим періодом яскравого сонячного світла, особливо в тропічних, субтропічних і пустельних умовах, інтенсивність освітлення може перевищувати оптимальний рівень для фотосинтезу.
- *Відсутність хмарного покриву.* Зменшення або повна відсутність хмарності протягом певних періодів збільшує пряму сонячну радіацію, створюючи надмірне навантаження на фотосинтетичну систему рослин.
- *Зміни в природних умовах.* Раптове переміщення рослин із затінених місць на відкриті ділянки може призвести до раптового підвищення рівня світла, до якого рослини не встигають адаптуватися.

Антропогенні фактори

- *Неправильне використання штучного освітлення.* У теплицях або вертикальних фермах занадто високий рівень штучного освітлення, зокрема світлодіодів із домінуванням синього та червоного спектра, може створювати світлове навантаження на рослини.

- *Знищення захисної рослинності.* Вирубка лісів, розчищення полів або інших територій може призвести до втрати природного затінення, збільшуючи інсоляцію.

- *Зміни у сільськогосподарській практиці.* Рослини, які зазвичай вирощуються у затінених умовах (наприклад, чай, кава), можуть піддаватися надмірному освітленню при перенасиченні плантацій або зміні агротехнічних методів.

Кліматичні зміни

- *Потоншення озонового шару.* Збільшення проникнення ультрафіолетового (УФ-В) випромінювання через стратосферу створює додатковий стрес для рослин, особливо в регіонах з інтенсивним сонячним випромінюванням.

- *Екстремальні погодні явища.* Посухи та інші кліматичні зміни можуть збільшити вплив сонячного світла, оскільки рослини додатково втрачають вологу і знижують свою здатність до адаптації.

Біологічні аспекти

- *Фізіологічні обмеження.* Деякі рослини, особливо ті, які належать до тіньолюбних видів, мають низьку здатність до адаптації підвищеного рівня освітлення. Їхні фотосистеми перевантажуються за умов високої інтенсивності світла.

- *Генетичні особливості.* Види, які історично розвивалися в умовах низької інсоляції, такі як ті, котрі ростуть у лісових підстилках, часто не мають достатніх механізмів захисту від стресу, викликаного надлишковим світлом.

Рослини розвинули різноманітні механізми для захисту від пошкоджень, спричинених надмірним освітленням. До першої лінії захисту належать:

- *Парагеліотропізм* — деякі рослини орієнтують свої листки паралельно до сонячних променів, зменшуючи поглинання світла та запобігаючи перегріву і втраті води.

- *Рух хлоропластів* – рослини можуть змінювати положення хлоропластів у клітинах у відповідь на інтенсивне світло. При надмірному освітленні хлоропласти рухаються до бічних стінок клітини, зменшуючи площу, яка піддається світлу, і в такий спосіб знижуючи фотопошкодження. Переміщення хлоропластів регулюється іонними сигналами, зокрема Ca^{2+} , які активують моторні білки, пов'язані з актиновим цитоскелетом.

Цитоскелетні компоненти координують напрямок і швидкість руху хлоропластів.

Друга лінія захисту передбачає механізми, які захищають фотосистеми. Це відбувається через *нефотохімічне гасіння (NPQ)*. NPQ – процес, за допомогою якого рослини розсіюють надлишкову енергію світла у вигляді тепла, запобігаючи утворенню активних форм кисню (АФК) та фотопошкодженням. Цей механізм охоплює зміни в антенних комплексах фотосистеми II та участь ксантофілового циклу, зокрема перетворення віолаксантину на зеаксантин.

Якщо ці захисні заходи недостатні, активується третя лінія захисту. Підвищення інтенсивності світла призводить до утворення АФК, які можуть пошкоджувати клітинні структури. У рослин активуються *антиоксидантні ферменти*, такі як супероксиддисмутаза, каталаза та аскорбатпероксидаза, які нейтралізують АФК, зменшуючи окислювальний стрес.

Синтез захисних пігментів – рослини можуть накопичувати пігменти, такі як антоціани, які поглинають надлишкове світло, зменшують проникнення шкідливого світла до хлоропластів, захищаючи фотосинтетичний апарат від пошкодження. Ці пігменти також можуть надавати листкам червонуватий відтінок, що сприяє зниженню абсорбції світла та захищає рослину.

Репарація фотосистем – пошкоджені білки фотосистеми II можуть бути швидко замінені новосинтезованими білками, що підтримує ефективність фотосинтезу навіть за умов стресу.

Ці механізми допомагають рослинам адаптуватися до змінних умов освітлення та мінімізувати пошкодження, спричинені надмірним світлом.

Ключову роль у сприйнятті надмірного освітлення та передачі сигналів відіграють спеціалізовані фоторецептори, такі як фототропіни, криптохроми та фітоглобуліни (фітохроми). Ці фоторецептори забезпечують швидку і точну реакцію на зміни інтенсивності та якості світла, ініціюючи процеси, котрі мінімізують стрес від надмірного освітлення.

Фототропіни є блакитними світловими рецепторами, які відіграють основну роль у детекції інтенсивності світла і керуванні рухом хлоропластів. У разі високої інтенсивності світла фототропіни активують сигнальні каскади, які викликають переміщення хлоропластів до менш освітлених ділянок клітини. Фототропіни активують кіназну активність.

Ці білки мають два світлозалежні домени (LOV1 і LOV2), які реагують на блакитне світло.

Ці рецептори є серин/треоніновими кіназами. Фототропіни містять два окремі LOV (Light, Oxygen, or Voltage) домени, які регулюються світлом, киснем або напругою (LOV1, LOV2). Ці домени зв'язують флавінмононуклеотид (FMN) як хромофор.

Механізм дії фототропінів:

1. *Поглинання світла:* у темряві FMN у LOV-доменах фототропінів перебуває в нековалентному зв'язку з білком. Поглинання блакитного світла призводить до утворення ковалентного зв'язку між FMN та консервативним цистеїном у LOV-домені, що спричинює конформаційні зміни в білку.

2. *Активація кіназної активності:* конформаційні зміни вивільняють С-кінцевий α -спіральний фрагмент, котрий активує серин/треонінову кіназну активність фототропіну. Це запускає переміщення хлоропластів. Важливу роль при цьому відіграють цитоскелетні компоненти, такі як актинові філаменти, які забезпечують переміщення хлоропластів до позицій з мінімальним світловим навантаженням.

3. *Сигнальні каскади*: активовані фототропіни взаємодіють з іншими білками, такими як 14-3-3, що призводить до активації H^+ -АТФази в плазматичній мембрані. Це спричинює викид протонів із клітини, гіперполяризацію мембрани та сприяє надходженню іонів K^+ і Cl^- , що знижує водний потенціал, викликає осмотичне надходження та підвищення тургору клітини.

Отже, фототропіни є ключовими компонентами системи сприйняття та передачі сигналів блакитного світла в рослинах, забезпечуючи адаптивні реакції на зміни в освітленні та підтримуючи гомеостаз у мінливих умовах навколишнього середовища.

Криптохроми також є блакитними світловими рецепторами, які взаємодіють із фототропінами для регуляції фототропізму та переміщення хлоропластів. Вони відіграють роль у загальному регулюванні реакцій на світло, включно з синхронізацією добових ритмів та контролем фотоморфогенезу.

Фітоглобуліни (фітохроми) є рецепторами червоного та дальнього червоного світла. Хоча вони менше залучені до реакцій на надмірне освітлення, їхня участь у регуляції руху хлоропластів пов'язана із взаємодією з іншими сигнальними шляхами, активованими блакитним світлом.

Надлишкове освітлення перевантажує фотосинтетичний апарат, зокрема фотосистему II (PSII), що призводить до утворення синглетного кисню у PSII, пероксиду водню та гідроксильного радикала.

Синглетний кисень передає сигнали від хлоропластів до ядра. У PSII 1O_2 активує специфічні білки, такі як EXECUTER1 (EX1), які беруть участь у запуску регуляції генів, пов'язаних із захистом і репарацією фотосинтетичного апарату. H_2O_2 надходить із хлоропластів до ядра та активує транскрипційні фактори, такі як WRKY і ZAT10, котрі регулюють експресію генів, відповідальних за захист клітини. H_2O_2 стимулює експресію HSP, які

мінімізують ушкодження клітин. АФК активують також гени, котрі кодують білки, залучені в нефотохімічне гасіння (NPQ), зокрема PsbS.

H₂O₂ бере участь у взаємодії між хлоропластами, мітохондріями та пероксисомами, координуючи міжорганельну відповідь на стрес.

Надмірне освітлення може як стимулювати, так і пригнічувати фотосинтез залежно від інтенсивності світла та здатності рослини адаптуватися до змінних умов. Розуміння цих процесів є ключовим для розробки стратегій підвищення продуктивності рослин та їх стійкості до стресових факторів.

Запитання для самоконтролю

1. Які фактори викликають надмірне освітлення, і як вони впливають на фотосинтетичний апарат рослин?
2. Що таке парагеліотропізм, і як він допомагає рослинам уникати пошкоджень від надлишкового світла?
3. Як працює механізм руху хлоропластів у відповідь на надмірне освітлення?
4. Що таке нефотохімічне гасіння (NPQ), і яку роль відіграє ксантофіловий цикл у цьому процесі?
5. Які антиоксидантні ферменти активуються при утворенні активних форм кисню (АФК), і як вони захищають клітини?
6. Як фоторецептори, такі як фототропіни та криптохроми, реагують на надмірне освітлення і які сигнальні каскади вони активують?
7. Що таке синглетний кисень, і яку роль він відіграє у фотосистемі II (PSII) при надмірному освітленні?
8. Як рослини використовують синтез захисних пігментів, таких як антоціани, для зменшення шкоди від надлишкового світла?
9. Які наслідки має потоншення озонового шару для рослин в умовах надмірного освітлення?
10. Як пошкоджені білки фотосистеми II відновлюються в умовах інтенсивного світла?

2.3. ТЕПЛОВИЙ СТРЕС

Фізіологія теплового стресу

Кожна рослина адаптована до певних умов довкілля, які для неї оптимальні. Цілком закономірно, що для рослин помірної кліматичної зони оптимальні температури нижчі, ніж для рослин субтропіків і тропіків. Але незалежно від географічного походження підвищення температури принаймні на 5 °C порівняно з оптимальною температурою росту має негативні наслідки для рослини. Залежно від величини стресової температури, часу дії та стадії розвитку рослини тепловий шок може мати різні наслідки – від сповільненого росту до пошкоджень окремих органів і загибелі всього рослинного організму.

У природі існує чимало випадків теплового стресу. Додаткові фактори можуть посилювати їх дію. За наявності достатньої кількості вологи у ґрунті рослини завдяки транспірації здатні підтримувати свою температуру на кілька градусів нижчою, ніж температура повітря. Тому ситуації, у яких транспірація пригнічена, спричиняють тепловий стрес. Наприклад, у відкритому ґрунті, у полі тепловий стрес може виникати в листі, коли транспірація недостатня, оскільки продири частково або повністю закриті як наслідок нестачі вологи (посуха), а освітлення залишається інтенсивним. У проростаючому насінні тепловий стрес може виникати внаслідок нагрівання ґрунту на сонці. Інший особливий випадок – тепловий стрес у органах із низькою здатністю до транспірації, наприклад у плодах.

Якщо рослини протягом кількох годин піддавати дії підвищених, але не летальних температур, то вони набувають здатності в подальшому витримувати вплив вищих температур, які мали би бути для них летальними. Це явище відоме під назвою загартування. Відповідно, розрізняють базову термотолерантність незагартованих рослин і набуту термотолерантність загартованих. Здатність набувати підвищеної термотолерантності через загартування – прояв адаптивних можливостей рослинного організму. Без такої

адаптації навіть порівняно невеликі стресові впливи могли б призводити до важких пошкоджень або навіть бути летальними.

Здатність рослин акліматизуватися до летальних температур описана вже давно. Загартовування рослин до підвищених температур може бути досягнуте з використанням різних режимів попередньої теплової обробки. Зокрема, подібний ефект досягається використанням короткотривалого теплового стресу за сублетальних температур (наприклад, 45 °C протягом 15–20 хв) або тривалішого впливу помірної жорсткості (наприклад, 40 °C протягом 2 год). Суттєво те, що від початку загартовування до набуття підвищеної стійкості має минути приблизно 2 год. Проте довготривале поступове загартовування (як-от, поступове зростання температури від 22 до 45 °C протягом 6 год) допомагає досягнути більшої термотолерантності.

Явище загартовування має місце не тільки в експерименті, але й у природі: скажімо тоді, коли рослини протягом доби зазнають впливу різних температур.

Пошкодження при тепловому стресі

На клітинному рівні за дії теплового стресу спостерігаються пошкодження органел і цитоскелета, а також порушення функцій мембран. Найперше пошкоджуються білки, оскільки за високих температур вони денатурують, тобто зазнають порушення конформації; при цьому відкриваються гідрофобні ділянки поліпептидного ланцюга, які в нативних білків заховані всередину білкової молекули. У водному середовищі клітини гідрофобні ділянки різних денатурованих білків об'єднуються, утворюючи агрегати. У великих масштабах пошкодження протеїнів призводить до протеотоксичного ефекту, окиснення, втрати напівпроникливості та смерті клітини. Пошкодження протеїнів викликається також іншими стресовими факторами зовнішнього середовища (наприклад, арсеніт, важкі метали, посуха).

Інший феномен, пов'язаний із тепловим стресом, – підвищення внутрішньоклітинної продукції активних форм кисню (АФК), зокрема – пероксиду водню. У рослинній клітині за оптимальних умов росту приблизно 1% спожитого кисню іде на утворення таких АФК, як супероксидрадикал, пероксид водню та гідроксилрадикал, які генеруються у хлоропластах, мітохондріях, пероксисомах та клітинній мембрані. Проте за дії стресу продукція АФК зростає внаслідок порушення стабільності мембран та інактивації білків, які беруть участь у транспорті електронів або у розщепленні АФК. Надмірна продукція АФК може призводити до окиснення білків, нуклеїнових кислот і мембранних ліпідів.

Білки теплового стресу

Перше важливе відкриття щодо клітинної відповіді на тепловий стрес було зроблено у 1962 р. на *Drosophila*. Після підвищення температури в інкубаторі, де вирощувалися личинки *Drosophila*, Ritossa спостерігав суттєві зміни у розташуванні пучків на препаратах політенних хромосом, отриманих зі слинних залоз. Це була перша експериментальна вказівка на те, що за дії теплового стресу (і стресу взагалі) можуть відбуватися зміни в експресії генів. Фактично Ritossa відкрив загальний механізм відповіді на стрес у живих організмів. У 1974 р. Tissiers і співробітники продемонстрували, що за дії підвищеної температури у клітинах з'являються нові білки, які отримали назву білків теплового шоку – heat shock proteins (HSP). Пізніше HSP були знайдені у всіх організмів, з якими проводилися відповідні дослідження.

Сьогодні термін HSP використовується для позначення численних білків, які належать до кількох мультипротеїнових родин, члени кожної з яких структурно та функціонально консервативні – від бактерій до вищих тварин та рослин. Деякі HSP відсутні у клітині за нормальних умов та індукуються тепловим стресом. Такі HSP вважають типовими стресовими білками. Проте

більшість із членів мультипротеїнових родин HSP наявна у клітині постійно (конститутивно), але їхня експресія може збільшуватись в умовах стресу. Експресія деяких HSP тканиноспецифічна та залежить від стадії онтогенезу.

Протягом останнього десятиліття все більше з'являється нових даних про біохімічні функції HSP. Установлено, що більшість HSP – молекулярні шаперони: вони стабілізують нативну (або частково порушену) конформацію інших білків і репарують пошкодження, які виникають за дії стресу. Шаперони не містять інформації щодо правильного згортання молекул інших білків, однак вони здатні перешкоджати непотрібному утворенню агрегатів між ненативними (частково денатурованими) білками (рис. 2. 3).

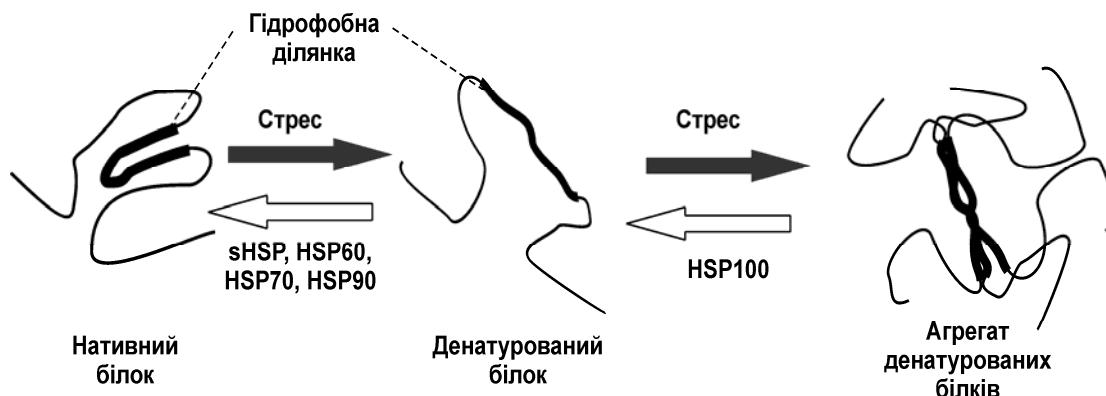


Рис. 2. 3. Денатурація білків за дії теплового стресу та захисна функція різних груп HSP

За нормальних умов шаперони забезпечують правильне згортання білкових молекул і необхідні для дозрівання новосинтезованих протеїнів. У всіх компартментах еукаріотичної клітини, де відбувається синтез і посттрансляційний процесинг білків, існує свій набір шаперонів. Білки, які належать до різних родин HSP, здатні об'єднуватись у багатокомпонентні комплекси, утворюючи так звані шаперонові машини. Ці шаперонові комплекси взаємодіють між собою, сприяючи правильному згортанню білків, їх

внутрішньоклітинному транспорту та поєднанню у мультипротеїнові структури.

Залежно від розміру виділяють різні класи HSP, які називаються за їх приблизними молекулярними масами.

Родина **HSP100** містить білки розміром 92–115 кДа, локалізовані переважно у цитоплазмі. Вони знайдені у бактерій, дріжджів, трипаносом, ссавців і рослин. Ця родина білків охоплює як конститутивно експресовані білки, так і такі, які індукуються тепловим стресом. Аналіз повністю розшифрованого геному *A. thaliana* показав, що у цієї рослини мультигенна родина HSP100 складається з восьми генів, три з яких кодують цитоплазматичні білки довжиною від 831 до 911 амінокислот, а решта п'ять – пластидні довжиною від 928 до 990 амінокислот. По кілька генів HSP100 знайдено у томата, сої, тютюну та пшениці.

Ураховуючи структурні особливості, HSP100 поділяють на два класи. До складу типового HSP100 класу I входять п'ять доменів: (1) N-термінальний; (2) перший АТФ-зв'язувальний; (3) центральний; (4) другий АТФ-зв'язувальний; (5) С-термінальний домен. У HSP100 класу II другий АТФ-зв'язувальний домен відсутній. Відмінності у розмірі молекул окремих представників родини HSP100 пов'язані, насамперед, із різницею в довжині варіабільного центрального домену та наявністю додаткових послідовностей на N- та С-кінцях. АТФ-зв'язувальні домени висококонсервативні. Крім того, у складі всіх інших доменів наявні консервативні амінокислотні мотиви.

Члени мультигенної родини HSP100 необхідні для індукованої термостійкості у дріжджів й *A. thaliana*. Унікальна властивість HSP100 – здатність до дисоціації агрегатів білків, які утворилися за дії теплового стресу (рис. 1). Цей процес вимагає витрат енергії у вигляді АТФ. Крім того, під час теплового стресу HSP100 можуть також запобігати утворенню агрегатів денатурованих білків. Функціонально активні HSP100, зв'язуючись із 12

молекулами АТФ, формують гексамери. Існують докази того, що HSP104 і HSP70 працюють разом або паралельно.

Експресія HSP100 у рослин змінюється протягом розвитку. Високий рівень HSP100 зафіксовано у стиглому насінні рису та в незрілому ендоспермі в кукурудзи.

Білки родини **HSP90**, розмір молекули яких перебуває у межах від 80 до 94 кДа, знайдені у про- й еукаріот, у яких вони локалізовані у цитозолі, ядрі, ендоплазматичному ретикулумі, мітохондріях і хлоропластах. Білки цієї групи належать до висококонсервативних в еволюційному плані. У людини знайдено дві форми HSP90, наявні у цитоплазмі та демонструють 76 % подібності на рівні амінокислотної послідовності. Крім того, у мітохондріях виявлено споріднений білок TRAP1, який на 35 % подібний до HSP90-β. Аналіз геному *A. thaliana* виявив сім генів, котрі кодують HSP90. Із цих генів чотири кодують ізоформи HSP90, локалізовані в цитоплазмі або ядрі, які мають довжину від 699 до 705 амінокислот, по одному гену – ізоформи в ендоплазматичному ретикулумі, мітохондріях і хлоропластах з довжиною 823, 803 або 780 амінокислот, відповідно. У *A. thaliana* рівень подібності на амінокислотному рівні між членами цієї мультипротеїнової родини коливається від 45 до 96 %.

Еукаріотичні HSP90 містять два висококонсервативні домени: (1) АТР-зв'язувальний домен на N-кінці та (2) сильно заряджений лінкерний регіон, багатий на глютамінову кислоту. АТР-зв'язувальний домен знайдено у всіх представників HSP90; він абсолютно необхідний для функціонування. На відміну від цього лінкерний регіон у деяких HSP90 скорочений або взагалі відсутній. Еукаріотичні HSP90 існують у вигляді димерів. Сайт димеризації знаходиться за 200 амінокислот від C-кінця. Димеризація необхідна для функціональної активності.

HSP90 – молекулярні шаперони, які відіграють суттєву роль в укладанні та активації білків, залучених до передачі сигналів усередині клітини, таких як стероїдні рецептори, різні транскрипційні фактори та численні кінази, а також –

у контролі клітинного циклу. Функціонування HSP90 вимагає присутності кошаперонів, з якими HSP90 утворюють складні мультипротеїнові комплекси. Наприклад, у ссавців до складу комплексів з HSP90 входять такі білки, як p60/Sti1/Hor, HSP70, HSP40, p48/Hip, імунофілін і p23. Гомологічні білки знайдені й у рослин, хоча особливості роботи HSP90 у цих еукаріот досліджені поки що недостатньо.

Прокаріотичні HSP90 мають типові риси білків теплового шоку – їх рівень дуже низький під час культивування бактерій в оптимальних умовах, але суттєво зростає за дії теплового та деяких інших форм стресу. На відміну від цього у ссавців конститутивна експресія HSP90 відносно висока і лише помірно зростає в умовах стресу. У рослинних клітинах члени цієї родини можуть бути як конститутивно експресовані, так і індукуватися за дії стресу. Рівень експресії HSP90 змінюється залежно від стадії розвитку, а також за дії холодового стресу та за зміни інтенсивності освітлення.

Rutherford та Lindquist запропонували гіпотезу «еволюційного буфера», згідно з якою за нормальних умов існування HSP90 здатні стабілізувати інші білки, структура яких зазнала порушень унаслідок мутацій. В умовах стресу комплекси таких білків із HSP90 порушуються. Це дає змогу прихованим мутаціям проявитися на фенотиповому рівні та стати мішенню природного добору. Отже, HSP90 здатні гальмувати, а стрес (насамперед тепловий) – прискорювати еволюційний процес.

Білки родини **HSP70** були свого часу описані як такі, котрі найсильніше індукуються у відповідь на тепловий стрес. На сьогодні відомо, що їх синтез також викликається іншими формами стресу. HSP70 знайдені у про- й еукаріот. Вони – найконсервативніша мультипротеїнова родина. В еукаріотичних організмах HSP70 локалізовані в різних клітинних компартментах: цитоплазмі, ендоплазматичному ретикулумі, мітохондріях і пластидах. Різна внутрішньоклітинна локалізація забезпечує функціональну специфічність і філогенетичну різноманітність.

HSP70 в еукаріот належать до двох підгруп. Більшість HSP70 еукаріот належать до першої підгрупи та споріднені з білком DnaK з *Escherichia coli*. До другої підгрупи належать білки, подібні до білків першої підгрупи, але які мають більший розмір і різноманітніші, наприклад, цитоплазматичні HSP110 ссавців і білок SSE дріжджів.

У геномі дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* й у *Drosophila melanogaster* наявні по 14 генів HSP70, у *Caenorhabditis elegans* – 15, у людини та миші – щонайменше по 16. Аналіз геному *A. thaliana* виявив 18 членів у родині HSP70. До DnaK-підродини належать 14 генів, з яких шість кодують протеїни розміром від 61,0 до 77,0 кДа, локалізовані у цитоплазмі або ядрі, три – в ендоплазматичному ретикулумі, два – у мітохондріях і три – у пластидах. HSP110/SSE-підродина кодує 4 білки розміром від 81,8 до 96,7 кДа, з яких три локалізовані у цитоплазмі або ядрі, а один – у ендоплазматичному ретикулумі.

HSP70 у всіх організмів складаються з (1) консервативного АТФ-зв'язувального домену розміром близько 45 кДа на N-кінці та (2) пептид-зв'язувального домену розміром близько 25 кДа на С-кінці. С-кінець варіабельний, що може вказувати на різну субстратну специфічність. Безпосередньо на N-кінці різні HSP70 також варіабельні, оскільки тут розміщені специфічні сигнали транспорту в різні клітинні компартменти.

HSP70 – це типові АТФ-залежні шаперони, які запобігають агрегації інших білків завдяки своїй здатності зв'язуватись із залишками гідрофобних амінокислот у ділянках білкових молекул, які стають доступними внаслідок денатурації за дії теплового стресу. HSP70 можуть взаємодіяти з різними білками, сприяючи їхньому згортанню та розгортанню, асоціації та дисоціації. Крім того, HSP70 беруть участь у регуляції стресової відповіді та у транспорті білків у органели. Умова функціонування HSP70 – їхня взаємодія з іншими білками, зокрема із DnaJ-шаперонами. У *E.coli* HSP70 необхідні для виживання за дії помірних, але не екстремальних підвищених температур.

У еукаріот під час теплового стресу HSP70 локалізовані у ядрі, тоді як у фазі постстресового поновлення вони розсіяні по всій клітині. У *A. thaliana* за нормальної температури культивування більшість цих генів експресуються у різних органах на рівні від мінімального до високого. В умовах теплового стресу експресія багатьох членів цієї родини різко посилюється, особливо у паростках і квітках.

Малі HSP (sHSP, small HSP) або HSP20 – це широко розповсюджена група білків, розмір яких коливається від 16 до 42 кДа. Характерна ознака цієї групи – наявність у структурі білкової молекули домену ACD (α -crystallin domain), який також є у молекулі α -кристаліну, білка кришталіка ока хордових. Подібно до α -кристаліну, sHSP у клітині утворюють гомоолігомерні комплекси розміром від 200 кДа до 800 кДа, до складу яких входить від 9 до більш як 24 субодиниць.

Унікальна особливість рослин – наявність п'яти класів sHSP, тоді як інші еукаріоти мають тільки один клас sHSP, до якого входять 1–4 білки, локалізовані у цитоплазмі. Крім того, у *Drosophila* знайдено HSP22, локалізований у мітохондріях. Можливим поясненням великого різноманіття sHSP у рослин може бути те, що різні класи sHSP спеціалізовані для різних клітинних компартментів: три класи sHSP наявні у цитозолі та ядрі, один – в ендоплазматичному ретикулумі, один – у хлоропластах, один – у мітохондріях і, можливо, у мембранах. У геномі *A. thaliana* ідентифіковано 13 генів, з яких 6 кодують sHSP цитоплазматичного класу I, по два – цитоплазматичного класу II та мітохондріальні sHSP і по одному – цитоплазматичного класу III, ендоплазматичний та пластидний sHSP. Розмір цих білків коливається у межах від 16,1 до 26,6 кДа.

Надзвичайна різноманітність рослинних sHSP свідчить про їх незалежну еволюцію після дивергенції рослин і тварин. Різні класи sHSP виникли на ранніх етапах еволюції рослин. Зокрема, вважається, що цитоплазматичні класи I та II дивергували один від одного більш ніж 400 млн років тому.

Зі структурного погляду ACD являє собою сендвіч із 2 антипаралельних β -шарів. Крім ACD, до складу молекули sHSP належать мінливі N-кінцевий домен і короткий C-кінцевий фрагмент. На відміну від HSP90 та HSP70, які демонструють помітну гомологію вздовж всієї молекули навіть у про- й еукаріот, у sHSP відносно консервативним є лише ACD.

Майже всі sHSP функціонують як шаперони *in vitro*, взаємодіючи з ненативними білками АТФ-незалежно та запобігаючи незворотній агрегації білків. У клітині взаємодія із субстратом забезпечується гідрофобним зв'язуванням субодиниць sHSP з денатурованими ділянками білків, які з'являються за дії теплового стресу. Свою функцію sHSP виконують у взаємодії з іншими шаперонами. Ренатурація субстрату вимагає взаємодії із HSP70 шапероновою системою й АТФ. Вважається, що sHSP утримують інші денатуровані білки у стані, придатному для ренатурації, доки інші шаперони не виконають цю роботу. Комплекси sHSP із денатурованими білками можуть мати дуже великий розмір. Реорганізація протягом стресу може викликати асоціацію цитозольних мультишаперонових комплексів з утворенням так званих гранул теплового стресу розміром 40 нм, знайдених у рослинних клітинах, які піддавалися дії теплового стресу. Вивчення фізіологічної ролі sHSP у ссавців і *Drosophila* показують їх участь у формуванні термотолерантності.

Окремою групою молекулярних шаперонів є **шапероніни та кошапероніни**, які містять білки різного розміру, котрі виконують свою функцію у складі мультипротеїнових комплексів. Вони наявні у бактерій та у пластидах, мітохондріях і цитоплазмі всіх еукаріот.

Термін «шапероніни» початково означав групу гомологічних поліпептидів розміром 60 кДа, ідентифікованих у *E. coli* та у рослинних хлоропластах. Шапероніни поділяють на два типи. **Шапероніни типу I** містять еубактеріальні, мітохондріальні та хлоропластні білки розміром 60 кДа (Cpn60). Ці білки функціонують як пара покладених одне на одного кілець, кожне з яких

складається із семи субодиниць. У бактерій та в мітохондріях ці субодиниці одного типу, а у хлоропластах – двох типів, α та β . У геномі *A. thaliana* знайдено 11 послідовностей, які належать до родини Cpn60. Із них три гени кодують мітохондріальні білки та шість – хлоропластні Cpn60, а саме – два варіанти α -субодиниць і чотири варіанти β -субодиниць. Інші дві геномні послідовності – псевдогени, споріднені, відповідно, з мітохондріальними та хлоропластними Cpn60. Вважається, що гени, які кодують α - та β -варіанти субодиниць хлоропластних Cpn60, виникли за рахунок дуплікації однієї батьківської послідовності та зазнали суттєвої дивергенції. На сьогодні рівень подібності між хлоропластними α - та β -субодиницями становить 51 %, а з мітохондріальними Cpn60 – 45 %.

Комплекс із 14 молекул Cpn60 виконує свою функцію спільно з комплексом білків-кошаперонінів, які належать до родини Cpn21/10. Як правило, цей комплекс являє собою кільце із семи однакових субодиниць розміром по 10 кДа. Крім того, у пластидах наявні кошапероніни, які вдвічі більші за розміром – 21 кДа. Відповідний ген виник у еволюції як результат дуплікації гена, який кодував білок розміром у 10 кДа. Білок Cpn21 утворює тетрамери, здатні взаємодіяти з комплексом із 14 молекул Cpn60. У геномі *A. thaliana* знайдено п'ять генів, які належать до родини Cpn21/10. Один ген кодує хлоропластний білок розміром 21 кДа та по два гени кодують хлоропластні та мітохондріальні білки розміром 10 кДа.

Шапероніни типу II – цитоплазматичний двійник шаперонінів типу I. Вони також утворюють комплекс із двох кілець, але, на відміну від органельного Cpn60, у цитоплазматичного шапероніну CСТ кожне з цих кілець складається з восьми субодиниць восьми різних типів (α , β , χ , δ , ϵ , η , θ та ζ). На основі подібності послідовностей вважається, що CСТ споріднений із термосомою архібактерій. Усі вісім субодиниць CСТ ідентифіковані для кількох організмів, зокрема людини, миші, *C. elegans* і дріжджів *S. cerevisiae*. У

геномі *A. thaliana* виявлено дев'ять генів, які кодують усі вісім субодиниць ССТ; субодиниця ССТ- ζ кодується двома генами.

На відміну від шаперонінів групи I, для групи II не знайдено необхідних для функціонування кошаперонінів, тобто аналогів Crn10 та Crn21. Імовірно, цю функцію виконує білок префолдін (PFD). Комплекс PFD складається з шести подібних субодиниць (PFD1-6). За структурними особливостями ці субодиниці групують за двома класами – α та β . В архібактерій усі шість субодиниць належать до класу α . В еукаріот до цього класу відносять PFD1, PFD3, PFD4 та PFD6, тоді як PFD2 та PFD5 належать до класу β . У геномі *A. thaliana* кожна з субодиниць PFD кодується лише одним геном. Основна функція комплексу PFD – зв'язування зі свіжосинтезованими білками, зокрема – актином і тубуліном – та транспортування їх до ССТ, який забезпечує правильне їхнє згортання.

Шапероніни наявні у клітині у великій кількості за нормальної температури, що свідчить про їхнє важливе значення у забезпеченні правильного згортання білків і збирання мультипротеїнових комплексів як у цитоплазмі, так і в пластидах та мітохондріях за фізіологічно нормальних умов, тобто за відсутності стресу. Наприклад, у рослин шаперонін Crn60 бере участь у збиранні рубіско у хлоропластах. Його експресія не змінюється за дії теплового стресу. Проте вважається, що активність шаперонінів важлива для забезпечення згортання денатурованих білків в умовах теплового стресу.

Один із перших досліджених представників родини **Dj-білків (білків із J-доменом)** був DnaJ з *E. coli*. Цей білок описано як типовий HSP розміром 41 кДа. Хоча DnaJ сам собою володіє шапероновою активністю, ефективніше він функціонує у складі комплексу – молекулярної шаперонової машини, яку утворює за рахунок взаємодії з білками DnaK і GrpE.

До складу молекули DnaJ входять (1) G/F-домен, (2) J-домен (Dj), (3) домен «цинковий палець», який містить зв'язаний з амінокислотними залишками атом цинку, та (4) С-кінцева послідовність. Dj складається з 75

консервативних амінокислот, які утворюють 4 α -спіралі. Між α -спіралями II та III містяться трипептид HPD, абсолютно необхідний для функціональної активності Dj, G/F-домен, збагачений амінокислотами гліцином і фенілаланіном і «цинковий палець», які беруть участь у забезпеченні специфічної взаємодії між DnaJ, DnaK і білком-мішенню.

За останнє десятиліття багато Dj-білків знайдено у різних організмів. Зокрема, кількість генів, які кодують такі білки, становить 20 у *S. cerevisiae*, 22 – у *D. melanogaster* і 32 – у *C. elegans*. Аналіз геному *A. thaliana* виявив безпрецедентну кількість генів, котрі кодують Dj-білки – 89. Згідно з комп'ютерним аналізом послідовності амінокислот ці білки мають бути у всіх клітинних компартментах – у ядрі, цитоплазмі, ендоплазматичному ретикулумі та секреторному апараті, зовнішній мембрані та матриксі мітохондрій, мембрані та люмені пероксисом, стромі пластид. Загальна кількість Dj-білків у *A. thaliana* дуже висока, якщо навіть урахувати, що деякі з них розміщені у пластидах, відсутніх у решті еукаріот. Цікаво, що між згаданими вище еукаріотичними організмами майже немає різниці у кількості генів, котрі кодують HSP70 (див. вище), з яким взаємодіють Dj-білки у складі шаперонової машини. Це означає, що у рослин або різні Dj-білки мають взаємодіяти із тим самим HSP70, або деякі Dj-білки виконують свою функцію незалежно від HSP70.

Враховуючи структурні особливості, еукаріотичні Dj-білки поділяють на три групи – А, В і С. До групи А належать білки, які містять усі три домени, характерні для DnaJ з *E. coli*, а саме: J-, G/F- і цинковий палець; до групи В – два домени: J- і G/F- або цинковий палець; до групи С – тільки Dj. У *A. thaliana* 9 генів кодують Dj-білки групи А, 35 – групи В і 45 – групи С. Розмір Dj-білків коливається у дуже широких межах: 42–63 кДа для групи А, 30–277 кДа для групи В і 12–79 кДа для групи С. Порівняння послідовностей Dj-білків, знайдених у геномі *A. thaliana*, з даними для інших еукаріотичних організмів дає змогу ідентифікувати близькоспоріднені білки в інших рослин, дріжджів,

ссавців тощо та зробити прогноз щодо їхньої функції. Імовірно, лише частина Dj-білків *A. thaliana* є стресовими білками, тоді як інші виконують роль загальних шаперонів (наприклад, локалізовані у мітохондріях Dj-білки типу A) або навіть інші функції, не пов'язані із взаємодією з HSP70 та шапероновою активністю. Більшість із Dj-білків *A. thaliana* експресована на дуже низькому рівні за нормальних умов. Експресія деяких із них зростає за дії абіотичного стресу, проте такі дані поки що залишаються фрагментарними. Повніше розуміння функцій Dj-білків у рослинній клітині потребує подальших експериментальних досліджень.

Крім білків-шаперонів до HSP, також належать окремі білки нешаперонової природи, гени яких не транскрибуються за нормальних умов, але індукуються за дії теплового стресу. Зокрема, до таких «некласичних» **HSP** належать аскорбатпероксидаза 2 (APX2), галактинолсинтаза 1 (GolS1) та ін. Функцією білків родини **APX** є розщеплення пероксиду водню із використанням в ролі субстрату відновленого аскорбату. APX – білок, який трапляється лише у рослин і є функціональним аналогом глутатіонпероксидази тварин. У *A. thaliana* до родини APX належать дев'ять генів, які кодують три цитоплазматичні, три пероксисомальні, два хлоропластні та одна мітохондріальна ізоформи. Більшість цих генів конститутивно експресовані на різному рівні, за винятком гена APX2, транскрипція якого відбувається у відповідь на тепловий стрес, а також засолення та надмірну інтенсивність сонячного світла.

GolS є ключовим ферментом, який каталізує синтез галактинолу з UDP-галактози та міо-інозиту. Своєю чергою галактинол є донором галактозилу для синтезу рафінози та її похідних (стахіоза, вербаскоза). Ці олігосахариди належать до групи речовин-осмопротектантів, які стабілізують макромолекули за дії різних стресових впливів. У *A. thaliana* до родини GolS належать сім генів. Тепловий стрес індукуює транскрипцію GolS1. Крім того, рівень мРНК

GolS1 та GolS2 зростає у відповідь на посуху та сольовий стрес, а GolS3 – на холодний стрес.

HSF: транскрипційні фактори теплового стресу

Поява у клітині HSP в умовах теплового стресу пов'язана зі швидким синтезом відповідних мРНК, тобто стресова відповідь регулюється насамперед на рівні транскрипції стресових генів. Центральну роль у цьому процесі відіграє спеціальна група регуляторних білків – **транскрипційні фактори теплового стресу, HSF** (heat shock factor). Значна частина білків із групи HSF експресуються у клітині конститутивно. Проте за нормальної температури культивування HSF неактивні та знаходяться у цитоплазмі. За дії теплового стресу вони активуються та транспортуються у ядро, де зв'язуються із промоторами генів, що індукуються тепловим стресом.

Для зв'язування HSF у промоторах існують специфічні ділянки. Ці ділянки, так звані елементи теплового стресу (heat shock elements, HSE), консервативні в усіх еукаріот і являють собою пуринові та піримідинові повтори-модулі довжиною 5 нп, які чергуються між собою – (nGAAn) (nTTCn) (nGAAn) (nTTCn). Кількість таких модулів може бути різною. Багато HSE містять послідовність ДНК 5'-CTnGAAnnTTCnAG-3'.

HSF можуть зв'язуватися з HSE й активувати транскрипцію тільки у вигляді тримерів. Згідно з **гіпотезою титрування шаперонів**, за відсутності стресу HSF містяться у цитоплазмі у вигляді комплексів із шаперонами HSP70, HSP90 і, можливо, деякими іншими білками. Коли за дії теплового стресу у клітині з'являються денатуровані білки, вони починають конкурувати з HSF за зв'язування із шаперонами. HSF вивільняються зі складу комплексів й утворюють тримери, які й транспортуються у ядро та активують транскрипцію стресових генів (рис. 2.4).

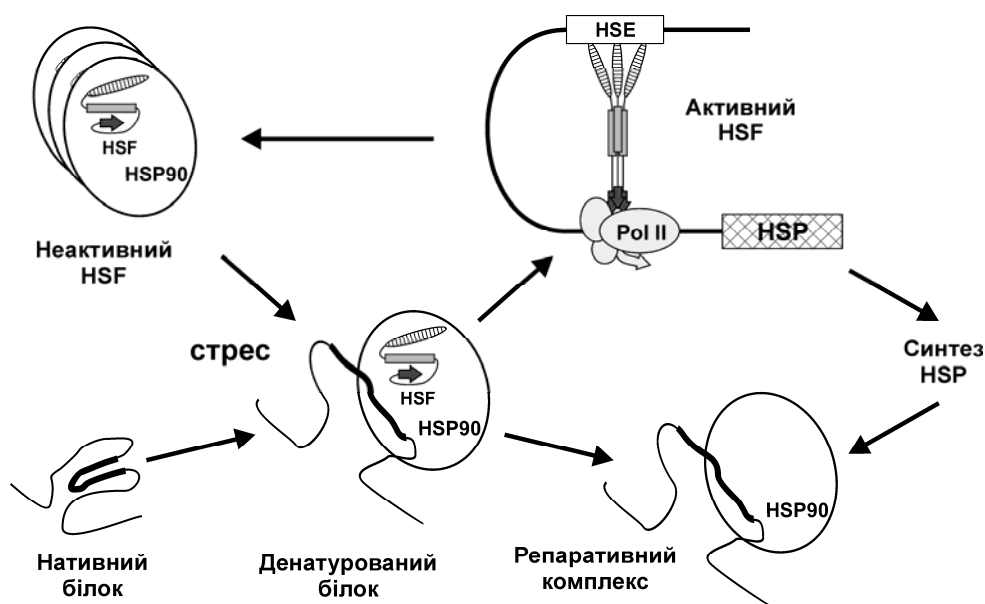


Рис. 2. 4. Активація HSF та експресія HSP за дії теплового стресу згідно з гіпотезою титрування шаперонів

Гіпотеза титрування шаперонів пояснює, чому до активації HSF призводить не тільки тепловий стрес, але й інші впливи, які викликають денатурацію білків наприклад, обробка клітин іонами важких металів, етанолом і різними денатуруючими агентами. Проте існує чимало спостережень, що денатурація білків – це не єдиний сигнал, який запускає захисну клітинну відповідь на тепловий стрес. Доведено, що другий сигнал, необхідний для ефективної експресії стресових генів, – підвищена продукція АФК, зокрема пероксиду водню.

Наслідок активації HSF – транскрипція стресових генів-мішеней, трансляція відповідних мРНК і швидке накопичення у клітині різноманітних «класичних» HSP шаперонової природи, а також таких «некласичних» HSP, як APX2, GolS1 та ін.

Зауважимо, що транскрипція та трансляція «звичайних», не стресових білків, в умовах теплового стресу припиняється, що дає змогу клітині економніше витратити свої ресурси. Завдяки активності шаперонів та інших

стресових білків відбувається репарація викликаних стресом порушень: конформація клітинних білків стабілізується, рівень АФК падає. Відповідно, у клітині зникають умови, за яких має відбуватися активація HSF. У цій ситуації має місце імпорт HSF з ядра назад у цитоплазму, де вони знову утворюють комплекси із шаперонами. Це призводить до зниження інтенсивності стресової відповіді, а за припинення стресового впливу – до повного її відключення.

Характерна особливість рослини – велика різноманітність HSF, а також існування двох груп HSF, рівень експресії яких, відповідно, залежить або не залежить від теплового стресу. Рослинні HSF належать до трьох структурних класів – А, В і С, тоді як HSF усіх інших еукаріотичних організмів – лише до класу А. Зокрема, в *A. thaliana* ідентифіковано 21 ген, які кодують HSF, з яких 15 належать до класу А, 5 – до класу В й 1 – до класу С. Для порівняння, хребетні мають 4 HSF, а дріжджі та *Drosophila* – лише по 1 HSF.

HSF різних організмів відрізняються за молекулярною масою та амінокислотним складом, проте всі вони мають модульну структурну організацію, яка незмінна серед усіх еукаріот (рис. 2.5).

Найконсервативніша ділянка HSF – ДНК-зв'язувальний домен, DBD (DNA binding domain), розміщений на N-кінці протеїну. DBD складається з 4-нитчастого антипаралельного β -шару ($\beta 1$ - $\beta 4$) та трьох альфа-геліксів (H1-H2-H3). Гідрофобний характер центральної частини цього домену забезпечує точну просторову орієнтацію тої частини DBD, яка містить мотив «спіраль-поворот-спіраль» (H2-T-H3), що необхідно для специфічного впізнавання HSE. У всіх досліджених на сьогодні генів HSF ділянка, яка кодує DBD, складається із двох екзонів й одного інтрону між ними. Інtron розташований безпосередньо перед ділянкою, котра кодує гелікси H2 та H3. Хоча позиція інтрону ідентична в усіх випадках, його розмір різний. У ссавців зустрічаються ще додаткові інтрони.

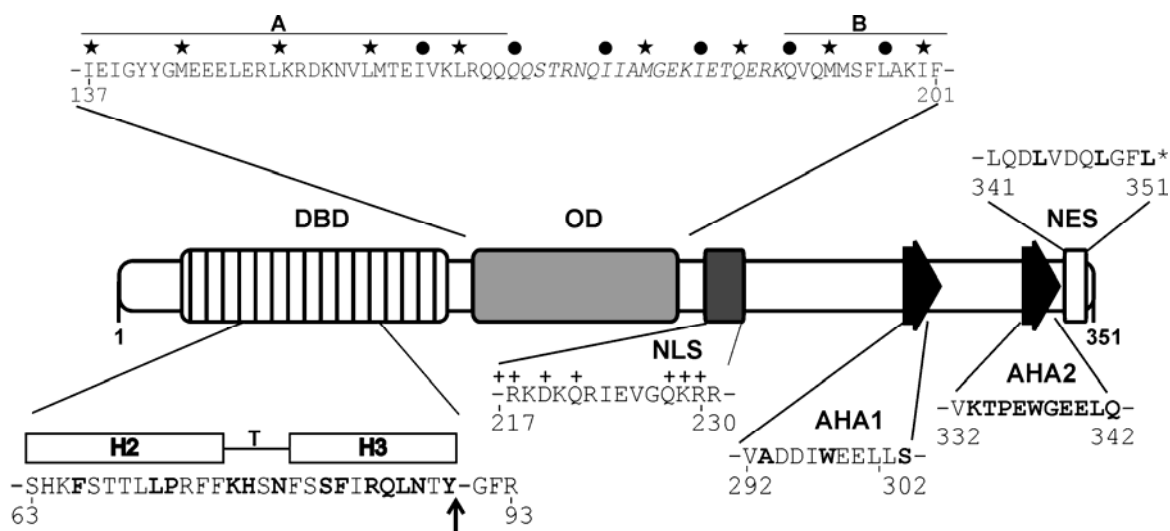


Рис. 2.5. Структурна організація HSF-A2 томату *Lycopersicon peruvianum*.

Центральна частина ДНК-зв'язувального домену (DBD) містить мотив «спіраль-поворот-спіраль» (H2-T-H3), до складу якого входять багато амінокислот, незмінних у різних видів (виділено жирним шрифтом). Стрілка вказує на місце розташування інтрону, наявного у генах всіх рослинних HSF. Домен олігомеризації (OD) складається з двох частин, А та В, відокремлених вставкою з 21 амінокислоти. OD містить гідрофобні амінокислоти, які повторюються через кожні сім залишків (вказано зірочками та точками). Сигнал ядерної локалізації (NLS) містить кластери залишків лізину та аргініну (K, R). Головним елементом активаторного домену є мотиви АНА1 та АНА2. Збагачений лейцином мотив на С-кінці білка функціонує як сигнал ядерного експорту (NES).

Сусіднім із DBD у напрямку С-кінця є домен олігомеризації, OD (oligomerization domain), який необхідний для утворення олігомерів між молекулами HSF. OD містить кілька гідрофобних амінокислот, які знаходяться на відстані у 7 залишків одна від одної. Це забезпечує формування спіральної структури та взаємодію між молекулами HSF за типом «лейцинового замку».

DBD з'єднується з OD лінкерною послідовністю, довжина якої може бути різною. У *A. thaliana* довжина лінкерної послідовності становить 9–39 амінокислотних залишків для HSF класу А, 50–78 – для HSF класу В та 14–49 – для HSF класу С. Три класи рослинних HSF відрізняються також будовою OD. У HSF класу В OD компактний та подібний до всіх нерослинних HSF, тоді як OD у рослинних HSF класів А й С має збільшену довжину, що зумовлено наявністю інсерцій з 21 (клас А) або 7 (клас С) амінокислотних залишків.

Поряд із OD у напрямку до С-кінця білкової молекули наявний сигнал ядерної локалізації, NLS (nuclear localization signal). Він складається з кластера позитивно заряджених залишків аргініну та лізину і необхідний для перенесення HSF у клітинне ядро. Крім NLS, деякі HSF класів А й В містять у С-кінцевій частині молекули також лейцин – багатий сигнал ядерного експорту, NES (nuclear export signal), який необхідний для перенесення HSF з ядра у цитоплазму. Внутрішньоклітинний розподіл HSF між ядром і цитоплазмою динамічно змінюється та визначається балансом між ядерним імпортом й експортом, що важливо для регуляції стресової відповіді.

С-кінець – це найменш консервативна частина у складі HSF. У HSF класу А до складу С-кінцевої ділянки входить негативно заряджений домен активації транскрипції, AD (activation domain), який необхідний для активації транскрипції генів HSP. AD містить у своєму складі мотив АНА (aromatic-hydrophobic-acidic), що утворюється ароматичними (W, F, Y), великими гідрофобними (L, I, V) та кислими (E, D) амінокислотними залишками. Подібний АНА-мотив знайдено також у складі багатьох інших транскрипційних факторів у дріжджів і ссавців. Вважається, що АНА – це місце взаємодії молекули HSF із субодиницями базового транскрипційного комплексу.

С-кінець HSF класів В і С суттєво відрізняється за будовою. Він нейтрально або позитивно заряджений, тоді як мотив АНА тут узагалі відсутній. Вважається, що HSF класів В і С не є активаторами транскрипції, але

ці білки можуть брати участь у посиленні або послабленні стресової відповіді. Крім того, HSF класу В можуть відігравати роль у процесах, не пов'язаних із тепловим стресом, наприклад у регуляції розвитку рослин.

HSF рослин різноманітні не тільки структурно, але й функціонально. Зокрема, їх можна класифікувати відповідно до їх транскрипційної динаміки. Розрізняють «ранні» HSF, які є конститутивно експресовані на низькому рівні за відсутності теплового стресу, та «пізні» HSF, експресія яких суттєво індукується тепловим стресом (можливо, завдяки активності «ранніх» HSF). «Ранні» HSF активуються безпосередньо стресом на рівні білка, що призводить до їх олігомеризації, зв'язування з промоторними ділянками й активації транскрипції генів-мішеней. «Пізні» HSF необхідні для регуляції пізньої стадії клітинної відповіді на стрес. Зокрема, порівняльне вивчення HSF у томата показало, що їх функції різні протягом відповіді рослини на тепловий стрес. HSF-A1a є прикладом «раннього» HSF. Він експресований конститутивно і являє собою ключовий регулятор експресії генів в умовах теплового стресу. HSF-A2 є прикладом «пізнього» HSF. Функціонально він еквівалентний HSF-A1a, але експресується лише у відповідь на підвищення температури і відповідає за експресію стресових генів в умовах довготривалого теплового стресу. HSF-A2 взаємодіє з HSP17-CI, HSP17-CII, впливаючи на їх активність і внутрішньоклітинний розподіл.

Відповідь на тепловий стрес має специфіку в різних видів рослин. Це означає, що результати й уявлення, отримані для одного виду, не завжди можна переносити на інший. Як приклад, можна навести HSF-A1a (клас А) томата, який є головним регулятором відповіді на тепловий стрес, і саме ця його функція не може бути замінена ніяким іншим HSF. Важлива роль HSF-A1a у відповіді на тепловий стрес була доведена в експериментах, де досліджувались три лінії томата – дикий тип, косупресорна лінія, в якій ген HSF-A1a був виключений, та лінія з надекспресією гена HSF-A1a. Показано, що в умовах жорсткого теплового стресу виживають тільки лінії з надекспресією HSF-A1a.

До гена HSF-A1a томата в геномі *A. thaliana* дуже подібні чотири гени: HSF-A1a, b, d й e. Цікаво, що на відміну від томата у мутантних рослин *A. thaliana* порушення роботи HSF-A1a або HSF-A1b, або одночасно цих двох генів практично не впливало на стресову відповідь і терmostійкість рослин. Це можна пояснити тим, що в *A. thaliana* кілька різних HSF функціонально відповідають HSF-A1a томата. Для зниження термотолерантності необхідно було б порушити роботу не одного, а всіх цих генів одночасно. Це означає, що з погляду еволюційної адаптації у *A. thaliana* існує більше шансів вижити у екстремальних умовах, тоді як у випадку з томатом наявність лише одного головного регулятора відповіді на стрес становить певний еволюційний ризик.

На відміну від HSF класу А, HSF класу В і С самі собою не можуть бути активаторами стресової відповіді, оскільки у них відсутній АНА-мотив, необхідний для взаємодії з компонентами базового транскрипційного апарату. Проте показано, що HSF-B1 томата може взаємодіяти з HSF класу А, наприклад HSF-A1 та/або HSF-A2, а отже, виступати як коактиватор стресової відповіді. Крім того, HSF-B1 може подібно взаємодіяти з іншими білками-активаторами транскрипції. Прикладом цього може слугувати білок bZip, який зв'язується з 35S промотором вірусу мозаїки цвітної капусти, або інші регуляторні білки, що контролюють конститутивну експресію генів. HSF-B1 може брати участь у підтриманні та/або відновленні в умовах довготривалого теплового стресу експресії певних генів, які конститутивно експресовані за нормальних умов і необхідні для функціонування «домашнього господарства» клітини. В умовах теплового стресу ці гени мають бути відключені, що й має місце в ранній фазі стресової відповіді. Проте необхідний момент адаптації рослини до теплового стресу – реактивація роботи цих генів, що має забезпечити відновлення нормального метаболізму. Саме цю функцію виконує HSF-B1 у пізній фазі стресової відповіді та/або у фазі постстресового поновлення. Здатність ефективно й адекватно змінювати набір генів, які експресуються, особливо

важлива в умовах швидких змін навколишнього середовища, з чим постійно стикається рослинний організм.

Запитання для самоконтролю

1. Порівняйте основні наслідки теплового стресу для рослинних клітин на рівні органел, білків і мембран.
2. Які фізіологічні особливості рослин допомагають їм протистояти тепловому стресу за умов адекватної транспірації?
3. Як нестача вологи в ґрунті впливає на ефективність транспірації та сприяє тепловому стресу?
4. Що таке явище загартовування, і які температурні режими використовуються для його досягнення?
5. Як тепловий стрес впливає на білки клітини? Що відбувається з їхньою структурою?
6. Які активні форми кисню (АФК) утворюються в клітинах під час теплового стресу, і який їхній вплив на рослину?
7. Які органели рослинних клітин найбільше страждають від теплового стресу, і чому?
8. Як довготривале поступове загартовування допомагає підвищити термотолерантність рослин?
9. Чому підвищення продукції активних форм кисню (АФК) є характерним для теплового стресу?
10. Чи існують інші стресові фактори, які можуть викликати схожі пошкодження білків, як і тепловий стрес?
11. Як денатурація білків під час теплового стресу впливає на життєздатність клітини?
12. Опишіть основні родини HSP, їх функції та локалізацію в клітині, використовуючи таблицю.

13. Порівняйте білки HSP100, HSP90, HSP70 і sHSP за такими критеріями: молекулярна маса, функція, механізм дії та внутрішньоклітинна локалізація.
14. Охарактеризуйте взаємодію між HSP100 і HSP70 у процесі запобігання агрегації білків під час теплового стресу.
15. Які основні функції виконують білки HSP у клітинах рослин і тварин?
16. Що таке молекулярні шаперони, і як вони захищають білки під час теплового стресу?
17. Як структура HSP100 забезпечує їхню здатність до дисоціації агрегатів білків?
18. У чому полягає унікальна властивість HSP90 у стабілізації білків, пошкоджених мутаціями?
19. Які основні відмінності між HSP70 і sHSP за механізмом дії?
20. Які клітинні компартменти містять білки родини HSP70? Як це впливає на їх функціональну специфічність?
21. Як геном *A. thaliana* демонструє різноманітність генів, що кодують Dj-білки? Які їхні основні функції?
22. Що таке "гранули теплового стресу", і яку роль вони виконують у клітинах рослин?
23. Як функціонують "некласичні" HSP, такі як аскорбатпероксидаза 2 (APX2) та галактинолсинтаза 1 (GolS1), під час теплового стресу?
24. Поясніть механізм активації HSF під час теплового стресу.
25. Порівняйте три класи HSF (A, B, C), їх структуру, функції та взаємодію з іншими білками.
26. Проаналізуйте особливості HSE, їх структуру і роль у регуляції стресової відповіді.
27. Поясніть чому різноманіття HSF у рослин важливе для їхньої адаптації до теплового стресу?
28. Що таке HSF, і яку роль вони відіграють у тепловому стресі рослин?
29. Як відбувається активація HSF під час теплового стресу? Яка роль шаперонів у цьому процесі?

- 30.Що таке HSE, і як вони забезпечують специфічність зв'язування HSF?
- 31.Які функції виконують «ранні» та «пізні» HSF у регуляції стресової відповіді?
- 32.Чим відрізняються HSF рослин від HSF тварин і дріжджів?
- 33.Яка роль HSF класу В у пізній фазі стресової відповіді?
- 34.Як HSF регулюють експресію генів під час і після теплового стресу?
- 35.Як структурні особливості HSF (DBD, OD, NLS, NES) забезпечують їхню функціональність?
- 36.Які сигнали, крім денатурації білків, активують HSF у клітині?
- 37.Чому різні види рослин демонструють специфіку у відповіді на тепловий стрес?
Як це пов'язано з функціями HSF?

2.4. СТРЕС, ВИКЛИКАНИЙ ІОНІАМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Вплив важких металів на рослини

Частина мікроелементів, необхідних для життєдіяльності рослин, є важкими металами (ВМ). Проте у концентраціях, вищих за оптимальні, ці елементи токсичні. Фітотоксичність ВМ зумовлена їхніми хімічними властивостями: валентністю, іонним радіусом та здатністю до комплексоутворення. Всі ВМ поділяють на дві основні групи: (а) здатні або (б) нездатні змінювати свою валентність *in vivo*. Відповідно, іони металів першої групи (найперше, заліза та міді) здатні взаємодіяти з пероксидом водню у клітині (реакції Габера–Вайса і Фентона), що призводить до утворення високоактивного та токсичного гідроксил-радикала. З іншого боку, іони всіх ВМ здатні викликати денатурацію та інактивацію білків та порушення окисно-відновного балансу клітини внаслідок виснаження пулу низькомолекулярних антиоксидантів (глутатіон, аскорбат та ін.).

Негативний вплив ВМ у більшості випадків пов'язаний з їх накопиченням у симпласті, плазматичних частинах клітини, таких як цитозоль та строма хлоропласту. Фітотоксичний ефект металів охоплює їхню безпосередню взаємодію з білками, витіснення важливих катіонів із сайтів зв'язування, що призводить до змін метаболізму, інгібування процесів фотосинтезу, зміни активності деяких ключових ферментів тощо. Вважають, що токсичність ВМ значно залежить від ступеня їх нагромадження в коренях рослин, де їх накопичується більше, порівняно з надземною частиною. ВМ можуть також надходити в рослини і через листки з аерозолями.

У вищих рослин толерантність до ВМ забезпечується переважно двома шляхами: запобіганням надходженню металів у клітину через їх зв'язування в клітинних оболонках та запуском внутрішньоклітинних механізмів детоксикації. Наприклад, у рослини гречки у відповідь на надходження

алюмінію зростає вміст щавлевої кислоти та накопичується нетоксичний оксалат алюмінію. Схожі механізми детоксифікації ВМ відомі і для інших рослин. У детоксифікації ВМ також беруть участь інші органічні кислоти (лимонна, яблучна), амінокислоти та високоспоріднені ліганди пептидної природи, такі як фітохелатини та металотіонеїни.

Фітохелатини – невеликі цистеїнобагаті пептиди, здатні зв'язувати іони ВМ через SH-групи. Із клітинної культури томата був виділений фермент, який каталізує синтез фітохелатинів із глутатіону – фітохелатинсинтаза. На думку авторів, іони ВМ необхідні для прояву ензиматичної активності фітохелатинсинтази. Найвища активність ферменту спостерігалась з іонами Cd^{2+} .

За дії ВМ на рослини синтез фітохелатинів за участю фітохелатинсинтази значно зростає. Фітохелатинсинтаза експресується у рослинах конститутивно, проте регуляція може відбуватися на транскрипційному та трансляційному рівнях. Синтез фітохелатинів є одним із захисних механізмів рослин для детоксикації ВМ.

При додаванні солей різних металів до культури клітин *Silene cucubalus* у високих, але не летальних концентраціях знайдено, що синтез фітохелатинів індукувався за наявності іонів Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Sn^{2+} , Bi^{3+} , Ag^{+} , проте не залежав від наявності іонів Al^{3+} , Co^{2+} , Cr^{2+} , Cs^{+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} , K^{+} .

Фітохелатини синтезуються на основі глутатіону та його аналогів в результаті пептидилтрансферазної реакції. Участь глутатіону у синтезі фітохелатинів було підтверджено за допомогою трансгенних рослин *Brassica juncea* з підвищеною експресією гена глутатіонсинтетази *GshII*, які акумулювали значно більше Cd, ніж рослини дикого типу і мали підвищену стійкість до металу. Цей ефект корелював із підвищеним вмістом глутатіону, сірки та фітохелатинів.

Механізм детоксикації іонів ВМ фітохелатинами охоплює кілька стадій: активацію фітохелатинсинтази іоном металу, утворення комплексу

фітохелатину з ВМ та транспорт комплексу у вакуоль. На прикладі з Cd^{2+} виділено три комплекси фітохелатинів з цим металом, які відрізняються за молекулярною масою, а саме – низько- та високомолекулярний, а також комплекс із середньою молекулярною масою. Такі комплекси виділені із рослин *A. thaliana*, *Brassica juncea*, *Z. mays*.

У відповідь на надходження ВМ у клітину крім синтезу фітохелатинів, активується експресія численних стресових білків, задіяних у зв'язуванні іонів ВМ та знешкодженні АФК. Яскравим прикладом специфічних захисних білків є феритини, які ефективно забезпечують зв'язування іонів заліза. Експресія цих білків на транскрипційному та посттранскрипційному рівнях індукується іонами заліза.

Велику роль у захисті клітин від токсичної дії ВМ відіграють також HSP. Це можна пояснити тим, що іони ВМ викликають порушення конформації білків, що є сигналом для активації HSF та індукції HSP. Виявлено, що у багатьох рослин їх синтез індукується іонами Cd^{2+} . Так, експресія гена *Hsp 17* у кукурудзи та ячменю посилювалась за наявності іонів Cd^{2+} . Також показано, що вміст низькомолекулярного шаперона HSP17 зростав у культурах клітин *Lycopersicon peruvianum* та *Silene vulgaris* у відповідь на дію ВМ. Інші ВМ – мідь, нікель, цинк і свинець (у концентраціях 0,5-2 мМ) викликають підвищення вмісту низькомолекулярних HSP у хлоропластах, що залежить від тривалості експозиції рослин на розчинах металів.

При зростанні концентрації іонів ряду ВМ, зокрема Cd, Pb, Fe, Ni, Cu, збільшується продукування АФК у різних клітинних компартментах. Так, у клітинній культурі тютюну (BY2) за дії іонів кадмію спостерігалось утворення ПВ та O_2^- у плазматичній мембрані за рахунок підвищення активності НАДФН оксидази. У коренях пшениці спостерігається формування O_2^- у апопласті.

Вплив міді та кадмію на рослини. Відомо, що мідь є мікроелементом, який бере участь у багатьох біохімічних та фізіологічних процесах. Зокрема, вона є кофактором багатьох оксидоредуктаз та бере участь у роботі

електроннотранспортних ланцюгів, метаболізмі клітинної стінки та у гормональній передачі сигналів. Проте за високих концентрацій міді спостерігаються сповільнення росту рослин та хлороз, порушуються процеси фотосинтезу і дихання. В рослинах цей елемент міститься в хлоропластах і тісно пов'язаний із процесами фотосинтезу, бере участь у синтезі таких органічних сполук, як антоціанін, залізорпорфін та хлорофіл, а також стабілізує та захищає молекули хлорофілу від пошкоджень.

Мідь є металом змінної валентності, може легко віддавати і приймати один електрон, тобто є окисно-відновним, активним металом. За наявності іонів міді посилено утворюються гідроксильні радикали, які пошкоджують білки, ДНК та ліпіди мембран. Тому іони Cu^{2+} можуть викликати багато змін в рослинних клітинах при надмірному накопиченні в тканинах.

Результати досліджень стосовно вивчення впливу міді на активність ферментів антиоксидантного захисту досить неоднозначні. З одного боку, надлишок іонів Cu^{2+} спричинює оксидативний стрес, що викликає зростання активності антиоксидантних ферментів. А з іншого – може спостерігатись їх інгібування, пов'язане з негативним впливом надлишку міді на синтез білків та їх активність.

Захисна відповідь на інтоксикацію іонами міді може регулюватись на транскрипційному рівні. Так, за дії іонів Cu^{2+} у рису активується транскрипція 146 генів, пов'язаних із захистом рослинної клітини від стресу, насамперед – ген металотеонеїноподібного білка I, глутатіонтрансферази та генів, пов'язаних із синтезом фітоалексинів, лігнінів та флавоноїдів. Останні можуть бути задіяні у зв'язуванні іонів ВМ, а також грати роль антиоксидантів у протидії АФК, які генеруються за наявності іонів міді. Різко збільшується й транскрипція шести генів POD. Серед регуляторних білків помічено зміни в транскрипції генів, котрі кодують транскрипційні фактори з родини DREB, які беруть участь у передачі сигналів абсцизової кислоти. Одночасно, експресія 159 генів, котрі беруть участь у фотосинтезі та транспорті, значно зменшується.

Значення антиоксидантних ферментів у стресовій відповіді на зростання концентрації іонів Cu^{2+} доведено для багатьох рослин. В листках *Avena sativa*, які піддавалися дії Cu^{2+} було виявлено зростання активності SOD, натомість активність APX знижувалась. Іншими дослідженнями були виявлені протилежні ефекти. Так, за дії іонів Cu^{2+} на *Phaseolus vulgaris* помічено зниження активності SOD та збільшення активності APX.

Було показано зростання активності POD у коренях *Brassica juncea* L. у відповідь на збільшення концентрації міді у середовищі. Обернено пропорційний характер змін виявлений для каталази – зі збільшенням концентрації металу активність CAT знижувалась. Водночас активність APX зростала, проте за найвищої концентрації металу її активність знижувалась, порівняно з контролем. Під час подібних досліджень встановлено, що вирощування рису за наявності іонів міді у концентрації 30 мкМ сприяло зростанню активності APX та SOD, тоді як каталазна активність залишалась без змін. Іншими авторами було досліджено, що іони Cu^{2+} у концентрації 100 мкМ викликали збільшення активності CAT і SOD, а також індукцію експресії генів *Cat1*, *Sod1*, *Sod3*, *Sod4* у рослин *Prunus cerasifera*, відповідь антиоксидантних ферментів на дію міді різна і залежить від виду рослин та умов стресової обробки – концентрації металу та тривалості дії стресора.

Одним із фітотоксичних ВМ є кадмій (Cd), який навіть у мінімальних концентраціях виявляє негативний вплив на рослинний організм. При отруєнні рослин Cd спостерігається цілий комплекс неспецифічних ознак: хлороз, пригнічення росту коренів та надземної частини, сенесценс листків. У рослинній клітині Cd взаємодіє із сульфгідрильними групами глутатіону та білків, що призводить до втрати активності багатьох ферментів та порушення окисно-відновної рівноваги. Це викликає зміни у транспорті іонів, процесах фотосинтезу тощо і в кінцевому підсумку призводить до загибелі клітини.

Літературні дані стосовно впливу іонів Cd^{2+} на ріст і розвиток рослин свідчить про токсичність навіть малих концентрацій цього ВМ. Наявність у

поживному середовищі підвищених концентрацій іонів Cd^{2+} викликає різноманітні реакції, одна з яких полягає у порушенні збалансованості вмісту інших елементів у тканинах рослин.

Деякі автори вважають, що кадмій призводить до інгібування роботи антиоксидантних ферментів, зокрема APX, POD, CAT і SOD, через індукцію АФК та розвиток оксидативного стресу в клітині. Проте такі припущення не підтверджуються багатьма авторами, які показали зростання активності CAT, APX і POD за дії різних концентрацій іонів Cd^{2+} у різних видів рослин.

Відомо, що вплив іонів кадмію призводить до зростання вмісту пероксиду водню в клітині. Збільшення продукції пероксиду водню корелює зі збільшенням концентрації іонів Cd^{2+} у середовищі культивування рослин.

Іони кадмію впливають на активність антиоксидантних ферментів через зміни в експресії на транскрипційному та посттранскрипційному рівнях. Цікавим фактом є те, що при вивченні впливу хлориду кадмію на рослини гороху *Pisum sativum* та соняшника *Helianthus annuus* спостерігалось збільшення рівня мРНК каталази на фоні зниження загальної активності ферменту. Проте, із подальшою стресовою обробкою активність CAT зростала за рахунок синтезу нових молекул ферменту.

Отже, відповідь рослин на дію ВМ полягає у змінах клітинних концентрацій неферментативних антиоксидантів та у синтезі цілого ряду захисних білків, до яких зокрема належать антиоксидантні ферменти. Характер такої стресової відповіді регулюється транскрипційно та посттранскрипційно та залежить від виду рослини, від металу, його концентрації та тривалості дії.

Свинець (Pb) є одним із найпоширеніших важких металів, які забруднюють довкілля, і становить значну загрозу для рослинних екосистем. Його токсичний вплив на рослини проявляється на різних рівнях організації – від молекулярного до організмового. Потрапляння свинцю у природу відбувається через різноманітні антропогенні та природні джерела. До антропогенних належить, зокрема, виробництво акумуляторів, фарб, скла та

кераміки, металургійні підприємства, які переробляють свинець або його сполуки, неправильна утилізація електронних пристроїв, залишки старих будівельних матеріалів, зокрема фарб на основі свинцю. Серед природних джерел свинцю розрізняють вивітрювання гірських порід, вулканічну активність, ерозію ґрунтів.

Свинець потрапляє в рослини переважно через кореневу систему, адсорбуючись на поверхні корневих волосків або проникаючи через іонні канали, призначені для інших катіонів. Після поглинання він може транспортуватися акропетально через ксилему до надземних органів, де накопичується в клітинних стінках, вакуолях та інших органелах. Токсичні концентрації свинцю спричиняють затримку росту коренів і пагонів, зменшення площі листової поверхні, хлороз та некроз листя. Такі зміни знижують продуктивність рослин і можуть призвести до їх загибелі.

Фізіологічні та біохімічні ефекти свинцю на рослини:

1. *Інгібування фотосинтезу.* Свинець впливає на синтез хлорофілу, інгібуючи активність 5-амінолевулінатсинтаза, яка бере участь у біосинтезі цього пігменту, конкурує з магнієм, необхідним для формування молекули хлорофілу. Це все зумовлює зниження вмісту хлорофілу та порушення структури хлоропластів, що призводить до зменшення фотосинтетичної активності, що обмежує синтез асимілятів і гальмує ріст рослин.

2. *Окислювальний стрес.* Накопичення свинцю спричинює утворення активних форм кисню (АФК), які пошкоджують ліпіди мембран, білки та нуклеїнові кислоти. Рослини реагують активацією антиоксидантних ферментів, таких як супероксиддисмутаза, каталаза та пероксидаза, однак за високих концентрацій свинцю ці захисні механізми можуть бути недостатніми.

3. *Порушення водного балансу.* Свинець змінює проникність клітинних мембран, що призводить до втрати іонного гомеостазу та порушення осмотичного потенціалу. Це може спричинити зниження тургору клітин і в'янення рослин.

4. *Вплив на мінеральне живлення.* Свинець конкурує з есенціальними елементами, такими як кальцій, магній та залізо, за поглинання та транспортування, що зумовлює їх дефіцит та порушення метаболічних процесів.

Деякі рослини здатні накопичувати свинець у вакуолях або зв'язувати його з фітохелатинами та іншими лігандами, що зменшує його токсичність. Крім того, посилення синтезу антиоксидантних сполук, таких як феноли, допомагає нейтралізувати АФК і мінімізувати окислювальні пошкодження.

Запитання для самоконтролю

1. Які хімічні властивості ВМ визначають їхню токсичність для рослин?
2. Які основні прояви фітотоксичності ВМ у рослинній клітині?
3. Як рослини обмежують надходження ВМ у клітину?
4. Які органічні сполуки задіяні у зв'язуванні ВМ у рослинній клітині?
5. Яка роль фітохелатинів у детоксикації ВМ, і які етапи включає цей процес?
6. Як іони ВМ викликають утворення АФК, і які наслідки це має для клітини?
7. У чому полягає функція феритинів, і як вони захищають клітину від токсичної дії ВМ?
8. Як зміна концентрації ВМ у середовищі впливає на активацію антиоксидантної системи рослин?
9. Які генетичні та метаболічні адаптації забезпечують рослинам стійкість до ВМ?
10. Яку роль відіграє мідь у синтезі хлорофілу та метаболізмі клітинної стінки?
11. Чому іони міді можуть викликати окислювальний стрес у рослинах?
12. Як концентрація іонів міді впливає на активність антиоксидантних ферментів?
13. Що таке фітохелатини, і яку роль вони відіграють у детоксикації кадмію?

14. Чому кадмій призводить до інгібування фотосинтезу та порушення окисно-відновного балансу?
15. Які механізми детоксикації кадмію активуються на транскрипційному рівні?
16. Як свинець впливає на фотосинтез рослин та синтез хлорофілу?
17. Чому накопичення свинцю призводить до утворення активних форм кисню?
18. Які відмінності у відповідях рослин на стрес, спричинений міддю, кадмієм та свинцем?
19. Як захисна відповідь рослин на важкі метали залежить від їхньої концентрації та тривалості дії?

2.5. СТІЙКІСТЬ ДО ЗАСОЛЕННЯ

Загальна характеристика

Понад вісім мільйонів квадратних метрів землі в усьому світі мають підвищений уміст солі. Це становить 6 % загальної площі орних земель світу. Вважається, що до 50 % орних земель буде втрачено через засолення до середини ХХІ століття. Засолення ґрунтів є однією з найактуальніших проблем сучасного сільського господарства, що негативно впливає на продуктивність рослин та екосистеми загалом. Цей процес характеризується накопиченням розчинних солей у ґрунті до рівнів, які перешкоджають нормальному росту та розвитку рослин.

Засолення може бути спричинене як природними, так і антропогенними факторами. Природні причини включають вивітрювання мінералів, відкладення солей через пил та опади, а також підйом солоних ґрунтових вод у посушливих регіонах. Антропогенні фактори, такі як нераціональне зрошення, використання солоної води для зрошення та недостатня дренажна система, значно посилюють проблему засолення. Зокрема, зрошення без належного дренажу може призвести до підйому рівня ґрунтових вод, що сприяє накопиченню солей у верхніх шарах ґрунту.

Засолення ґрунтів негативно впливає на рослини через кілька механізмів:

1. *Осмотичний стрес.* Висока концентрація солей у ґрунті знижує осмотичний потенціал, що ускладнює поглинання води кореневою системою рослин. Це призводить до зневоднення клітин та зменшення тургору, що негативно впливає на ріст та розвиток рослин.

2. *Іонна токсичність.* Накопичення іонів натрію (Na^+) та хлору (Cl^-) у клітинах може бути токсичним для рослин, оскільки порушує функціонування ферментів та мембран, що спричиняє хлороз, некроз листя та загальне зниження життєздатності рослин.

3. *Порушення живлення.* Високий рівень солей може інгібувати поглинання важливих поживних елементів, таких як калій (K^+) та кальцій (Ca^{2+}), що зумовлює дефіцит цих елементів та подальші фізіологічні порушення.

4. *Окислювальний стрес.* Сольовий стрес може спричиняти утворення реактивних форм кисню (ROS), які пошкоджують клітинні структури, включно з мембранами, білками та ДНК. Це додатково погіршує стан рослин та знижує їхню продуктивність.

Сольовий стрес – один із найпоширеніших абіотичних чинників, що негативно впливають на фотосинтез у рослин. Засолення ґрунту викликає комплексні фізіологічні та біохімічні зміни, які значно обмежують здатність рослин поглинати світлову енергію, фіксувати вуглекислий газ і синтезувати органічні сполуки. Основні порушення, спричинені сольовим стресом, містять кілька важливих аспектів.

По-перше, сольовий стрес призводить до закриття продихів у листках для запобігання втраті води. Це знижує надходження вуглекислого газу (CO_2) до хлоропластів, обмежуючи функціонування циклу Кальвіна та ефективність фіксації вуглецю. Результатом є зменшення темпів фотосинтезу навіть за достатньої кількості світла.

По-друге, засолення викликає пошкодження структури та функції хлоропластів. Деградація тилакоїдних мембран у хлоропластах порушує електронно-транспортний ланцюг, який є ключовим для вироблення енергії (АТФ) і відновлених еквівалентів (НАДФН). Також сольовий стрес інгібує біосинтез хлорофілу, що призводить до зниження здатності рослин поглинати світло та викликає хлороз листя.

Ще однією проблемою є накопичення активних форм кисню (ROS), які утворюються через порушення функції фотосистеми II (PSII) і посилений окислювальний стрес. ROS пошкоджують мембрани, білки та ДНК у клітинах. У відповідь рослини активують антиоксидантні системи, такі як

супероксиддисмутаза, каталаза та аскорбат-пероксидаза, щоб зменшити негативний вплив окислювального стресу.

Нарешті, сольовий стрес знижує активність ключових ферментів фотосинтезу, зокрема RuBisCO, який відповідає за фіксацію CO_2 . Це додатково обмежує ефективність перетворення світлової енергії на хімічну.

Для протидії сольовому стресу у рослинній клітині існують різні сигнальні шляхи.

Для підтримання іонного гомеостазу та забезпечення виживання в таких умовах рослини використовують сигнальний шлях Salt Overly Sensitive (SOS), який регулює виведення надлишку іонів натрію (Na^+) з клітин. Під впливом сольового стресу відбувається швидке підвищення концентрації іонів кальцію (Ca^{2+}) у цитозолі клітин. Цей кальцієвий сигнал діє як вторинний месенджер, ініціюючи адаптивні реакції на стрес. Кальцієвий сигнал сприймається кальцієзв'язуючим білком SOS3 (також відомим як CBL4), який приєднує Ca^{2+} та активується. Активований SOS3 взаємодіє з протеїнкіназою SOS2 (CIPK24), утворюючи активний білковий комплекс. Комплекс SOS2-SOS3 мігрує до плазматичної мембрани, де фосфорилує та активує Na^+/H^+ антипортер SOS1. Активований SOS1 здійснює виведення надлишку Na^+ з клітини, обмінюючи його на протони (H^+), що сприяє зниженню токсичності натрію та підтриманню іонного балансу (Рис. 2.6).

Ключову роль у відповіді рослин на сольовий стрес відіграють фітогормони, які координують адаптаційні механізми, котрі забезпечують виживання в несприятливих умовах.

Абсцизова кислота – це центральний фітогормон, який регулює адаптацію до сольового стресу. За дії сольового стресу рослини відчувають осмотичний дисбаланс і зниження поглинання води. Ці умови активують швидкий синтез АВА у коренях та листках. Сольовий стрес також сприяє підвищенню рівня Ca^{2+} у цитозолі, який діє як вторинний месенджер, посилюючи сигнальний шлях АВА. Ca^{2+} активує Ca^{2+} -залежні протеїнкінази

(CDPK), які додатково регулюють активність іонних каналів, таких як SLAC1(повільно асоційований аніонний канал 1). Забезпечує виведення аніонів (Cl^- і NO_3^-) з клітин проростків, що спричиняє деполяризацію мембрани. Водночас пригнічується активність іонного каналу KAT1 (канал для вхідного потоку K^+), що запобігає надходженню K^+ та посилює деполяризацію. Цей потік іонів знижує тургор у клітинах проростків, що призводить до їх закривання. Ця реакція мінімізує втрати води, підтримує іонний баланс і забезпечує виживання рослин в умовах високої солоності.

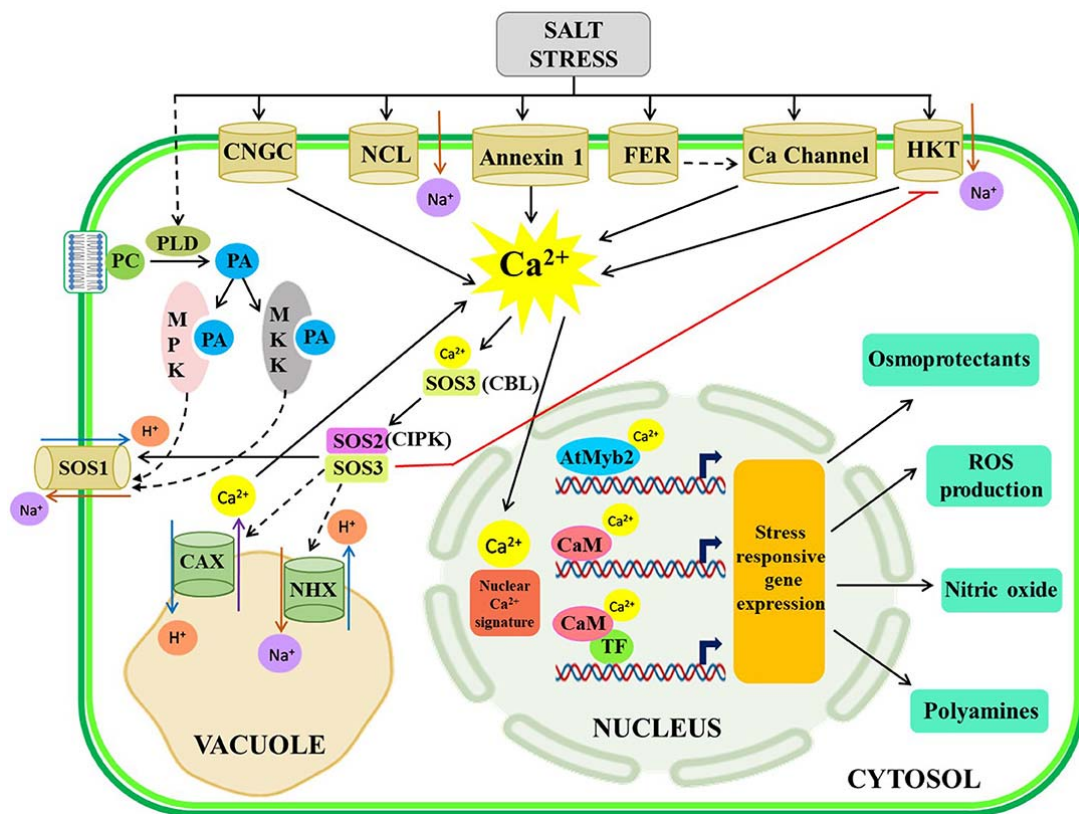


Рис. 2.6. Регуляторна мережі у рослинній клітині у відповідь на сольовий стрес. Na^+ транспортується в цитоплазму через різні канали, локалізовані в плазматичній мембрані, що призводить до підвищення вмісту $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$, який активує шлях SOS (Patra et al., 2021).

Під час сольового стресу АВА стимулює утворення АФК, які функціонують як вторинні месенджери, посилюючи сигнали АВА і активуючи іонні канали, необхідні для закривання продихів. Взаємодія між АФК і АВА критична для тонкого регулювання реакції продихів під час сольового стресу.

Брасиностероїди сприяють підвищенню стійкості рослин до засолення ініціюючи сигнальні каскади, які включають протеїнкінази та вторинні месенджери. Ці сигнальні шляхи призводять до активації транскрипційних факторів, які регулюють експресію генів антиоксидантних ферментів, таких як CAT та SOD. БР також впливають на Na^+/H^+ антипортери, забезпечуючи ефективну регуляцію балансу іонів і поліпшуючи стійкість рослин до сольового стресу.

Етилен може індукувати підвищення рівня АФК, таких як перекис водню (H_2O_2) та супероксидний аніон ($\text{O}_2^{\cdot -}$), через активацію NADPH-оксидаз. Може також активувати CAT та SOD та синтез осмопротекторів. У природі є два типи рослин, котрі відрізняються своєю здатністю переносити солоність середовища – глікофіти та галофіти. Глікофіти – солечутливі рослини, які зазнають стресу при підвищеній концентрації солей, тоді як галофіти здатні виживати та розвиватися в умовах високої солоності. Галофіти демонструють специфічні морфологічні адаптації, такі як розвиток сукулентних тканин, що дає змогу накопичувати воду та розбавляти внутрішню концентрацію солей. Деякі галофіти мають спеціалізовані солевивідні структури, як-от: соляні залози або бульбашки, які сприяють видаленню надлишку солей з організму. Натомість глікофіти не мають таких адаптацій і зазвичай не здатні ефективно протистояти високій солоності.

Галофіти мають розвинені механізми осморегуляції, котрі передбачають накопичення осмопротекторів, таких як пролін, гліцинбетаїн та розчинні цукри, які допомагають підтримувати водний баланс і захищати клітини від осмотичного стресу. Крім того, вони здатні ефективно транспортувати та ізолювати іони натрію в вакуолях, зменшуючи їх токсичний вплив на

цитоплазму. Глікофіти, навпаки, менш ефективні в таких процесах, що робить їх вразливішими до сольового стресу.

Галофіти і глікофіти мають спільні набори генів, але вони функціонують з різною інтенсивністю та ефективністю, що значно впливає на їхню здатність адаптуватися до умов засолення. Генетичні та молекулярні відмінності зумовлюють розходження у фізіологічних реакціях на сольовий стрес. Розрізняють чотири групи генів, які забезпечують пристосування до засолених ґрунтів.

1. Генетична основа транспортування іонів

Галофіти мають розширені родини генів, які відповідають за транспортування іонів, таких як натрій (Na^+) і калій (K^+). Ці гени включають:

Антипорти Na^+/H^+ (SOS1). Галофіти демонструють високу експресію генів SOS1, які кодують білки для виведення іонів Na^+ з клітин або їх переміщення у вакуолі. Це допомагає підтримувати низький рівень натрію в цитоплазмі та запобігає токсичному впливу. У глікофітів активність SOS1 обмежена, що призводить до накопичення натрію в цитоплазмі та пошкодження клітин.

Калієві транспортери (HKT). У галофітів ці гени активно регулюють утримання калію та зменшують поглинання натрію, зберігаючи іонний баланс. У глікофітів HKT-гени часто менш активні, що обмежує їхній іонний гомеостаз.

2. Осморегуляція та синтез осмопротекторів

Галофіти мають значну експресію генів, пов'язаних із синтезом осмопротекторів, таких як пролін, гліцинбетаїн і розчинні цукри. Ці молекули стабілізують білки та мембрани, а також знижують осмотичний потенціал, сприяючи поглинанню води навіть за високої концентрації солей.

Пролін-синтазні гени (P5CS). Галофіти демонструють інтенсивну активність генів P5CS, які кодують ключові ферменти синтезу проліну. Глікофіти також мають ці гени, але їхня експресія значно слабша.

Гени, які відповідають за синтез гліцинбетаїну (BADH). У галофітів ці гени активні навіть при помірному сольовому стресі, тоді як у глікофітів їх експресія запускається лише за високих рівнів солі, але з меншою інтенсивністю.

3. Антиоксидантний захист

Галофіти ефективно знешкоджують активні форми кисню (ROS), які утворюються під час сольового стресу. Це досягається завдяки високій експресії генів, котрі кодують антиоксидантні ферменти:

Гени супероксиддисмутази (SOD). Галофіти мають підвищену активність SOD-генів, які нейтралізують супероксидний радикал, перетворюючи його на менш токсичний пероксид водню. У глікофітів SOD-гени активні, але їхня регуляція менш ефективна.

Гени каталази (CAT) і пероксидази (POD). Галофіти демонструють посилену активність цих генів, що сприяє швидкому розщепленню перекису водню на воду та кисень.

4. Регуляторні механізми

У галофітів виявлено більшу кількість **транскрипційних факторів**, таких як **bZIP і MYB**. Ці фактори регулюють експресію генів, які відповідають за осморегуляцію та антиоксидантний захист. Глікофіти мають подібні транскрипційні фактори, але їхня активація часто повільніша або слабша.

Гени, пов'язані з абсцизовою кислотою (ABA). У галофітів АВА-залежні сигнальні шляхи діють ефективніше, активуючи експресію генів, які допомагають пристосуватися до засолених умов.

Отже, галофіти виявляють вищий рівень генетичної пластичності, що допомагає їм адаптуватися до різноманітних умов солоності. У глікофітів така пластичність обмежена, що зменшує їхню здатність виживати в стресових умовах.

Розширені родини генів, ефективніші механізми їхньої регуляції та активна експресія забезпечують галофітам значну перевагу в умовах сольового

стресу. Глікофіти, хоча й мають подібні гени, через слабшу активність і обмежену регуляцію цих шляхів менш адаптовані до високих концентрацій солей. Ці відмінності визначають здатність галофітів виживати та розвиватися у засолених екосистемах.

Осмопротектори у рослин: механізми дії та значення

Осмопротектори – це низькомолекулярні органічні речовини, які накопичуються в клітинах рослин у відповідь на стресові умови, пов'язані насамперед із засоленням, а також водним дефіцитом чи температурними коливаннями. Вони виконують важливу роль у підтримці осмотичного балансу та захисті клітинних структур.

Основні типи осмопротекторів

1. Амінокислоти:

пролін є ключовою амінокислотою, яка виконує кілька функцій під час стресу. Він стабілізує мембрани, білки та ферменти, а також діє як осморегулятор, знижуючи осмотичний потенціал клітин. Крім того, пролін є антиоксидантом, який нейтралізує реактивні форми кисню (ROS).

Дослідження показали, що підвищений рівень проліну у трансгенного рису корелює зі стійкістю до посухи та засолення (*Kaushal & Wani, 2018*). Накопичення проліну поліпшувало фотосинтез та стабільність мембран в умовах підвищеної засоленості (200 mM NaCl).

2. Цукри та цукрові спирти:

- *сахароза та трегалоза* виступають захисниками білків і мембран під час стресу. Трегалоза, наприклад, здатна стабілізувати мембрани і запобігати денатурації білків, що особливо важливо за умов посухи чи високих температур (*Lunn et al., 2018*);
- *сорбітол і манітол* слугують не лише осморегуляторами, але й виконують роль антиоксидантів, захищаючи клітини від оксидативного стресу.

3. Поліаміни:

- *спермін і спермідин* – це поліаміни, які відіграють важливу роль у регуляції росту рослин, стабілізації ДНК і РНК, а також захисті клітин від пошкоджень, викликаних реактивними формами кисню. Вони також беруть участь у регуляції сигналізації під час стресу. Виявлено, що попередня обробка насіння *Zea mays* забезпечувала кращий ріст таких рослин в умовах посухи (Tiburcio et al., 2019).

4. Бетаїни:

- *гліцинбетаїн* є одним із найефективніших осмопротекторів. Він захищає клітини через стабілізацію ферментів, білків і мембран. Крім того, для *Solanum lycopersicum* знижує токсичність іонів натрію і підтримує фотосинтетичну ефективність через стабілізацію фотосистеми під час стресу, пов'язаного із засоленням або посухою

Механізм дії осмопротекторів

1. *Осморегуляція.* Осмопротектори підтримують клітинний тургор, знижуючи осмотичний потенціал клітини і сприяючи поглинанню води навіть за умов засухи чи засолення.
2. *Стабілізація клітинних структур.* Ці речовини утворюють водневі зв'язки з білками, мембранами та іншими біомолекулами, запобігаючи їхньому пошкодженню чи денатурації під впливом стресу.
3. *Антиоксидантна активність.* Пролін, трегалоза та гліцинбетаїн нейтралізують реактивні форми кисню (ROS), які накопичуються під час окислювального стресу, захищаючи клітини від окислювального пошкодження.
4. *Регуляція генів стресової відповіді.* Осмопротектори можуть впливати на експресію генів, які кодують білки теплового шоку (HSPs) чи антиоксидантні ферменти, що підвищує загальну стійкість рослин.

Значення осмопротекторів для адаптації рослин:

- Підвищення стійкості до абіотичних стресів. Рослини, здатні синтезувати велику кількість осмопротекторів, легше терплять засуху, засолення, температурні екстремуми та окислювальний стрес.
- Підвищення врожайності. Генетична інженерія, спрямована на збільшення синтезу осмопротекторів (наприклад, проліну чи гліцинбетаїну), допомагає створювати сорти культур, адаптовані до стресових умов.

Запитання і для самоконтролю

1. Які основні причини засолення ґрунтів, і як воно впливає на фізіологію рослин?
2. Чим обумовлений осмотичний стрес під час засолення, і які його наслідки для рослинної клітини?
3. Як іонна токсичність, викликана натрієм (Na^+) та хлором (Cl^-), впливає на функції ферментів і мембран?
4. Чому сольовий стрес спричиняє утворення активних форм кисню (ROS), і як рослини нейтралізують їх негативний вплив?
5. Яку роль відіграє сигнальний шлях Salt Overly Sensitive (SOS) у підтриманні іонного гомеостазу в рослинах?
6. Як фітогормони, зокрема ABA, регулюють закривання продихів у відповідь на сольовий стрес?
7. Що таке осмопротектори, і як вони допомагають рослинам пристосовуватися до засолення ґрунту?
8. Які відмінності у фізіологічних реакціях на сольовий стрес між галофітами та глікофітами?
9. Як генетична інженерія може сприяти створенню стійких до засолення сортів сільськогосподарських культур?
10. Поясніть роль кальцієвого сигналу та білків SOS1, SOS2, SOS3.

РОЗДІЛ 3. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ, БІОХІМІЧНІ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСНОВИ АДАПТАЦІЇ ТВАРИН ДО АБІОТИЧНИХ ФАКТОРІВ

3.1. ВИДИ ТА ЗНАЧЕННЯ АДАПТАЦІЙ ДЛЯ ЖИТТЄДІЯЛЬНОСТІ ТВАРИН

Уже з народження організм тварин раптово потрапляє в зовсім нові для себе зовнішні умови і змушений пристосувати до них діяльність усіх своїх органів і функціональних систем. Надалі в процесі індивідуального розвитку фактори, які діють на тварин, постійно змінюються, в окремих випадках отримуючи «надзвичайну силу», котра вимагає постійних функціональних перебудов. Пристосування організму тварин до природно-кліматичних умов – універсальне явище. Під адаптацією розуміють усі види вродженої та набутої пристосувальної діяльності живих організмів, які забезпечуються певними фізіологічними реакціями на клітинному, органному та організменому рівнях. Суть адаптації зводиться до перебудов функцій організму тварин в нових умовах довкілля для збереження, розвитку і нормальної життєдіяльності організму.

З позицій еволюційного розвитку фактори адаптогенезу доцільно класифікувати за ступенем ймовірної пристосованості біологічних систем:

- адекватні фактори – адаптація до еволюційно «відомих» організму подразників;
- неадекватні фактори – адаптація до нехарактерних для організму подразників.

Розрізняють генотипову адаптацію, унаслідок якої на основі спадкової мінливості, мутацій і природного відбору сформувалися сучасні види тварин і рослин. Цей вид адаптації став основою еволюції, її досягнення закріплені генетично й передаються спадково. Комплекс видових спадкових ознак стає вихідним пунктом наступного етапу адаптації, а саме адаптації, яка набувається

під час індивідуального розвитку організму. Ця адаптація формується в процесі взаємодії біологічних систем з оточуючим середовищем і нерідко забезпечується глибокими структурними змінами організму – фенотипова адаптація, яка характеризує індивідуальні ознаки тварин.

Процес адаптації необхідно кваліфікувати за такими критеріями:

1) термодинамічні – підтримання оптимального рівня нерівноваги біологічної системи в адекватних і неадекватних умовах середовища, що забезпечує максимальний ефект зовнішньої роботи, спрямований на збереження і продовження життя даної системи;

2) кібернетичні – самозбереження функціонального рівня саморегулюючої системи в адекватних і неадекватних умовах середовища. При цьому важливий вибір функціональної стратегії, що передбачає оптимальне виконання головної кінцевої мети;

3) біологічні – процес збереження і розвитку властивостей виду, який гарантує прогресивну еволюцію біологічних систем в адекватних і неадекватних умовах середовища;

4) фізіологічні – процес підтримання функціонального стану гомеостазу, що забезпечує збереження організму, розвиток і працездатність та максимальну тривалість життя у змінених умовах середовища.

Залежно від тривалості та повторюваності зміни адаптації можуть мати циклічний характер і бути більше або менше стійкими. Окремі з них короткострокові – тривають протягом кількох годин після усунення індуктора, наприклад час існування білків теплового шоку (БТШ), індукованих короткочасною дією високої температури, та довгострокові – існують упродовж тривалих періодів онтогенезу, іноді навіть всього життя організму тварин.

Фізіологічні адаптації класифікують на основі різних підходів. Зокрема, залежно від тривалості дії зовнішніх факторів впливу на тваринний організм, розрізняють такі типи адаптацій:

– гострі зміни регуляції функцій – виникають у відповідь на зовнішні чи внутрішні подразнення тривалістю від кількох секунд до кількох хвилин, іноді й годин;

– слабкі адаптивні відповіді організму на зміни у зовнішньому середовищі – аклімації та акліматизації. Тривалість цих дій – від кількох годин або місяців до кількох років;

– адаптації в еволюційному аспекті – перетворення та селекція генетично адаптованих типів – дуже повільний процес, який охоплює чимало поколінь і розтягнений у часі на мільйони років.

Для дослідження природних адаптацій пропонується класифікація відповідно до походження в онтогенезі/філогенезі та значення для життя окремої особини, популяції або виду загалом (табл. 3. 1.1).

Таблиця 3.1.1

Класифікація природних адаптацій

Групи адаптацій	Умови виникнення та характеристика
Індивідуальні адаптації	Виникають протягом постнатального розвитку організму. До них належать: формування умовних рефлексів і складніших стереотипів, які виникають у відповідь на дію факторів середовища на дорослий організм; зміни гормональних відносин (як-от: стрес, неспецифічні явища адаптацій); тканинні процеси. Всі ці зміни в організмі практично оборотні та порівняно легко виявляються під час експерименту.
Видові, спадково закріплені адаптації	Зумовлені спадково закріпленими особливостями нервової системи, гормональними й тканинними регуляціями, динамікою загальних морфологічних змін, котрі виникають у процесі онтогенезу організму даного виду. Ці адаптації охоплюють окремі системи органів із характерними для кожного типу адаптацій заміщеннями окремого органа або системи іншими. Так, адаптивні особливості вроджених форм поведінки забезпечують у вищих організмів контакти із самкою під час лактації, особливості територіального поширення молодняка та займання ним відповідних екологічних ніш тощо. Ці спадково запрограмовані рефлексорні акти і складні гормональні зв'язки спеціалізовані

	та відрізняються навіть у близьких у таксономічному значенні видів.
Популяційні адаптації	Виникають у процесі формування популяції у певних конкретних умовах її існування. За своєю генетичною структурою такі адаптації складні; відображають спадкові реакції організмів на впливи середовища на всіх етапах онтогенезу – як пренатального, так і постнатального, включно з імпринтингом; охоплюють усі генетичні зв'язки, зумовлені природним, а іноді й штучним доббором.

Адаптаційні зміни у відповідь на дію різноманітних чинників середовища відбуваються на різних рівнях організації біологічних систем:

- молекулярному – ампліфікація генів, політенізація хромосом, індукція синтезу адаптивних ферментів;
- субклітинному – гіперплазія органел клітин та їхніх субодиноць;
- клітинному – ділення клітин;
- тканинному й органному – пропорційне збільшення кількості всіх компонентів тканини або органа.

Пристосувальні зміни фізіологічних реакцій, які виникають у відповідь на дію різних факторів середовища, залежать від особливостей структури та функцій клітин організму, окремих систем органів; нейрогуморальних регуляцій, пов'язаних із підтриманням загального рівня фізіологічних реакцій тварини. Важливі такі адаптації організмів до умов середовища: термічна, осмотична, окисно-відновна й ферментативна (травна), властиві для всіх живих організмів, зокрема й рослинам. За своїми механізмами адаптивні зміни фізіологічних функцій можуть бути достатньо чітко розмежовані залежно від наявності в них певних гомеостатичних механізмів. Це допомагає розрізнити особливості адаптації гомойо- й пойкилотермних, гомойо- й пойкилоосмотичних, водних і наземних організмів тощо. Канадський фізіолог Харт (1955) поділив усі адаптаційні явища на:

- 1) аклімацию – гострий і оборотний процес;

2) акліматизацію – процес, який відбувається протягом усього індивідуального життя;

3) адаптацію – процес, котрий триває протягом багатьох поколінь.

Термін «акламація» використовують при проведенні експериментальних досліджень щодо вивчення адаптації організмів у модельних умовах дії лише одного фактору, наприклад температури.

Термін «акліматизація» означає комплекс адаптивних процесів у біологічних системах, які відбуваються у природних умовах дії значної кількості факторів – світлового, температурного, водно-сольового режимів, дії магнітно-гравітаційних сил, радіоактивного фону тощо. Отже, акліматизація – це форма фізіологічної адаптації, яка дає змогу індивідууму змінити свою стійкість до факторів середовища.

Тварини в природі використовують найрізноманітніші комбінації фізіологічних і поведінкових механізмів адаптації в процесі життєвих циклів. Так, температурні преферендуми в риб часто пов'язані з рівнем їхньої акліматизації. У багатьох видів риб високорозвинена поведінкова терморегуляція. Вона допомагає їм рефлекторно здійснювати вибір температурного оптимуму води для найкомфортніших умов існування.

На зміни меж толерантності, яке називається **зростанням опору**, значною мірою впливає тривалість і ступінь змін дії факторів середовища та вироблена умовно-рефлекторна поведінка тварин. Окремі види здатні змінювати межі своєї толерантності під час акліматизації. Наприклад, для дрібної деревної ящірки *Urosaurus ornatus* фізіологічна норма – температура 22–26 °C, летальна – 43,2 °C. За умов утримування цих тварин у лабораторії протягом 7–9 днів при температурі 35 °C середня летальна температура зростає до 44,5 °C, що свідчить про ефективні адаптаційні молекулярно-генетичні механізми запуску синтезу білків теплового шоку.

Фізіологічні механізми зростання толерантності за екстремальних умов вимагають певного часу для пристосування до тієї чи іншої ситуації. Так,

раптові зміни середовища можуть призвести до летальних наслідків, але якщо такі ж зміни розвиваються поступово – тварина здатна вижити. Підвищення опору запускає фізіологічні процеси: від дуже швидкої регуляції до повільної акліматизації. Отже, поступові зміни середовища допомагають організму пристосуватися до нових умов існування.

Процес акліматизації триває відносно повільно порівняно зі швидкими фізіологічними пристосуваннями тварин та реакцією-відповіддю на раптові зміни зовнішнього середовища. Проте існує значний спектр залежностей адаптивних процесів від швидкості фізіологічних реакцій та відповідної акліматизації.

Акліматизаційні зміни можуть бути прямою реакцією на зміни середовища, проте на них також впливають циркануальні ритми. Так, морський поліп *Companularia flexuosa* має річний цикл росту, розвитку та відмирання, який зберігається в сталих лабораторних умовах. Процес акліматизації може відбуватись у відповідь на сезонні коливання клімату. Наприклад, зміни температури середовища існування корелюють з граничними летальними температурами у прісноводних риб. Крім того, у ссавців, зокрема й людини, відбуваються сезонні зміни різних метаболічних процесів, пов'язаних з ендогенними циркануальними ритмами як відповідна фізіологічна адаптація.

Форми адаптації та механізми її розвитку

Розрізняють різні типи пристосувально-адаптивної стратегії тварин до дії зовнішніх факторів середовища, зокрема за дії низьких та високих температур:

- «втеча» від несприятливого подразника – міграції, кочівлі;
- пасивне підпорядкування подразнику – анабіоз, діапауза, сплячка;
- активна протидія завдяки розвитку специфічних адаптивних реакцій – фізична та хімічна терморегуляція.

Г. Сельє назвав пасивну форму співіснування з подразником **синтаксичною**, а активну форму боротьби й опір – **катотаксичною**. Біологічний зміст активної адаптації полягає у встановленні та підтриманні гомеостазу – функціональної реакції організму до дії зовнішніх або внутрішніх чинників. Гомеостаз при цьому адекватно перебудовується, зокрема задіюються молекулярно-генетичні механізми пристосувальних реакцій.

Доцільно уявити адаптацію як ланцюг реакцій різних функціональних систем, з яких одні видозмінюють свою діяльність, а інші – є регуляторами цих змін. Обмін речовин нерозривно пов'язаний з енергетичними процесами, при цьому адаптація реалізується через сталу (періодичну) пристосувальну зміну метаболізму та підтримання такого рівня, який найбільш адекватний до нових змінених умов.

Швидкість метаболізму корелює з інтенсивністю і тривалістю дії подразника, при цьому процес адаптації відносно інертний, тобто тривало розвивається у часі як пристосувальна реакція до змінених умов. Сталим змінам метаболізму передують фізіологічні зміни в системах органів організму, котрі мають опосередковане значення, до яких, зокрема, належать кровообіг і дихання, котрі найперші реагують на дію зовнішніх факторів.

Особлива роль в адаптивному процесі належить нервовій і гормональній системам як регуляторам біохімічних пристосувальних змін. Зокрема, в умовах стресових навантажень відбувається викид гормонів гіпофіза та кори наднирників, що викликає початкові рухові реакції на рівні організму, й водночас відбуваються зміни швидкості процесів кровообігу, дихання (рис.3.1.1.).

Вищезазначені зміни, як початкова реакція на сильне подразнення, запобігають порушенням метаболічного гомеостазу загалом. На початкових стадіях дії на організм змінених умов середовища спостерігається прискорення діяльності всіх систем органів. Такий механізм забезпечує можливість існування організму в нових умовах на першій фазі адаптації. Однак він

енергетично не вигідний і лише готує «ґрунт» для іншого, стійкішого й надійнішого тканинного/клітинного механізму. Так, зміни на тканинному й клітинному рівнях зумовлюють раціональну перебудову окремих систем (насамперед дихальної та серцево-судинної), поступового їх повернення до вихідного рівня активності функціонування вже у нових умовах середовища.

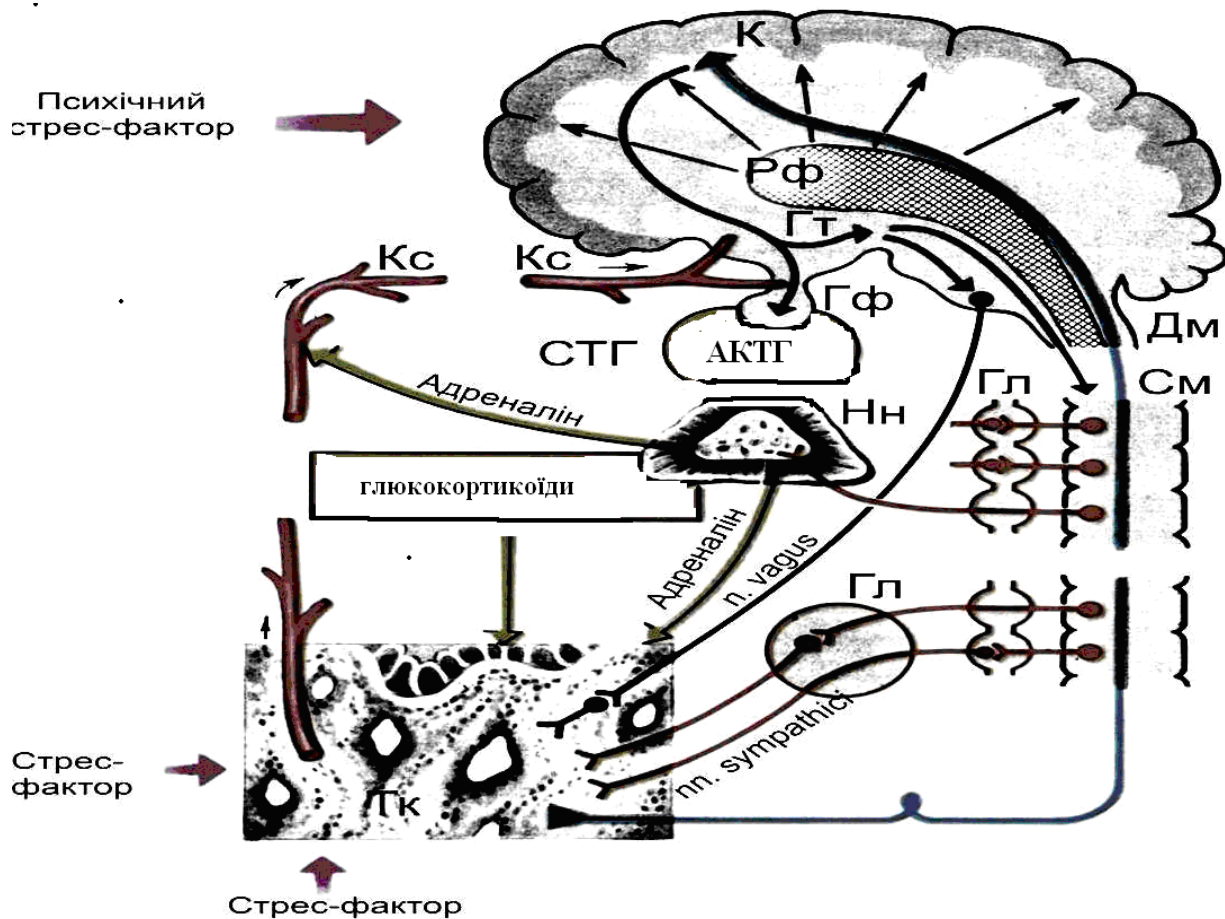


Рис.3.1.1. Фізіологічні механізми розвитку загального адаптаційного синдрому (*Кс* – кровеносні судини, *СТГ* – соматотропний гормон, *АКТГ* – аденокортикотропний гормон) *Гл* – ганглії, *Дм* – довгастий мозок, *Гт* – гіпоталамус, *См* – спинний мозок, *Нн* – наднирники, *Рф* – ретикулярна формація) (Selye, 1950)

У розвитку процесів адаптації організму до дії факторів навколишнього середовища розрізняють такі типи фізіологічної адаптації:

– формування толерантності організму – термінова адаптація за толерантним типом, яка здійснюється при активації симпато-адrenalової системи;

– формування резистентності організму – термінова адаптація резистивного типу, спрямована на збереження стабільних параметрів гомеостазу й супроводжується активацією гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи.

При всій різноманітності фенотипової адаптації, розвиток її у вищих тварин характеризується певними спільними рисами. Для більшості адаптаційних реакцій виділяють два етапи адаптації:

- 1) початковий – фізіологічна (**термінова**);
- 2) наступний – морфологічна (**тривала**).

Морфологічна адаптація розвивається на основі багаторазової реалізації термінової. Тривалий етап адаптаційного процесу виникає поступово, в результаті довготривалої чи багаторазової дії на організм факторів середовища. Процес характеризується поступовим кількісним накопиченням змін, що призводить до окремих якісних перетворень, при цьому організм набуває нових властивостей – із неадаптованого перетворюється на адаптований, що дає можливість існувати в нових умовах, які раніше були несумісні з життям.

Фазовий потік реакцій адаптації вперше виявлений Г. Сельє (рис.3.1.2.).

Перша фаза – реакція «первинного шоку», або «аварійна» – розвивається на початку дії змінених умов зовнішнього середовища. Перше «зіткнення» організму зі зміненими умовами чи окремими факторами викликає початкову орієнтувальну реакцію. При цьому реагують вісцеральні системи допоміжного значення: кровообіг, дихання. Адаптивні реакції регулюються нейро-гуморальною системою, зокрема гормонами мозкової речовини наднирників (катехоламінів), що супроводжується підвищенням тонусом симпатичної системи. Наслідком активації симпато-адrenalової системи є зміни

вегетативних функцій катаболічного характеру, що забезпечує організм енергією на перспективу.

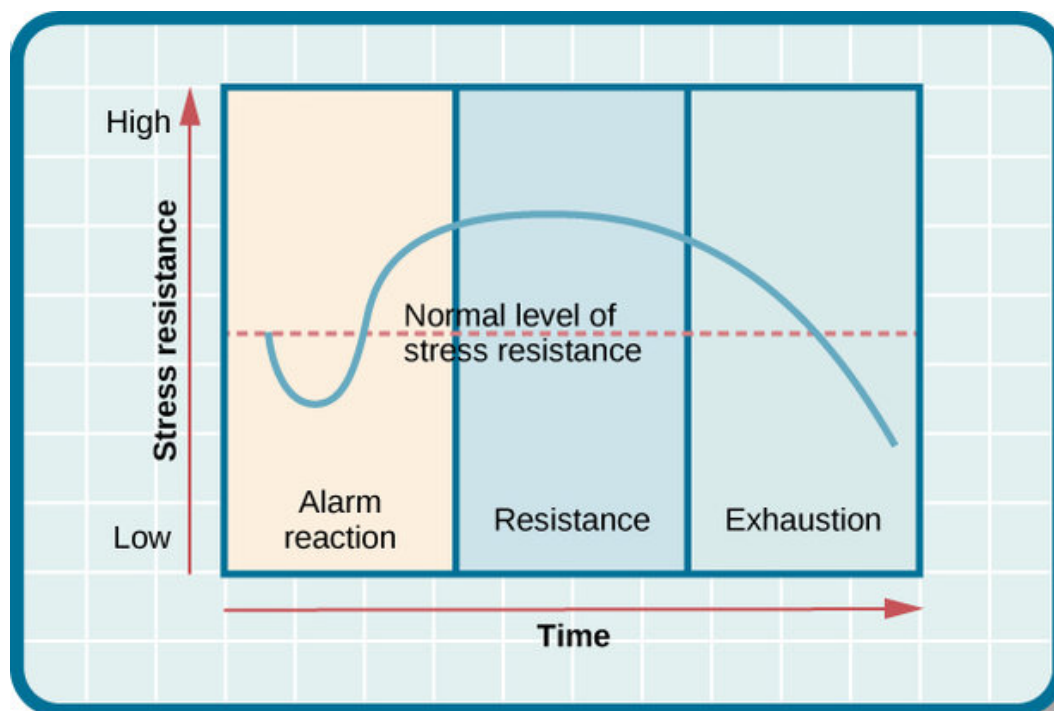


Рис. 3.1.2. Три стадії загального адаптаційного синдрому Сельє.

(Seley, 1950, Everly & Lating, 2002)

В аварійній фазі підвищена активність допоміжних функціональних систем триває з елементами хаотичності. Число змінених показників у діяльності різних функціональних систем надто велике. Керування функціями з боку нейро-гуморальної системи недостатньо синхронізоване, уся фаза загалом має «пошуковий» характер, що відображає спробу адаптуватися до нового фактору чи до нових умов існування за рахунок системних допоміжних механізмів. Для прикладу, у відповідь на стресовий виклик організмом, як правило, виділяється у кров надлишок адреналіну з метою максимального попередження розвитку негативних реакцій. Встановлено, що у цій фазі без змін залишаються тканинні та молекулярні процеси в клітинах організму, тому що для їхньої перебудови потрібен триваліший проміжок часу.

Аварійна фаза адаптації може бути виражена по-різному, залежно не тільки від індивідуальних особливостей організму, але також від сили дії подразнювальних факторів. Для організму людини вона може супроводжуватися вираженим емоційним компонентом, від якого залежить іммобілізація вегетативних механізмів.

Друга фаза – перехідна до стійкої адаптації – характеризується зменшенням загальної збудливості центральної нервової системи у формі зниження чутливості рецепторів як реакція-відповідь на тривалу дію подразника. Змінюються окремі параметри функціонування систем, що забезпечує адаптацію до нових умов. При цьому індивідуальні відмінності між адаптивних реакцій на однакові стресори детермінуються генетичними передумовами. Наприклад, для організму людини характерні особистісні відмінності у сприйнятті та оцінюванні стресового чинника (психологічні особливості).

У період переходу до стійкої адаптації знижується інтенсивність гормональних зрушень, поступово виключається ряд систем і органів, задіяних до адаптивної реакції на початку. Протягом цієї фази пристосувальні реакції організму поступово переходять на глибший тканинний рівень, гормональний фон видозмінюється: посилюється дія гормонів кори наднирників – гормонів адаптації, що відображає загальну мобілізацію адаптивних механізмів.

Протягом зазначеного періоду формуються нові координаційні відносини: посилений еферентний синтез приводить до здійснення цілеспрямованих захисних реакцій. Гормональний фон організму змінюється завдяки задіяння системи «адренкортикотропний гормон – глюкокортикоїди» (рис 3.1.3.).

Глюкокортикоїди та біологічно активні речовини, які виділяються в тканинах, мобілізують цАМФ, синтез білків у клітинах, виділення гаммаглобулінів, глюконеогенез. Важливо, що перехідна фаза стійкої адаптації відбувається тільки за умови, що адаптогенний фактор має достатню

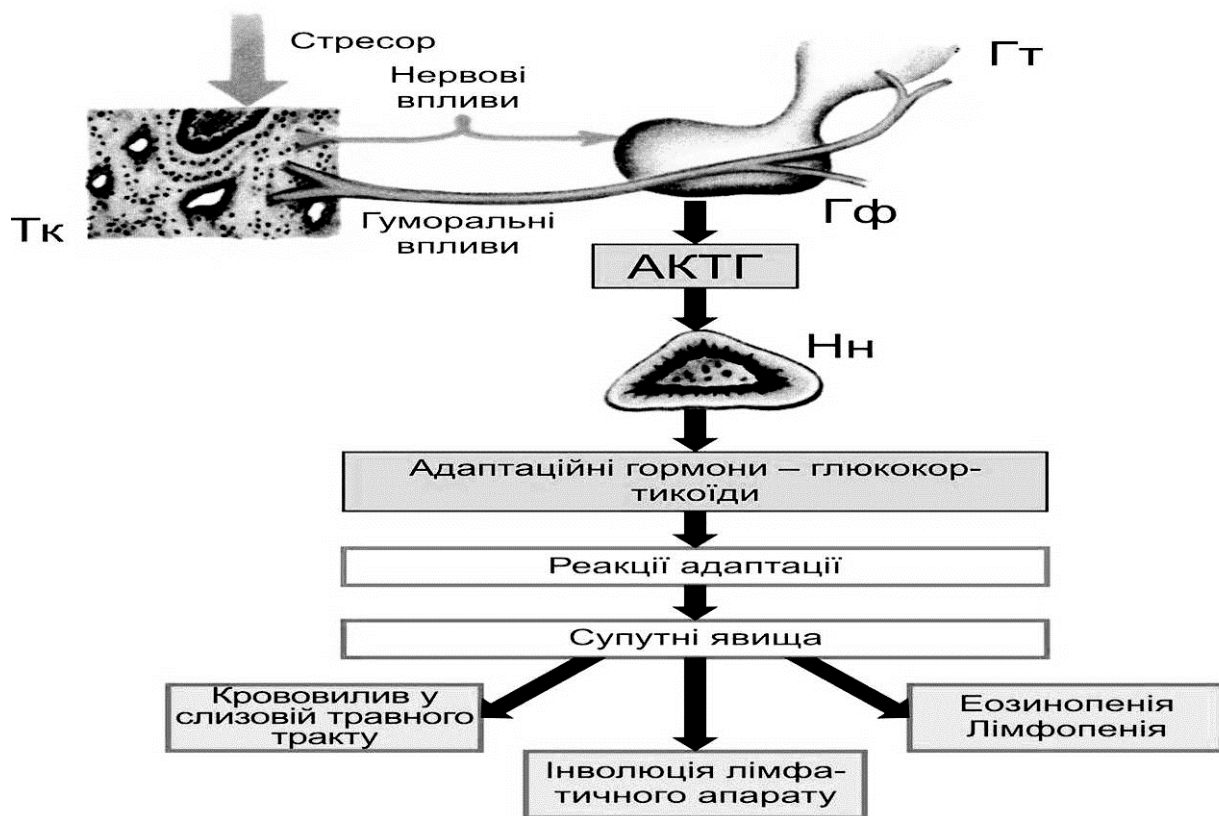


Рис. 3.1.3. Функція гіпофіз-адrenalової системи у розвитку загального адаптаційного синдрому *ГТ* – гіпоталамус *Гф* – гіпофіз, *Тк* – тканини, *АКТГ* – адренокортикотропний гормон, *Нн* - наднирники (Selye, 1950)

інтенсивність і тривалість дії. Якщо він діє короткочасно, то аварійна фаза припиняється і процес адаптації не формується. Якщо адаптогенний фактор діє довгостроково чи повторно переривчасто, це створює достатні передумови для формування так званих структурних слідів. Сумуються ефекти дії факторів, поглиблюються та наростають зміни із залученням метаболічного компонента, й аварійна фаза адаптації перетворюється на перехідну, а потім – і на фазу стійкої адаптації.

За перехідною фазою настає **третя фаза – стійкої адаптації**, або **фаза резистентності**. Вона і є, власне, адаптацією та характеризується новим рівнем діяльності тканинних, клітинних і мембранних елементів, які перебудовуються

завдяки тимчасовій активації допоміжних систем. Тканини одержують підвищене енергетичне, пластичне та захисне забезпечення. При цьому допоміжні системи, зокрема дихальна та серцево-судинна, можуть практично функціонувати на вихідному рівні, тоді як тканинні процеси активізуються, забезпечуючи новий рівень гомеостазу, адекватний новим умовам існування.

У великій кількості досліджень продемонстровано, що збільшення функціональної активності органів і систем закономірно зумовлює активізацію синтезу нуклеїнових кислот і білків у клітинах. Така активація сприяє формуванню структурних змін, які принципово посилюють «потужність» систем, котрі відповідають за адаптацію. Це й складає основу переходу від термінової адаптації до тривалої.

Основні особливості фази стійкої адаптації такі:

- мобілізація енергетичних ресурсів;
- підвищений синтез структурних і ферментативних білків;
- мобілізація імунної системи.

У третій фазі організм набуває неспецифічної і специфічної резистентності (стійкості), скоординовано працюють механізми, які керують основними функціями. Ця фаза вимагає напруженого керування, що й зумовлюється неможливістю її нескінченного перебігу. Незважаючи на економічність – вимикання «зайвих» реакцій, а отже, і зниження додаткових витрат енергії – переключення реактивності організму на новий рівень не дається організму дарма, а відбувається за певної напруги керівних систем. Цю напругу прийнято називати ціною адаптації. Так, будь-яка активність в організмі, адаптованого до нової ситуації, минає набагато дорожче, ніж у нормальних умовах. Наприклад, при фізичних навантаженнях у гірських умовах організмом на 25% більше витрачається енергії, ніж у нормі.

У процесі функціонування організму, який перебуває у фазі стійкої адаптації, можливі відхилення – флуктуації – зміна тимчасової дезадаптації (зниження стійкості) та поява реадаптації (відновлення стійкості). Ці флуктуації

пов'язані як із функціональним станом організму, так і з дією різних побічних факторів.

Процес формування тривалої адаптації на молекулярно-клітинному рівні складається з таких послідовностей:

- 1) посилення фізіологічної функції клітин як систем, відповідальних за адаптацію;
- 2) збільшення швидкості транскрипції РНК на структурних генах ДНК в ядрах відповідних клітин;
- 3) збільшення кількості програмованих РНК рибосом та полісом;
- 4) загальна активізація синтезу клітинних білків;
- 5) збільшення маси структур і функціональних можливостей клітини.

Встановлено, що посилення функції клітин (у вищерозглянутому випадку) має активізаційний вплив на робочу систему опосередковано – через механізм внутрішньоклітинної регуляції й адресовано саме в генетичний апарат клітини. Так, уведення тваринам актиноміцину D (антибіотика, який є інгібітором транскрипції), позбавляє генетичний апарат можливості відреагувати на збільшення функції. Тому перехід термінової адаптації до тривалої стає неможливим.

Важлива особливість тривалої адаптації виявляється у тому, що, незважаючи на її пролонгований характер, основне значення щодо реалізації відіграють короткоживучі структури, зокрема білки. Тривала адаптація характеризується, з одного боку, збільшенням потужності механізмів саморегуляції певних систем організму, а з іншого – підвищенням реактивності цих систем до «керівних сигналів» – медіаторів і гормонів.

Оскільки фаза стійкої адаптації пов'язана з постійною напругою регулюючих механізмів, перебудовою нервових і гуморальних співвідношень, формуванням нових функціональних систем, то ці процеси у певних випадках можуть виснажуватися. Отже, система переходить до стадії виснаження, оскільки регуляторний гормональний рівень значно знижується і це призводить

до дезадаптації. Симптоми цього стану – відхилення гомеостазних показників діяльності організму, подібні до зрушень, які спостерігаються у фазі гострої адаптації: знову допоміжні системи набувають стану підвищеної активності – дихання, кровообіг, неекономно витрачається енергія. Однак координація між системами, котрі забезпечують стан, адекватний вимогам зовнішнього середовища, здійснюється неповноцінно, що може призвести до станів, несумісних із життям.

Значення стрес-синдрому у формуванні тривалої адаптації

Як уже було зазначено, у становленні адаптивних реакцій тваринного організму за дії будь-якого сильного впливу, важливе значення має стрес-синдром. Під час стресу виникає комплекс захисних реакцій – загальний адаптаційний синдром. За визначенням Г. Сельє, **стрес – це сукупність усіх неспецифічних змін організму, які виникають під впливом кожної спрямованої дії (надпорогової сили) і являють собою результат роботи неспецифічного захисного механізму, який збільшує резистентність організму до стресорів.**

Стресові реакції являють собою неспецифічну реакцію-відповідь на дію біотичних та абіотичних чинників. Так, встановлено, що формування стрес-реакції в імаго комах відбувається за участю біогенних амінів (насамперед дофаміну), які контролюють енергетичний метаболізм організму. Показано, що в умовах короткочасного стресу (15–30 хв) кількість біогенних амінів у гемолімфі мух підвищується у 3–10 разів, переважно завдяки викиду їх із депонуючих органів. Тобто дорослим комахам, як і ссавцям, для забезпечення адаптації необхідно «неспецифічне напруження організму», яке досягається розвитком стрес-реакції у несприятливих умовах.

Потребує подальших досліджень проблема активізуючого впливу помірних стресів на біологічні системи різного рівня складності та

таксономічної належності. Так, ще у 1955 році встановлено загальнобіологічну закономірність утворення у стресових умовах біогенних стимуляторів, які у різних організмів подібні за походженням, не маючи видової та гістологічної специфічності. Виявлено, що такі стимулятори синтезуються в організмі людини при підвищеному фізичному навантаженні, а також у рослинах – в умовах різкого охолодження. Механізм дії біостимуляторів пов'язують з активацією ферментів, котрі посилюють загальні метаболічні процеси та окремі фізіологічні функції, зокрема збільшують опірність організму до дії несприятливих факторів, регенеративні властивості на клітинному (тканинному) рівні.

Г. Сельє запропонував класифікацію стресових реакцій на основі віддалених наслідків для організму, зокрема їх розподіл на негативні (дистрес) та позитивні (еустрес) форми стресу (рис.3.1.4.). Дистрес стимулює патологічні зрушення і навіть смерть, що є результатом неадекватних надлишкових реакцій (біологічне самовбивство); еустрес тренує, розширює норму реакції організму.

Проте він відзначав, що такий поділ стресу досить умовний, оскільки не вивчені конкретні відмінності за комплексом змін у різних системах організму, зокрема в нейрогормональній у тварин.

Проблема стимулювальної дії стресів актуальна і вивчається протягом тривалого часу. Думки дослідників різняться. З одного боку, встановлено, що еустрес може бути «м'яким» стресом з незначним проявом фізіологічного ушкодження, з іншого – адаптаційною реакцією організму, яку сприймають за стрес.

Адаптивна реакція-відповідь організму являє собою сукупність фізіолого-біохімічних змін, які призводять, зокрема, до збільшення структурно-енергетичного потенціалу (кількості й активності мітохондрій), до економії енерговитрат за рахунок зниження споживання кисню, посилення загальних фізичних можливостей на рівні окремих органів, підвищення загальної

неспецифічної резистентності, гальмування процесів старіння та збільшення тривалості життя.

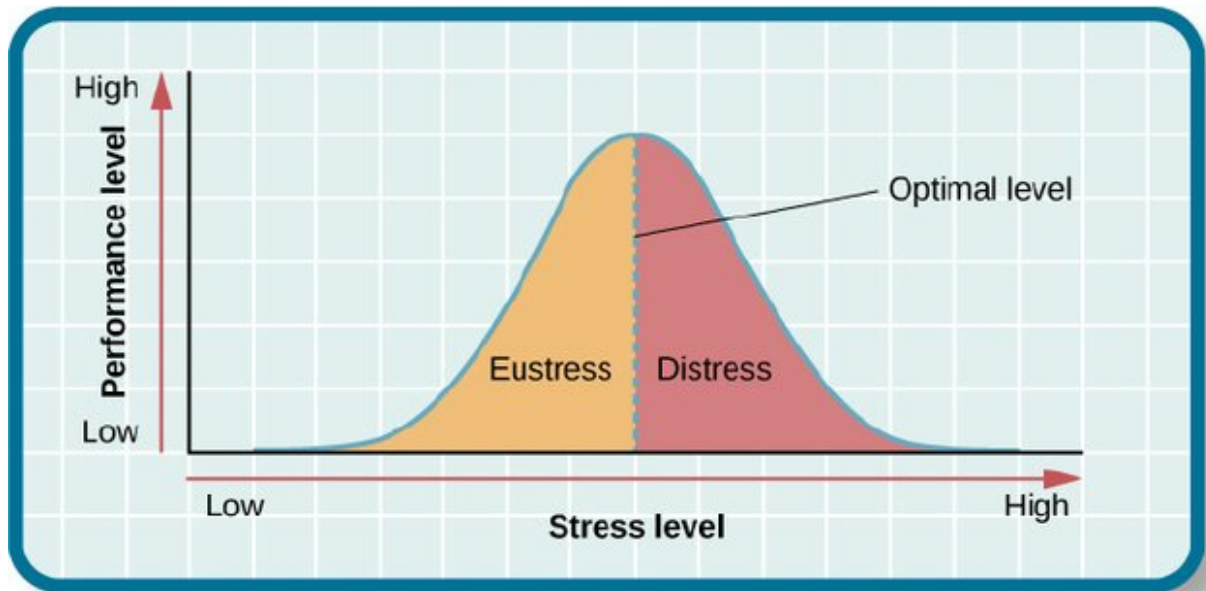


Рис. 3.1.4. З підвищенням рівня стресу від низького до помірного зростає продуктивність (eustress). На оптимальному рівні (пік кривої) продуктивність досягла свого піку. Якщо стрес перевищує оптимальний рівень, він досягне зони дистресу, де стане надмірним і виснажливим, і продуктивність знизиться (Everly & Lating, 2002).

Розрізняють такі форми стрес-подразників:

- 1) фізіологічні – призводять до адаптивного напруження та зміцнення організму на основі посилення процесів метаболізму;
- 2) патологічні – стимулюють патологічні зрушення, викликають захворювання, подеколи несумісні з життям;
- 3) дисипатори – не сприяють адаптивному напруженню і, отже, знижують адаптивні можливості організму.

До фізіологічних стресорів належать: загальна рухова активність, гіпоксемія, температура середовища, нижча зони комфорту, зниження калорійності харчового раціону тощо.

До «стрес-дисипаторів» належать: гіподинамія, високі температури, надлишкове харчування, розвиток в умовах патологічного стресу. Дія таких стресових факторів призводить до обмеження рухової активності організму, що спричинює зниження його загальних функціональних можливостей, високі енерговитрати на рівні тканин, падіння загальної неспецифічної резистентності та раннє старіння. Всі ці зміни розглядаються як прояви пасивної адаптації організму, оскільки при цьому втрачаються раніше досягнуті фізіологічні надбання.

Отже, дистрес призводить до виснаження резервів адаптації, натомість фізіологічний стрес є основою прогресивного розвитку організму.

Дія фізіологічних стресорів призводить до розгортання потужних відновлювальних процесів, які забезпечують не тільки компенсацію викликаних стресом змін, а й перевищення вихідного значення фізіологічних параметрів – суперкомпенсація. Наслідком суперкомпенсації є збільшення енергетичних резервів клітини, зокрема кількості мітохондрій, посилення трансляційної активності полісом, підвищення вмісту в клітинах ДНК та РНК, збільшення активності значної кількості ферментів, зокрема, РНКазної активності, інтенсифікація синтезу білків тощо.

Детальне вивчення адаптаційних реакцій, які розвиваються у відповідь на подразники різної сили, засвідчує, що поряд зі стрес-реакцією на сильні подразники існують і «реакції-тренування», які виникають у відповідь на дію слабких подразників та «реакції активізації» – на дію подразників середньої сили. Важливо, що у відповідь на дію стресових факторів елементи захисту організму поєднуються з елементами ушкодження, реакції тренування та активізації сприяють підвищенню (іноді – досить тривалому) адаптаційних можливостей організму.

Встановлено, що адаптація до сильних подразників досягається стимулюванням роботи окремих систем організму, переважних до дії тих чи інших видів стресу, та пригніченням активності інших захисних систем. При

адаптації до слабких подразників (реакція тренування) не відбувається ні пригнічення, ні значної стимуляції захисних систем, а при адаптації до подразників середньої сили (реакція активізації) настає швидке збільшення активності захисних і регуляторних систем організму.

Незалежно від якості «тренувального» впливу, збільшення стійкості організму може поєднуватися з посиленням адаптаційного ефекту до дії інших стресових факторів – явище «перехресної» адаптації. Скажімо, феномен «перехресної» адаптації є основою методів загартовування людини та передпосівної підготовки рослин до вегетаційного періоду.

Останніми роками накопичується щораз більше даних, які свідчать про формування адаптивних реакцій організму на всіх рівнях морфофункціональної організації біологічних систем, включно з генетичним. Продемонстровано, що в умовах стресу відбуваються зміни як у функціональній активності окремих ділянок генома – зміна конформаційних особливостей хроматину, так і структурні зміни генів, насамперед – переміщення мобільних диспергованих генів. Зазначені зміни можуть довгостроково зберігатися у геномі після усунення індукуючого стимулу.

Наслідком дії стресового фактору є зміни в просторовій організації ядра. Так, при вивченні процесів адаптації личинок дрозофіл до дії стресових навантажень (підвищена та знижена температура – 37 та 15 °C відповідно) в інтерфазних ядрах слинних залоз виявлені зміни рівня ектотипових контактів між хромосомами, що відображає їх просторову реорганізацію. Автори дослідження висловлюють припущення, що виявлені зміни в організації ядра внаслідок стресу адаптивні й здійснюються за допомогою системи «вторинних посередників».

У багатьох дослідженнях зазначено, що внаслідок стресу можуть відбуватися конформаційні зміни ядерного хроматину. Встановлено, що застосування температурного впливу на мишей призводить до появи в ядрах клітин нейронів гіпокампу сильно конденсованого хроматину. А обсяг

конденсованого хроматину у гепатоцитах миші після стресорного впливу (струшування) знижувався.

Продемонстровано, що зміни функціонування генетичного апарату після дії стресу можуть бути пролонгованими. Так, в одному з досліджень фізіологічні наслідки 2-тижневого емоційно-больового стресу зберігалися у щурів протягом 2–6 місяців. На думку авторів дослідження, це дає змогу припустити можливість змін структурно-функціональної організації генетичного апарату як самих нейронів, так і інших соматичних клітин організму.

До значних змін структурно-функціональної організації генетичного апарату можуть приводити стресові впливи, які подовжують тривалість життя. Зокрема показано, що процеси старіння організму корелюють зі збільшенням у хроматині субпопуляції доменів зі зниженим рівнем негативної суперспіралізації ДНК. Застосування в експерименті *in vivo* щурів калорійно обмеженого раціону з метою пролонгації життя, привело до збереження у старіючих тварин більш високого (порівняно з контролем) рівня негативної суперспіралізації ДНК.

Встановлено, що стреси різного походження – тепловий шок, γ -опромінення призводять до індукції транспозицій мобільних генетичних елементів (МГЕ). Важливою здатністю розподілу індукованих транспозицій генома є наявність «гарячих» та «холодних» сайтів, тобто існує різниця швидкості транспозицій на різних ділянках. Припускається, що процес виникнення транспозицій не випадковий, зокрема, для репродуктивних органів самців він залежить від специфічних особливостей відповідних клітин, ектопічних контактів хромосом, розміщення останніх у ядрі тощо. Крім того, певні частини ділянок генома множинних індукованих транспозицій мають селективний характер. Отже, транспозиції МГЕ в окремих випадках виконують регуляторну функцію у становленні адаптивних реакцій організму на дію стресових факторів.

Запитання для самоконтролю

1. Яке значення відіграють адаптації в життєдіяльності тварин та які критерії адаптацій вам відомі.
2. За якими принципами класифікують адаптації.
3. Охарактеризуйте різні форми адаптацій та механізми її розвитку.
4. Які функції гіпофіз-адреналової система виконує у розвитку загального адаптаційного синдрому та які особливості фази стійкої адаптації.
5. Вкажіть послідовності процесу формування тривалої адаптації на молекулярно-клітинному рівні.
6. Яке значення стрес-синдрому у формуванні тривалої адаптації у тварин та які форми стрес-подразників існують.

3.2. ПЕРІОДИЧНІ ЗМІНИ ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНИХ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ В ОРГАНІЗМІ

Життя на Землі демонструє різноманітність регулярних коливальних процесів, кожен з яких можна назвати біологічним ритмом. Наявність періодичних змін притаманна будь-якій біологічній системі, яка складається з багатьох взаємодіючих елементів. Властивості таких систем і визначають основні параметри коливань її стану, або ритмічність. Ритм діяльності характерний для біологічної системи, параметри якого залежать лише від її властивостей та внутрішньої організації, має назву ендогенного.

Складні біохімічні процеси обміну речовин і енергії у живих системах різного рівня складності відбуваються неодноразово, а їх швидкості – непостійні величини. Так, закінчення першого процесу слугує сигналом для «запуску» наступного, причому для перебігу кожного з них потрібні певні відрізки часу. При цьому зазначені процеси узгоджені в клітині між собою так, що виникає певна ритмічна послідовність їхнього чергування, супроводжувана певною мірою протилежними процесами – підвищенням та зниженням інтенсивності кожного з них. Взаємодія ритмів окремих елементів біологічної системи між собою і з ритмом усього організму відбувається на основі певних закономірностей та визначається формуванням зв'язків елементів один з одним, утворюючи єдину часову структуру, яка названа біологічною часовою структурою.

Класифікація біоритмів

Біологічні ритми багатоманітні та потребують відповідних підходів до класифікації. Найпоширеніша система класифікації за ознакою тривалості у часі – довжиною періоду (T). Такий поділ досить умовний, але обґрунтовується практичними міркуваннями. Так, біоритми поділяються на високочастотні ($T < 0,5$ год), середньої частоти ($0,5$ год – 5 діб) і низькочастотні ($T > 5$ діб).

Таблиця 3.2.1.

Приклади біологічних ритмів (Refinetti 2012)

Ритми	Частота, Гц	Період
Швидкість спонтанного збудження нейронів	10^1	100 мсек
Частота скорочень серця	10^0	1 сек
Частота дихання	10^{-1}	20 сек
Виділення гормонів (пульсуюча)	10^{-4}	1 год
Добовий / циркадний ритм	10^{-5}	24 год
Естральний цикл (дрібні гризуни)	10^{-6}	4 дні
Менструальний цикл (людина)	10^{-7}	28 днів
Сезонні /циркануальні ритми	10^{-8}	1 рік
Декадний ритм (популяція рисі звичайної (<i>Lynx lynx</i> L.))	10^{-9}	10 років

До високочастотних ритмів належить багато електричних проявів життєдіяльності організму, що становить предмет електроміографії, електрокардіографії, електроенцефалографії тощо (табл.3.2.1.). Прикладом біоритмів середньої частоти ($20 < T < 28$ год), якнайбільше вивчених, є циркадні ритми. Серед них найважливіше значення має власне добовий (циркадний) ритм із періодичністю 24 години, що пов'язано з циклічним обертанням Землі, а також циркатидальний ритм із періодом 24,8 години, викликаний припливно-відпливними астрономічними процесами. Іншим прикладом середньочастотних ритмів є ультрадіанні з періодом від 0,5 до 20 годин та інфрадіанні ритми з періодом від 28 годин до 2,5 доби.

У діапазоні низькочастотних ритмів вирізняються циркасептанні з періодом коливань 7 ± 1 день, циркавігінтанні – 20 ± 3 дні та циркатрігінтанні – близько 30 днів. Відповідно до цього робочий тиждень як цикл трудової діяльності людини, виник у процесі соціального життя не випадково, а певною мірою відобразив біологічні особливості організмів. Ритми з періодом близько одного року називаються циркануальними (табл.3.2.1.). У таблиці 3.2.1. подано неповний перелік біологічних ритмів, описаних у тварин, рослин і

мікроорганізмів. У ній вказані коливальні процеси, які змінюються з частотою більш ніж на 10 порядків – від 100 мс до 10 років. Можна було б додати ще кілька порядків, якщо врахувати 96 000-річний цикл (або довше) розвитку черепашок планктонних форамініфер, який супроводжує зміни температури океану, пов'язані з повільними змінами орбітального ексцентриситету Землі та іншими орбітальними явищами. У випадку багатотисячолітнього циклу планктонних форамініфер володіння ендегенним годинником було б марним, оскільки організми гинуть набагато раніше, ніж вони можуть завершити навіть невелику частину циклу. Однак в інших випадках ендегенні годинники можуть бути досить корисними. У разі добових/циркадних ритмів вважається, що всі форми життя можуть генерувати ендегенну ритмічність. Ця ритмічність генерується всередині кожної клітини, хоча багатоклітинні організми розробили складні механізми для забезпечення синхронізації ритмів багатьох клітин і органів.

Якщо розглядати цю класифікацію щодо організму людини і тварин, то високочастотні ритми відображають інтенсивність біохімічних процесів, інформаційних потоків, періодичну активність окремих фізіологічних систем: ЦНС (ритми електроенцефалограми), серцево-судинної системи (ритми серця), дихальної (ритм дихання). Ультрадіанні ритми пов'язують з нейрогуморальною регуляцією процесу обміну речовин і діяльністю фізіологічних систем організму, зокрема ендокринної. Циркадні ритми виявляються на всіх рівнях організації – від клітини до цілісного організму, інфрадіанні – на рівні окремих фізіологічних систем та цілісного організму (табл.3.2.1.).

Крім тривалості періоду, ритміка характеризується середнім рівнем – величиною, навколо якої здійснюється коливання, амплітудою (ступенем відхилення від рівня) і фазою. Час від початку до кінця циклу – своєрідний маятник, який регулює весь перебіг ритмічності процесів.

Фізіологічна характеристика добових (циркадних) ритмів. Відлік тривалих періодів часу пов'язаний насамперед із добовими і сезонними циклами, котрі накладаються на явища індивідуального розвитку тварин, які відбуваються за індивідуальними закономірностями. Складні чи простіші комбінації цих факторів, їх поєднання і визначають швидкість преребігу фізіологічних реакцій тварин, повторюваних у часі, та загальну ритміку фізіологічного стану організму – фізіологічний годинник.

Встановлено, що значна кількість фізіологічних функцій і загальна поведінка організму мають строго циклічні зміни, пов'язані з аналогічними циклічними змінами зовнішнього середовища. Найвиразніше це проявляється у добовому ритмі, походження якого пов'язують із космічними циклами, добовими циклічними змінами освітлення, температури, вологості та з добовими циклічними змінами поведінки інших організмів.

Циркадні ритми охоплюють як рослинний, так і тваринний світ, але фізіологічні зміни, які спостерігаються при цьому, різні у організмів різних систематичних груп. Так, якщо у рослин циркадні ритми охоплюють в основному процеси фотосинтезу (фотоперіодизм), то у тварин вони передбачають зміну обміну речовин і рухової активності. Особливо велике значення має дослідження залежності між природними добовими циклами (освітлення, температури середовища, умови харчування тощо) і добовими циклічними змінами фізіологічних процесів в організмі.

Добовий ритм широко розповсюджений не тільки у вищих ссавців, але й у безхребетних тварин, зокрема, відомі циклічні зміни поведінки у комах («льотна активність»), актиній (розкриття щупалець під час припливів і згортання під час відливів) тощо. Досліджено, що у ссавців і птахів добова ритмічність пов'язана не лише з руховою активністю, але й супроводжується глибокими змінами фізіологічних функцій та частковими змінами гомеостазу. Так, у денних птахів протягом доби можна спостерігати характерні фази переходу від спокою до активності з певною періодичністю. Зокрема, для

великої синиці (*Parus major*) зростання поведінкової активності відбувається на світанку, одночасно різко зростає температура тіла (на 3–4 °C), частота дихання та серцевих скорочень. Зміни вегетативних функцій спостерігаються навіть, якщо тварина перебуває у цілковитому спокої.

Добові цикли у ссавців тривають по-різному і значною мірою відповідають поведінці тварин, способу їхнього життя (денні, нічні, сутінкові тварини) (рис.3.2.1.).

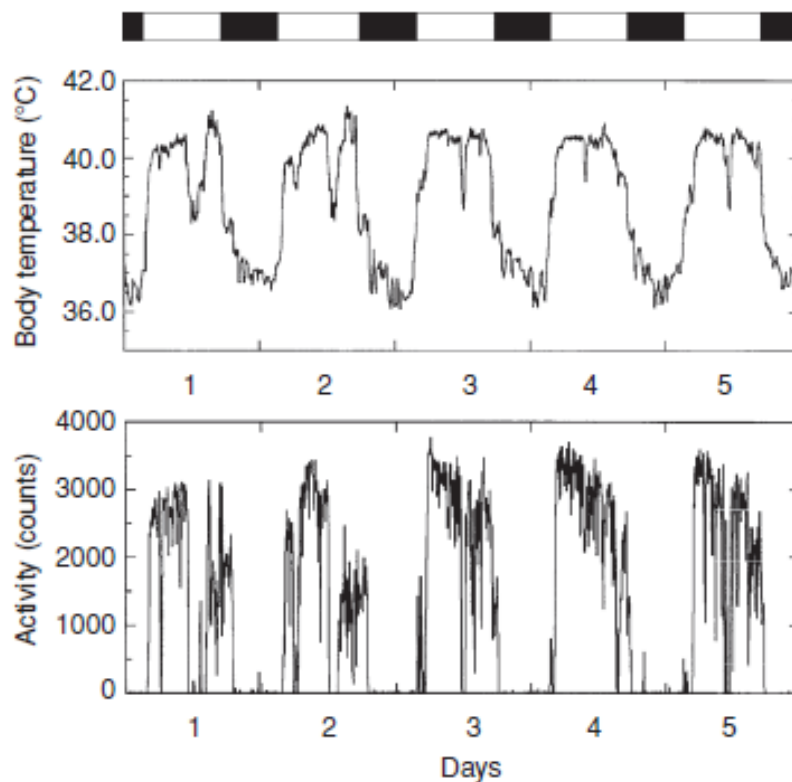


Рис. 3.2.1. П'ятиденні відрізки записів температури тіла та рухової активності (записані телеметрією з роздільною здатністю 6 хвилин) бурозубки деревної (*Tupaia belangeri*). Горизонтальні чорні та білі смуги показують тривалість темної та світлої фаз переважного циклу світло–темрява. Температура тіла та рівень активності вдень високі і низькі вночі. (Refinetti 2012).

Однак співвідношення між руховою активністю (поведінкою) та циклічними змінами фізіологічних функцій у різних видів різко відрізняється.

Найбільше виражена залежність між руховою активністю та станом вегетативних функцій у представників ряду кажанів (Chiroptera). Багато палеарктичних видів кажанів у період денного спокою (влітку в сезон активності) є пойкилотермними організмами з температурою тіла майже рівною температурі навколишнього середовища, що супроводжується низькою частотою пульсу, дихання та дуже низькою збудливістю окремих аналізаторів. При цьому така тварина не в змозі швидко реагувати на будь-які подразники. Для кажанів, котрі живуть у помірних широтах, характерна вечірня та нічна гомойотермія, а також ранкова і денна пойкилотермія.

Циркадні ритми можуть виникати і підтримуватися безпосередньо без періодичного впливу на організм факторів зовнішнього середовища. Так, якщо відокремити кажана від зграї і помістити в ізольовану камеру, то в години активності цієї зграї в печері у нього можна спостерігати явища розігрівання – калорифікації (зростання обміну речовин, частоти дихання, частоти пульсу, збільшення збудливості нервового та м'язового апарату).

Механізми фізіологічних циклів спрацьовують на всіх рівнях фізіологічної інтеграції – клітинному, органному, рівні усього організму. Загалом, клітинні ритми більше залежать від циклічних факторів довкілля, ніж ритми всього організму, особливо вищого.

Клітинні процеси часто відбуваються ритмічно. Такі явища, як синтез нуклеїнових кислот, об'єднання молекул РНК і білків у рибосоми, синтез білків на рибосомах повторюються у клітинах ритмічно. Є дані про добовий ритм синтезу деяких ферментів у крові. Доцільно припустити, що регулювання в часі біохімічних процесів проходить за участю зворотного зв'язку – нагромадження продуктів обміну веде до гальмування процесу.

Велике значення у формуванні біологічного годинника мають гормони. У комах, зокрема, велику роль відіграє нейросекреторна система, а саме підглотковий ганглії. Встановлено, що інерція добового ритму чорного таргана пов'язана з інерцією виділення нейросекрету. При цьому виділення гормону під

впливом темряви підтримує нічну активність і пов'язане з активністю багатьох ендокринних залоз, насамперед навколосерцевої.

Найбільше денна добова активність серед птахів виражена у представників горобцеподібних, а серед ссавців – у мавп і людини. Настільки ж яскраво виражена добова нічна активність, як уже зазначалось, у кажанів і нічних птахів.

У деяких тварин майже не вдається спостерігати добові зміни фізіологічних функцій (хижаки, собаки), у гризунів різко змінюється періодика рухової активності, але це не супроводжується значними змінами фізіологічних функцій, як у кажанів, мавпи, людини. Так, у дослідях на мавпах встановлено, що зміни добового режиму харчування й освітлення призводять до повної зміни добової кривої температури тіла, частоти дихання, рН сечі, не кажучи вже про рухову активність тварин.

Знання про особливості походження та впливу на організм добового ритму набули досить широкого практичного застосування в зоотехнії, прикладній фізіології та клініці. У більшості сільськогосподарських тварин (корів, коней, овець, кіз) добовий ритм забезпечує періодична зміна рухової активності. Добові зміни температури тіла, дихання, кровообігу цих тварин невеликі, хоча цілком достатні для того, щоб вплинути на продуктивність тварин (рис.3.2.2.).

Створення двофазового добового ритму через зміни режиму освітлення підвищує яйценосність у курей, збільшує відкладення жиру при відгодівлі свиней, підвищує молочну продуктивність великої рогатої худоби.

На сьогодні у людини відомо понад 100 проявів функціональної активності, для яких встановлені періодичні зміни. Нормальні добові ритми фізіологічних функцій здорової людини як у режимі спонтанної активності, так і в умовах спеціального біоритмологічного експерименту, досить повно досліджені. Протягом доби через потреби організму змінюється функціональний стан системи кровообігу, яка забезпечує окисно-відновний

баланс. Установлено, що частота серцевих скорочень, артеріальний тиск, об'єм плазми, хвилинний об'єм серця мають 24-годинний ритм.

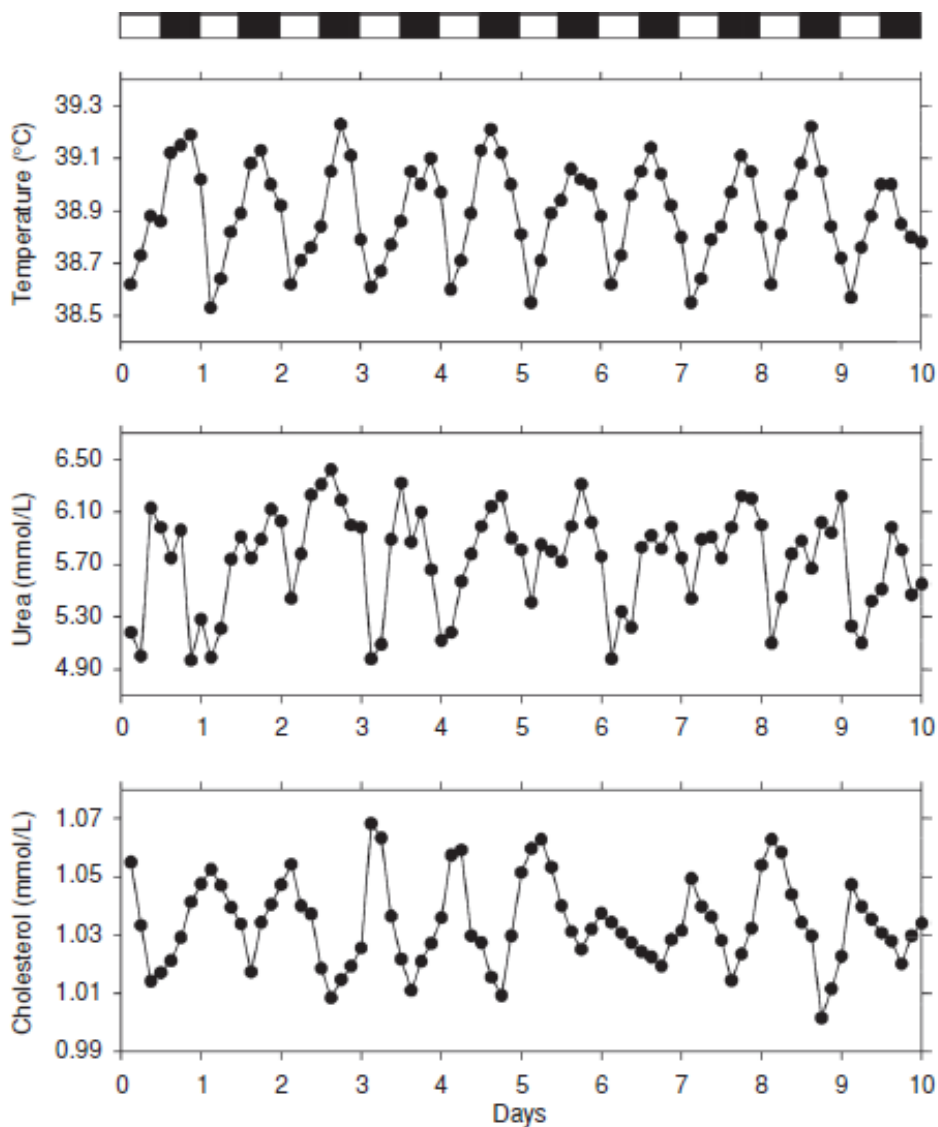


Рис. 3.2.2. Десятиденні сегменти одночасних записів ректальної температури, концентрації сечовини у плазмі та концентрації холестерину в плазмі самки кози (*Capra hircus*). Горизонтальні смуги вгорі вказують на час циклу світло-темрява. Зверніть увагу, що ритми ректальної температури та концентрації сечовини мають подібні фази (пік у середині ночі), але ритм концентрації холестерину має протилежну фазу (пік у середині дня) (Refinetti 2012).

Кровотворення в червоному кістковому мозку найінтенсивніше вранці, селезінка і лімфатичні вузли найактивніші о 17–20 годинах. Максимальна концентрація гемоглобіну в крові – від 11^{-0ї} до 13^{-0ї} години, мінімальні – уночі. Циркадну динаміку мають вміст електролітів сироватки крові, швидкість згортання крові, число еритроцитів і лейкоцитів. Артеріальний тиск, частота пульсу, систолічний і хвилинний об'єм серця досягають найбільших величин у вечірній час, мінімальні о 3-й годині, а потім дещо підвищуються до 7-ї години. Легеневі об'єми, життєва ємність легень, швидкість видиху та інші показники зовнішнього дихання підлягають циркадним коливанням, які синхронні до коливань активності. Частота дихання змінюється з періодом близько 6 годин, що свідчить про існування кількох осциляторів, які керують добовими ритмами легеневої вентиляції. Вночі, під час сну, підвищується парціальний тиск CO₂ в альвеолах, що спричинено зниженням легеневої вентиляції. Крива чутливості до CO₂ при цьому зміщується вправо, тобто поріг реакції дихання на CO₂ зростає. Згаданий ефект у дещо послабленому вигляді спостерігається тоді, коли людина вночі перебуває у стані бадьорості. Моторна і секреторна діяльність травного тракту натще і після стимулювання прийому їжі значно нижчі уночі, ніж удень. Установлена циркадіанна ритмічність резорбтивної активності травного тракту, травних і нетравних функцій печінки. Виявлено суттєві циркадіанні коливання концентрації гормонів у крові. Акрофаза для кортизолу і пролактину дорівнює 6^{-ї} годині ранку. В цей час спостерігається мінімальна концентрація тіреотропного гормону. Акрофаза для інсуліну дорівнює 12^{-ї} годині, для реніну і соматотропного гормону – вночі, тестостерону – вночі та вранці.

Велику зацікавленість виявляють зв'язки між температурою тіла (як маркером внутрішнього годинника) та когнітивними можливостями людини. Численні лабораторні дослідження продемонстрували добову (і іноді циркадіанну) ритмічність когнітивної діяльності людей (рис.3.2.3).

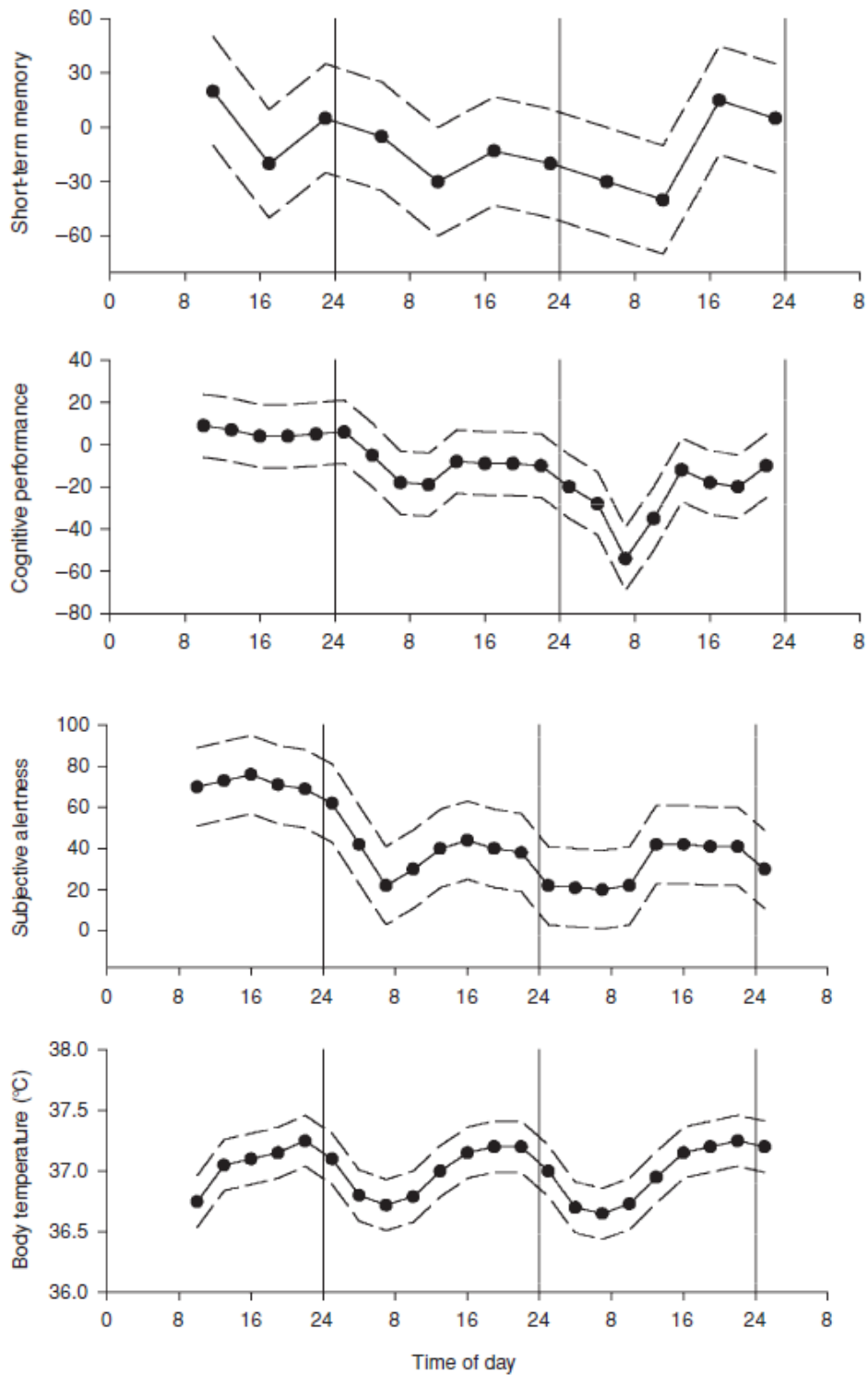


Рис. 3.2.3. Щоденна зміна трьох психологічних функцій (а також температури тіла) людей. Умови дослідження - безперервний постільний режим, прийом їжі в однакових інтервалах і заборона на сон - впродовж 60 годин поспіль. Точки даних є середніми значеннями ($\pm SE$) п'яти суб'єктів.

Ритм температури тіла дуже стійкий, але ритми психологічних функцій (особливо короткочасної пам'яті) досить повільні (Refinetti 2012).

Встановлено, що незалежно від складності завдання, розумова продуктивність найгірша рано-вранці та найкраща ввечері (рис.3.2.3.).

За звичайних умов існування ендогенна ритміка, близька до добової, синхронізується зовнішніми 24-годинними ритмами багатьох факторів довкілля. Останні і називаються синхронізаторами чи датчиками часу. У щоденному житті в різних людей ритміка синхронна: якщо дослідити велику групу людей, то виявиться, що одні і ті ж функції у всіх досягають максимуму приблизно в один і той самий час і мають деяку середню амплітуду.

Однак зміна зовнішніх умов помітно змінює параметри ритмів. Це відбувається, зокрема, в умовах перебування у відносній ізоляції від синхронізаторів, якщо немає даних про їх ритмічність (наприклад, про зміну дня і ночі). Якщо людина залишалася у печері кілька тижнів, не маючи годинника, власна ендогенна ритміка її організму не синхронізувалася зовнішніми подразниками. Виявилось, що «власна» доба триває не 24 години, а відрізняється від цього періоду на кілька десятків хвилин.

Біологічні ритми, як і будь-яка властивість організму, мають індивідуальні особливості, які стосуються різних аспектів організації циклічних процесів – амплітуди і фази біоритмів, їх часових взаємовідносин, стійкості до збуджувальних впливів. На сьогодні дослідники виділяють у людини 5 типів добових кривих для різних фізіологічних функцій, які відрізняються за розмахом коливань, максимумом, вираженістю ультрадіанних компонент. Різноманітність кривих добового ритму визначається, з одного боку, зовнішніми умовами, з іншого – внутрішніми властивостями організму – станом здоров'я, віком, конституційними особливостями.

Значну роль у добовому циклі відіграє кора головного мозку та відповідні відділи ЦНС, пов'язані з утворенням умовних рефлексів на певний період часу.

Це характерно для усіх вищих організмів, але тільки у мавп і людини періодичні зміни супроводжуються не лише руховою активністю судин, але й значними відхиленнями температури тіла, швидкості обміну речовин тощо. Однак ці зміни складнорефлекторні, оскільки вони охоплюють як умовні рефлекси на певний період часу, так і відображають безпосередній вплив режиму освітлення на збудливість гіпоталамічної ділянки.

Чимало поширення набула біоритмологічна класифікація, основана на індивідуальних відмінностях за фазами максимальної розумової та фізичної працездатності. Люди, які належать до ранкового типу («жайворонки»), надають перевагу праці у першій половині дня, їхні добові ритми, передусім температура тіла, мають максимуми, зміщені на більш ранні години щодо середньостатистичних значень. Люди, які належать до вечірнього типу («сови»), навпаки, працездатніші у другій половині дня, а також уночі. Максимум температурного ритму зміщений у них на більш пізні години.

Будова та функціонування водіїв циркадного ритму тварин

Для підтримання функціональних та поведінкових ритмів у постійній темряві відбувається експресія генів у невеликій кількості нейронів. У *D. melanogaster* ця нейронна пейсмерна мережа складається з ~150 нейронів, поділених на п'ять двосторонніх кластерів, які відповідно до їхнього розташування в мозку мухи були названі великими вентральними латеральними нейронами, малими вентральними латеральними нейронами, дорсальними латеральними нейронами, латеральними задніми нейронами і дорсальними нейронами. Не всі годинникові нейрони мають однакову функцію, і насправді існує поділ на нейрони, які відповідають за різні аспекти добових рухових ритмів. Крім того, нещодавні дослідження показали, що стійкий локомоторний ритм є комбінацією різних ритмів у різних кластерах годинникових нейронів, і що вибіркова активація або інактивація цих кластерів спричиняє передбачувані

зміни в патернах активності мух. Такі відмінності в ритмічності годинникових нейронів є функцією диференційованої експресії циркадіальних генів, а також диференційованого зв'язку з іншими годинниковими клітинами через нейромодулятори і через добове ремоделювання синаптичних зв'язків.

Виявлені окремі закономірності щодо регулювання процесів формування добових ритмів. У вищих тварин і в людини механізм відліку часу пов'язують із фізіологічною активністю гіпоталамуса. Встановлено, що вплив гіпоталамуса гуморально поширюється на кору наднирників, що приводить до добового циклу утворення кортикостероїдів.

Циркадна фізіологія ссавців базується на ієрархічній мережі центральних і периферичних осциляторів. Головний, центральний пейсмейкер розташований у супрахіазматичних ядрах (СХЯ) гіпоталамуса. Так, під час дослідів на щурах доведено, що порушення циркадних ритмів відбувається при пошкодженні певної ділянки гіпоталамуса – супрахіазматичні ядра (СХЯ), які отримують нервові імпульси від сітківки ока через нервовий шлях. У ссавців, тобто і в людини, ці ядра відповідають за циркадну ритмічність фізіологічних процесів. Крім того, окремі нейрони цих ядер спонтанно генерують електричні розряди в циркадному ритмі сну та бадьорості. В дослідях на мавпах встановлено, що пошкодження СХЯ порушує циркадну ритмічність прийому їжі, води, рухової активності, але зберігає добовий цикл температури тіла, який перебуває під контролем іншого пейсмейкера.

СХЯ здійснюють переважно нервову регуляцію циркадіанної системи, а гуморальний контроль цієї системи відбувається за участю гормону шишкоподібної залози (епіфізу) – мелатоніну. Основним джерелом мелатоніну у ссавців є епіфіз (рис. 3.2.4.). Вважається, що мелатонін активно секретується в темноті, а в світловий період доби – синтез даного гормону знижується, що відображає чітку добову ритмічність (рис. 3.2.5). Унаслідок експериментів з трансплантації супрахіазматичних ядер (СХЯ) гіпоталамуса доведено, що вони є центральним пейсмейкером добових ритмів у ссавців. Подальші дослідження

показали, що циркадіальний годинник автономний і здатний до самопідтримки не лише у СХЯ, але і в інших периферичних тканинах і навіть ізольованих

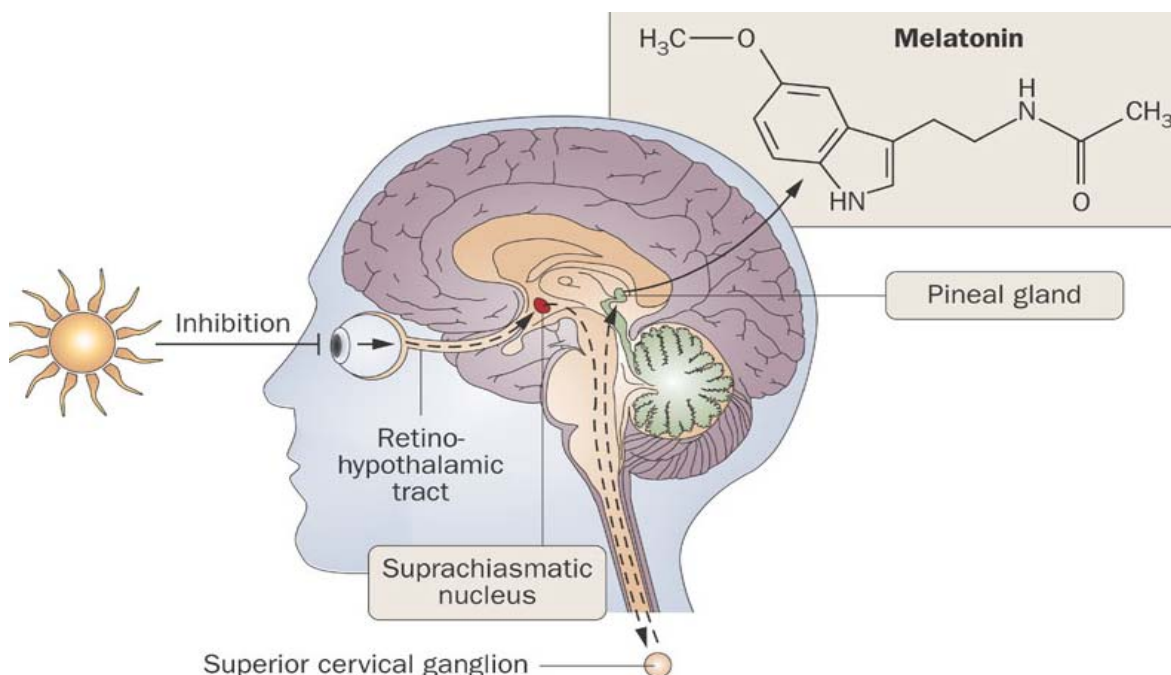


Рис..3.2.4. Схема інгібуючого впливу сонячного світла на синтез епіфізом мелатоніну (Konturek et al., 2007)

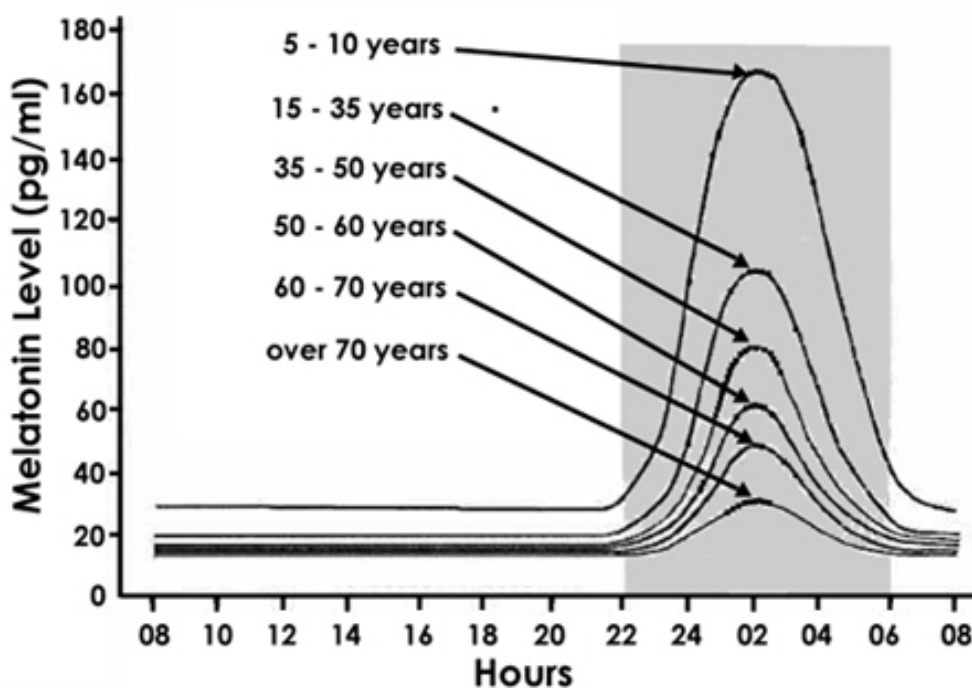


Рис. 3.2.5 Добова активність синтезу мелатоніну, залежно від віку людей (Karasek, M. 2004)

клітинах. Більшість головних компонентів молекулярного годинника зберігає свою ритмічність у СХЯ та у периферичних тканинах. Деякі елементи змінюють свої ритмічні властивості залежно від тканин. Наприклад, рівень мРНК Clock циклічно змінюється у периферичних тканинах, а у СХЯ Clock експресується постійно.

У досліджах на тваринах і у спостереженнях на людях помічено, що одні фізіологічні функції змінюються синхронно і їхня ритмічність втрачається спільно, а інші функції при цьому зберігають ритмічність (наприклад, неодноразово порушуються ритми температури тіла, сну). Вважають, що в організмі людей є периферичні пейсмейкери, що задають ритм функцій. Головний (центральный) водій циркадного ритму складається з набору нейронів і гліальних клітин в головному мозку, необхідних для приєднання до зовнішніх таймерів і передачі часової інформації до периферійних годинників, розташованих в інших ділянках мозку або в усьому тілі (рис.3.2.6.). Те, наскільки центральний пейсмейкер необхідний для циркадної ритмічності різних клітин, тканин, фізіологічних функцій і поведінки, залежить від тканин і виду тварин. Міжклітинний зв'язок між нейронами СХЯ відрізняє СХЯ від периферичних осциляторів і допомагає йому підтримувати стабільний циркадний ритм практично нескінченно довго без згасання.. Анатомічно і функціонально СХЯ можна поділити на ядро і оболонку, які відрізняються за своїми нейропептидними профілями, еферентними проєкціями і здатністю підтримувати міжклітинну синхронізацію. Циркадна активність у СХЯ триває дуже стереотипно, з прогресуючими відмінностями у фазі та амплітуді, що нагадує припливну хвилю. Нейрони СХЯ демонструють виражені циркадні ритми у мембранному потенціалі та швидкості спонтанного збудження, які безпосередньо впливають на циркадну поведінку. Крім того, встановлено, що циркадні ритми в постійних астроцитах СХЯ достатні, хоча і не обов'язкові,

для модуляції циркадної поведінки і навіть можуть впливати на циркадну поведінку і надавати коливань нециркадним нейронам СХЯ.

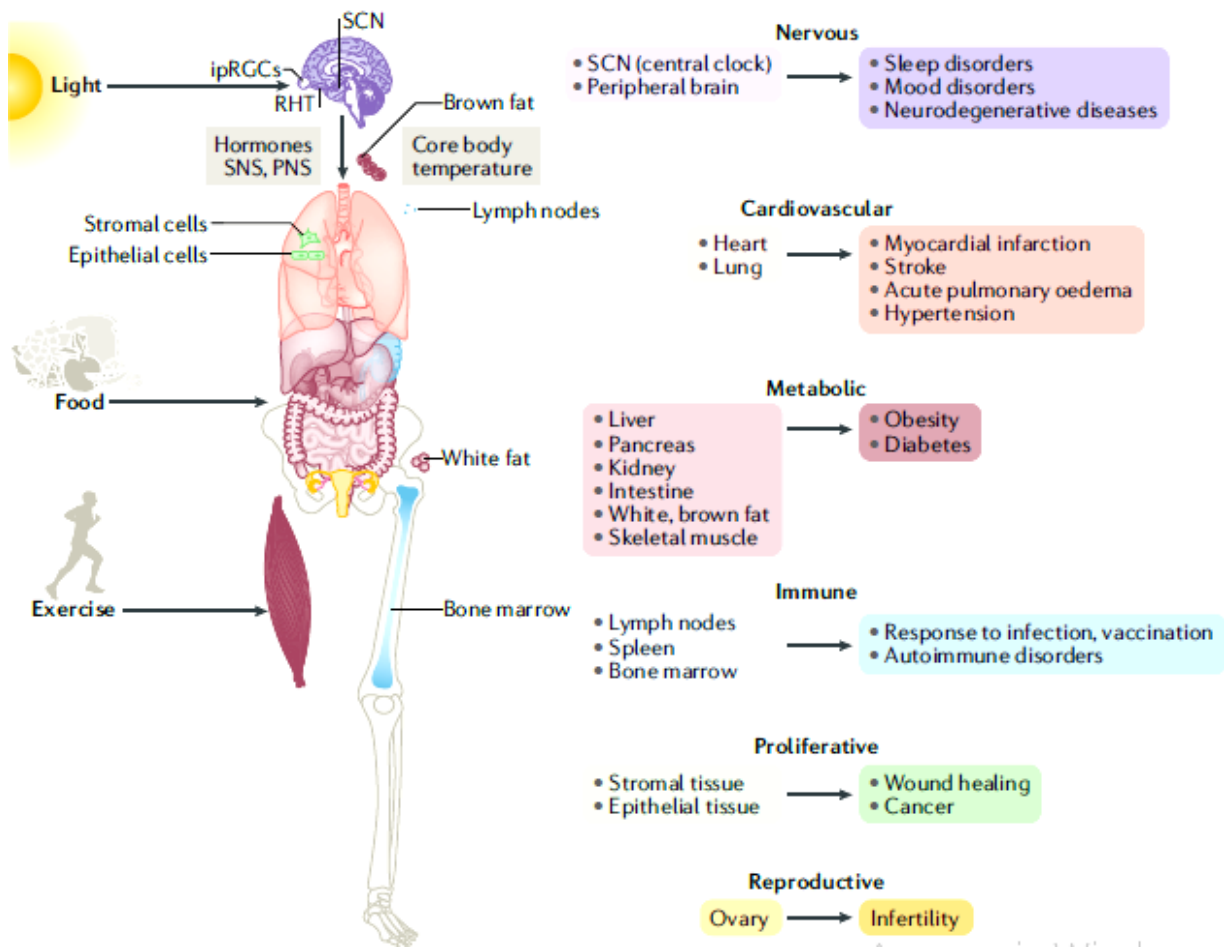


Рисунок 3.2.6. Центральний годинник та окремі периферичні годинники у людини. Центральний циркадний водій ритму розташований у супрахіазматичному ядрі (SCN); він отримує інформацію про час доби від світла, виявленого світлочутливими гангліозними клітинами сітківки (ipRGC) і передається через ретиногіпоталамічний тракт (RHT). Внутрішні уявлення про час доби передаються решті тіла через гормони, симпатичну нервову систему (SNS), парасимпатичну нервову систему (PNS) і основну температуру тіла. Крім того, фаза окремих периферичних біологічних годинників, які сприяють метаболічному гомеостазу, встановлюється часом фізичних вправ та прийому їжі. Фізіологічні ділянки з добовою ритмічністю виділяються кольором; для кожного домену показано репрезентативні органи, в яких працюють локальні циркадні осцилятори, разом із вибраними

патофізіологічними змінами, пов'язаними з циркадною дисфункцією (Patke et al., 2020).

Отже, нормальна пейсмеркерна функція в інтактному СХЯ є результатом взаємодії нейронної мережі з локальними позанейронними пейсмеркерами.

Для багатьох прозорих і напівпрозорих організмів (від бактерій до рибоданію) світло може безпосередньо впливати на ритми кожної клітини. Однак у вищих хребетних ця синхронізація є ієрархічним процесом. Головний годинник – супрахіазматичне ядро (СХЯ) гіпоталамуса у ссавців – передає інформацію про час більшості клітин тіла за допомогою ряду прямих і непрямих сигналів (температура тіла, час годування та циркулюючі гормони, такі як глюкокортикоїди) (рис.3.2.6). Саме СХЯ синхронізується з циклами світло-темрява через ретино-гіпоталамічний шлях у суто окулярному механізмі, що включає кілька фоторецепторів, гангліозні клітини сітківки.. Нарешті, сукупність генів у деяких периферичних тканинах може обходити цю ієрархічну сигналізацію та безпосередньо реагувати на гостру світлову стимуляцію, що передається через парасимпатичну нервову систему. Синхронізація центральних і периферичних годинників координується нервовою системою, гормонами і температурою тіла (рис.3.2.7.).

Кожна клітина має клітинний автономний циркадний генеруючий пристрій, ці осцилятори повинні бути синхронізовані зі світлом зовнішнього світу. У нижчих організмів цей процес відбувається незалежно в кожній тканині. У вищих хребетних, периферичні осцилятори синхронізуються центральним годинником, який сам залежить від світла. На сьогодні периферичні пейсмеркери описані в печінці, легенях, нирках, серці, скелетних м'язах, жировій тканині та багатьох інших тканинах. Помітним винятком є ембріональні стовбурові клітини та індуковані плюрипотентні стовбурові клітини, які не демонструють функціонального молекулярного годинникового циклу, хоча спостерігаються циркадні ритми в утилізації глюкози.

Існує багато доказів того, що периферичний годинник у різних органах має важливе значення для їхнього функціонування.

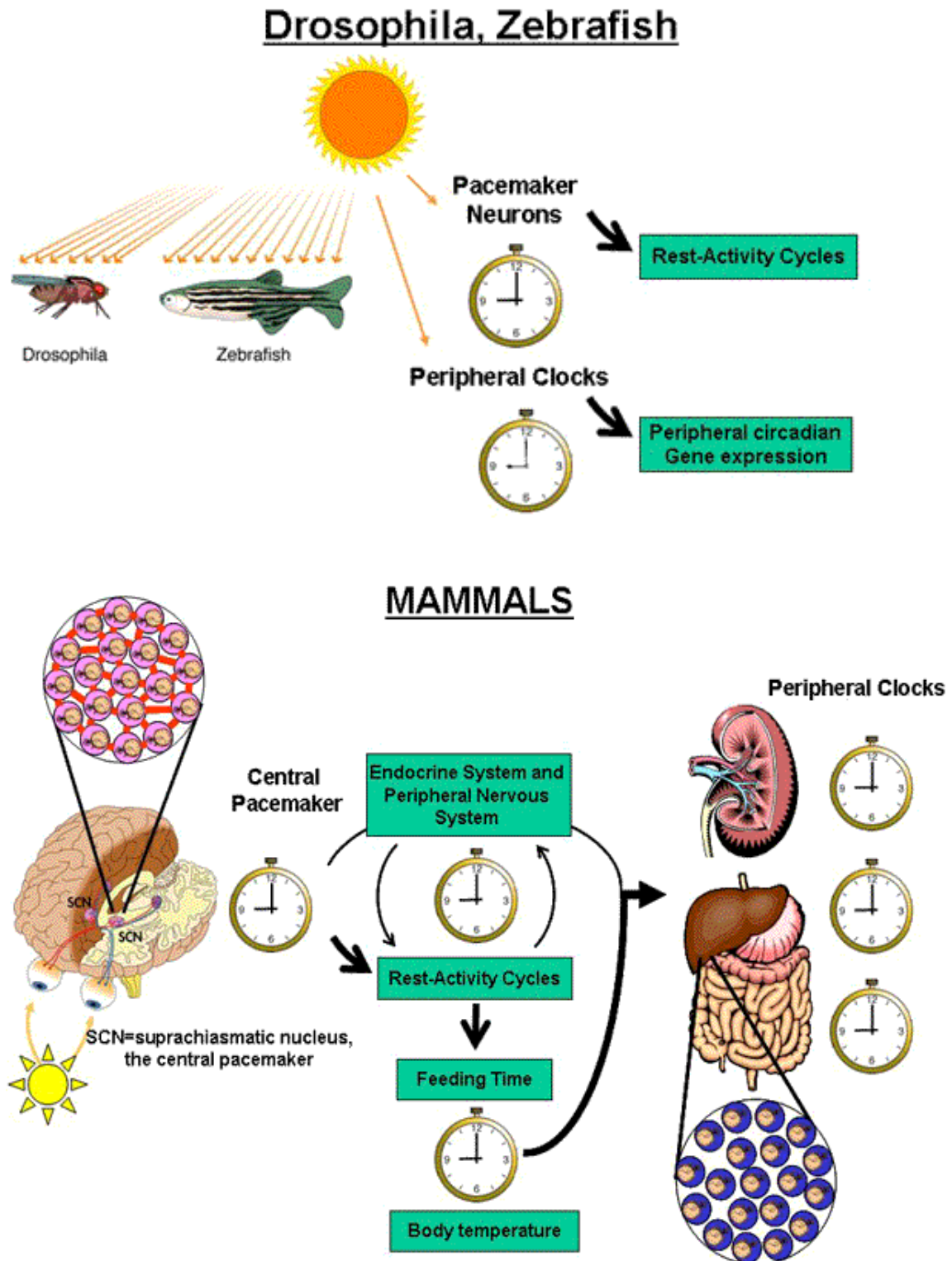


Рис. 3.2.7 Ієрархічна організація циркадних годинників у тварин.

(<https://www.pharma.uzh.ch/en/research/Human-Sleep-Psychopharmacology-Laboratory/areas/chronobiology/introduction0/inanimals.html>)

До прикладів необхідності периферичного годинника у ссавців належать: контроль гомеостазу глюкози за допомогою пейсмеркерів печінки та підшлункової залози; овуляцію за допомогою пейсмеркерів яєчників; загоєння ран за допомогою пейсмеркерів шкіри; витрати енергії за допомогою пейсмеркерів вентромедіального гіпоталамуса. Природа, кількість і фаза ритмічно експресованих генів є тканинно-специфічні у мишей, приматів і людини. Це можна пояснити специфічними потребами органів у циркадній продуктивності. Наприклад, у серці циклічна експресія іонних каналів і метаболічних ферментів забезпечує добові коливання електричних властивостей і метаболізму серця, які відповідають добовим коливанням потреби в енергії та доступності поживних речовин. У шкірі циркадна експресія генів клітинного циклу та репарації ДНК опосередковує ритмічну проліферацію та чутливість до ультрафіолетового пошкодження ДНК, тоді як у нирках циркадні коливання швидкості клубочкової фільтрації та екскреції йонів збігаються з ритмічною експресією мембранних транспортерів (рис.3.2.6.).

Отже, щоб пристосуватися до щоденних повторюваних змін навколишнього середовища, тварини демонструють циклічні варіації в поведінці та фізіології, які мають помітні поведінкові стани, такі як цикли сну та неспання, а також низка менш помітних коливань у неврологічних, метаболічних, ендокринних, серцево-судинних та імунних функціях. Циркадна ритмічність створюється ендогенно генетично закодованими молекулярними годинниками, компоненти яких співпрацюють, щоб генерувати циклічні зміни у власній кількості та активності з періодичністю приблизно день. По всьому тілу такі молекулярні годинники передають тимчасовий контроль над функціями органів і тканин, регулюючи відповідні наступні програми. Синхронність між різними циркадними осциляторами та резонанс із сонячним

днем переважно забезпечується нейронним стимулятором ритму, який безпосередньо реагує на певні сигнали навколишнього середовища та здатний передавати внутрішні уявлення про час доби всьому тілу (рис.3.2.7.).

Молекулярно-генетична регуляція циркадних ритмів

Циркадний годинник – це група взаємопов’язаних генів, які кодують синтез важливих факторів регуляції транскрипції великої групи генів, які називають циркадіальними (Per1, Per2, Per3, Clock, Bmal1, Cry тощо). У хребетних циркадіальний годинник на молекулярному рівні характеризується системою саморегуляційних, транскрипційних та трансляційних зворотніх зв’язків. Отже, у тварин в основі молекулярного циркадного годинника лежить петля із зворотним транскрипційно-трансляційним зв’язком (TTFL), яка охоплює приблизно 24 години.

Функціонування циркадіального годинника контролюється низкою протеїназ та фосфатаз, активність яких залежить від багатьох факторів. У різних організмів виявлено індивідуальні особливості експресії циркадіальних генів, котрі відповідають різним типам циркадіальних ритмів. Зокрема, на лімфоцитах крові виявлене існування різних хронотипів експресії циркадіальних генів у людей. Крім того, встановлено, що циркадіальний характер регуляції процесів життєдіяльності зумовлений відповідним коливанням експресії генів циркадіального годинника.

Доведено, що у багатьох захворюваннях мають місце порушення у регуляції генів, які можуть бути причетними також і до виникнення та прогресії злоякісних пухлин. Виявлена залежність експресії низки циркадіальних генів від гіпоксії, що також значною мірою може призводити до змін у функції цих генів та сприяти прогресії більшості пухлин.

Експресія циркадіальних генів та функція білкових факторів, які кодуються ними, контролюється протеїназами, зокрема казеїназою-1ε, яка також бере участь у регуляції низки інших процесів. Крім того, для

циркадальних факторів у ссавців характерне явище зворотнього зв'язку у механізмах регуляції, що надзвичайно важливо для точної і чіткої роботи циркадального годинника. Встановлено, що сон і циркадальні ритми мають сильний вплив на енергетичний обмін, а їхнє порушення – важливий компонент механізмів поширення епідемій ожиріння та цукрового діабету. Система циркадального годинника відіграє фундаментальну роль в енергетичному обміні як на функціональному, так і на молекулярному рівнях.

Молекулярні механізми добової ритміки, котрі базуються на системі саморегуляторних транскрипційних, пост-транскрипційних та трансляційних і пост-трансляційних зворотних зв'язків, мають як позитивні, так і негативні елементи. Комплекси з двох позитивних елементів, які є транскрипційними факторами, активують транскрипцію генів негативних елементів. До позитивних елементів належать White Collar-1 і 2 (WC-1 і WC-2) у *Neurospora crassa*, dClock і Cycle у *Drosophila melanogaster* та Clock і Bmal1 у ссавців.

Гетеродимерний комплекс dClock – Cycle причетний до стимуляції генів *per* та *tim*. Він зв'язується зі специфічною ділянкою ДНК і забезпечує дерепресію цих генів. Біохімічні та генетичні дослідження показали, що два інгібітори транскрипції, Period (PER) і Timeless (TIM), фізично асоціюються і транслокуються у ядро, де пригнічують транскрипцію власних генів, інгібуючи експресію пари активаторів транскрипції, Clock (CLK) і Cycle (CYC) (рис.3.2.8.).

CLK і CYC конститутивно накопичуються в ядрі і утворюють гетеродимер, який зв'язується з Ebox-вмісними енансерами перед промоторами *per* і *tim*. Рівні мРНК *per* і *tim* досягають піку наприкінці дня, тоді як рівень їхніх білків найвищий у другій половині ночі (рис.3.2.8.). Коли PER і TIM накопичуються в ядрі, вони дедалі більше пригнічують функцію CLK-CYC. Світлозалежна деградація TIM відбувається протягом дня за рахунок активності фоторецепторного білка криптохрому (CRY) та E3 убіквітинлігази Jetlag (JET), яка також деградує білок CRY. За відсутності TIM, PER

дестабілізується Doubletime (DBT), який у мухи є ортологом калікреїнкінази ссавців 1 (CK1) δ та ϵ , а також E3 убіквітинлігазою позасистемного органу (SLIMB); одночасна втрата PER та TIM перезапускає циркадний цикл (рис.3.2.9.).

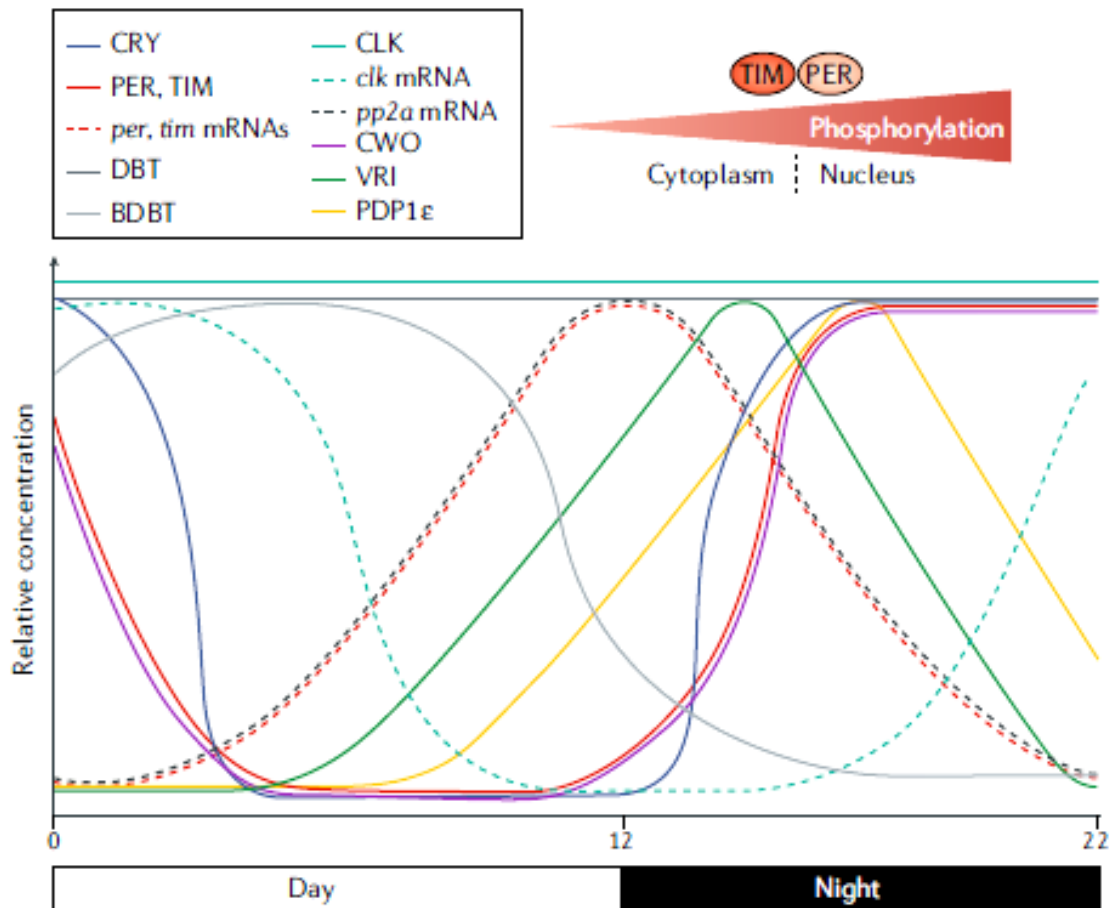


Рис. 3.2.8 Коливання експресії генів циркадного годинника впродовж циклу день – ніч. Показано приблизні відносні концентрації основних факторів циркадного годинника: мРНК позначено пунктирними кривими, а білки — суцільними кривими. Верхня панель: фосфорилювання цитоплазматичних білків *Period* (PER) і *Timeless* (TIM) збільшується протягом ночі, сприяючи їх накопиченню в ядрах, найвищому у другій половині ночі. BDBT, *Bride of Doubletime*; CLK, *Clock*; CRY, *Cryptochrome*; CWO, *Clockwork orange*; CYC, *Cycle*; DBT, *Doubletime*; PDP1 ϵ , білок домену PAR 1 ϵ ; pp2a, білок фосфатаза 2A; VRI, *Vrille*. (Patke et al., 2020).

Транскрипційний фактор Clock дуже важливий компонент молекулярного циркадіального годинника, який відіграє кардинальну роль в енергетичному балансі ссавців.

Встановлено, що експресія гена Clock не регулюється жодним із протеїнів циркадіального годинника, саме тому білок Clock очевидно виконує пасивну роль у генерації добових ритмів, проте він є невід'ємним елементом біологічного годинника. Крім того, виявлено, що гомозиготні нокаутні за геном Clock миші мають послаблений ритм денного харчування. Для них характерне також ожиріння та метаболічний синдром. Крім того, у таких мишей знижується експресія мРНК деяких гіпоталамічних пептидів, які відповідають за енергетичний баланс.

Підтвердженням того, що білки PER і TIM мають стимулювальний ефект через d-CLOCK на експресію генів *per* і *tim*, доведено на культурі клітин. Причому білки PER і TIM накопичуються в цитоплазмі, взаємодіють з d-CLOCK і/або d-CLOCK-вмісним комплексом тільки в темний час доби. Вони надходять до ядра в середині ночі і гальмують ефект впливу d-CLOCK на експресію генів *per* і *tim*. У ссавців білок Bmal1 також виступає негативним регулятором власної експресії. Мутації у гені *clock* призводять до надзвичайно довгого циркадіального періоду у постійній темряві (DD). Ссавці мають білки *Per1*, *Per2*, *Per3*, *Cry1* і *Cry2*, які проявляють стійкі циркадіальні осциляції рівня мРНК і білка, пік яких припадає на середину світлового періоду доби (рис.3.2.9.).

Вони здатні інгібувати транскрипцію власних генів, впливаючи через Clock:Bmal1 гетеродимер, і є негативними елементами у системі зворотних зв'язків циркадіального годинника. У роботі циркадіального годинника бере участь і низка фосфатаз, які дефосфорилують попередньо фосфорильовані кіназами білки. Баланс активностей між кіназами і фосфатазами визначає стабільність регуляторних елементів циркадіального годинника.

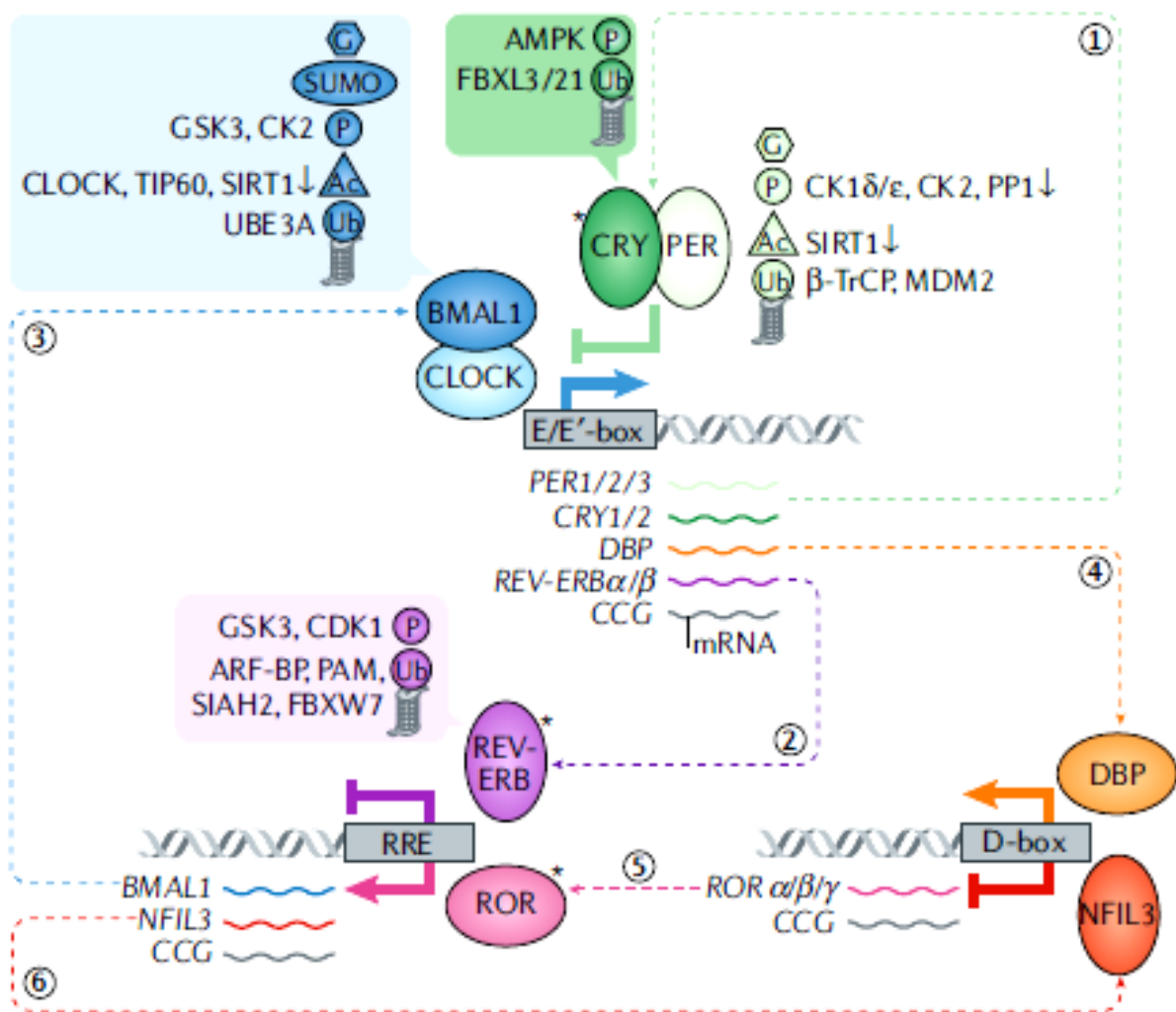


Рис. 3.2.9. Молекулярно-генетичний циркадний годинник ссавців. Циркадний осцилятор формується взаємопов'язаними петлями транскрипційно-трансляційного зворотного зв'язку. У головній петлі транскрипційні фактори *CLOCK-BMAL1* індукують експресію власних негативних регуляторів – білків *Period (PER)* і *Cryptochrome (CRY)* (крок 1). Пригнічуючи транскрипційну активність *CLOCK-BMAL1*, *PER* і *CRY* пригнічують власну експресію. Після того, як рівні *PER* і *CRY* достатньо знизяться, може розпочатися новий цикл транскрипції *CLOCK-BMAL1*. *CLOCK-BMAL1* також індукуює експресію ядерних рецепторів *REV-ERB α* і *REV-ERB β* (*REV-ERB α/β*) (крок 2), які протистоять експресії ретиноїд-споріднених орфанних рецепторів α , β і γ (*ROR $\alpha/\beta/\gamma$*), опосередкованих *BMAL1* (крок 3), і експресію білка, що зв'язує *D*-бокс (*DBP*) (крок 4), який активує транскрипцію

генів, котрі містять D-бокс, зокрема і генів, які містять ROR $\alpha/\beta/\gamma$ (крок 5). D-бокс-залежна транскрипція інгібується NFIL3, який сам є геном-мішенню REV-ERB і ROR (крок 6). Всі петлі також контролюють експресію генів, контрольованих роботою циркадних регуляторів (clock-controlled genes, CCG), які опосередковують циркадний ритм. Вибрані фактори, які опосередковують посттрансляційні модифікації та деградацію специфічних білків годинника, показані відповідними кольорами. Стрілки, спрямовані вниз, вказують на видалення, а не додавання посттрансляційної модифікації відповідним фактором. Мішені низькомолекулярних модуляторів, які досліджуються для лікування розладів сну, настрою та метаболізму, позначені зірочкою. Для наочності на схемі не показано перенесення факторів циркадального ритму між цитоплазмою та ядром, що є головним етапом регуляції, а також додаткові регуляторні елементи ДНК, які сприяють точному визначенню фази експресії генів ритму. Для спрощення замість офіційних назв генів ARNTL, NR1D1 і NR1D2 використовуються BMAL1, REV-ERB α і REV-ERB β , відповідно. Ac – ацетилювання; AMPK – AMP-активована протеїнкіназа; ARF – BP1, також відомий як HUWE1; BMAL1, також відомий як ARNTL; CDK1 – циклінзалежна кіназа 1; CK1 – казеїнкіназа 1; CK2 – казеїнкіназа 2; E/E' – E/E'-бокс; G – додавання O-зв'язаного β -d-N-ацетилглюкозаміну; GSK3 – кіназа глікогенсинтетази 3; P – фосфорилювання; PAM, також відомий як MYCBP2; PPI – протеїнфосфатаза 1; RRE – елемент відповіді REV-ERB/ROR; SIRT1 – сиртуїн 1; SUMO – сумоїлювання; β -TrCP, також відомий як F-бокс/WD-повтор, який містить білок 1A; Ub – убіквітілювання. (Patke et al., 2020).

Помітною відмінністю між циркадальним годинником *D. melanogaster* та годинником ссавців є роль білків CRY. Тоді як CRY мухи (dCRY) не є компонентом ядра TTFL, але входить до його складу через світлозалежний контроль стабільності TIM, білки CRY ссавців перебрали на себе роль TIM і діють як основний транскрипційний репресор CLOCK-BMAL1 (рис.3.2.9.).

Основною функцією найближчого гомолога TIM ссавців є захист реплікативних вилок, які зупинилися. Оскільки TIM ссавців може взаємодіяти з білками CRY ссавців, а його відсутність змінює циркадний період, TIM також відіграє сталу роль у регуляції циркадного годинника ссавців. На стабільність CRY1 і CRY2 також може впливати фосфорилювання (рис.3.2.9.). Та, на відміну від білків PER, фосфорилювання CRY за допомогою AMP-активованої протеїнкінази (AMPK) не є частиною складної багатосайтової послідовності фосфорилювання. Фосфорилювані CRY1 і CRY2 стають мішенню для E3 убіквітинлігаз FBXL3 і FBXL21, а таргетування комплексу CRY1-FBXL3 до протеасоми відбувається за допомогою JMJD5. Тривалість циркадного періоду при генетичних або фармакологічних маніпуляціях тісно пов'язана з кількістю білків CRY, хоча додаткові особливості білків CRY, такі як карбокситермінальний хвіст, також можуть його моделювати.

Характерною особливістю циркадіального годинника є його здатність реагувати на чинники зовнішнього середовища. Механізми сприйняття світла молекулярним годинником можуть суттєво відрізнятись у різних видів організмів. У дрізофіли фоторецепторною молекулою циркадіального годинника виступає білок Cry. Одним із компонентів циркадіального годинника ссавців, який відповідає на світловий вплив, є білок BMal1. Пік його накопичення припадає на середину ночі. Він досить швидко деградує під дією світлової стимуляції.

Характеристика сезонних змін поведінки та метаболічних стратегій

Сезонні періодичні зміни характерні для усіх живих організмів, котрі мають тривалий життєвий цикл. У таких організмах спостерігаються глибокі зрушення під впливом багатьох факторів, зокрема зовнішніх, таких як: температура довкілля, режим сонячного опромінення, раціон харчування, та внутрішніх – періодичні зміни активності ендокринних залоз, насамперед

пов'язаних із розмноженням тварин. У формуванні сезонних циклів велике значення мають зміни у функціях статевих залоз, щитоподібної залози тощо.

Сезонні зміни в організмі охоплюють також реакції поведінки тварин. Вони полягають або у явищах міграцій і кочівель, або у явищах зимової та літньої сплячки, або, нарешті, у різноманітній діяльності під час риття нір і будівлі схованок. Існує пряма залежність між глибиною нір деяких гризунів і зимовим зниженням температури.

Величезне значення для сумарної добової активності тварини має режим освітлення. Найбільші зміни в організмі протягом сезонів стосуються системи крові, загального обміну речовин, терморегуляції та частково – травлення. Виняткове значення для бореальних організмів має нагромадження жиру як енергетичного запасу, який витрачається на підтримку температури тіла і м'язову діяльність.

Зіставлення сезонних змін хімічної терморегуляції та біологічного циклу тварин показало, що сезонні зміни виражені слабко як у зимосплячих видів, так і у видів, котрі проводять зиму в глибоких норах і мало піддаються впливу низької температури зовнішнього повітря (наприклад, велика піщанка).

Коли сезонні температури знижуються, а ресурси їжі обмежені кілька видів ссавців здатні знижувати свою внутрішню температуру (ставати гетеротермними) і впадати в сплячку. Сплячі тварини розвинули метаболічні стратегії для збереження енергії та зниження внутрішньої температури тіла, щоб увійти в енергозберігаючий торпідний стан, який викликає метаболічні репресії та перехід від вуглеводного до ліпідного катаболізму. Менші ссавці, які впадають у сплячку, включно з ховраками і кажанами, можуть різко знизити температуру свого тіла, близьку до умов довкілля, під час тривалого заціпеніння, тоді як великі ссавці, такі як чорні ведмеді, лише помірно знижують температуру свого тіла до 30–36 °С. Під час заціпеніння за відсутності годування запаси ліпідів стають основним джерелом енергії через метаболічний перехід у бік утилізації ліпідів. Тварини перед початком сплячки

накопичують велику кількість ліпідів у своїй білій жировій тканині, проходячи через період гіперфагії, що призводить до значного збільшення ваги в кінці літнього сезону. Зміни у використанні палива для катаболізації запасів тригліцеридів під час заціпеніння, ймовірно, опосередковуються рецепторами ядерних гормонів.

Одним із головних ядерних гормональних рецепторів, які контролюють метаболічне перепрограмування ліпідів, є рецептор альфа, активований проліфератором пероксисом (PPAR α – peroxisome proliferator-activated receptor α). PPAR α може сприяти зсуву використання джерела енергії з глюкози та жирних кислот у нормальних метаболічних умовах до переважно жирних кислот під час сплячки, що нагадує метаболічні зміни, подібні до голодування. Ключовим регулятором для зміни вибору палива з глюкози на жир є піруватдегідрогеназна кіназа 4 (PDK4). PDK4 є мішенню PPAR α і регулюється у зимових ховрахів транскрипційно (рис. 3.2.10.). PDK4 фосфорилує та пригнічує активність піруватдегідрогенази, у такий спосіб сприяє переходу від окислення глюкози до окислення жирних кислот. Метаболічна перебудова, опосередкована PDK4, супроводжується посиленням β -окислення жирних кислот під час сплячки. Кілька генів, які кодують ферменти для пероксисомального та мітохондріального β -окислення, транскрипційно регулюються в торпідному стані. Збільшення катаболізму ліпідів значною мірою опосередковується PPAR α , оскільки PPAR α транскрипційно контролює майже всі ферменти, задіяні в мітохондріальному поглинанні та окислювальному розпаді жирних кислот, і, отже, може стати важливим регулятором торпідного метаболізму ліпідів (рис. 3.2.10). PPAR α , а також PPAR γ , який є іншим членом підродини рецепторів ядерного гормону PPAR, індукуються під час сплячки разом із їхнім спільним коактиватором PGC-1 α (PPAR γ coactivator-1 α). Рецептори ядерного гормону (NHR) зазвичай асоціюються з коактиваторами та корепресорами.

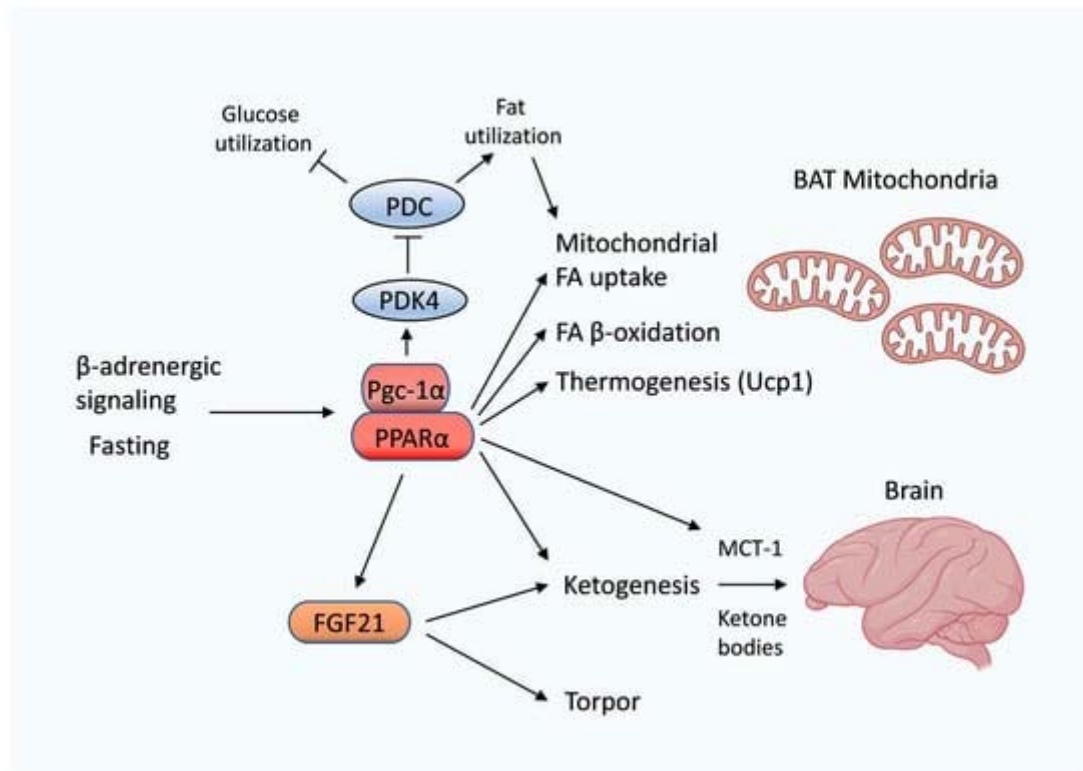


Рисунок 3.2.10. PPARα індукує метаболічний зсув у бік окислення ліпідів і кетогенезу у тварин, які перебувають у сплячці. PPARα сприяє катаболізму ліпідів через транскрипційну активацію піруватдегідрогеназної кінази 4 (PDK4), яка інгібує піруватдегідрогеназний комплекс (PDC). Пригнічення PDC комплексу регулює вибір пального від глюкози до окислення жирних кислот. PPARα реагує на голодування та β-адренергічні сигнали та активує поглинання жирних кислот (ЖК) у мітохондріях, катаболізм ЖК та опосередкований Ucp1 термогенез. Крім того, PPARα індукує фактор росту фібробластів 21 (FGF21) для сприяння кетогенезу та торпору. Вміст кетонових тіл під час заціпеніння підвищується. Вони є важливим джерелом енергії, переважно для мозку. PPARα безпосередньо контролює утворення кетонових тіл і їх транспорт через гематоенцефалічний бар'єр за допомогою регуляції монокарбоксилатного транспортера 1 (MCT-1). БАТ, бура жирова тканина; Pgc-1α, коактиватор PPARγ-1α; PPARα, рецептор-α, який активується проліфератором пероксисом; Ucp1, роз'єднувальний білок-1. (Wu et al., 2023)

Після стимуляції NHR корепресори замінюються активаторами транскрипції, які ініціюють експресію генів NHR. PGC-1 α є транскрипційним коактиватором, який індукується холодом, і активує PPAR α для сприяння адаптивному термогенезу та окисленню жирних кислот. Крім того, PPAR α індукує експресію ключового регулятора торпору, а саме фактора росту фібробластів 21 (FGF21). FGF21 функціонує як ендокринний гормон, стимулюючи заціпеніння та знижуючи температуру тіла у мишей під час голоду. FGF21 має важливий вплив на метаболізм під час голодування та заціпеніння, оскільки він сприяє кетогенезу (рис. 3.2.10.).

Кетогенез – це метаболічний процес, який каталізує утворення кетонових тіл, які в основному утворюються через розщеплення жирних кислот у печінці. Концентрації кетонових тіл у крові та тканинах значно підвищуються під час заціпеніння у різних видів тварин і служать альтернативним джерелом енергії для організму тварин, які тривалий час голодують. Оскільки під час голодування або заціпеніння рівень глюкози обмежений, кетонові тіла є важливим джерелом енергії, особливо для мозку, який погано використовує жирні кислоти як паливо. PPAR α контролює як утворення кетонових тіл, так і їхній транспорт під час голодування та сплячки. Під час сплячки активізується мітохондріальний фермент – гідроксиметилглутарил коензим А-синтаза 2 (Hmgcs2), яка обмежує швидкість синтезу кетонових тіл. *Hmgcs2* є мішенню для PPAR α і може бути індукований при голодуванні або за допомогою агоністів PPAR α разом із додатковими ферментами для кетогенезу. Кетонові тіла виробляються в печінці і поширюються в різні тканини через систему кровообігу. Монокарбоксилатні транспортери (МСТ) полегшують транспорт кетонових тіл та інших монокарбонових кислот через біологічні мембрани. PPAR α також здатний сприяти поглинанню кетонів у тканинах через активізацію їх транспортера МСТ-1 (рис. 3.2.10.). Дослідження ховрахів, які перебувають у сплячці показали, що кетон D- β -гідроксибутират (ВНВ) є найкращим енергетичним субстратом для сплячого мозку, який зазвичай

сильно залежить від глюкози. Під час сплячки глюкоза є відносно обмеженим метаболічним «пальним». В умовах голодування та заціпеніння основним джерелом вуглецю для глюконеогенезу є амінокислоти. Отже, перехід під час сплячки від утилізації глюкози до утилізації кетонових тіл, отриманих із жиру, захищає білки від значного пошкодження. Крім того, метаболічний зсув від катаболізму глюкози до кетонів у стані сну обмежує в мозку синтез молочної кислоти. Вуглець із кетонів, таких як ВНВ, вступає у цикл трикарбонової кислоти (ТСА) без утворення молочної кислоти. Це може захистити тканини від пошкодження лактатним ацидозом у періоди зниження кровотоку у тварин, які перебувають у сплячці.

Отже, сезонні зміни терморегуляції зводяться в основному до зростання теплоізоляції узимку, зниження інтенсивності реакції обміну речовин (хімічної терморегуляції), змін метаболізму до зсуву критичної точки в зону нижчих температур середовища.

За сезонами року значно змінюється кровотворна функція організму. Прикладами таких змін є спостереження за людьми, які живуть та працюють Арктиці. Так, навесні спостерігається суттєве збільшення кількості еритроцитів і гемоглобіну (Hb) крові, що пов'язано із переходом від полярної ночі до полярного дня, тобто зі змінами інсоляції. У багатьох гризунів, наприклад у піщанок, у літній період вміст еритроцитів знижується, а у весняний і осінній періоди – підвищується.

Найбільше значення в підтримці сезонного ритму мають гормональні зрушення, що є як самостійними циклами ендогенного походження, так і пов'язані зі впливом найважливішого фактору середовища – режиму освітлення. При цьому існує така схема взаємин: гіпоталамус – гіпофіз – кора наднирників.

Сезонні зміни гормональних відносин виявлені в диких тварин у природних умовах на прикладі зміни ваги наднирників, які відіграють, як відомо, велику роль у пристосуваннях організму до специфічних і

неспецифічних умов «напруження» – стресу. Значна роль у сезонній періодиці належить і такому неспецифічному гормону, як адреналін. Останній сприяє кращій акліматизації тварин як до тепла, так і до холоду. Особливо сильно діють комбінації препаратів тироксину і кортизону. Добре акліматизовані до холоду тварини мають великий вміст аскорбінової кислоти в кірковому шарі наднирників.

Морфологічна картина щитоподібної залози в багатьох видів ссавців і птахів піддається значним сезонним змінам. Так, у літню пору відзначається зникнення колоїду фолікул, зменшення епітелію, зменшення ваги залози. У зимовий час мають місце зворотні процеси.

Існує тісний зв'язок між охолодженням тіла і синтезом гормону щитоподібної залози і тиреотропного гормону гіпофіза. Це також має дуже важливе значення у формуванні сезонної періодики.

Однак сезонну періодику не можна уявляти собі тільки як результат впливу факторів довкілля. Тому виникає запитання, чи існує сезонна періодика у тварин, ізольованих від впливу природних факторів. Виявлено, що у собак, які протягом усього року перебували в опалюваному приміщенні при штучному освітленні, спостерігалась характерна для них сезонна періодика. Подібні факти виявлено також у дослідах на лабораторних білих щурах.

Інший приклад надзвичайної міцності сезонної періодики стосується тварин, привезених із південної півкулі. Наприклад, австралійський страус Ему (*Dromaius novaehollandiae*) у заповіднику Асканія Нова відкладає яйця в умовах зими помірного клімату, незважаючи на сильний мороз, адже цей період відповідає літу в Австралії.

Найхарактерніші сезонні зміни у птахів – їхня здатність змінювати свою теплоізоляцію та властивість підтримувати більш високий рівень теплопродукції в умовах холоду. Сезонні зміни в організмі птахів тісно пов'язані з характерним для них інстинктом перельоту і в їх основі – зміни енергетичного балансу. Однак, незважаючи на перельоти, у птахів

спостерігаються як сезонні зміни хімічної терморегуляції, так і зміни теплоізоляційних властивостей пір'яного покриву (інсуляція). Установлено, що максимальна теплопродукція в горобцеподібних птахів узимку вища, ніж улітку. Деякі автори вказують, що можливість хатнього горобця жити в далеких північних широтах зумовлена його здатністю розтягувати свій максимальний енергетичний баланс на всю зиму і метаболізувати стільки ж енергії під час короткого денного фотоперіоду взимку, скільки і протягом тривалих фотоперіодів улітку.

У людини зміна обміну речовин відбувається за тією ж схемою, що й у незимосплячих тварин. Так, в умовах Півночі, де узимку спостерігається недостатня кількість ультрафіолетового опромінення, мають місце значні порушення обміну речовин, в основному фосфорного обміну, і нестача вітаміну D. Ці явища особливо важко позначаються на дітях. За даними німецьких дослідників, у зимовий період спостерігається так звана мертва зона, коли зовсім припиняється ріст дітей. Цікаво, що в Південній півкулі (в Австралії) це явище спостерігається у місяці, які відповідають літу в Північній півкулі. Тепер додаткове ультрафіолетове опромінення розглядається як один із найважливіших способів корекції нормального сезонного ритму в умовах північних широт.

Сезонні зміни в антиоксидантному захисті тварин

Безхребетні. У безхребетних метаболічна активність та функції мітохондрій регулюються кількома сезонними складовими – такими як фотоперіод, температура, вологість та доступність продуктів живлення. Оскільки метаболічна активність у безхребетних змінюється залежно від пори року, можна передбачити виникнення сезонних змін у параметрах антиоксидантного захисту. У безхребетних, особливо в прибережному та морському регіонах, з метою розробки біохімічних маркерів, для моніторингу

забруднення, вивчаються сезонні відмінності антиоксидантного захисту та параметри оксидативного стресу. Загальний підхід передбачає порівняльну оцінку параметрів антиоксидантної системи у видів із забруднених та незабруднених територій та екстраполяція даних про окисне пошкодження тканин. З цією метою досліджувались різні види та типи безхребетних. Проте необхідно встановити нормальні сезонні зміни параметрів антиоксидантного захисту перш ніж використовувати їх для моніторингу забруднення довкілля.

Annelida. Тип Аннеліди (Annelida) включає стригучі лишай, дощових черв'яків та п'явок. Анеліди адаптовані до різних екологічних зон, які охоплюють водні (морські та прісноводні) і наземне середовища. Сезонні зміни системи антиоксидантного захисту у видів цього типу потребують досліджень. Поліхета *Laeonereis acuta*, використовується в ролі біомаркерів забруднення. Вивчалися сезонні відмінності активності антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази (SOD), каталази (CAT) та параметри розвитку оксидативного стресу (OS), такі як перекисне окислення ліпідів (ПОЛ). Найвища активність CAT виявлена восени, тоді як перекисне окислення рівень ПОЛ не проявляв сезонних змін. Це свідчить про те, що види можуть сезонно модулювати свою редокс-відповідь, щоб підтримати сталий рівень OS в тканинах.

Mollusca. Тип Молюски (Mollusca) охоплює велику кількість видів, поширених як у водних, так і наземних екосистемах. Досліджувався вплив припливних висот на активність ферментів антиоксидантної системи в тканинах зябер та травних залозах *Mytilus edulis* восени. Встановлено, що активність SOD, CAT, глутатіонпероксидази (GPx) і глутатіонредуктази (GR) були вищі в тканинах тих видів молюсків, які перебували на високому березі Франції у порівнянні з низьким. Повідомлялося, що фрагментація ланцюга ДНК була підвищена в тканинах *Mytilus galloprovincialis*, зібраних із незабруднених місць в Адріатичному морі в жовтні, що супроводжувалось зростанням активності CAT та рівня ПОЛ. Помічено також, що за дії важких металів, які

були у зразках води, зросла в тканинах фрагментація ДНК. Для моніторингу впливу важких металів з води грецької затоки Саронікос досліджувалась активність антиоксидантних ферментів, таких як SOD та CAT, а також рівень ПОЛ у зябрах та мантийній тканині *Mytilus galloprovincialis*. Досліджувались три забруднені та одна незабруднена ділянки. За результатами трирічних повторних досліджень виявлено, що сезонні зміни в активності антиоксидантних ферментів та рівня ПОЛ, як індексу оксидативного стресу, можна використовувати як потенційні біомаркери токсичності для тривалого моніторингу морських прибережних екосистем. Встановлено, що активність SOD та CAT та рівень ПОЛ у тканинах мідії з контрольних (чистих, незабруднених) ділянок були вище взимку, порівняно з іншими порами року (весна, літо). Тоді як у зразках із забруднених районів активність SOD була найвища влітку, в той час як активність CAT – узимку й навесні.

Сезонні коливання також демонструє система антиоксидантного захисту устриці (*Crassostrea rhizophorae*). Детально досліджувались загальна редукуюча спроможність, рівень ПОЛ та активність глутатіон-S-трансферази (GST) в зябрах незрілих дорослих мангрових устриць, зібраних із забруднених та незабруднених ділянок бразильського узбережжя. Науковці вважають, що температура не відіграє згубної ролі в сезонних змінах параметрів антиоксидантного захисту в устриць. Сезонні зміни виявлені в активності CAT і GST у тканинах устриць, були зумовлені географічним розташуванням місця відбору проб. Нестача води, вологості та їжі в певний сезон призводить до метаболічної депресії в устриць. Улітку, в них відбувається літня сплячка (естивація), тоді як узимку – зимова сплячка (гібернація). Після настання відповідних умов довкілля у тварин припиняється метаболічна депресія. Естивація з наступним пробудженням супроводжується збільшенням споживання кисню, що призводить до підвищення активних форм кисню (ROS). Дослідження земляних та водних равликів, показали певне збільшення в їхніх тканинах редокс-регулюючих молекул. Встановлено, що патерн маркерів

OS та рівнів різних антиоксидантних ферментів відрізнялися в різних тканинах *Helix aspersa* під час естивації та з наступним пробудженням. Крім того, патерн значень залежав від сезонів. Зокрема, виявлено як сезонні, так і тканино-специфічні зміни рівнів антиоксидантних ферментів. Базуючись на цьому, запропонована наявність внутрішніх годинників у тканинах наземних равликів *Helix aspersa*, які контролюють метаболізм вільних радикалів в різні пори року.

В екофізіології широко використовується як маркерний вид для виявлення забруднення прибережних вод двостулковий молюск *Perna viridis* – за природою сидячий вид з широким географічним ареалом та доступний. Детально вивчалися сезонні зміни в активності антиоксидантних ферментів (SOD, CAT, GPx, GST і GR), антиоксидантів (аскорбінової кислоти та відновленого глутатіону (GSH)) та маркерів OS (ПОЛ та H₂O₂) в тканинах зябер та травних залоз природної популяції зеленої мідії *Perna viridis* з пляжного району Гоа Бамболія, Індія. Виявлено два важливі аспекти щодо статусу антиоксидантного захисту тканин даного виду. По-перше – антиоксидантний захист тканини *Perna viridis* демонструє сезонні коливання та, по-друге, компоненти антиоксидантної здатності тканин щодо сезону різняться один від одного. З урахуванням компонентів антиоксидантної системи, як ферментативних, так і неферментативних, вважається, що у цього виду вирішальне значення у регулюванні механізмів антиоксидантного захисту відіграють сезонні зміни факторів довкілля.

Arthropoda. Більшість видів членистоногих – наземні тварини, деякі з них – водні. Вчені досліджували сезонні зміни активності антиоксидантних ферментів у вусоногих раків *Balanus balanoides*, які є домінантними видами на скелястих берегах. Відмічено високий рівень активності антиоксидантних ферментів та глутатіонтрансферази в травній залозі в передмусонний період або літній, а надалі поступове зниження їхньої активності з мінімальним рівнем узимку. Мікросомальна ліпідпероксидаза демонструє обернену тенденцію сезонних коливань до цих антиоксидантних ферментів. Встановлено позитивну

кореляцію між РАН (поліароматичними вуглеводами) та рівнем активності антиоксидантних ферментів у тканинах.

Дослідження активності різних антиоксидантних ферментів у медоносних бджіл (*Apis mellifera*) показало, що рівні антиоксидантних ферментів і пероксидів були вищими в активний сезон (серпень-вересень) порівняно з іншими місяцями. Автори вважають що підвищений рівень антиоксидантних ферментів та оксидантів у бджіл протягом активних місяців може бути викликаний підвищеною активністю бджіл під час збору нектару. Висока льотна активність бджіл в літні місяці зумовлює підвищений попит на кисень, який може сприяти більш високій продуктивності ROS в активні сезони.

Встановлено сезонні відмінності різних компонентів системи антиоксидантного захисту в тканинах краба (*Scylla serrata*), а також статеві особливості за даними параметрами. Також помічено зростання маркерів оксидативного стресу в літній період, коли температура та солоність води вища, ніж в інші пори року.

Echinodermata. Всі види цього типу – мешканці морів. Виявлена сезонна відмінність у споживанні кормів за дії сталої температури та природного фотоперіоду у зеленого морського їжака. У іншого виду, *Loxechinus albus*, встановлено вищий вміст аскорбінового радикалу та альфа токоферолу в гонадах взимку, ніж навесні та влітку.

Отже, у безхребетних існують різні стратегії адаптації для регулювання їхнього антиоксидантного захисту у відповідь на вплив сезонних чинників, залежно від екологічної потреби або середовища.

Хребетні. Сезонні зміни параметрів антиоксидантного захисту у хребетних вказують на складову відображення впливу багатьох біотичних та абіотичних чинників. Біотичні фактори в основному передбачають міграцію, розмноження, метаболічний статус і вік тварин, натомість абіотичні чинники – це температура, фотоперіод, солоність, вміст кисню, доступність їжі тощо.

Pisces. Більшість досліджень, пов'язаних із сезонними змінами антиоксидантного захисту у риб, проводились щодо забруднюючих речовин, наявних у воді. Встановлено, що з початку і до кінця літа відбувалося зниження вмісту GSH та зростання активності GR в гепатопанкреасі популяції риб (*Fundulus heteroclitus*), зібраних із креозоту у гирлі річки Елізабет. Проаналізовано певні параметри антиоксидантного захисту, такі як CAT, GPx і GSH, та загальні антиоксидантні властивості тканин двох видів риб *Anguilla anguilla* (європейський вугор) та *Mugil cephalus* (лобань), які мешкали в лагуні Середземномор'я в різні пори року. Незважаючи на те, що параметри антиоксидантної системи риб залежали від температури та репродуктивного циклу, проте спостерігалась видоспецифічна модель. На відміну від лобаня, у вугра, параметри антиоксидантного захисту не залежали від статевого дозрівання, проте зауважено значний вплив улітку високої температури. Дослідження сезонних відмінностей в роботі антиоксидантної системи у тканинах чотирьох видів риб свідчить про наявність як видо-, так і тканиноспецифічних сезонних змін в активності антиоксидантних ферментів. Рівень SOD у печінці та м'язах марени звичайної (*Barbus barbus*) був вищим навесні, ніж влітку, але активність CAT виявилась у зворотному порядку. Повідомлялося про сезонні коливання рівнів CAT і ферментів GR в печінці *Solea senegalensis*.

Amphibia. Встановлено сезонні флуктуації антиоксидантних білків у тканинах печінки *Rana ridibunda*. Зокрема, зареєстровано крах системи антиоксидантного захисту влітку порівняно з іншими сезонами. Виявлено сезонні варіації апоптичних та антиоксидантних білків у серці та м'язах водної жаби *Pelophylax ridibundus*. Зокрема, протягом зимівлі рівні антиоксидантних ферментів, таких як SOD, CAT та GPx, були низькими завдяки метаболічній депресії, а пробудження від зимівлі зумовило зростання синтезу антиоксидантних ферментів для подолання наслідка оксидативного стресу.

Reptilia – це пойкилотермні організми. Зовнішні фактори довкілля суттєво впливають як на метаболізм рептилій загалом, так і, зокрема, на вільнорадикальний метаболізм. Рептилії адаптовані до різних екологічних ніш, від сухого повітря пустель до підводних середовищ існування. Деякі з них здійснюють міграції на великі відстані. Особливу увагу привертають крокодили – чудова модель для встановлення взаємозв'язку між гіпоксією та оксидативним стресом, оскільки гіпоксія безпосередньо пов'язана з окисно-відновним метаболізмом. Виявлено взаємозв'язок між стадією розвитку крокодила та системою антиоксидантного захисту. Зокрема, показано зростання оксидативних пошкоджень у тканинах молодняка в період переходу від зими до літа. Зміни в реакціях GSSG та тіобарбітурової кислоти (рівня ПОЛ) в тканинах юних крокодилів улітку були пов'язані з нічними температурними відмінностями в середовищі існування крокодилів в зимній та літній періоди. Підлягали сезонним змінам вміст аскорбінової кислоти та відновленого глутатіону в тканинах центральної нервової системи черепах толерантних до аноксії. Вважається, що сезонні зміни антиоксидантів сприяють перенесенню черепахами стану гіпоксії-реоксигенації та характеризують поведінку пірнання у черепах.

Aves – гомеотермні тварини, у яких спостерігаються сезонні зміни в системі антиоксидантного захисту та оксидативного стресу. Природне середовище та фотоперіодизм можуть відповідати за виявлені сезонні зміни метаболізму та оксидативного стресу в їхніх тканинах. Погане середовище існування через недоступність їжі викликає інтенсивну активність кормової діяльності, яка збільшує генерацію ROS у птахів. У випадку Сейшельських островів (*Acrocephalus sechellensis*) сезонні варіації OS в генерації ROS пояснюються низькою доступністю корму. Виявлено сезонні зміни різних фізіологічних параметрів у сільської ластівки *Hirundo rustica*. Зимуючі птахи мають високі показники біотрансформації активності з більш високим вмістом рівня OS в порівнянні з птахами навесні та влітку. Такі зміни в

біотрансформації ферментів у птахів можуть бути пов'язані з їх підготовкою до міграції. Такі зміни трактуються як «підготовка до оксидативного стресу».

Mammals. Ссавці, які населяють помірну зону, зазвичай демонструють сезонні зміни в їх морфології, поведінці і фізіології, щоб упоратись із зміною довкілля. Тому вони можуть демонструвати сезонні коливання антиоксидантної системи захисту та статусу OS. Показано, що фотоперіодизм викликає зміни рівня ПОЛ у рудої нориці. Кілька досліджень засвідчили, що фізіологія великої рогатої худоби (корів і буйволів) піддається влітку значному впливу підвищеної температури. Це явище відоме як літній тепловий стрес. Дослідження показали, що літній тепловий стрес супроводжувався підвищеними показниками OS та зниженням активності антиоксидантних ферментів. Повідомлялося, що висока температура навколишнього середовища протягом літа була відповідальною за збільшення як температури тіла, так і OS, а також зменшення симптомів тічки у японської корови. Встановлено що в літній сезон спостерігається погіршення якості сперми у молодих биків унаслідок інтенсивного прооксидативного ефекту в плазмі сім'яників. У щурів, які піддавалися впливу високої температури влітку, виявлено більш високий OS та низький рівень антиоксидантних ферментів у їхніх еритроцитах порівняно із зимовим сезоном. Виявлено, що в літній період в порівнянні із зимою вищий рівень ПОЛ в серцях людей, щурів і морських свинок.

Отже, встановлені сезонні коливання в системі антиоксидантного захисту можуть бути еволюційною стратегією тварин для різних адаптацій до мінливих факторів навколишнього середовища. Також неприродні наслідки зміни сезонних факторів у глобальному харчовому ланцюзі не можуть заперечуватись для личинок або ембріональних форм безхребетних, які складають першу лінію первинної продуктивності. Очевидно, що різні сезонні сигнали можуть регулювати метаболічні функції в тканинах через відповідні рецептори, які своєю чергою визначають ROS і антиоксидантний захист у тканинах і, отже зумовлюють різну фізіологічну активність тварин (рис.3.2.11..).

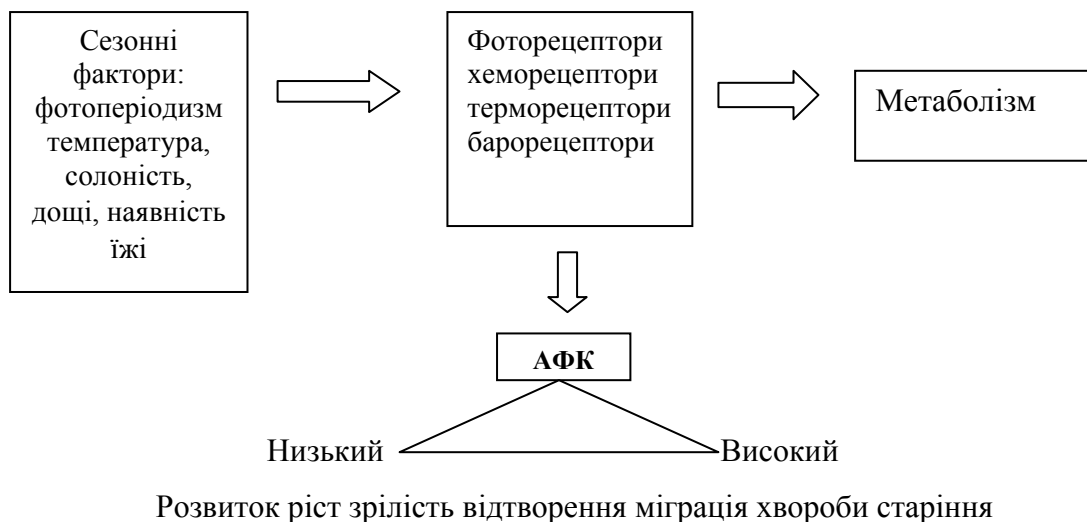


Рис. 3.2.11. Схема механізму впливу сезонних факторів на різні фізіологічні функції через АФК.

Характеристика міграційного стану птахів

Міграції птахів викликаються як екзогенними, так і ендогенними факторами. Зовнішніми факторами здавна вважалися зниження температури середовища, замерзання водойм, зменшення кількості корму. Однак тільки цими факторами зовсім неможливо пояснити закономірні періодичні зміни в організмі птахів і міграційні явища, які виникли на їхній основі.

Саме явище міграції у птахів має два види проявів активності. Перший – це стимуляція та підтримка власне міграційної активності, другий – орієнтація птахів під час перельоту. Як ті, так і інші явища – з чітко вираженим видовим характером, але певною мірою вони постійно корегуються факторами зовнішнього середовища (погодою, картиною місцевості, наявністю корму тощо).

Установлено, що фактори зовнішнього середовища (сигнальні стимули) безпосередньо впливають на регулюючу систему птахів. Остання залежить як від зовнішніх стимулів, так і від ендогенного (переважно сезонного) ритму. Зміни цієї системи викликають появу передміграційного стану, що веде до

утворення зграй, посиленого харчування та жировідкладення, зміни в поведінці птахів тощо. Передміграційний стан на певному етапі переходить у міграційний, що характеризується своєрідною поведінкою птаха (перелітне занепокоєння), зміною добової періодики, активізацією стану центральної нервової системи.

Стан діапаузи комах та його регуляція

Діапауза характеризується станом фізіологічного спокою організму, викликаного перебудовою обміну речовин і відрізняється від стану фізичного спокою при дії несприятливих для енергетичних процесів умов зовнішнього середовища, що практично виявляє окремі адаптаційні процеси. Діапауза найчастіше передує періоду несприятливих зовнішніх умов, наприклад зимових холодів.

Діапауза може виникати на будь-якій стадії життєвого циклу, проте час її формування специфічний для кожного виду. У різних видів комах залежно від тривалості репродуктивного циклу та числа поколінь, які розвиваються протягом річного циклу, діапауза може формуватися на різних фазах: фазі яйця (тутовий шовкопряд, непарний шовкопряд), гусені (сибірський шовкопряд, сосновий шовкопряд), лялечки (дубовий шовкопряд) та імагінальної фази (колорадський жук).

У комах у стані діапаузи припиняється ріст і диференціювання, зупиняється розвиток, змінюється рівень енергетичних процесів. Окисні процеси в організмі комах у період діапаузи загальмовуються та замінюються іншим типом обміну, що відбувається на основі реакції гліколізу. Такі зміни обміну речовин мають місце і в окремих органах. Так, у гусені сібіського шовкопряда на початку формування діапаузи блокується діяльність травної системи, але при цьому м'язова система зберігає здатність до активної діяльності. У багатьох комах встановлена часткова діапауза. У деяких видів

спостерігається діапауза статеві системи при збереженні активного стану всіх інших органів і тканин. Діапауза пов'язана з такими біохімічними і фізіологічними змінами в організмі комах, які дають можливість вижити в летальному, для активних стадій, середовищі.

Одночасно з підготовкою комах до фізіологічного спокою діапауза допомагає організму розв'язати інші біологічні завдання. Зокрема, необхідність завчасно розірвати трофічні зв'язки комах, котрі адаптуються до майбутніх несприятливих для активного життя умов середовища. Для північних широт це зимовий період зі зниженням температури, для південних широт таким несприятливим періодом може бути літо, що супроводжується зменшенням вологості та підвищенням температури. В цих умовах живлення неможливе, а розрив трофічних зв'язків і припинення травлення визначає можливість виживання організму комах під час голодування.

Діапауза забезпечує збереження життя, викликає глибоку перебудову всіх енергетичних процесів організму: накопичення глікогену і жиру, втрату частини вільної води і частковий її перехід у зв'язаний стан; аеробний обмін у комах, які перебувають у стані діапаузи, замінюється анаеробним. Це пов'язано з підвищеним опором несприятливим умовам середовища і підвищенням холодостійкості організму, що являє собою пристосування, яке забезпечує виживання в зимовий період.

Лабільність процесів регуляції, яка визначає стан діапаузи, дає можливість виходу з цього стану. В цих процесах значну роль відіграє фактор часу. Для більшості видів час дії механізмів, котрий викликає стан діапаузи, відносно невеликий. Так, у гусені сибірського шовкопряда діапауза триває від 15 до 25 діб. Ці терміни характерні для багатьох інших видів лускокрилих. Діапауза, яка спостерігається в річному циклі та забезпечує виживання організму в несприятливих умовах, змінюється потім періодом спокою. Він зумовлений насамперед температурою довкілля, яка знаходиться за межами порога активності комах. Перехід до стану спокою супроводжується змінами

активності гормональних і ферментативних систем і поступовою заміною анаеробіозу аеробним типом обміну. Реактивація відбувається на фоні фізіологічного спокою за несприятливих умов середовища.

Дослідження умов, які визначають формування діapaузи соснового шовкопряда (*Dendrolimus pini* L.), сибірського шовкопряда, колорадського жука (*Leptinotarsa decemlineata* S.) і багатьох інших комах, показали роль пускових механізмів екзогенної природи у формуванні діapaузи. До них належать зміни протягом добового та річного циклів термоперіодизму, зміни протягом таких же циклів фотоперіодизму. Для багатьох рослиноїдних комах додатковим пусковим механізмом можуть слугувати зміни біохімічного складу кормової рослини.

Головний сигнал, котрий викликає формування діapaузи у комах – світло. Фотоперіодизм – величина стала і залежить від двох факторів: річного циклу і географічної широти місцевості. На відміну від світла, температура та їжа – неосновні чинники для переходу організму до стану діapaузи. Самі екологічні умови (світло, температура, їжа та інші) можуть впливати на процеси обміну, зсуваючи енергетичні рівні життєдіяльності та змінюючи активність ферментних систем.

Процеси росту та розвитку комах більше залежать від ендогенних факторів, зокрема координованої взаємодії ендокринних тканин: нейросекреторних клітин мозку підглоткового ганглія, проторакальних залоз і *Corpora allata*. Линька комах регулюється екдізоном, утворюваним у проторакальних залозах після дії на них гормону нейросекреторних клітин мозку. На стадії гусені дія гормону линьки змінюється в результаті дії ювенільного гормону, виділеному клітинами *Corpora allata*. За наявності ювенільного гормону діють механізми генної природи, які зумовлюють морфологію личинки та пригнічують механізми забезпечення розвитку імаго. Отже, діapaуза комах у личинковій стадії, при якій припиняється линька та метаморфоз, зумовлена складною взаємодією гормонів (рис.3.2.12.).

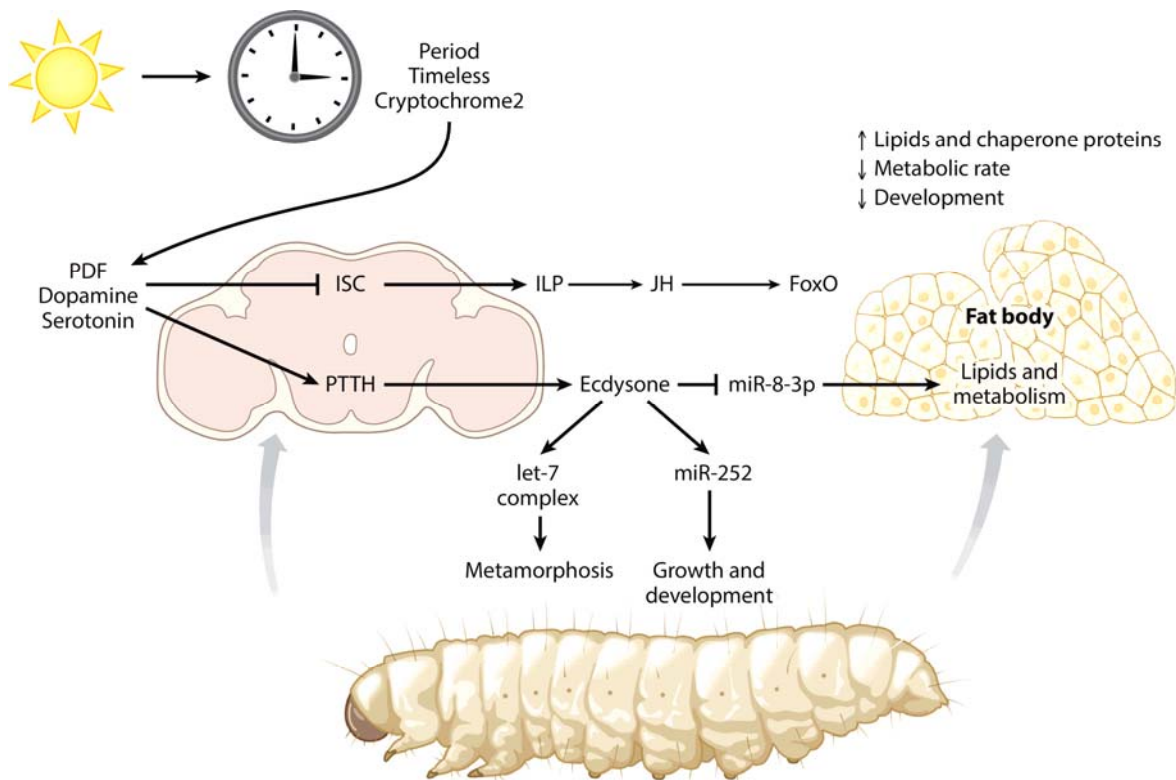


Рис. 3.2.12. Загальна схема регуляції діпаузи у комах. Зміни тривалості світлового дня визначаються центральним циркадним годинником. Своєю чергою, зміни в кількості білків *Period*, *Timeless* та інших, пов'язаних із циркадним годинником, змінюють вироблення нейромедіаторів і нейромодуляторів (наприклад, дофаміну, серотоніну та фактору диспергування пігменту (*PDF*)), які регулюють виробництво та секрецію інсуліноподібних пептидів (*ILP*), інсулінсекретуючими клітинами (*ISC*) у мозку та в подальшому *ILPs* впливають на експресію генів ювенільного гормону (*JH*) і білка *Forkhead box O* (*FoxO*), які відповідають за фізіологічні зміни. Шляхи передачі сигналів *JH*, ймовірно, функціонуватимуть лише під час репродуктивної діпаузи в імаго. Нейросигнальні фактори також регулюють виробництво та вивільнення проторацикотропного гормону (*PTTH*) і виробництво екдизону. МікроРНК, які регулюються титрами екдизону (до прикладу, *let-7*, *miR-252* і *miR-8-3p*) впливають на терміни розвитку, розвиток клітинного циклу та метаболізм (Teets et al, 2023).

Спектральна узгодженість ритмів

Складні організми часто демонструють кілька сімейств біологічних ритмів, таких як добовий, естральний і річний. Проблема спектральної координації ритмів стосується інтеграції цих різноманітних ритмів в організмі. Тварини, які населяють припливні зони, підлягають двом сильним екологічним циклам: припливам і відпливам (період яких становить 12,4 години) та зміні дня і ночі (період якого становить 24 години). Як лабораторні, так і польові спостереження показали, що на активність організмів літорального періоду впливають два екологічні цикли. Наприклад, плавальна активність зоопланктону *Dimorphostylis asiatica* спочатку була зареєстрована тільки під час 24-годинного циклу світло-темрява, а пізніше як під час циклу світло-темрява, так і під час моделювання 12,5-годинного циклу припливів. Дослідження цього та інших видів виявили безліч механізмів: переважання циркадного компонента, переважання циркатидального компонента, одночасна наявність обох компонентів, чергування добового та припливно-відпливного компонентів у одного і того ж індивіда, і навіть відсутність як циркадних, так і циркатидальних ендогенних ритмів.

Деякі відмінності в результатах можуть бути пов'язані зі справжніми відмінностями між видами. Дослідження атлантичних підковоподібних крабів (*Limulus polyphemus*) показало, що циркадний годинник контролює чутливість їх очей (результати електроретинограми), тоді як циркатидальний годинник контролює рухову активність тварин. Важливо, що щоденні зміни в чутливості очей не були синхронізовані з ритмами активності, навіть незважаючи на те, що ці два ритми часом слабо координувалися. Отже, у цьому припливно-відпливному організмі два фізіологічні процеси, здається, відбуваються за двома різними часовими курсами (циркадним і циркатидальним) під контролем двох різних годинників.

Вивчалася взаємодія між добовим і естральним ритмами. Найчастіше в цьому дослідженні використовувалися золотисті хом'яки та домашня птиця, можливо, через стислість їхнього естрального циклу (4 дні та 1 день відповідно). Вже було добре відомо, що золотисті хом'яки, яких утримували за 24-годинним циклом світло-темрява, демонструють циклічність тічки, і що самка золотистого хом'яка стає сексуально сприйнятливою за кілька годин до настання темряви кожні 4 дні. Дослідники вивчали, чи збережеться ритмічний малюнок за відсутності циклу світла-темряви. Встановлено, що естральний цикл вільний, коли тварини перебувають у постійному освітленні. Проте вільний естральний цикл йшов рука об руку з добовим ритмом рухової активності. Тобто вільний естральний цикл тривав не з періодом 96 годин (4 дні), а з періодом, рівним чотирьом добовим циклам (що дорівнює 96 годинам лише тоді, коли добовий період дорівнює рівно 24 годинам). Відкриття відтворено на щурах і хом'яках в інших лабораторіях. Ці результати були інтерпретовані як доказ того, що естральний цикл генерується не окремим естральним годинником, а циркадним годинником, отже, естральний період кратний циркадному періоду. Інтерпретація підкріплена спостереженням, що циклічність еструсу зникає, коли циркадна ритмічність усувається через руйнування головного циркадного водія ритму за допомогою хірургічної абляції або генної інженерії. Звичайно, час овуляції залежить від часу дозрівання фолікулів яєчників (який можна розглядати як деяку форму естрального годинника або таймера), але, імовірно, під час дозрівання фолікула модулюється циркадним годинником. Однією з проблем цих досліджень зв'язку між естральним і циркадним ритмом є те, що зміни в періоді були досить незначними. У хом'яків дикого типу, чий циркадний період становить майже 24 години, естральний період 96 годин може відповідати чотирьом циркадним циклам. Період естрального циклу кратний періоду циркадного циклу лише тому, що естральний цикл обмежений циркадною системою, а не тому, що він генерується циркадною системою. Давно відомо, що якщо

хірургічно видалити яєчники для усунення гормонального зворотного зв'язку з мозком, то сплески лютеїнізуючого гормону (який зазвичай індукує овуляцію), а також сплески пролактину спостерігаються щодня, а не кожні чотири дні. Тобто, уявлення про те, що циркадна система керує роботою яєчникового годинника (через гіпофізарно-гіпоталамічні гормони), цілком обґрунтована, про що свідчать дослідження, проведені на приматах і птахів. При дослідженні звичайної мармозетки (*Callithrix jacchus*), естральний цикл якої, як і у людини, триває 28 днів, використовувалися цикли світло-темрява з періодами 23 або 26 годин. Циркадний ритм активності був задіяний циклом світло-темрява в обох станах, але період естрального циклу (контрольований за допомогою вимірювання концентрації естрогену в сечі) був однаковим у двох станах. Це суперечить раніше згаданим дослідженням диких хом'яків. Крім того, у мавп-сов (*Aotus lemurinus*) оваріальний цикл не підтримував стабільний фазовий зв'язок із щоденним ритмом рухової активності, хоча така стабільність була б очікуваною, якби естральний цикл генерувався циркадним годинником. Досліджувався час відкладання яєць у перепілки звичайної (*Coturnix coturnix*) в залежності від фотоперіодизму (рис.3.2.13.). Птахів спочатку тримали в 24-годинному циклі світло-темрява (рис.3.2.13 А), а потім у постійній темряві (рис.3.2.13 В). Контролювали ритм відкладання яєць і ритм живлення. Обидва ритми були охоплені циклом світло-темрява, але вони вільно проходили з помітно різними періодами в постійній темряві. Таку різницю в періодах вільного ходу можна пояснити лише існуванням двох окремих водіїв біологічного ритму. По суті, у кількох перепелів, яких утримували за циклом світло-темрява, лише ритм годування демонстрував захоплення; вільний ритм відкладання яєць відбувався з циркадним стробуванням (тобто відкладання яєць не відбувалося під час темної фази циклу світло-темрява). Подібні результати отримані в інших дослідженнях на перепелах, курях та індичках, що підтверджує уявлення про те, що цикли тічки та циркадні ритми генеруються окремими годинниками.

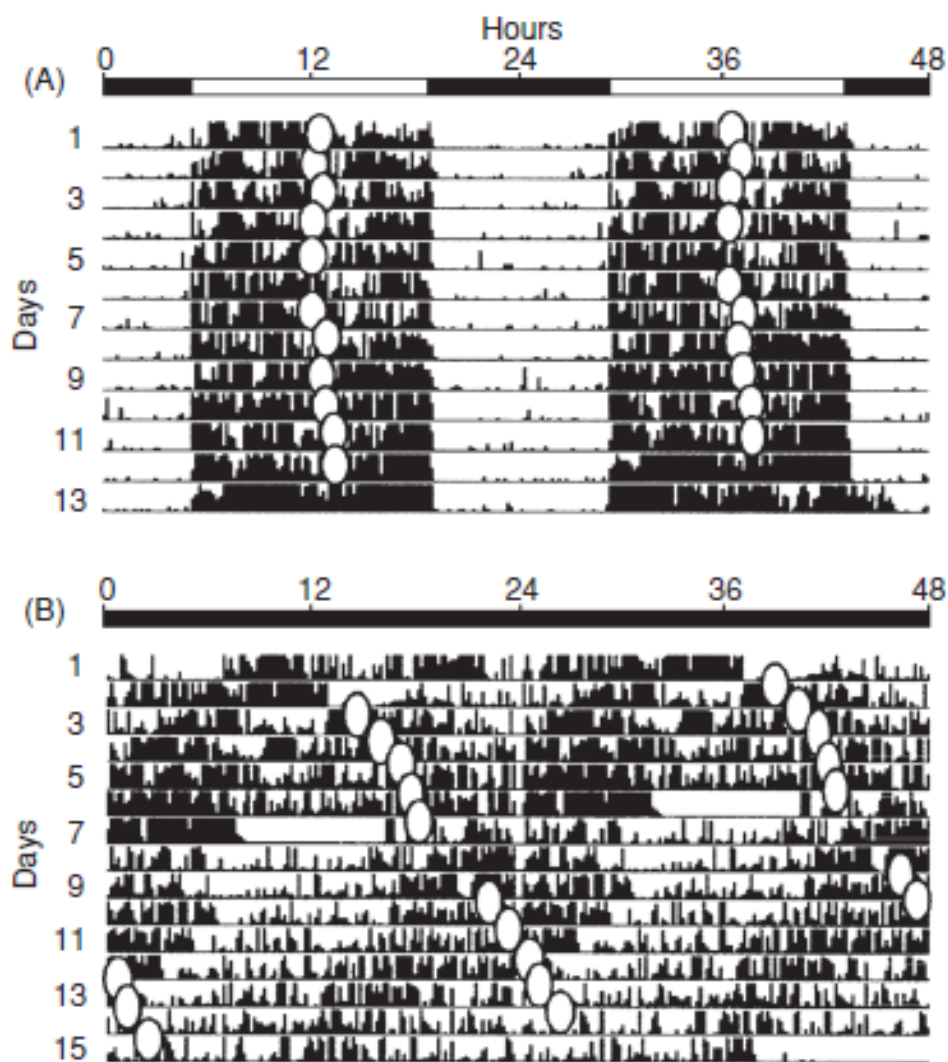


Рис. 3.2.13. Подвійні графіки актограми ритмів яйцекладу та споживання кормів у перепелів (*Coturnix coturnix*). Птахів утримували за циклу світло-темрява (A) або в постійній темряві (B). Білі овали позначають час яйцекладу. Під час циклу світло-темрява очевидне залучення обох ритмів (A), але в постійній темряві вільний ритм годівлі відбувається із періодом, коротшим за 24 години, тоді як вільний ритм відкладання яєць триває із періодом, довшим за 24 години (B) (Houdelier et al., 2002)

Третій випадок спектральної координації ритмів включає координацію циркадних і сезонних/циркануальних ритмів. Ця координація може бути такою ж простою, як маскування добових ритмів сезонними змінами тривалості дня та температури довкілля, або такою ж складною, як модуляція циркадних ритмів

ендогенними циркануальними ритмами. Відомо, що сезонні коливання фотоперіоду спричиняють часове стиснення або розширення циркадних ритмів. Це спостерігалось в природних умовах, а також у лабораторії (де змінюється лише фотоперіод). Як правило, зимовий час пов'язаний зі стисненням ритму у денних тварин і розширенням ритму у нічних тварин, тоді як літній час пов'язаний із розширенням ритму у денних тварин і стисненням ритму у нічних тварин. У такий спосіб, добова активна фаза нічної миші розширюється, коли ночі стають довшими протягом осені та першої половини зими, і скорочується, коли ночі стають коротшими наприкінці зими та рано навесні. Борсуки (*Meles meles*), здається, є винятком із правил: вони ведуть нічний спосіб життя, але мають тривалішу активну фазу влітку (коли ночі коротші), мабуть, тому, що їх улюбленої здобичи (дощові черв'яки) недостатньо в цю пору року, тож доводиться витратити більше часу на пошук.

Сезонні зміни також були встановлені за іншими параметрами циркадних ритмів, таких як фаза, амплітуда та період. Цікава сезонна модуляція амплітуди ритму спостерігається у бобрів (*Castor canadensis*). Взимку в Канаді та на півночі Сполучених Штатів бобри залишаються по суті ізольованими у своїх будиночках або під крижаним покривом, тому їхній щоденний ритм активності майже сталий, тоді як улітку спостерігається стабільна ритмічність. У північних оленів (*Rangifer tarandus*), які живуть за Полярним колом, рухова активність демонструє щоденну ритмічність восени, взимку та навесні, але ритм стає рівним улітку, мабуть, тому, що тварини можуть постійно пастися під безперервним денним світлом арктичного літа. У полівок Cabrera (*Microtus cabreræ*), котрі живуть на середземноморському узбережжі Португалії, ритм рухової активності бімодальний (з піком на світанку та в сутінках) протягом літа, але унімодальний (з піком опівдні) протягом зими.

Багато видів хребетних і безхребетних демонструють сезонний ритм міграційного руху і фізіологічні та екологічні зміни, пов'язані з цим рухом, ймовірно, впливатимуть на добові ритми, являючи собою ще один випадок

взаємодії між річними та циркадними ритмами. Наприклад, перелітні птахи зазвичай ведуть денний спосіб життя, але більшу частину свого міграційного польоту вони здійснюють уночі. І навпаки, вовки (*Canis lupus*) ведуть нічний спосіб життя; однак, мігруючи на великі відстані, вони переміщуються протягом дня.

Взаємодія між річним і добовим ритмами відбувається і в протилежному напрямку, тобто добова ритмічність може впливати на річні ритми. Можливо, найкращим прикладом цієї взаємодії є циркадна модуляція входження в сплячку та пробудження від неї. Проводились дослідження тривалості сплячки у європейських хом'яків (*Cricetus cricetus*), яких утримували в лабораторії в імітованих зимових умовах короткого фотоперіоду (8 годин світло:16 годин темрява) і низької температури навколишнього середовища (8°C). Дослідження, проведені на цьому та інших видах, загалом погоджуються з тим, що поринання у стан заціпеніння обмежений вузьким відрізком дня (і, отже, модулюється циркадною системою), але є розбіжності щодо циркадної модуляції прокидання. Деякі дослідники виявили, що прокидання обмежене вузьким відрізком дня або циркадного циклу, тоді як інші – ні. Оскільки суперечливі результати отримані для різних видів, їх можна пояснити видовими відмінностями. Головне питання полягає в тому, чи циркадна система залишається функціональною під час сплячки, оскільки для визначення часу прокидання потрібен функціональний годинник, принаймні у тварин, які впадають у сплячку глибоко під землею.

У золотистих ховрахів (*Spermophilus lateralis*) здається, що тривалість пробудження залежить від циклу світло-темрява навколишнього середовища, а не від циркадного годинника. У цього та інших видів деякі дослідники спостерігали циркадну ритмічність температури тіла (з дуже малою амплітудою) під час сплячки, тоді як інші не спостерігали. Принаймні є деякі докази того, що циркадна система залишається функціональною впродовж сплячки.

Отже, в природі виявлено інтеграцію циркадних ритмів із циркатидальними, естральними і цирканальними ритмами. В організмі тварин виявлено як незалежну дію двох окремих годинників, так і їх гармонійну координацію для оптимізації тимчасової організації фізіологічних процесів.

Запитання для самоконтролю

1. Дайте характеристику біологічним ритмам та наведіть їх класифікацію.
2. Наведіть приклади циркадних ритмів фізіологічних функцій у тварин.
3. Проаналізуйте приклади поведінкових добових ритмів у тварин (птахів, ссавців, людей).
4. Охарактеризуйте особливості будови та функціонування водіїв циркадного ритму у тварин (центрального та периферичних).
5. Охарактеризуйте молекулярно-генетичну регуляцію циркадних ритмів.
6. Проаналізуйте сезонні зміни поведінки тварин.
7. Охарактеризуйте метаболічні стратегії тварин, здатних впадати в сплячку.
8. Проаналізуйте особливості сезонних змін в антиоксидантному захисті у безхребетних тварин.
9. Охарактеризуйте особливості сезонних змін в антиоксидантному захисті у хребетних тварин.
10. Загальна характеристика міграційного стану птахів.
11. Охарактеризуйте стан діпаузи комах та механізми його регуляції.
12. Наведіть приклади спектральної координації ритмів у тварин (між добовими і естральними, циркадними і циркатидальними, циркадними і сезонними, річними і добовими).

3.3. ЕКОЛОГО-ФІЗІОЛОГІЧНІ, МОЛЕКУЛЯРНО-БІОХІМІЧНІ ТА ГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ АДАПТАЦІЇ ЖИВИХ ОРГАНІЗМІВ ДО ТЕМПЕРАТУРИ СЕРЕДОВИЩА ІСНУВАННЯ

Загальні фізіолого-біохімічні стратегії адаптації тварин до температури довкілля

Температурний діапазон, на фоні якого триває життя у природних умовах досить широкий: від -50°C до $+50^{\circ}\text{C}$. Низькі температури характерні для умов Арктики, високі – для пустель тропічних зон. Крім того, для багатьох континентальних районів (Сибір, Центральна Азія) характерні величезні коливання температур середовища протягом доби. Однак усі ці умови не тільки сумісні з життям нижчих і вищих організмів, але вони спроможні до них адаптуватися. Організми виробили різні стратегії адаптації до низьких температур довкілля. Вони або збільшують термогенез, щоб підтримувати постійну температуру всередині (є ендотермічними), або не здатні активно регулювати свою внутрішню температуру та приймають температуру навколишнього середовища (є ектотермічними).

Температура тіла птахів і ссавців підтримується на майже сталому рівні, незважаючи на великі коливання температури зовнішнього середовища. Це стало можливим завдяки поєднанню молекулярно-генетичних, морфологічних і фізіологічних адаптацій. Йдеться про такі адаптаційні процеси, як адаптації відносної поверхні тіла до величини ваги організму, зміни теплопродукції, тепловіддачі (судинної терморегуляції, опірення, хутряного покриву, тепловіддачі диханням), поведінки (зміни пози, добової (циркадної) активності, будівлі нір, скупчення організмів, міграцій і кочівлі). У пойкилотермних тварин величезне значення мають адаптації ферментних систем, котрі забезпечують перебіг життєвих процесів в умовах екстремальних температур.

Температурні межі біологічної активності тісно пов'язані з властивостями молекул води, денатурацією білків і фізичним станом ліпідів.

Внутрішньоклітинне утворення твердих кристалів льоду несумісне з життям. Замерзання позаклітинної води призводить до дегідратації клітин. Стійкість клітин до заморожування може бути зумовлена: 1) заміщенням частини води певним органічним розчинником, наприклад гліцерином; 2) зниженням точки замерзання внаслідок збільшення кількості розчинених речовин (в цьому плані особливо ефективні певні глікопротеїди); 3) переохолодженням, яке стає можливим завдяки органічним молекулам, які зв'язують водень; 4) стійкістю до утворення льоду, зумовленою властивостями клітинних мембран.

Водночас загибель організмів від холоду настає за температур, значно вищих від точки замерзання. Причиною може бути неузгодження різних метаболічних реакцій, центральні нервові порушення або недостатнє забезпечення клітин киснем, а також зміни в мембранах клітин, котрі починають пропускати йони в результаті порушення роботи йонних насосів.

Існує особлива специфіка дії холоду на обмін речовин. Зокрема, за дії холоду руйнується фермент АТФаза, що призводить до порушення синтезу АТФ та нестачі постачання клітин енергією. Зокрема, зменшується «відкачування» надлишку йонів кальцію з цитозолу клітини в навколоклітинне середовище, що потребує значної кількості енергії. В результаті відбувається накопичення йонів кальцію в цитозолі, що порушує значну кількість біохімічних реакцій та викликає посилення активності внутрішньоклітинних протеаз. Унаслідок цього руйнуються мембранні структури клітини, що призводить до «холодового параліча» специфічних функцій клітини.

Проте добре відомо, що у різних тварин резистентність до гіпотермії може бути дуже високою. Є дані про виживання різних хребетних і безхребетних за від'ємних температур тіла. Наприклад, малий ховрашок та золотистий хом'ячок можуть вижити після охолодження до температури -6 – $-7,5^{\circ}\text{C}$; рептилії (різні ящірки) до температури $-5,5$ – $-7,8^{\circ}\text{C}$; амфібії (жаби) – до -10°C ; риби (окунь, йорж) – до -14 – -16°C ; зимуючий імаго метелика *Vanessa urticae*

– до -21°C . Тканинне дихання у них може тривати за від'ємних температур тіла.

Водночас високі температури можуть також бути летальними для життя внаслідок денатурації ферментів (в екстремальних випадках), прискорення одних реакцій щодо інших, створення неоптимальних температурних умов для окремих реакцій, «розплавлення» ліпідів, особливо в мембранах клітин і мітохондрій, які при цьому втрачають вибіркову проникність.

Ізольовані клітини і тканини виживають у ширшому діапазоні температур, ніж інтактні тварини, а для екстрагованих із тканин ферментів температурні межі ще більші. Вузкий температурний діапазон активності інтактних тварин зумовлений діяльністю ЦНС.

Для тварин температурні межі виживання можуть змінюватись у результаті аклімації, яка прискорює синтез специфічних ліпідів і білків. Ферменти тварин при цьому представлені генетично детермінованими варіантами, які пристосовані до певних температурних умов. Компенсаторні зміни, характерні для ферментів, пов'язані з синтезом енергії. Ферменти, які беруть участь у деградації метаболітів, часто не виявляють компенсаторних змін, а деколи їх активність змінюється в протилежному напрямку. Молекулярні механізми компенсації відображають прискорене оновлення білків (можливо, РНК), вибіркового синтезу ізоферментів із необхідними кінетичними властивостями та зміни модулюючих факторів, особливо фосфоліпідів. При цьому для стійкості та адаптації вирішальне значення мають мембранні ліпіди.

У гомойотермних тварин процес аклімації містить: 1) зміни теплоізоляції (вазомоторні механізми, підшкірний жир, хутряний чи пір'яний покрив); 2) зміни чутливості до гормональних регуляторів, особливо до гормонів наднирників і щитовидної залози; 3) зміни активності окремих ферментів; 4) зміни загальної чутливості до екстремальних температур.

Холодова аклімація ефективніша, ніж теплова. Між гомойотермними і пойкилотермними тваринами немає різкої межі. Останні здатні до тривалої метаболічної компенсації в умовах холоду чи тепла, деякі втрачають активність при певному зниженні температури, а деякі (комахи і рептилії) завдяки поведінковим реакціям можуть поглинати тепло ззовні чи розсіювати надлишок тепла; в окремих видів пойкилотермних тварин (нічні метелики, великі риби) вироблення теплової енергії в м'язах сприяє ендотермному підвищенню температури тіла. В окремих випадках такого роду поведінкові чи фізіологічні реакції запускаються завдяки наявності периферичних терморецепторів або здатності нервової системи до безпосереднього сприйняття температури. При цьому певні структури мають підвищену температурну чутливість. Гомойотермні тварини можуть перелаштовувати свої терморегулятори і зберігати енергію на холоді, впадаючи в летаргічний стан або зимову сплячку.

Фізіолого-біохімічні та молекулярно-генетичні особливості метаболізму ліпідів гомойотермних тварин за дії холодового стресу

Організми зі змінною внутрішньою температурою розвинули захисні фізіологічні пристосувальні реакції для виживання в холодних умовах. Для обох стратегій холодного виживання, а саме активної регуляції температури за допомогою термогенезу та фізіологічної адаптації через змінну внутрішню температуру, відбуваються значні зміни в метаболічних процесах ліпідів, включаючи катаболізм ліпідів і регуляцію плинності мембран,

Збільшуючи свої ліпідозалежні витрати енергії, гомеотермічні тварини, такі як ссавці, здатні підтримувати температуру свого тіла під час впливу холоду. Ліпіди переважно зберігаються в жировій тканині у гомеотермів і слугують паливом для метаболізму. Щоб зберегти температуру свого тіла в холодному середовищі, гомеотермні тварини окислюють ліпіди в мітохондріях переважно у своїй бурій жировій тканині. Під час цього процесу, який

називається термогенезом без тремтіння, хімічна енергія, котра зберігається у ліпідах, використовується для генерації тепла в мітохондріях через роз'єднувальні білки, які відокремлюють транспорт електронів від дихального ланцюга.

Термогенез у ендотермів – це енерговитратний процес для підтримки внутрішньої температури тіла у відповідь на холодні умови. Мітохондрії необхідні для виробництва тепла в адаптивному термогенезі. Швидкість споживання кисню в мітохондріях пропорційна кількості виділеного тепла. Жир, як органічна сполука, має високу енергетичну щільність і виділяє приблизно вдвічі більше тепла, ніж вуглеводи, коли окислюються до вуглекислого газу та води. Ліпіди слугують ідеальним накопичувачем палива в жировій тканині тварин. Термогенез переважно відбувається в бурій (BAT) або білій жировій тканині (WAT), яка стає «коричневого кольору» за дії холоду. Білі адипоцити діють переважно як депо для зберігання триацилгліцеринів, тоді як бурі адипоцити або індуковані «коричневі» (бежеві) адипоцити окислюють ліпіди в мітохондріях для вироблення тепла. Потемнінню білих адипоцитів сприяє адипоміокінірин, який діє як у жировій, так і в м'язовій тканинах, і індукує термогенез через потемніння WAT. Взяті разом, бежеві та бурі адипоцити є різними типами клітин із різним походженням, хоча обидва відіграють вирішальну роль у індукованому холодом термогенезі. Виробництво тепла в бурому або бежевому жирі, також відоме як термогенез без тремтіння, у мітохондріях опосередковується роз'єднувальним білком-1 (Ucp1). Мітохондрії перетворюють хімічну енергію поживних речовин на електричну напругу. Градієнт електричної напруги в основному встановлюється через внутрішню мітохондріальну мембрану (IMM). Ucp1 забезпечує дифузію протонів через IMM і в такий спосіб відокремлює протонний градієнт від синтезу АТФ. Отже, активність Ucp1 збільшує провідність IMM, щоб викликати утворення тепла в мітохондріях, а не виробництво АТФ.

Мітохондрії в бурих або білих адипоцитах дуже численні та більші за розміром і мають структуру упакованої ламінарної кристи для забезпечення термогенезу без тремтіння в бурій або білій жировій тканині під час хронічного холодового стресу. Мітохондрії в термогенних адипоцитах мають підвищену окислювальну здатність і містять підвищені рівні ферментів для метаболізму жирних кислот, цитратного циклу та окислювального фосфорилування. Крім того, виявлено, що піруватдегідрогеназна кіназа 4 (PDK4) поширений фермент у мітохондріях BAT. PDK4 є однією з інгібуючих кіназ для комплексу піруватдегідрогенази та індукує перехід від окислення глюкози до жирних кислот. Жирова тканина контролюється симпатичною нервовою системою. І BAT, і WAT іннервуються симпатичними нервовими волокнами, що походять від гіпоталамуса та стовбура мозку. Визначені ділянки гіпоталамуса, включно з преоптичною ділянкою і дорсомедіальним гіпоталамусом, урівноважують різні аспекти терморегуляції у BAT для контролю температури тіла. Симпатичні нервові волокна, які іннервують адипоцити, вивільняють катехоламін, особливо норадреналін, щоб стимулювати передачу сигналів β -адренорецепторів (β -AR) в адипоцитах. Передача сигналів β -AR активує ліполіз у WAT і індукує мітохондріальний термогенез у BAT під час дії холоду.

Наступним регулятором після сигналізації β -AR є транскрипційний коактиватор PGC-1 α , який індукує експресію Ucp1 та інші регуляторні термогени, такі як білки дихального ланцюга та ферменти окислення жирних кислот. PGC-1 α активується мітоген-активованою протеїнкіназою p38 (p38 Mapk) шляхом фосфорилування (рис.3.3.1.) і може піддаватися транскрипційній регуляції залежно від функції p38 Mapk та за дії холоду. Фосфорильований PGC-1 α асоціюється як коактиватор з рецепторами ядерних гормонів, такими як PPAR γ і PPAR α , і активує термогенні гени, включаючи Ucp1, в бурих адипоцитах. Стимуляція β -AR у WAT призводить до посиленого ліполізу і збільшення рівня циркулюючих вільних жирних кислот, які можуть поглинатися коричневими і бежевими адипоцитами. У термогенних адипоцитах

вільні довголанцюгові жирні кислоти можуть зв'язуватися з мітохондріальними Ucp1s і підвищувати їхню протонотранспортну активність (рис. 3.3.1.).

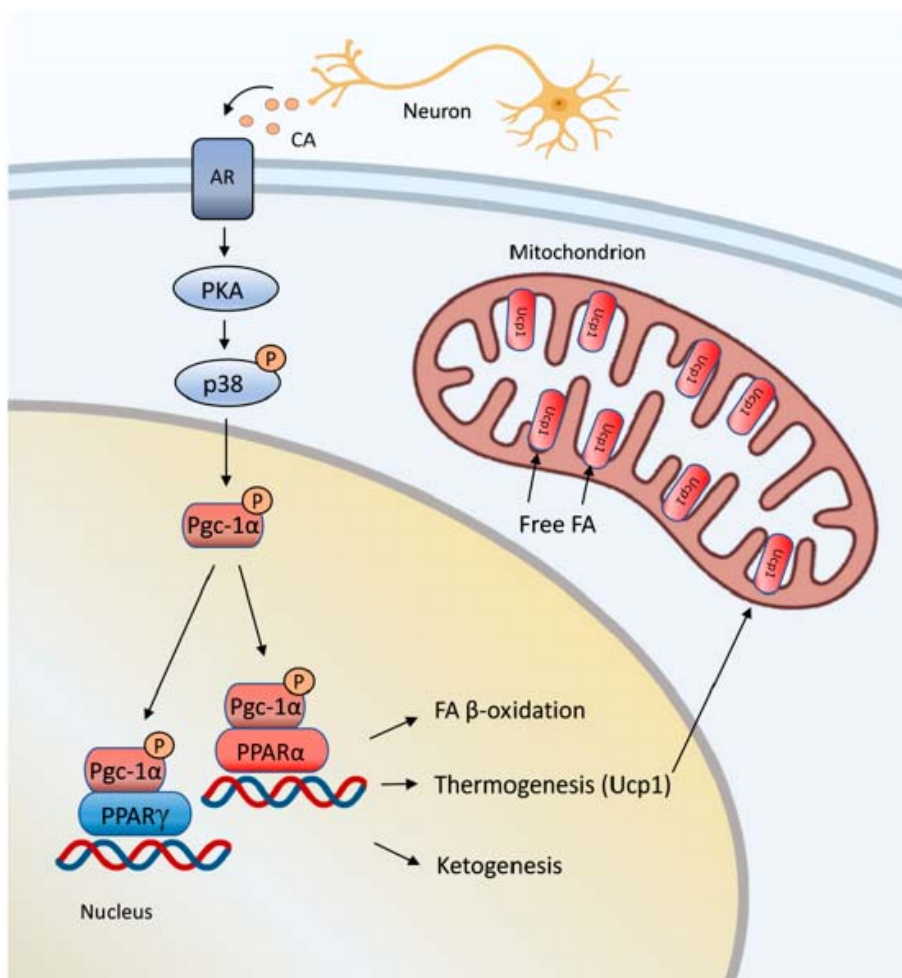


Рис. 3.3.1. За допомогою рецепторів ядерних гормонів PPAR β-адренергічні рецептори регулюють метаболізм ліпідів і термогенез. Внаслідок стимуляції β-адренергічних рецепторів (AR) катехоламінами (CA) сигнальний шлях на основі PKA-p38-Марк індукує транскрипційний коактиватор Pgc-1α шляхом фосфорилювання. Pgc-1α сприяє функціонуванню PPARα та PPARγ у катаболізмі ліпідів, кетогенезі та Ucp1-опосередкованому термогенезі в мітохондріях. ЖК - жирна кислота; P - фосфат; p38 Марк - p38 мітоген-активована протеїнкіназа; PKA - протеїнкіназа A; Pgc-1α - коактиватор PPARγ-1α; PPARα - рецептор, активований проліфератором пероксисом-α; PPARγ - рецептор, активований проліфератором пероксисом-γ; Ucp1 - білок розчеплення-1 (Wu et al., 2023).

Таким чином, функція мітохондріального Ucp1 в термогенезі контролюється через PGC-1 α -індуковану транскрипційну регуляцію та пряму стимуляцію активності Ucp1 через зв'язування вільних жирних кислот.

Холодовий стрес і побуріння WAT змінюють будову мітохондрій та їхню взаємодію з клітинними органелами. Дія холоду та адренергічна стимуляція термогенних адипоцитів спричиняють поділ мітохондрій. Поділ мітохондрій здійснюється за допомогою динамін-зв'язаного білка 1 (Drp1), який фосфорилується та активується за допомогою протеїнкінази A (PKA), що діє безпосередньо після β -адренергічного рецептора. Стимуляція Drp1 відбувається разом з розщепленням мітохондріальної динаміноподібної GTP-ази Opa1 (білок атрофії зорового нерва 1), що призводить до одночасного уповільнення злиття мітохондрій при адренергічній стимуляції. Посилений поділ мітохондрій та їхнє накопичення може поліпшити доступність Ucp1 до певних вільних жирних кислот для її активізації. Тобто, поділ мітохондрій, ймовірно, сприяє виробленню тепла в бурих адипоцитах. Цікаво, що динаміка та морфологія мітохондрій контролюється за допомогою міжорганельного зв'язку з пероксисомами. Пероксисоми дуже поширені у BAT, а за дії холоду їхня кількість та ферментативна активність збільшується в PGC-1 α -залежний спосіб. Пероксисоми регулюють структуру мітохондрій та їхню роль у термогенезі за допомогою плазмалогенів, які частково синтезуються в пероксисомах. Плазмалогени є підкласом гліцерофосфоліпідів і наявні в різних мембранах клітин, зокрема в мембранах мітохондрій. Попри те, що механізм регулювання мітохондріальних функцій плазмалогенів ще належить з'ясувати, плазмалогени захищають мітохондрії завдяки своїм антиоксидантним властивостям, а отже, запобігають перекисному окисненню поліненасичених фосфоліпідів.

Отже, для адаптації до низьких температур організми розвинули різноманітні стратегії, що ґрунтуються на метаболізмі ліпідів. Пойкілотерми, які не здатні підтримувати свою внутрішню температуру, використовують зміни жорсткості мембрани за допомогою складних датчиків текучості

мембрани і можуть змінювати властивості мембрани, щоб забезпечити виживання при дії холоду. Гомойотерми підтримують постійну температуру тіла, індукуючи термогенез у спеціалізованих жирових тканинах, щоб полегшити окислення ліпідів і вироблення тепла в мітохондріях.

Структурні та функціональні особливості білків теплового шоку (HSP) тварин

Серед багатьох молекулярно-біохімічних ознак, які сприяють термічній толерантності тварин, є білки теплового шоку (heat stress protein- HSP). HSP – еволюційно збережена реакція на стрес — служать для запобігання пошкодженню клітин та сприяють їхньому відновленню. HSP розпізнають конформації неприродних білків і полегшують їх згортання, розщеплення або видалення. Серед вивчених видів, висока експресія гена HSP пов'язана як з прямою реакцією на раптову спеку, так і з підвищеною стійкістю до хронічної спеки. Вважається, що клітини або тканини з більшою кількістю мРНК або білка HSP мають вищий рівень захисту від негативного впливу тепла порівняно з тими, у яких менша кількість HSP. Білки теплового шоку, які синтезуються в організмі тварин у відповідь на тепловий стрес, наведені в таблиці 3.3..1.

Таблиця 3.3.1.

Білки теплового шоку (HSP) тварин

Мол.маса, кДа	Основні функції	Локалізація в клітині
27-28	стабілізація мікрофіламентів; передача цитокінових сигналів	цитозоль та ядра
60	збирання білків	мітохондрії
70-73	процеси фолдингу та транслокації білків	цитозоль, ядра, ендоплазматичний ретикулум, мітохондрії
90	переміщення білків, рецепторна регуляція	цитозоль, ядра, ендоплазматичний ретикулум
100-104	згортання білка	цитозоль

Протягом останнього десятиліття зростає інтерес до вивчення HSP верблюдів з метою з'ясування їхньої потенційної ролі в термотолерантності. У людини до родини HSP70 входить тринадцять генів, які мають високу гомологію послідовності та структури, проте можуть відрізнятися або перекриватися за своїми функціями. Основні структурні особливості членів HSP70 у арабського верблюда включають N-кінцевий домен, який має АТФ-азну активність, середній домен і С-кінцевий домен (рис. 3.3.2. А).

До родини HSP70, окрім інших елементів, які індуюються, належать також білки, які експресуються постійно або неперервно. Науковці картували геномний кластер *Camelinae dromedarius*, який складається з трьох генів родини HSP70, а саме: HSPA1A, HSPA1L та HSPA1B (рис.3.3.2.А). Два картовані гени HSP70 містили елементи теплового шоку (HSE), необхідні для індукції теплового шоку, тоді як третій ген не містив жодної (HSE) послідовності. Порівняно з відповідними локусами інших тварин, кластер HSP70 у верблюдів виявився висококонсервативним і мав схожу організацію з іншими видами. Зокрема, два термоіндуковані HSP були розташовані тандемом, а третій конститутивний ген HSP70 – у зворотній орієнтації. З іншого боку, порівняння регуляторних послідовностей генів HSP70 у верблюда та інших ссавців виявило дуже консервативне розташування. Цікаво, що три гени HSP70 експресуються в крові та м'язах верблюда як за нормальних умов, так і за умов теплового стресу, що вказує на їхню потенційну термотолерантну роль.

Серед членів HSP70 великий інтерес викликає HSPA6 верблюда (рис.3.3.2.А). Після сильного стресового навантаження на клітину його експресія збільшується. Цікаво, що виділена кДНК верблюжого HSPA6 показала відмінності у послідовності між кДНК, виділеної з верблюда Саудівської Аравії, та кДНК, виділеної з верблюда Єгипту, що свідчить про існування природних варіантів членів HSP70 серед штамів арабських верблюдів. Молекулярне дослідження верблюжого HSPA6 (сHSPA6) показало,

що експресія його ізоформ у клітинах ссавців відрізняється від експресії гомолога HSPA6 людини (hHSPA6).

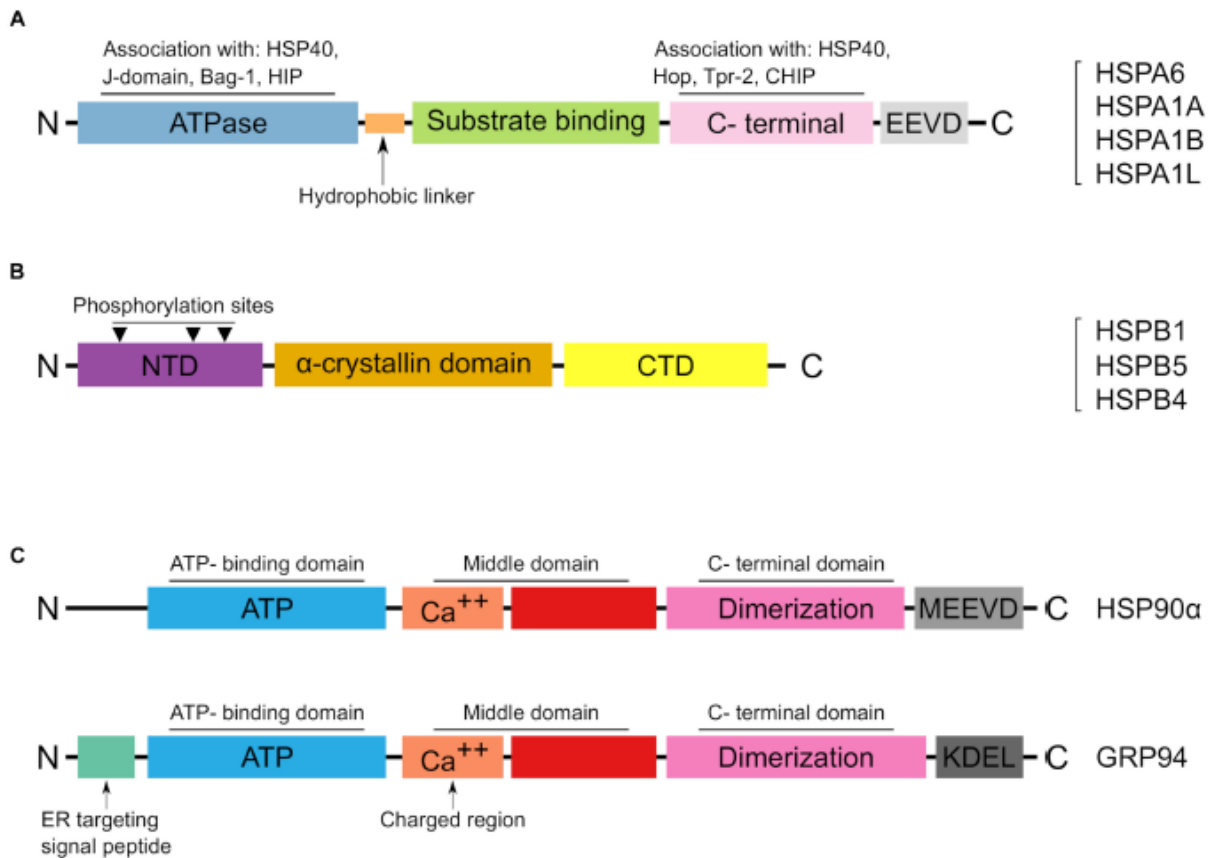


Рис. 3.3.2. Основні структурні особливості HSP арабського верблюда (*Camelus dromedarius*). (A) Схематичне зображення структурних доменів HSP70, охарактеризованих у *Camelus dromedarius*. Список ідентифікованих членів HSP70 в арабського верблюда показано праворуч. (B) Структурні характеристики білків HSPB у верблюдів. Подані послідовності білків високогомологічними до їхніх аналогів у людини і зберігають α-кристалічний домен, а також сайти фосфорилування. (C) Структурна топологія виявлених членів HSP90 у верблюда. На верхній панелі показано цитоплазматичний HSP90α, а на нижній – GRP94, локалізований в ендоплазматичному ретикулумі (ER). HSP90α відрізняється від свого ER-паралога відсутністю як ER-мішені, так і сигналів утримання, натомість він має С-кінцевий мотив MEEVD. (Hoter et al., 2019).

Нині у верблюда ідентифіковано два члени родини sHSPs (малі білки теплового шоку): HSPB5 або (α B-кристалін, CRYAB) та HSPB1 або HSP27 (рис.3.3.3.1.B). кДНК гена CRYAB верблюда та його амінокислотна послідовність показали високу схожість та ідентичність з генами людини та інших тварин. Фосфорилування цих ділянок MAPK-кіназою MKK6 потенціює цитопротекторну та шаперонову активність CRYAB в плані протидії стресу. Індукована експресія sHSPs у верблюда є тканинно-специфічною і залежить від часу. Порівняльний протеомний аналіз верблюдів та щурів показав виражену гіперекспресію CRYAB в серці верблюда, яка в сім разів перевищує експресію CRYAB в серці щура. Як наслідок, серце верблюда за дії стресу може використовувати мінімум енергії, щоб протистояти розпаду або агрегації білків. Ще одним результатом надмірної експресії CRYAB в серці верблюда є сприяння структурній цілісності та забезпечення додаткових захисних функцій від зневоднення та раптової регідратації в суворих умовах пустелі. Подальший протеомний аналіз горба арабського верблюда виявив надлишковий набір цитоскелетних білків, пов'язаних із жировою тканиною, таких як актин, тубулін і віментин, на додаток до білків теплового шоку, включно з HSP27 і HSP70. Ці цитоскелетні білки та білки теплового шоку забезпечують структурну цілісність і гарантують ефективну стійкість до теплового стресу та загальний білковий гомеостаз.

У *C. dromedarius* на молекулярному рівні охарактеризовано два представники HSP90. HSP90 α – цитоплазматичний шаперон, який індукується варіантами стресів і вважається основною формою. Кодуюча кДНК білка HSP90 α верблюда кодує білок з 733 амінокислотних залишків і має високу схожість та ідентичність з іншими білками HSP90 α ссавців. Порівняльний аналіз послідовності білка виявив понад 85 % ідентичності між верблюдом та іншими тваринами, зокрема великою рогатою худобою, кіньми, собаками, котами і людьми. Крім того, у верблюжого HSP90 α добре збереглася структурна будова родини HSP90, яка включає N-кінцевий домен, середній

домен та С-кінцевий домен із пептидним мотивом MEEVD. Основні структурні особливості верблюжого HSP90 показано на рисунку 3.3.2.С.

Другий член HSP90, описаний у арабського верблюда, – це ендоплазмін або глюкозорегульований білок GRP94. Цей резидентний супровідник ендоплазматичного ретикулуму (ER) є важливим членом механізму контролю якості ER. Він допомагає білковому згортанню поліпептидів, які синтезуються, зв'язує кальцій своїм кальційзв'язуючим доменом, взаємодіє з іншими шаперонами ER і спрямовує неправильно згорнуті білки на шлях деградації, пов'язаний з ER (ERAD). Цікаво, що ендоплазмін верблюда має 100 %-ву білкову ідентичність з ендоплазміном людини та понад 98 % з іншими близькими ссавцями. Як наслідок, структурні характеристики та посттрансляційні модифікації ER-шаперона подібні до людських. Наприклад, верблюжий GRP94 містить сигнальну послідовність на N-кінці, що складається з перших 21 амінокислотних залишків, яка відщеплюється котрансляційно для отримання зрілої форми білка. Крім того, cGRP94 містить класичні домени: N-кінцевий домен (NTD), кислий лінкерний домен (LD), середній основний домен (MD) та С-кінцевий домен (CTD). Висока білкова та структурна консервативність членів HSP90 серед ссавців, включно з верблюдом цікава і вказує на глобальне значення цих HSP у вищих еукаріотів.

Птахи можуть бути внутрішньо захищені від спеки за допомогою підвищеного виробництва білків теплового шоку (HSP), які запобігають пошкодженню та сприяють відновленню після теплового стресу. Дослідження природної варіації експресії генів *hsp70* і *hsp90* серед тканин і популяцій вільноживучих деревних американських ластівок (*Tachycineta bicolor*) показало, що мозок птаха має незмінно вищу експресію генів *hsp* порівняно з літальними м'язами. Виявлена вища експресія нейронного гена *hsp* у більш південних популяціях *Tachycineta bicolor*, ніж у північних. Найбільший градієнт в експресії *hsp* спостерігався при порівнянні популяції птахів, які жили на півдні Індіани порівняно з популяцією ластівок з Аляски.

У курей ген *HSP70* розташований на п'ятій хромосомі і має довжину кодуючої ділянки 1905 п.н. лише з одним екзоном. В цій області гена часто трапляються поліморфізми, що призводить до різних генотипів *HSP70*. Це явище сприяє тому, що кури по-різному переносять стресові фактори. *HSP70* захищає курчат-бройлерів від токсичного впливу тепла. Крім того, виявлено, що висока експресія білків теплового шоку (*HSP70*, *HSP60* і *HSP47*) може поліпшити життєздатність фібробластів курей-бройлерів. Також встановлено, що *HSP* мають антиоксидантні функції. Експресія *HSP70* може значно пом'якшити пошкодження слизової оболонки кишечника бройлерів під час теплового стресу. *HSP70* ефективно поглинає вільні радикали кисню, покращуючи дисбаланс окисно-відновної системи організму, зменшує пошкодження клітин вільними радикалами кисню у тканинах слизової оболонки та поліпшує проникність слизової оболонки кишечника, тим самим сприяючи ефективній підтримці структури та функції кишкового бар'єру.

Вивчення теплової толерантності птахів, зокрема реакції *HSP* на високу температуру показало, що експресія гена *HSP* вища у породі несучок, отриманої з більш теплого середовища, ніж у породі з прохолоднішого регіону. Крім того, експресія *HSP* відрізняється в різних тканинах як після гострої (24 години), так і після хронічної (8 тижнів) спеки.

Перебування в екстремальних середовищах іноді призводить до хронічної експресії генів *Hsp* та/або їхніх споріднених генів на додаток до індукованої стресом регуляції або замість неї. Наприклад, личинки антарктичної мошки *Belgica antarctica* конститутивно експресують *hsp90*, *hsp70* і невеликий *hsp* при оптимальних (4 °C) і субоптимальних температурах. Ані тепловий та холодний стрес, ані відновлення при 4 °C після стресу не змінюють експресію *hsp*. Антарктична нототеніюїдна риба, *Trematomus bernacchii*, також конститутивно експресує *Hsp70*, але не демонструє класичної реакції теплового шоку ні на рівні цілого організму, ні в ізольованих клітинах. Імовірно, БТШ забезпечують захист від конститутивно низькотемпературних антарктичних

середовищ існування. Подібне явище спостерігається на одному кінці мікрокліматичного градієнта. Морські равлики з роду *Lottia* живуть на скелястих берегах, відкритих для хвиль, де наявні градієнти частоти та інтенсивності термічного стресу та стресу висихання. У польових тваринах, акліматизованих до температури довкілля, види з високим припливним періодом мали вищі конститутивні рівні Hsp70, ніж види з низьким і середнім припливним періодом. Високий основний рівень Hsp70 може бути наслідком непередбачуваної спеки та висихання равликів.

У природних популяціях сарана з широти 18° стійкіша до спеки, але менш холодостійка, ніж сарана з широти 41°. Відповідно, низько- і високоширотна сарана відрізняється індукованою експресією *hsp70* і *hsp90*. Тепловий шок збільшує рівень експресії *hsp90* у сарани у високих широтах, але не у сарани в низьких широтах, і *навпаки* для холодового шоку.

Науковці встановили існування цілої суперродини генів *hsp70*. У гігантської устриці (*Crassostrea gigas*), у припливному виді, схильному до природного теплового стресу, виявлено 88 генів *hsp70* порівняно з 17 у людей і 39 у морських їжаків. Показано, що збільшення кількості копій у *C. gigas*, який піддався дев'яти стресовим факторам, корелює з надзвичайним посиленням регуляції *hsp70* порівняно з усіма 61 транскриптами.

Час реакції HSP на спеку варією залежно від досліджуваних тварин, зокрема у морських равликів (рід *Tegula*) – БТШ 90,77,70,38; ставковика звичайного (*Lytnaea stagnalis*) – *hsp40* і *hsp70*; китайської породи курей – *hsp90*. Навіть при дослідженні тварин у неволі, базова експресія деяких HSP може свідчити про толерантність до тепла серед різних популяцій, зокрема морської риби *Fundulus heteroclitus*, австралійських пустельних птахів. На рівні окремих особин також виявлені варіації в експресії HSP серед тканин, зібраних в один і той же момент в ендотермічних умовах у кіз, щурів і курей. Така варіабельність свідчить про те, що деякі тканини і, відповідно, функції, які вони забезпечують, можуть бути більш захищеними від спеки, ніж інші. Наприклад,

у домашніх кіз (*Capra aegagrus hircus*) експресія гена HSP70 вища в печінці та мозку порівняно з селезінкою та, що, ймовірно, свідчить про те, що метаболізм, поведінка або когнітивні функції можуть бути краще захищені від теплового стресу. Незважаючи на потенційні тканинні відмінності, експресія гена HSP стала в межах особини або популяції.

Отже, велика кількість HSP може дати розуміння механізмів термічної толерантності. Хоча існує багато HSP, які реагують на низку стресорів, гени в родинях HSP90 і HSP70 пов'язані з гіпертермією.

Стратегії та механізми адаптації до тепла та холоду у комах

Евритермія – здатність організмів до існування за різних температурних умов. Основою евритермії є можливість тварини пристосовуватися до змінених температурних умов – здатність до швидкої та повільної стійкої акліматизації. Комахи – ектотерми зі зниженою здатністю до терморегуляції свого тіла за різних температур від оптимальної до низьких і високих.

Стійкість комах до теплового стресу залежить від різних біохімічних речовин (нервові та сенсорні гормони) і фізіологічного механізму, який допомагає витримувати високу температуру довкілля. Тепловий стрес може порушити належне функціонування макромолекул, білків, мембранних ліпідів і ДНК, що призведе до денатурації та пошкодження клітин. Встановлено, що високі температури викликають кілька аномалій у структурі та властивостях ферментів комах, денатурують білкові структури та, зрештою, загибель клітин. Комахи поведуться по-різному щодо теплової адаптації та механізмів терморегуляції. Зазвичай ектотермічні організми або долають тепловий стрес або уникають його за допомогою поведінкової терморегуляції. Наприклад, попелиця для процесу розвитку та розмноження мігрує від теплового стресу. Різноманітні комахи, які нечасто змінюють географічне розташування, рятуються від спеки, потенційно вибираючи різноманітні мікросховища,

мігруючи до більш прохолодного мікробіотопу. Так, попелиця черемхова *Rhopalosiphum padi* уникає теплового стресу, знаходячи прохолодніше місце, наприклад у ґрунті. Потреба в поживних речовинах також відіграє життєво важливу роль у виборі мікробіотопів за різних температур. Наприклад, сарана *Locusta migratoria* L., яка відчуває дефіцит вуглеводів, переміщується до низьких температур, $\approx 32^{\circ}\text{C}$, натомість види з дефіцитом білків обирають мікробіотопи з вищою температурою – до 38°C . Поведінка комах, котрі будують сховища, – це ще одна адаптація для уникнення теплового стресу, світла, захисту від хижаків та регуляції механізмів свого організму. Встановлено, що тепловий стрес впливає на різні види метаболізму та життєвий цикл комах. Температура може впливати на швидкість розмноження, життєздатність потомства, розвиток і ріст личинок. Ступінь впливу безпосередньо залежить від тривалості теплового стресу, частоти й амплітуди надходження тепла. Коливання температури від низької до точки замерзання значно пригнічує механічні, поведінкові та фізіологічні механізми комах. Комахи не мають регуляторних механізмів для витримування несприятливих температурних коливань, які перешкоджають їх виживанню. Це може спричинити сильне зневоднення і зменшення кількості рідини в організмі. Вплив низьких температур на *Alphitobius diaperinus* призводить до окисного пошкодження, водночас як антиоксидантна система допомагає до певної міри відновити ушкодження. Коефіцієнти смертності двох видів комах – жовто-бурого мармурового клопа *Halyomorpha halys* і південного зеленого смердючого клопа *Nezara viridula* – знижувалися на 15 % з кожним підвищенням температури на один градус протягом зимового сезону. Популяційні показники рисового зеленого листоїда (*Cinicticeps nephotettix*) і *C. suppressalis* зростали впродовж зимівлі відповідно до кількості поколінь на рік. Аналогічно динаміка чисельності *L. acuta* коливалася з підвищенням температури на кожні 3°C .

Термореакція комах насамперед визначається за допомогою нейрогормонів, надалі медіатором виступає відповідна система контролю поведінки та метаболічні реакції імунної системи комах. Висока температура впливає на різні фізіологічні процеси комах, які усуваються за допомогою вироблення регуляторних гормонів. Втім, екстремальна температура сприяє виробленню біогенних амінів і нейромедіаторів, які контролюють і пригнічують тепловий стрес, регулюючи метаболізм. Антиоксиданти виробляються одразу ж як захисна реакція при підвищенні швидкості метаболізму та потребі в кисні, що допомагає упоратися з токсичними продуктами, утвореними в організмі. Життєво важливу роль у розвитку комах, тобто виживанні за нормальних та несприятливих умов навколишнього середовища, відіграють білки теплового шоку (HSP), запускаючи функціонування гомеостазу білкової структури. Різні види комах впадають у діапаузу – стан зниженої стійкості до стресу та фізіологічного пригнічення метаболізму, як правило, залишаються прив'язаними до однієї з фаз або стадій життя. Для виживання комах у суворих кліматичних умовах, під час стадії діапаузи генетичний рівень експресії HSPs і накопичення подібних білків може коливатися (збільшуватися, зменшуватися або не змінюватися). Тобто, генетичний рівень експресії HSPs працює однаково як під час стресу, так і під час діапаузи.

Різні види комах адаптували різні модифіковані стратегії імунної системи, щоб протистояти стресу. У безхребетних (молюски та ракоподібні) цю стійкість викликають гормони стресу. Комахи мають межі теплового стресу для нормального розвитку своїх життєвих стадій, а відхилення від критичної теплової границі впливає на ендокринну та нервову системи, що призводить до порушення життєдіяльності статевих залоз. Денатурації, спричиненої теплом, у комах вдається уникнути завдяки виробленню та стабілізації HSP. Наприклад, яйцеві та личинкові стадії комах під впливом короточасного теплового стресу запускають вироблення сахарози в організмі, яка відіграє життєво важливу роль

в опосередкуванні теплового шоку. Комахи з коротким життєвим циклом не здатні уникнути або відновитися після теплового пошкодження. Екстремальний тепловий стрес, який скорочує життєвий цикл комах набагато глибший. Протягом літнього та весняного сезонів більшість комах у віці, близькому до імаго, не витримують впливу спеки і гинуть. Втім, тепловий стрес не завжди призводить до високої смертності комах, але він все одно впливає на різні метаболічні функції, а саме фертильність з подальшим порушенням динаміки популяції та розселення комах з рідних місць.

Нейрогормони – головні регулятори всіх життєвих процесів і механізмів у комах і забезпечують відповідну стратегію боротьби зі стресовими факторами. Хоча види комах мають значні відмінності під час життєдіяльності, деякі нейронні гормони можуть впливати на всі життєві процеси та регулювати роботу важливих гормонів, а саме: гормонів линяння (екдистероїдів) та ювенільних гормонів (JHs, сесквітерпеноїдів). Пойкілотерми не здатні регулювати внутрішню температуру тіла в умовах теплового стресу і тому поступово отримують температурний стрес, що завлає значної шкоди їхній популяції. Вироблення нейрогормонів відбувається в нейросекреторних нейронах (НСН) головного мозку комах, а також у периферичних нейронах. Враховуючи мікросередовище проживання, екологічне середовище, різні життєві фази під час росту, популяцію та вид комах, їхня нервова система по-різному реагує на екстремальний тепловий стрес. Початкова температурна реакція починається з функціонування терморецепторних нейронів периферичної нервової системи. Ці терморецептори використовують відповідну стратегію для фізіологічних і поведінкових реакцій на фактори теплового стресу, таких як толерантність до тепла, термічна пам'ять, температурні преферендуми та термотаксис. Термочутливість у *D. melanogaster* показала, що термочутливі нейрони антени реагують на 0,5 °C, а у мурашки (*Atta vollenweideri*) терморецептор може відчувати найменші коливання температури 0,005 °C. Реакція терморецепторних нейронів залежить від

коливань концентрації основних йонів Mg^{+} , K^{+} , Na^{2+} і Ca^{2+} , а рух цих йонів через мембрану залежить від температури. Цей потік йонів сприяє вивільненню хімічних месенджерів, включно з біогенними амінами (серотонін, адреналін, октопамін, гістамін, дофамін, норадреналін і тирамін), пептидами (проторакотропний гормон, адипокінетик, проктолін, алатостатин і алатотропін), нейромедіатором ацетилхоліном і амінокислотами (глутамат і гамма-аміномасляна кислота), які контактують з кількома іншими нейронами в синапсах. Більшість комах (наприклад, мурахи, бджоли, таргани, метелики, сарана і цвіркуни) мають лише холодкові рецептори, які функціонують як температурні датчики, що переміщують їх до відповідного місця проживання. У дорослої особини *D. melanogaster* у кожному вусику є три теплові та три холодкові рецептори. Тепловий стрес виявляють терморецепторні нейрони (розташовані в передніх клітинах мозку) та у вусиках комах. У відповідь на зміну температури, вивільняються хімічні месенджери, такі як біогенні аміни, пептиди та амінокислоти, оскільки підвищення температури викликає потік йонів через мембрану нейронів. Ці хімічні месенджери відіграють роль нейромедіаторів та нейрогормонів, які далі взаємодіють з іншими нейронами для розвитку певних реакцій. Коли дріозофіла піддається екстремальному температурному стресу, біогенні аміни, *HSP* та нейроендокринні медіатори викликають стресову реакцію в організмі, яка служить захистом нервової системи та інших органів тіла від різного теплового пошкодження. Підвищення температури призводить до підвищення швидкості метаболізму комахи, а менший розмір тіла допомагає комахам зменшити швидкість метаболізму, щоб вижити. *Corypha allata* та передгрудна залоза виділяють високий рівень ювенільного та 20-гідроксiekдизонового гормонів через підвищення температури в гемолімфі, регулюючи стан діпаузи, а також різні інші метаболічні та поведінкові процеси.

Комахи здійснюють процес терморегуляції, збільшуючи втрату води випаровуванням через дихальні шляхи, змінюючи функції літальних м'язів та

забарвлення тіла за допомогою кутикулярного пігменту, а також своє місцезнаходження відповідно до теплового стресу та мігрують до прохолодніших місць проживання. Під час екстремальних температур комахи протистоять тепловому стресу, щоб уникнути виснаження енергії, і регулюють газообмін через трахейну систему, впадаючи в теплову кому (викликану метаторакальним ганглієм), стан, який є захисним і оборотним. У комах гістамін і родопсин також використовуються для сигналізації сприйняття температурних коливань і підвищення термостійкості комах. Після відчуття теплового стресу всі комахи передають теплову інформацію від нейронів терморецепторів до вторинних нейронів – теплових проєкційних нейронів (ТПН), які проєктуються на окремі сегменти мозку, наприклад протоцеребрум, бічні роги та грибні тіла. Нейросенсорні клітини отримують інформацію про температуру, щоб регулювати синтез нейропептидів, які впливають на фізіологію, поведінку та стадії розвитку комах. Коли комахи піддаються суворим температурним умовам, іноді через порушення функції рухових мотонейронів, порушується термотолерантність, і комахи не здатні шукати прохолодніші мікросередовища. При летальних температурах комахи проходять через зворотну стадію, яка називається комою, щоб уникнути максимального пошкодження клітин і відновити енергію, витрачену в процесі відновлення клітин. Ця коматозна стадія виникає внаслідок інтенсивного вироблення позаклітинних йонів калію, сконцентрованих у центральній нервовій системі (ЦНС), подібно до того, як це відбувається у хребетних тварин.

Основа генетичного захисту від теплової коми у *D. melanogaster* регулюється за допомогою гена живлення, який кодує залежну від циклічного гуанозин монофосфат (цГМФ) протеїнкіназу, яка контролює потік йонів кальцію в синапсах для захисту. Під час дії екстремальних температур у мігруючої сарани (*Locusta migratoria*) ЦНС видаляє і доставляє певну кількість вуглекислого газу і кисню через трахеї, що підтримується центральним

дихальним центром (vCPG), розміщеному в метаторакальному ганглії нервової системи. Втрати тепла збільшуються, щоб сприяти випаровуванню для регулювання температури тіла під час теплової коми.

У комах були виявлені чотири родини HSP: *Hsp60*, *Hsp70* і *Hsp90*. Зокрема, теплове загартування від високого до помірного у горохового листокоту, *Liriomyza huidobrensis* підвищило толерантність до високих температур і, зрештою, поліпшило експресію *Hsp70* та *Hsp20*. Ця індукована експресія генів через м'яке теплове загартування ефективно підвищує швидкість розмноження та термостійкість. HSP у комах також можуть відновлювати ушкодження клітин, спричинені охолодженням, на стадії регенерації.

У білокрилки (*Bemisia tabaci*) експресія генів у самців і самок відрізняється. Цікаво, що під час термічного стресу (годинна експозиція при 40 °C) експресія генів РНК *Hsp23* і *Hsp70* у самок білокрилки (*Bemisia tabaci*) підвищувала їх виживаність, натомість самці демонстрували меншу виживаність. *Hsp90* у білокрилки не відігравав значної ролі в уникненні теплового стресу як у самців, так і у самок. Показано, що антарктична нелітаюча мошکارа (*Belgica antarctica*), пережила свою дворічну личинкову стадію в австралійських зимах, а потім була перенесена в наземне середовище Антарктиди завдяки виробленню ефективних стратегій виживання. У *B. antarctica* під час температурного стресу послідовно утворюються HSP, що сприяє значній стійкості комах до високих температур.

У відповідь на глобальне потепління види комах розвинули адаптації у своїх HSP відповідно до географічного поширення. У бабок *Ischnura elegans*, які розширили свій ареал, чисельність популяції знизилася через надмірну експресію HSP після теплового стресу порівняно з основною популяцією. Ця надмірна експресія призвела до зниження адаптаційних стратегій для уникнення теплового стресу. HSP по-різному реагують на фактори градієнта висоти і географічної широти. Особи, які живуть на більших висотах і широтах,

демонструють нижчий рівень синтезу HSP порівняно з особами, які живуть на менших географічних широтах і висотах. Однак метелик *Lycaena tityrus* на більших висотах і широтах не демонструє нижчий рівень синтезу HSP порівняно з метеликами, які мешкають на менших висотах і широтах.

При температурних перепадах при метаморфозі від фази лялечки до фази імаго у *Grapholita molesta* рівень експресії HSPs (Hsp90, 70, 60, 40, 21 та 11) змінюється. Лялечки, які зазнали теплового стресу (38 °C, 6 год), показали високу експресію генів HSPs, яка після метаморфозу поверталася до нормального рівня. Досліджено експресію трьох генів HSPs (Lthsc70, Lthsp701 та Lthsp702) під час теплового стресу на різних стадіях розвитку селерової мінерки *Liriomyza trifolii*. Всі три гени експресувалися на різних стадіях розвитку, причому Lthsc701 виявився високочутливим до високих і низьких температур, тоді як Lthsc70 і Lthsp702 були менше чутливі до температурних коливань, але демонстрували різні патерни експресії. Вироблення HSP та антиоксидантів (термозахисних молекул) під впливом нелетальних, але стресових температур призводить до того, що нервова система швидко реагує на них, і імаго стає термостійким. Пластичність термотолерантності комах підвищується за рахунок гарячого та холодного загартовування через термічну акліматизацію.

Щоб уникнути пошкодження клітин під час теплового стресу, комахи використовують антиоксиданти, такі як глутатіон-S-трансфераза, супероксиддисмутаза, аскорбінова кислота та тіоли як фізіологічну реакцією на стрес. У популяції джмеля *Bombus vosnesenskii* у високогір'ї виявлено більшу кількість антиоксидантного проліну. Тепловий стрес індукує посилення регуляції генів HSPs у медоносних бджіл *A. mellifera*. *A. mellifera* та східна медоносна бджола (*A. cerana*) продемонстрували підвищений рівень активності ферментів детоксикації (ацетилхолін естерази AchE, карбоксил естерази CES та глутатіонтрансфераза GST), антиоксидантних ферментів (каталаза CAT, глутатіонредуктаза GSR, супероксиддисмутаза SOD,

глутатіонпероксидаза GPX) під час теплового стресу. У медоносних бджіл, які зазнали теплового стресу, вироблявся надмірний фосфопротеїну 1 (STIP1) та вітеллогеніну, які взаємодіють з Hsp70 та Hsp90.

Відповідно до скам'янілостей та історичних записів, а також експериментальних даних до та після зміни клімату доведено, що розмір тіла ектотермів, із підвищенням температури довкілля зменшується, що призводить до зміни швидкості їх метаболізму. Наприклад, жуки виростили з меншими розмірами тіла на 1–3 % з кожним підвищенням температури на 1 °C. Відповідно, очікується, що із підвищенням температури на 1,1–6,4 °C швидкість ектотермічного метаболізму зросте на 10–75 %. Згідно з порівнянням між видами комах, які дихають киснем розчиненим у воді та комах, котрі дихають повітрям, обмеження кисню, за дії більш високих температур, найчастіше трапляється у видів, які дихають розчиненим у воді киснем. У життєвому циклі деяких одноденок і комарів є стадія личинки, котра дихає у воді, і стадія імаго, яка дихає повітрям, що допомагає зрозуміти складний життєвий цикл і вплив теплового стресу на швидкість метаболізму. Зазвичай фізіологічні процеси (наприклад, розмноження, ріст і метаболізм) працюють в оптимальних температурних умовах, але загальна продуктивність знижується або підвищується за межами оптимального температурного діапазону. Вплив високих або низьких температур може призвести до пригнічення продуктивності, травмування, пошкодження і, зрештою, загибелі комах. Комахи можуть упоратися з цими стресовими умовами завдяки фенотиповій пластичності у зміні стану, форми, руху та рівня активності.

Екстремальні температури можуть змінювати різні механізми, такі як денатурація білків під впливом тепла та заморожування води при екстремально низьких температурах. Порівняння розвитку від яйця до імаго між режимом флуктуаційної акліматизації (FAR) та режимом постійної акліматизації (CAR) показало підвищену толерантність до холоду у *Drosophila melanogaster*, толерантність до тепла у дрозофіл, а також у метеликів-лускокрилих (Lycaenid).

За допомогою аналізу протеомних даних у *D. melanogaster*. були досліджені механізми акліматизації. Показано, що базальний механізм метаболізму при високих температурах пригнічує регуляцію білків протеасоми. Мухи, акліматизовані до високих температур мають 258 унікальних білків – протеасом, які можуть відновлювати окислені або структурно пошкоджені білки, натомість у мух, акліматизованих до низьких температур, було лише 38 унікальних білків.

Стратегії та механізми адаптації до тепла та холоду у комах різьчє відрізняються. Нещодавні дослідження показують, що акліматизаційні реакції на екстремальну спеку неефективні, щоб упоратися з високими температурами. Реакція акліматизації є раптовою і значною в умовах екстремального теплового стресу, однак не доведено, що ця реакція важлива для стійких переваг, пов'язаних із пристосованістю в наступних поколіннях комах. Трансгенераційна пластичність (материнські та батьківські ефекти) може впливати на термостійкість комах на стадії личинки. Постійна генетична варіація або мутація *de novo* призводить до виникнення чітких генетичних адаптацій до теплового стресу. Виявлена важливість мутацій *de novo* у комах за дії теплового стресу: у *D. simulans* мутації *de novo* спричинили генетичну варіацію для розвитку адаптивної реакції. Під час високих температур локально адаптовані популяції, пов'язані з іншими популяціями через вторинні контакти, утворювали змішані популяції, які могли прийняти нові стратегії, щоб упоратися зі спекою.

Фізіолого-біохімічні механізми адаптації водних пойкилотермних тварин до температури довкілля

Для величезної більшості пойкилотермних тварин період похолодання та зниження температури середовища до 0 ° C і нижче веде не тільки до холодого заціпеніння, що припиняє рухову активність, але і різко знижує

енергетичний обмін. Водночас це холодове заціпеніння значною мірою залежить від попередніх температурних умов. Установлено, що попередня адаптація до холоду комах (імаго та у личинкових стадіях) протягом одного дня призводить до значного зниження температурного порога, при якому настає холодове заціпеніння. У процесі температурної адаптації (теплової і холодової) змінюється не тільки температура холодового заціпеніння, але і летальна температура.

Якщо тварину, адаптовану до високої температури, помістити в умови нижчої температури, то в новому середовищі споживання кисню організмом зросте. З іншого боку, під час перенесення тварини з холоду в тепло споживання кисню після визначеного періоду зменшується. Проте у деяких видів не спостерігається змін окисних процесів при температурній адаптації. Риба (*Scorpaena porous*) і комаха тополевий листогриз (*Melasoma populi*) не змінюють рівня обміну речовин після температурної адаптації. Але найчастіше спостерігається інший тип адаптації: підвищення чи зниження споживання кисню при дії іншої температури.

Рівень споживання кисню – як підвищений, так і знижений зберігається після закінчення процесу адаптації. У краба (*Pachygrapsus crassipes*), адаптованого до трьох різних температур середовища, при адаптації до високих температур споживання кисню виявляється підвищеним, ніж при адаптації до низьких. У такий же спосіб адаптуються черви, молюски *Helix fluviatilis*, *Ancylus fluviatilis*, ракоподібні *Emerita talpoida* і *Astacus fluviatilis*, комахи *Periplaneta americana* та інші пойкилотермні організми.

Серед риб вищезазначений тип адаптації має *Lampetra fluviatilis*. За однакової температури води морська риба *Tautoglabrus adspersus* споживає узимку більше кисню, ніж улітку. У рептилій немає видових особливостей адаптації до холоду, і тому їх поширення на північ обмежується від 52° до 66° широти в північній півкулі і до 44° – у південній. Температурний фактор обмежує поширення окремих видів рептилій і амфібій на північ, при цьому

індивідуальної та популяційної адаптації в них знайти не вдається. Температура близько $+15^{\circ}\text{C}$ – нижня межа активності для видів, котрі живуть на Алясці.

Мігруючі риби з широким ареалом проживання, як правило, добре пристосовані до змін температури навколишнього середовища, проте механізми, що лежать в основі цієї толерантності до змін, можуть відрізнятися між видами або навіть у межах одного виду. Смугастий окунь (*Morone saxatilis*), який є об'єктом рекреаційного та промислового рибальства – один із таких розповсюджених видів риб, який має широку температурну толерантність. Осетрові є ще однією групою мігруючих риб, котрі мають економічне значення і чималий температурний діапазон, з цікавою приглушеною кортизоловою реакцією на стрес, що є рідкісним явищем для риб. Вивчалися фізіологічні та транскриптомні реакції цих мігруючих, немодельних видів риб на підвищення температури. Показано, що смугастий окунь має вражаючу здатність витримувати високі температури з незначними змінами в гематології. Транскриптомні аналізи свідчать про те, що різноманітний набір білків теплового шоку (HSP) у м'язових тканинах, ймовірно, відіграє важливу роль у толерантності смугастого окуня до теплих вод, як після гострого, так і після хронічного впливу. Аналіз фізіологічних змін та зміни експресії генів у м'язах двох видів осетрових (севрюги та атлантичного осетра; *Acipenser brevirostrum* та *A. oxyrinchus*, відповідно) після різкої зміни температури виявив, що ці два види осетрових мають помітно різну реакцію на зміну температури: у атлантичного осетра відбувається багато транскриптомних змін при незначному підвищенні кортизолу, а у коротконосого – навпаки (підвищення кортизолу; незначні зміни в експресії генів). Отже, виявлено варіабельну природу того, як риби справляються зі зміною температури (наприклад, виражена реакція HSP у смугастого окуня проти майже відсутньої у осетра).

Теплостійкість клітин і тканин пойкилотермних тварин тісно пов'язана з ареалом видів і з фізіологічним станом організму. Привертає увагу розмаїтість

теплостійкості клітин пойкилотермних організмів на ранніх стадіях ембріонального розвитку. Зокрема, виявлено певні факти відповідності між теплостійкістю окремих тканин і клітин (збудливість соматичних м'язів, миготливого епітелію, рухливості сперматозоїдів) та температурою тіла в природі температурному преферендуму для двох видів жаб – *Rana temporaria* і *Rana lidibunda*.

Організми розробили різноманітні стратегії, основані на метаболізмі ліпідів, щоб адаптуватися до холодного середовища. Пойкілотерми, які не в змозі підтримувати свою внутрішню температуру, покладаються на вимірювання змін жорсткості мембрани за допомогою складних датчиків текучості мембрани та можуть відрегулювати властивості мембрани, щоб забезпечити виживання під час впливу холоду.

Зниження температури навколишнього середовища у пойкилотермних організмів, ймовірно, спричинить підвищення рівня ліпідів у мембрані. Коли температура довкілля пойкилотермних тварин знижується, спостерігається низка змін у ліпідах їхніх мембран (табл.3.3.2), співмірних зі спробою підтримувати порядок ліпідів на фізіологічно сприятливих значеннях. Отже, такі зміни розглядають як адаптацію, хоча в деяких випадках вони можуть бути випадковими та зумовленими такими факторами, як наявність кисню, котрий також змінюється зі зміною температури навколишнього середовища. З різноманітних змін, які спостерігалися, найпоширеніші збільшення ненасиченості жирних кислот.

Добові зміни температури метаболічно складні, особливо для невеликих пойкилотермних тварин. Вони розвинули процеси фізіологічної адаптації насамперед для своїх мембран. У пойкилотермних ліпідний склад мембрани змінюється для підтримки оптимальної текучості мембрани, критичної для належного функціонування мембран в умовах низьких температур. Такий процес збереження фізіологічного стану мембран у холодному середовищі відомий як гомеовіскозна адаптація.

**Зміни в складі мембрани, які спостерігаються під час впливу
низьких температур на пойкилотермних тварин**

Перекроювання видових особливостей мембран	Швидкі зміни, пов'язані з обміном ацильних ланцюгів між ліпідами або всередині ліпідів
Вкорочення ланцюга	Може бути досягнуто через укорочення існуючих ланцюгів або синтезу продуктів, коротших за звичайні. Не дуже поширений
Зміни в ліпідному складі	Часто спостерігаються зміни в ліпідному складі. Деякі з них можуть бути адаптивними
Змінюється співвідношення ліпідів і білків	Зазвичай це співвідношення помітно збільшується при низьких температурах через відносне підвищення біосинтезу ліпідів

Така адаптація забезпечує виживання при низьких температурах пойкилотермних видів, включно з нематодами і мухами. Зазвичай це призводить до збільшення вмісту ненасичених жирних кислот у фосфоліпідах мембрани, яке сприяє текучості мембрани та нейтралізує ефект охолодження, що зміцнює мембрану. Однак зміни в мембранах, які збільшують їх текучість, складні і також залежать від складу жирних кислот, довжини їхнього ланцюга та модифікацій їх головних груп.

**Біхімічні та молекулярно-генетичні механізми акліматизації до холоду
пойкілотермних тварин**

Оскільки в усіх пойкилотермних тварин має місце підпорядкованість життєвих процесів температурним умовам середовища, дослідження холодового заціпеніння має не тільки велике теоретичне, але й практичне значення та допомагає встановити вплив температурного фактору середовища на основні процеси – живлення, розмноження та розселення.

Холодна акліматизація передбачає великомасштабні транскрипційні зміни за межі канонічних генів стресу, що свідчить про складну молекулярну регуляцію цього процесу. Наприклад, у звичайної плодової мушки *Drosophila melanogaster* приблизно одна третина транскриптома під час холодної акліматизації експресується диференційовано. Незважаючи на таку складність, порівняння транскриптомів різноманітних комах має кілька спільних ознак. Наприклад, акліматизація до холоду часто змінює експресію йонорегуляторних генів та/або аквапоринів для підтримки осмотичного балансу під час тривалих періодів холоду. Така підтримка йонного балансу – одна з основних фізіологічних проблем, пов'язаних як з низькою температурою, так і з утворенням в клітині льоду. Ці класи генів також беруть участь у локальній адаптації до низьких температур, про що свідчить той факт, що гени, пов'язані з транспортом йонів і нервово-м'язовою структурою та функцією, по-різному експресуються в популяціях джмелів, які мають різні критичні температурні мінімуми. Іншим добре встановленим механізмом, пов'язаним із зимостійкістю, є синтез кріопротекторів. На генному рівні діапауза та холодова акліматизація можуть призвести до диференційованої експресії генів, які сприяють гліколізу, глюконеогенезу та синтезу кріопротекторів. Так, у цвіркуна *Gryllus veletis* внаслідок холодної акліматизації експресія генів, котрі кодують транспортери кріопротекторів, підвищується, ймовірно, щоб полегшити поглинання кріопротекторів тканинами, але експресія генів, залучених до синтезу кріопротекторів, не змінюється. Третя загальна риса акліматизації до холоду охоплює цитоскелетні перебудови та супутні зміни в експресії генів, таких як актин, імовірно, для підтримки клітинної структури за низької температури.

Для деяких видів, адаптованих до холоду, сезонне виробництво спеціалізованих білків, які зв'язують лід, може сприяти посиленню толерантності до холоду. Ці білки зазвичай секретуються в гемолімфу для контролю утворення льоду та підвищують морозостійкість через:

(а) запобігання росту кристалів льоду для стабілізації точки переохолодження;

(б) утворення зародків льоду для сприяння контрольованому росту кристалів льоду;

(в) інгібування льоду кристалічна рекристалізація.

Незважаючи на те, що ці дії здаються суперечливими, їх потрібно інтерпретувати відносно стратегії холодостійкості видів, у яких вони відбуваються. Наприклад, запобігання росту кристалів льоду є у видів, які уникають замерзання, до прикладу – ялинова листокрутка, *Choristoneura fumiferana*. Останні два механізми можуть поліпшити виживання морозостійких видів, таких як вогняний жук *Dendroides canadensis*. У всіх випадках ці білки діють з високою активністю при відносно низьких концентраціях.

Механізми швидкого холодового заціпеніння комах. Реакція на холодний стрес динамічна, і існує багато молекулярних змін, які відбуваються як під час, так і після холодового стресу. Швидке заціпеніння від холоду — це тип швидкої пластичності, котрий дає змогу комахам швидко адаптувати фізіологію під час раптового холоду. На відміну від поступової холодної акліматизації та діпаузи, швидке холодове заціпеніння, здається, діє за відсутності масштабних змін у експресії генів. Як зазначалось вище, однією з основних причин фізіологічної травми під час холодового стресу є деполяризація мембрани з подальшою йонною дисрегуляцією. Однак у контексті швидкого заціпеніння (тобто легкий холод перед сильнішим холодом) комахи використовують ці рухи йонів, щоб викликати захисні реакції. Охолодження, яке спричиняє заціпеніння комах, викликає поступовий приплив внутрішньоклітинного кальцію, а блокування надходження кальцію або інгібування білків, котрі сприймають кальцій, запобігає заціпенінню. Цікаво, що надходження кальцію також відповідає за загибель клітин на холоді, і, отже, ступінь надходження кальцію визначає, яка відбудеться на холод реакція — захисна чи шкідлива. Холод також призводить до швидкої активації

мітоген-активованої протеїнкінази, яка передає сигнали стресу гену p38. Використовуючи підхід фосфопротеоміки, науковці ідентифікували кілька білків, які диференційно фосфорилуються на холоді. До них належать білки цитоскелета, білки теплового шоку, сигнальні білки та білки, що беруть участь у метаболізмі ліпідів. Отже, посттрансляційні модифікації, такі як фосфорилування, стануть важливим фізіологічним регулятором під час гострого низькотемпературного стресу, коли транскрипція та трансляція неможливі.

Механізми відновлення комах після холодового стресу. Хоча експресія генів відіграє лише незначну роль при сильному холодовому стресі, проте під час відновлення спостерігаються численні зміни експресії генів. Наприклад, у м'ясної мухи *Sarcophata bullata* приблизно 10 % транскриптома диференційовано експресується через 2 години після сильного холодового шоку, а в личинок *D. melanogaster* приблизно 2 % генів залишається диференційовано експресованим через 24 години після дії холодового стресу. Як і під час підготовки до холоду, так і при відновленні після холодового стресу, білки теплового шоку експресуються надмірно, що вказує на те, що цей клас генів відіграє важливу роль як у підготовчих процесах, так і в процесах відновлення. Однак у медоносної бджоли *Apis cerana cerana*, хоча два білки теплового шоку посилено синтезуються при відновленні після холодового стресу, більшість з HSP знижується. Виявлена відмінність вказує на те, що реакція білків теплового шоку на холод видоспецифічна. У *D. melanogaster* зниження експресії білків теплового шоку 22 і 23 кДа погіршує відновлення метаболізму білків у клітині. Це свідчить про те, що відновлення білкового гомеостазу має вирішальне значення для успішного відновлення організму після холодового стресу.

Процес відновлення життєдіяльності комах після холодового стресу також викликає експресію імунозалежних генів. Це можна пояснити тим, що за дії холоду комахи сприйнятливіші до патогенів. Окрім змін у експресії генів,

відновлення після холодового стресу включає нейроендокринні сигнали. У *D. melanogaster* нейропептид САРА накопичується під час холодового стресу та вивільняється при відновленні. Нокдаун транскрипту, який кодує САРА, збільшує період відновлення. Процеси, котрі активуються під час відновлення після холоду, також, ймовірно, відповідальні за сприятливий вплив коливань теплових режимів (тобто повторюваних циклів охолодження та нагрівання) при тривалому охолодженні. Дослідження свідчать, що відновлення після холодового стресу динамічні і, ймовірно, є недооціненим аспектом боротьби із зимовими умовами.

Отже, температура середовища впливає на функціонування протоплазми в пойкилотермних організмів, що пов'язано з цілісністю її білкових комплексів. Однак в цілісному організмі індивідуальна адаптація до різних температур середовища залежить не тільки від безпосереднього термічного впливу на клітини і тканини, а й стану гормональної та нервової систем.

Фізіолого-біохімічні та молекулярно-генетичні особливості термічної адаптації у гомойотермних організмів

Фізіологічні механізми терморегуляції гомойотермних організмів містять зміни швидкості процесів теплоутворення та тепловіддачі. Велику роль у підтриманні термічного гомеостазу відіграють різні за складністю реакції поведінки – як наближення чи віддалення від джерел тепла або холоду, зміна температурної зони (відхід у тінь, у нору, вихід на сонце, скупчення особин (одного чи різних видів), так і складніші – будівля гнізд, нір тощо.

Хоча найкращим захистом від теплового стресу є, мабуть, уникнення високих температур, тварини розробили низку механізмів подолання спеки, коли її неможливо уникнути. Як наступна лінія захисту, тварини ініціюють поведінку розсіювання тепла, наприклад дихання або розправлення крил у птахів; і вони також віддають тепло через дзьоб або ноги. З фізіологічного

погляду птахи можуть зменшити вплив тепла навколишнього середовища через факультативну гіпертермію, яка зменшує температурний градієнт між температурою навколишнього середовища та внутрішньою температурою, або вони можуть ініціювати вибіркове охолодження деяких критичних тканин, таких як мозок. Проте в якийсь момент тепло починає згубно впливати на організм. Наприклад, це негативно впливає на рухову функцію, частково через уповільнення швидкості скорочення м'язів. Високі температури також порушують процес розмноження, наприклад, змінюючи профілі запахів, які впливають на вибір партнера, або посилюючи аномалії сперматогенезу. Крім того, спека погіршує когнітивні функції, зокрема розрізнення пісень у птахів, пам'ять як у мишей, так і у людей.

Аравійський верблюд (*Camelus dromedarius*) добре пристосований до екстремальних температур та посушливих умов пустелі, також відомий як горбатий верблюд, є унікальною великою твариною, котра належить до родини верблюдових (*Camelidae*). Сукупність анатомічних, фізіологічних і поведінкових критеріїв відіграє важливу роль у адаптації верблюдів протистояти зневодненню, тепловому стресу та іншим суворим умовам довкілля. Зокрема, у горбатих верблюдів горб заповнений жиром. Високий уміст жиру в горбах верблюда слугує запасом енергії, який використовується в періоди обмеження їжі. Ніздрі верблюда мають м'язову природу, що дає йому змогу повністю контролювати їх відкриття і закриття, уникаючи у такий спосіб вдихання піску під час піщаної бурі. Ноги верблюда мають товсті шкірясті ступні, які широко розправляються при ударі об землю, не даючи тварині зануритися в теплий пісок. Серед цікавих внутрішніх анатомічних особливостей у верблюдів є унікальна структура водного мішка в шлунку, який слугує для зберігання води. Анатомічне розташування або розподіл артерій і вен верблюда допомагає зменшити високу температуру крові, що досягає мозку, захищаючи тварину від потенційного пошкодження мозку – механізм «вибіркового охолодження мозку». З іншого боку, багато фізіологічних і

поведінкових аспектів сприяють акліматизації арабських верблюдів до екстремальної спеки пустелі. Механізм адаптивної гетеротермії, виявлений у арабських верблюдів, допомагає їм підтримувати температуру тіла в діапазоні від 34 до 42 °С, мінімізуючи потовиділення і уникаючи втрат води через випаровування. Крім того, верблюди зазвичай притискаються один до одного, щоб охолодитися, оскільки температура їхнього тіла часто нижча за температуру повітря довкілля. Більше того, в лежачому положенні грудна клітка верблюда набуває форму тарілки, що забезпечує кращу циркуляцію повітря. Крім того, нирки верблюдів здатні ефективно виводити висококонцентровану сечу, що дає їм змогу добре переносити високі концентрації солі. Серед інших фізіологічних особливостей - здатність верблюдів випивати величезну кількість води, до 200 літрів за один раз, щоб компенсувати втрату рідини.

Як пустельні тварини, аравійські верблюди піддаються тривалому тепловому стресу, що вимагає ефективних клітинних і молекулярних захисних механізмів. Еритроцити верблюдоподібних мають екзотичну еліптичну форму, що, ймовірно, полегшує їх рух у кровоносних судинах у зневоднених тварин. Більше того, тромбоцити верблюда порівняно з тромбоцитами людини можуть витримувати високі температури 43–45 °С. Навіть вища температура 50 °С, яка руйнує людські тромбоцити, має незначний вплив на клітини верблюда і критично не порушує їхню функцію. У еритроцити верблюда специфічний мембранний фосфоліпідний склад, що робить їх еластичнішими і допомагає їм витримувати високі осмотичні перепади без розриву навіть у випадках швидкої регідратації. Більше того, антитіла *Camelinae dromedarius* складаються з димерних важких ланцюгів, у яких відсутні легкі ланцюги, проте вони демонструють широкий антигензв'язуючий спектр.

Порівняльний аналіз геному дромадських верблюдів *C. dromedarius*, *C. bactrianus* та альпака (*V. pacos*) показав, що у *C. dromedarius* виявлено посилений енергетичний і жировий обмін, збільшення запасів води, поліпшення

сольового обміну, осморегуляції та реабсорбції натрію. Більше того, гени, пов'язані зі стресом, такі як гени, які відповідають за пошкодження та репарацію ДНК, апоптоз, стабілізацію білків та імунну відповідь, виявилися здатними до прискореної еволюції порівняно з їхніми гомологами у великої рогатої худоби. Однак більшість генів, пов'язаних зі стресостійкістю, були ідентифіковані у *Camelinae dromedarius*, що свідчить про ефективну адаптацію *C. dromedarius* до пустельних умов Ірану. Молекулярний аналіз HSP в лімфоцитах верблюда виявив сильну індукцію HSP73 під впливом теплового стресу, тоді як конститутивно експресований HSP75 не був індукований однаковою мірою при такому ж температурному впливі.

Встановлено, що за низьких температур середовища, сумісних із життям певного виду, його газообмін і теплопродукція підвищені. Проте під час переходу до вищих температур теплопродукція знижується і за певної температури (для різних видів ссавців від 5-6 °C до 33-35 °C) досягає найменших величин. Отже, температуру середовища, при якій виявлено найменший обмін речовин у спокої, називають критичною точкою.

З подальшим підвищенням температури середовища газообмін починає зростати як завдяки задіянню механізмів фізичної терморегуляції (поліпное, рясного потовиділення), так і внаслідок підвищення температури тканин тіла. У тварин із значно вираженим поліпное, яскраво проявляється критична точка обміну речовин. У тварин, які не мають поліпное (непарнокопитих, мавп) критична точка виражена слабо і замінюється досить великою (до 15° C) зоною постійного рівня обміну речовин. За подальшого підвищення температури середовища і температури тіла газообмін починає підвищуватися, що пов'язано з явищами перегрівання. За дуже низьких температур середовища і охолодження тіла газообмін може знижуватися, що супроводжується значним зниженням температури тіла і може знаменувати настання гіпотермії.

Водночас реакція обміну речовин на граничне охолодження однотипна для різних видів птахів і ссавців. Виявлено, що швидкість охолодження тварин

крижаною водою залежить від площі поверхні тіла, теплоізоляції тощо, та визначає час найбільшого підвищення обміну речовин.

У тварин, котрі живуть в умовах низьких температур, критична точка нижча, ніж у мешканців місць із вищою температурою. Зниження критичної точки спостерігається у водних ссавців – нутрій, ондатр.

Виявлені певні особливості у розвитку хімічної терморегуляції гомойотермних тварин. Зокрема, існує зворотній зв'язок між еволюційним розвитком тварин і значенням хімічної терморегуляції. Так, у їжаків спостерігається 3–4-кратне підвищення обміну за низьких температур (5 °C) порівнянно з обміном при 25 °C. У більш високоорганізованих гризунів – дворазове підвищення обміну, а в хижих, зокрема собак, – тільки в 0,7-0,8 разу.

Немає прямої залежності між інтенсивністю хімічної терморегуляції та стійкістю організму до холоду.

Підвищення інтенсивності обміну речовин і хімічної терморегуляції під час переходу з півдня на північ не поширюється на організми, котрі живуть за Полярним колом. Полярні тварини, яким важко діставати корм в умовах зими, не могли б існувати, якби за низьких температур різко збільшувався їх обмін речовин. Наприклад, узимку на узбережжі Льодовитого океану пелі не добувають подвійної кількості їжі, а задовольняються харчуванням, зменшеним порівнянно з літнім. Звідси винятково тепле хутро — пристосування, яке обмежує підвищення обміну речовин за дії холоду.

Хімічна терморегуляція добре виражена у тварин, котрі живуть у середніх широтах у континентальному кліматі, тоді як у тварин тропіків чи Крайньої Півночі – слабо.

Велику роль в інтенсивності реакцій обміну речовин на охолодження відіграє теплоізоляція шкірних покривів (хутро і підшкірний жировий шар), які різко зменшують реакцію на охолодження. Однак тільки цей фактор не може пояснити своєрідності хімічної терморегуляції ні в зимовий період, ні в умовах Арктики.

Незважаючи на те, що в окремих видів виникли характерні риси пристосування до певних кліматичних районів, деякі з них мають дуже велике географічне поширення, не обмежене певною кліматичною зоною. До евритермних організмів серед птахів і ссавців належать: хатній горобець, сіра ворона, багато гризунів (сірий пацюк, сірий хом'ячок), червона лисиця, заєць-русак, вовк та ін. Виявлено особливості терморегуляції у тварин, адаптованих до континентального клімату, з добовими перепадами температури до 30–32 °С, що призводить до формування відповідних реакцій терморегуляції. Тварини, які там живуть (лисиця-караганка, степовий тхір і ін.), пристосовані до будь-яких температур зовнішнього середовища завдяки надзвичайно рухливій реакції обміну речовин – хімічної терморегуляції та поліпное. Ці реакції обміну і їх рухливість здійснюються за рахунок надзвичайно швидкого утворення умовних рефлексів, їх швидкого диференціювання та згасання.

Тварини при тривалих чи повторних охолодженнях підтримують підвищений рівень обміну при одночасному зниженні м'язової активності, завдяки нескорочувальному термогенезу. Під час адаптації до холоду зростає кровотік у внутрішніх органах і жировій тканині. Королівський пінгвін (*Aptenodytes patagonicus*) в спокої має швидкість метаболізму на 83 % вищу у воді, ніж у повітрі.

Нескорочувальний термогенез яскраво виражений у ранньому постнатальному періоді (дослідження на морських свинках) і пов'язаний з розвитком бурої жирової тканини в міжлопатковій ділянці. Надалі у нормальних умовах розвитку тварини він замінюється скорочувальним термогенезом, а при холодовій адаптації знову виявляється. Існує такий розподіл скорочувального термогенезу в організмі: найбільшу електричну активність під час охолодження проявляють м'язи шиї, жувальні, частково спини і передніх кінцівок. М'язи задніх кінцівок втягуються в теплорегуляційну активність останні під час дуже інтенсивного охолодження. У цю схему, характерну для всіх ссавців, необхідно ввести поправку для водних

організмів (нутрія, ондатра), у яких найбільша реакція спостерігається в м'язах спини і кінцівок, тобто тих, котрі безпосередньо піддаються охолодженню у воді. У гризунів теплорегуляційний тонус виражений відносно слабо; під час охолодження він замінюється в жувальних м'язах активними м'язовими скороченнями.

Відсутність значної реакції терморегуляції при короткочасних змінах температури характерна для всіх гомойотермних організмів. Помітну зміну реакції терморегуляції можна спостерігати при орієнтувальній реакції тварин (різке охолодження), емоційне подразнення. Дуже важливе місце в регуляції тепловіддачі має легеневе дихання – його різке прискорення при впливі на організм тепла й уповільнення при впливі холоду. Реакція дихання, тобто поліпное, — надійний критерій «напруги терморегуляції», тому що з'являється тоді, коли можливості регулювання температури тіла зниженням обміну виявляються вичерпаними.

Під час зниження температури середовища у гомойотермних тварин, спостерігається поглиблення та зменшення частоти дихання. Це ніби зворотна реакція термічному поліпное. Вона зводить до мінімуму втрати тепла випаровуванням з поверхні легень і веде до підвищення коефіцієнта утилізації кисню в легенях. Віддача тепла легенями – зміна частоти і глибини дихання – за високих температур особливо виражена в хижаків, хоча поліпное спостерігається й у всіх інших ссавців. Немає поліпное тільки у мавп, непарнокопитих, а також людини. Встановлені певні відмінності між особливостями перебігу поліпное у ссавців різних рядів. Так, поліпное хижаків виражено різкіше; дихання дуже поверхневе, його частота зростає до 600 подихів на 1 хв. Однак у хижих поліпное не може продовжуватися тривалий час, оскільки вимагає великої витрати енергії та призводить до перегрівання. У великої рогатої худоби, овець, кіз поліпное може продовжуватися всю жарку частину дня й особливо посилюється при інсоляції. Для жуйних при поліпное характерне посилення теплоутворення в міжреберних м'язах, що компенсується

тепловіддачею; отже, кров, яка рухається до шкіри, у великій кількості проходить через міжреберні артерії в міжреберні м'язи з наступним розгалуженням у шкірі на спині та на боках (тип «чудесної» мережі).

При різких термічних впливах спостерігаються дуже яскраві прояви судинної регуляції, особливо в людини. Останнім часом встановлені і спеціальні механізми – «теплообмінники» кінцівок. При цьому артерія, оточена венами, віддає тепло у венозну кров і так залежно від просвіту вен нагріває саму кінцівку. Такі «теплообмінники» є у певних органах тварин (хвіст у гризунів, кінцівки у морських ссавців, вуха у жуйних).

Метаболічна реакція під час охолодження починається лише після того, як вичерпані можливості фізичної терморегуляції, зокрема і теплоізоляції, судинної реакції.

Кліматичні особливості Арктики й Антарктики з надзвичайно низькою середньорічною температурою, тривалою зимою та зовсім коротким літом створюють зовсім особливі умови існування гомойотермних організмів. Температури тіла в полярних тварин (песця, полярного зайця-біляка) стали з різницею у 80 °C між внутрішньою температурою тіла і довкіллям. Встановлено сталість температури тіла у деяких полярних видів (лисиці) навіть в умовах сильних холодів (до -25 °C). При цьому виявилось, що в умовах значного охолодження теплопродукція не підвищується. Тривалість виживання при інтенсивному охолодженні залежить від теплоізоляції, яка створюється хутряним і пір'яним покривом тварин. Від цієї теплоізоляції залежить і інтенсивність підвищення обміну речовин під час охолодження. В арктичних тварин підвищення обміну спостерігається тільки за дуже низьких температур середовища: у ласки, ховрашка і лемінга за -15 -18 °C і нижче; ескімоського собаки -24 °C; песця -40 °C; білого ведмеда -50 °C. Винятково стала температура тіла спостерігалася як у стані сну, так і в періоди бадьорості (на рівні 38 °C) у таких видів, як ескімоський собака, песець при температурі середовища -50 °C. Температура шкіри в ескімоського собаки під хутром

становить близько 30 °C за температури середовища приблизно -50 °C. Однак температура носа, кінцівок (наприклад, у північного оленя) може не перевищувати в цих умовах 10 °C. Дуже низька температура критичної точки виявлена в гірського козла (*Capra pyramus*) на Алясці. За температур середовища від 20 до -20 °C газообмін залишався постійним, за -30 °C спостерігалось підвищення його на 23%, а за -50 °C споживання кисню зросло на 30 %.

У стійких до холоду гомойотермних організмів зі зниженням температури середовища дуже повільно нарастає теплопродукція. Це пов'язано з високою теплоізоляцією. Щоб витримати суворі природні умови Антарктиди, імператорський пінгвін (*Aptenodytes forsteri*) має набір чудових фізіологічних і поведінкових адаптацій. Як найбільший з існуючих видів пінгвінів з масою тіла від 20 до 40 кг (королівський пінгвін (*A. patagonicus*) важить приблизно вдвічі менше: 10-20 кг), у цього виду велику кількість підшкірного жиру, що забезпечує як ізоляцію, так і енергетичні запаси. Збереження тепла також значно оптимізовано завдяки вдосконаленій структурі та розташуванню пір'я і пуху, а також наявністю артеріо-венозних теплообмінників з протитоком. Поведінкові адаптації, такі як скупчення, також відіграють вирішальну роль для *Aptenodytes forsteri*, щоб вони могли захистити себе від екстремального холоду і знизити витрати енергії. Крім того, розмноження імператорських пінгвінів пов'язане з періодом тривалого голодування: до 45 днів для дорослих самок і 4 місяців для дорослих самців. Ці періоди голодування пов'язані з метаболічними адаптаціями для забезпечення оптимального управління енергетичними ресурсами, включно з підтриманням стабільної концентрації глюкози в плазмі, помірного вмісту вільних жирних кислот у плазмі та помірного кетозу. Крім того, репродуктивні цикли, линяння та час голодування імператорського пінгвіна мають бути завершені під час складних фотоперіодичних циклів Антарктиди. Імператорський пінгвін (*Aptenodytes*

forsteri) - єдиний ендотермний хребетний, який розмножується в умовах суворой антарктичної зими, на відміну від менш пристосованого до холоду спорідненого виду - королівського пінгвіна (*A. patagonicus*). Показано, що м'язи та печінка відіграють вирішальну роль у температурному гомеостазі, голодуванні та енергетичному метаболізмі всього тіла пінгвіна (регуляція рівня глюкози/інсуліну, метаболізм ліпідів, бета-окислення жирних кислот та згортання крові). Встановлена надмірна експресія генів, пов'язаних із сигналізацією mTOR у мозку та печінці, що підтверджує їхню центральну роль у реакціях на холод та голодування.

Тепловий стрес як фізіологічне напруження, пов'язане з впливом температур, достатньо високих для збільшення загального теплового навантаження, яке відчуває тварина, до точки, коли лише пасивного розсіювання тепла недостатньо для уникнення накопичення тепла в організмі, визначається на основі рівняння теплового балансу Шмідта-Нільсена. Таке визначення враховує градієнт від низького до сильного теплового стресу, не вказуючи конкретних температур, при яких це очікується.

Встановлено, що сприймання твариною теплового стресу, термічна толерантність і виживання при високій температурі довкілля (T_d) суттєво відрізняються між видами тварин з різних кліматичних зон. Зокрема, початок теплового стресу відбудеться у адаптованих до холоду видів птахів при відносно помірних температурах порівняно з видами, адаптованими до тропічної і помірної зон. Наприклад, дослідження, які вивчали фізіологічну реакцію морських птахів на дію T_d показали, що початок задишки, пов'язаної з тепловим стресом, починається у арктичних пірнаючих морських птахів, зокрема товстодзьобого кайра (*Uria lomvia*) (нормальна температура тіла (T_t) = 38,6 °C, маса = 1 кг) при T_d = 22 °C, тоді як у тропічного крячка бурого (*Anous stolidus*) (нормальна T_t = 40,3 °C, маса = 142 г) при T_d = 36 °C. Це пояснюється тим, що адаптовані до холоду види птахів розробили ефективні механізми

зберігання тепла, щоб мінімізувати втрати тепла в холодному середовищі. Однією з таких адаптацій є механізм теплообмінника – Rete Tibiotarsale (Тибіотарзальна перетинка) – у їхніх ногах, який дає їм змогу утримувати 25–66 % тепла, виробленого в результаті метаболізму, коли їхні стопи контактують з холодними поверхнями. Для пірнаючих морських птахів важливі цей та інші типи механізмів артеріо-венозного теплообміну в поєднанні з відносно товстим шаром жиру. Причина в тому, що теплопровідність води $\approx$ у 24 рази більша, ніж повітря, а це означає, що пірнаючі морські птахи відчуватимуть набагато вищі темпи втрати тепла під час пірнання, ніж непірнаючі птахи. Хоча такий високий рівень збереження тепла є перевагою на холоді, він створює значну перешкоду для розвантаження надлишкового тепла організмом за високих температур. Дослідження здатності підтримання птахами температури тіла при тепловому стресі показало, що арктичний горобцеподібний – пуночка снігова (*Plectrophenax nivalis*) – має низьку здатність до втрати тепла через випаровування, причому 40 із 42 птахів не можуть розсіювати власне метаболічне тепло при $T_d \approx 25\text{--}42\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ще менша здатність до втрати тепла через випаровування спостерігалася у згаданого раніше товстодзьобого кайра, який не міг розсіювати більш як 34 % власного метаболічного тепла при $T_d \approx 16\text{--}38\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ці два приклади показують, що пристосовані до холоду види птахів неефективно знімають надлишок тепла тіла, і можна стверджувати, що пірнаючі морські птахи особливо вразливі до теплового стресу, оскільки вони, можливо, розвинули ефективніші адаптації до збереження тепла, щоб опиратися холоду при пірнанні для пошуку їжі під водою. Їм важко протистояти накопиченню тепла організмом за умов розмноження або линіння на суші під час теплої погоди.

Тропічні форми мають більшу реакцію на охолодження. Тому вони не можуть тривалий час існувати в умовах, коли температура знижується до $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ та нижче. Інтенсивна хімічна терморегуляція, яка наближається до величин

пікового обміну, швидко призводить до виснаження енергетичних ресурсів і загибелі організмів.

У тропічних видів – мавп і хижаків спостерігається чимало особливостей хімічної терморегуляції та її взаємин із фізичною, а також багато форм тепловіддачі. Так, у представників тропічних і субтропічних хижаків (шакалів, динго) виявлена вища температура критичної точки, що свідчить про те, що повне виключення хімічної терморегуляції спостерігається за вищої температури довкілля. З'ясовано, що інтенсивність хімічної терморегуляції в тропічних форм нижча, ніж у мешканців помірного клімату. Наприклад, у шакала відсоток змін обміну речовин під час переходу від 10 до 25 °C становить близько 4 %, тоді як у собаки (з однаковою приблизно довжиною хутра) досягає 7 %.

Важливо, що критична точка краще виражена у тварин, яким властивий механізм поліпное. У тварин, із потовиділенням, наприклад мавп, коня, а також у людини критична точка замінюється зоною постійного рівня обміну. Це свідчить про залучання спочатку судинної, а потім і потовидільної реакції.

Виявлена також інша хімічна терморегуляція на різних видах тварин. Зокрема, прояв критичної точки за різних температур середовища зумовлений тим, що безпосередньо перед включенням поліпное обмін речовин певний час понижений. При цьому у тропічних видів (шакалів, динго, мавп-макак) таке зниження обміну за високих температур виражено краще, ніж у нетропічних.

Холодове заціпеніння птахів. Гіпотермія – адаптивний синдром для переживання енергетично не вигідних періодів існування організму. Гіпотермічний стан багатьох видів птахів – захисна реакція організму на різкі зміни погодних та кормових умов (різкі перепади температури повітря, тривалі дощі та ін.), що є одним із механізмів адаптації організму. Такий стан у птахів називають холодовим заціпенінням, летаргічним сном, торпідним станом, адаптивною, зворотною гіпотермією, яка регулюється. Гіпотермічний стан спостерігається у природі приблизно у 30 видів птахів.

Гіпотермічний стан організму птахів – це термічний стан організму, при якому температура тіла знижується від 35 °С до температури заморожування тканин. Існує така градація за глибиною гіпотермії: поверхнева, середня та глибока гіпотермія організму.

Гіпотермію поділяють на адаптивну та неадаптивну. Гіпотермія називається адаптивною, якщо стан нормотермії відновлюється без зміни видоспецифічних ознак нормальної життєдіяльності.

Існує чимало класифікацій форм адаптивної гіпотермії у птахів. Якщо за основу брати регулярність і тривалість прояву гіпотермії у птахів, то прийнята така класифікація:

1) нерегулярна гіпотермія, яка викликається різким похолоданням, дощем, снігопадом та іншими метеорологічними факторами та припиняється за відновлення нормальних умов погоди (серпокрильці, ластівки, дрімлюги, колібрі);

2) регулярне впадання в гіпотермію в нічний час і повернення до активного стану вранці (колібрі, серпокрильці в умовах недостатнього харчування);

3) сезонні впадання в стан гіпотермії, подібні за своїм проявом до зимової сплячки (у одного виду дрімлюги (*Palaeonoptilus nuttallii*)).

Критичним в еволюції адаптивної гіпотермії, що має добову періодичність, вважається вага тіла. Остання обмежує швидкість перехідних процесів і зменшує енергетичні витрати на пробудження. Енергетично вигідний циркадний торпідний стан для дрібних видів птахів – колібрі, які внаслідок високої відносної тепловіддачі та теплопродукції, а також незначної маси тіла швидко поринають у торпідний стан і пробуджуються від нього, при цьому затрачаючи небагато енергії.

Найважливіша умова самотійного виходу птахів із торпідного стану – достатній ступінь їхньої вгодованості. При тривалому голодуванні птахи зі стану холодового заціпеніння не виходять.

Іншим прикладом торпідного стану є нічна поверхнева гіпотермія у субарктичних видів птахів (кедрівка), яка входить в адаптивний комплекс організму як один зі способів зниження витрат на терморегуляцію в зимових умовах існування. Отже, холодове заціпеніння (торпідний стан) у птахів має біологічне значення, захищаючи їх від надмірних втрат тепла.

Адаптації людини до температур довкілля

За фізіологічними особливостями терморегуляції людина як гомойотермний організм повинна належати до тропічних видів. Терморегуляція у неї характеризується відносно слабким розвитком хімічної терморегуляції, судинною реакцією, яка охоплює великі ділянки тіла, і добре розвиненим потовиділенням з великою кількістю потових залоз. Температура тіла людини піддається добовим коливанням у межах 1 °С і нестабільна в різних частинах тіла.

Фізіологічні зміни в організмі людини за дії холоду протягом тривалого часу проявляються в загальному підвищенні газообміну, зменшенні електричної активності скелетних м'язів, зростанні реакції газообміну в м'язах. Особливе значення має зменшення чутливості кінцівок до дії холоду і зміни шкірної вазоконстрикції. У рибалок, руки яких піддаються тривалому систематичному охолодженню, спостерігається загальна знижена реакція до холоду внаслідок зміни загальної чутливості до нього. Виявлено, що явища адаптації в рибалок можуть зберігатися протягом 15 років після припинення роботи. Отже, в людини холодова адаптація, пов'язана з характером її діяльності, являє своєрідну «пам'ять», відбиту в ЦНС; тут відіграють важливу роль кортикальні механізми терморегуляції та їх своєрідна динаміка.

Водночас спостерігаються особливості адаптації людей до умов Субарктики й Арктики. В умовах Арктики у місцевих жителів підвищується рівень основного обміну. Однак це підвищення швидше пов'язане з носінням

важкого одягу, ніж із безпосереднім впливом холоду на терморецептори. Проте в людини за дії тривалого охолодження в умовах Арктики основний обмін може підвищуватися за умов постійної роботи на відкритому повітрі. У людей, які не працювали на відкритому повітрі, основний обмін у таких суворих кліматичних умовах не змінювався.

У зимовий час основний обмін ескімосів підвищується на 25 %, об'єм плазми крові – на 25–45 % і об'єм еритроцитів – на 15–20 %. Очевидно, в умовах Арктики велике значення має і своєрідна дієта, яка містить значну кількість білків і жирів. Крім того, виняткове значення для людини має і режим м'язової діяльності. При обмеженні рухів і перебування на відкритому повітрі основний обмін в умовах Заполяр'я в людини порівнянно з умовами середніх широт знижений.

Одним із критеріїв акліматизації до умов Півночі можна вважати швидкість відновлення температури шкіри після стандартного охолодження. Ця швидкість особливо велика у місцевого населення Півночі – чукчів, ескімосів, якутів. У приїжджих із помірного клімату, за умови виконання роботи на відкритому повітрі, картина відновлення температури шкіри після охолодження наближається до картини аборигенів тільки після трьох років такої акліматизації.

Однак акліматизація до умов полярних зон не обмежується безпосередніми змінами терморегуляції за дії тільки знижених температур середовища. Не менше значення мають і особливості світлового й ультрафіолетового режиму в умовах як полярного дня, так і полярної ночі. Полярна ніч негативно впливає на організм людини. Світлове голодування призводить до збільшення випадків захворювання дітей рахітом. Знижується вміст у крові лейкоцитів і гемоглобіну. Змінюються імунобіологічні реакції як дітей, так і дорослих, що проявляється в збільшенні захворювань на скарлатину, кір у зимові місяці. Спостерігається зниження неспецифічного імунітету, особливо у людей, які недавно прибули у Заполяр'я.

Проводились дослідження терморегуляції в людини в умовах жаркого клімату. У процесах пристосування до тропіків у людей різних рас немає суттєвих розбіжностей. Тропічний клімат з його постійною температурою середовища (з коливаннями в році до 1 °С і відсутністю добових коливань) може забезпечити нормальний теплообмін людини без будь-якого одягу в тіні й у повному спокої. Будь-яка діяльність у цих умовах пов'язана з додатковою продукцією тепла і вимагає збільшення тепловіддачі через потовиділення. Потовиділення в умовах жаркого клімату збільшене, і здатність до потовиділення в процесі акліматизації зростає.

Значних змін в умовах тропіків зазнає кровообіг людини. Встановлено стійке зниження кров'яного тиску і зростання хвилинного й ударного об'єму серця, збільшення частоти скорочень серця. Зростання швидкості кровообігу корелює з підвищенням температури тіла. Значна роль у тепловіддачі людини належить дихальному апарату. Незважаючи на відсутність у людини власне механізму поліпное, тепловіддача диханням займає значне місце навіть в умовах жаркого клімату (особливо сухого).

Температура тіла в умовах тропіків часто буває підвищеною, причому спостерігається зворотна залежність між інтенсивністю потовиділення та температурою тіла.

Власне процеси адаптації людини до жаркого клімату зводяться в основному до зниження температури тіла, зростання периферичного кровообігу. Збільшене кровопостачання шкіри забезпечує не тільки велику тепловіддачу з поверхні тіла, але і посилену роботу потових залоз.

Важливе місце під час адаптації у тропіках належать змінам у крові. Більшість дослідників відзначає збільшення вмісту води у плазмі, особливо яскраво виражене в перший період дії високої температури. Активна реакція крові не змінюється, хоча є деяка тенденція до її зрушення в лужний бік.

В умовах тропіків встановлено лише незначне зниження основного обміну, що зумовлено особливостями харчування. Зменшується інтенсивність

хімічної терморегуляції під час адаптації людини до високої температури. В умовах тропіків значно зростає енергетична витрата людей на м'язову роботу. Це пов'язується із включенням в активність великої кількості систем (кровообігу, дихання, потовиділення), котрі забезпечують підтримання сталості температури тіла.

Отже, незважаючи на те, що людина — тропічний організм, інтенсивна робота її в тропічних умовах вимагає спеціальних штучних способів охолодження. Існування людини в умовах різних кліматичних поясів від Арктики й Антарктики до екватора забезпечується аж ніяк не фізіологічними особливостями його терморегуляції, а мікрокліматом, створеним людиною — одягом і житлом. Проте існує адаптація людини до різних температурних умов, яка забезпечується фізіологічними механізмами, близькими до таких у вищих ссавців.

Запитання для самоконтролю

1. Охарактеризуйте фізіолого-біохімічні стратегії адаптації пойкилотермних тварин до низьких температур довкілля.
2. Вкажіть основні стратегії пристосування гомойотермних тварин до низьких температур довкілля.
3. Проаналізуйте основні фізіолого-біохімічні стратегії адаптації пойкилотермних тварин до високих температур довкілля.
4. Охарактеризуйте основні пристосування гомойотермних тварин до високих температур довкілля.
5. Охарактеризуйте біохімічні особливості пристосування гомойотермних тварин до низьких температур.
6. Охарактеризуйте зміни метаболізму ліпідів у гомойотермних тварин за дії низькотемпературного стресу.
7. Проаналізуйте структурні та функціональні особливості білків теплового стресу у тварин.

8. Фізіолого-біохімічні реакції- відповіді комах на дію високотемпературного стресу .
9. Охарактеризуйте молекулярно-генетичні механізми акліматизації до холоду у пойкилотермних тварин.
10. Вкажіть певні фізіолого-біохімічні механізми адаптації водних пойкилотермних організмів до температури довкілля.
11. Проаналізуйте біохімічні та молекулярно-генетичні механізми холодового заціпеніння у комах.
12. Фізіолого-біохімічні та молекулярно-генетичні механізми адаптації гомойотермних тварин до високих температур (на прикладі верблюда).
13. Фізіолого-біохімічні механізми пристосування птахів до низьких температур.
14. Фізіолого-біохімічні механізми пристосування тварин Арктики до низьких температур.
15. Поясніть механізми холодового заціпеніння у птахів (торпідний стан).
16. Охарактеризуйте фізіолого-біохімічні механізми адаптації людей до впливу високих та низьких температур.

3.4. ЕКОЛОГО-ФІЗІОЛОГІЧНІ, МОЛЕКУЛЯРНО-БІОХІМІЧНІ ТА ГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ АДАПТАЦІЯ ТВАРИН ДО НЕСТАЧІ КИСНЮ

Загальні реакції організму на гіпоксію та механізм її виникнення у тварин

Перебіг окисних процесів пов'язаний із постійним надходженням кисню в організм – процесом, який забезпечується легеневим, зябровим, шкірним, трахейним та іншими видами зовнішнього дихання. Зовнішнє дихання безпосередньо постачає тканинне дихання киснем за участю циркуляторного апарату (кровообігу чи лімфоутворення). Усі ці процеси забезпечують кисневі потреби організму, тобто таке надходження кисню в організм, яке відповідає затратуваній організмом енергії. Посилення життєдіяльності пов'язане зі збільшенням потреб O_2 і навпаки. Тому в природних умовах стан гіпоксії, тобто невідповідність між надходженням кисню та кисневими потребами, часто настає не тільки при зміні вмісту кисню в навколишньому середовищі, але і при зміні діяльності організму. Найпростішим прикладом є м'язова діяльність, яка різко підвищує інтенсивність обміну речовин, а звідси і кисневі потреби організму.

У плані еколого-фізіологічного зіставлення виділяють такі типи гіпоксії, пов'язані з особливостями середовища існування організму чи з його діяльністю: при нестачі кисню в горах і печерах; при м'язовій діяльності; при пірнанні; при захисних реакціях (згортання тіла).

Отже, в основі явищ гіпоксії – невідповідність між величинами кисневих потреб організму і здатністю транспортних систем у його задоволенні.

Загальні реакції організму на гіпоксію можуть мати двояку спрямованість:

а) включення фізіологічних механізмів, які збільшують постачання кисню тканинам;

б) пристосування самих тканин до існування в середовищі з недостатньою кількістю кисню або в обмеженні кисневих потреб організму через зниження його життєдіяльності чи окремих його систем.

Така схема фізіологічних змін допомагає розділити усі випадки пристосувань до нестачі кисню на реактивний тип, пов'язаний зі збільшенням транспорту кисню тканинам, і тканинний, пов'язаний із пристосуванням організму тварин до нестачі кисню тканинам тіла, зменшуючи потреби в кисні на рівні тканин через зниження метаболізму.

Основні місця адаптації щодо постачання киснем – це кардіо-респіраторна система тварин, основною функцією якої є вилучення кисню з атмосфери та доставка його до мітохондрій клітин за допомогою чотирьох основних етапів: 1) вентиляція легень; 2) дифузія кисню з повітря в кров; 3) кровообіг і 4) дифузія кисню з крові в клітини (рис.3.4.1..).

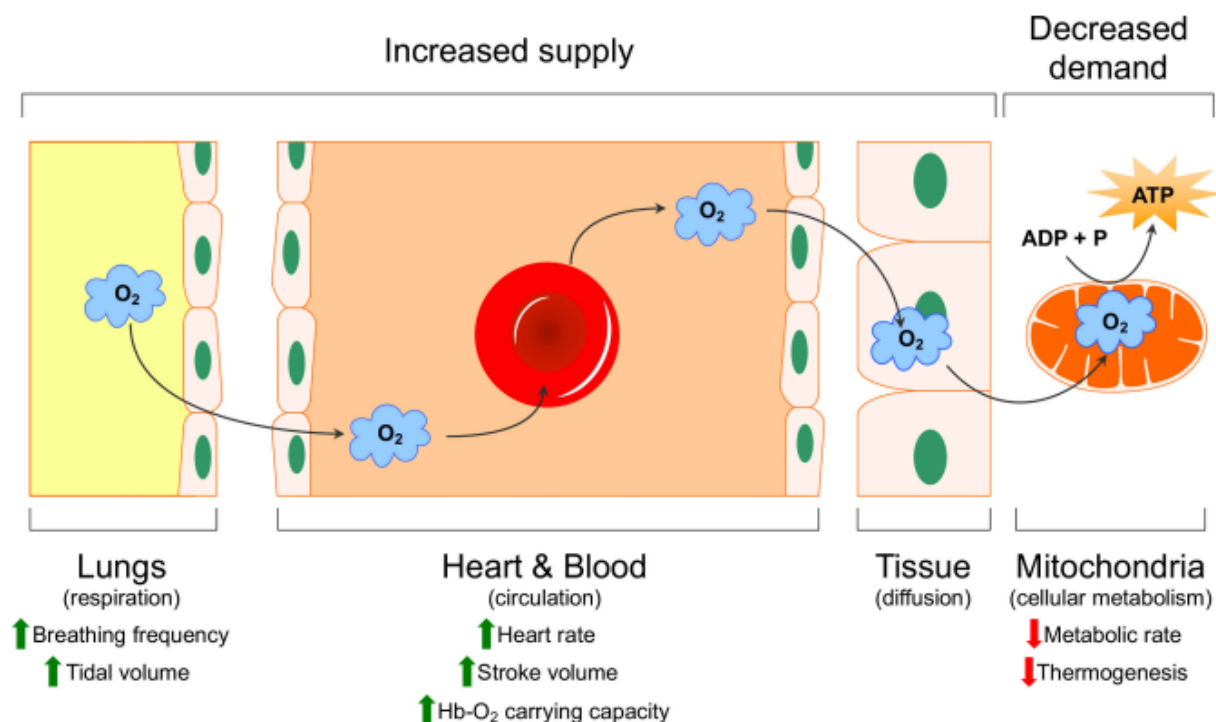


Рис. 3.4.1. Схематичне зображення каскаду транспортування кисню. Фізіологічні механізми, які збільшують надходження кисню (зелені стрілки) і зменшують попит (червоні стрілки). (Змінено з дозволу Dzal et al. (2015))

Загальні адаптації до гіпоксії, які спостерігаються в означеному на рисунку каскаді транспорту кисню, охоплюють морфофункціональні, біохімічні та молекулярно-генетичні зміни у:

- чутливості хемосенсорних клітин і органів до гіпоксії;
- анатомії, механіці та нейронному/клітинному контролю вентиляції та серцевої функції;
- біохімічні зміни в транспорті кисню, буферній ємності крові;
- анатомічних коригуваннях міжклітинного простору, які змінюють дифузійну відстань, через котру мають проходити гази з крові до тканин (і навпаки).

Адаптації до гіпоксії відбуваються в організмі тварин на рівні фізіологічних та поведінкових змін. Тварини можуть переходити в стани зниження рухливості через заціпеніння або сплячку. Ці процеси супроводжуються клітинними адаптаціями, які мінімізують потреби клітин в енергії. Так, під час пірнання птахів, ссавців спостерігається перерозподіл крові між органами, котрі потребують кисню в більшій чи меншій кількості на цей період часу. Відбувається зменшення кровопостачання до тих тканин організму тварини, потреби яких у кисні тимчасово знижені з метою збереження енергії для чутливих до кисню органів (ЦНС, серце). Крім того, спостерігаються зменшення потреби в енергії на клітинному рівні через «вимкнення» певних метаболічних процесів. Наприклад, сповільнюється синтез білків, відбувається перехід процесів термогенезу з аеробного до анаеробного тощо.

До проблем гіпоксії, аноксії та реоксигенації належать: виснаження запасів АТФ; деполяризація мембрани; клітинна смерть важливих органів; оксидація ДНК та пероксидація ліпідів при реоксигенації.

Молекулярно-генетичні механізми адаптації тварин до гіпоксії

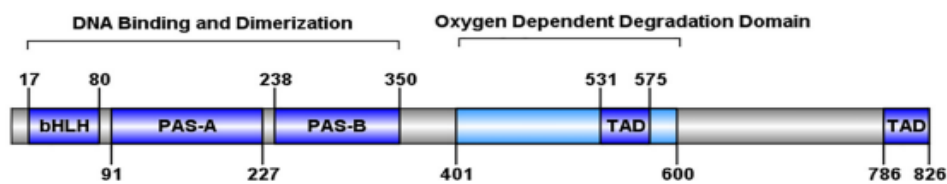
Дослідження механізмів адаптації тварин до гіпоксії на молекулярно-генетичному рівні показало, що існують гени, пов'язані з пристосуванням

тварин до гіпоксії, – це ті, які пов’язані з контролем і функцією або окремих генів факторів, активованих процесами гіпоксії (HIF) та/або гени родини регуляторів транскрипції. Ці транскрипційні фактори беруть участь у багатьох процесах, таких як клітинний метаболізм, ангіогенез, еритропоез, регуляція розвитку кісток і сполучної тканини, розвиток плоду тощо.

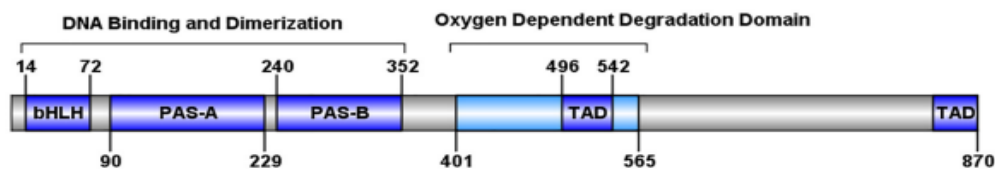
Організм реагує на гіпоксичний стрес, регулюючи експресію генів насамперед через фактор-1, індукований гіпоксією (HIF-1). HIF-1 — гетеродимерний фактор транскрипції, котрий складається з двох субодиниць, HIF-1 α і HIF-1 β , з яких HIF-1 α є активною субодиницею. При гіпоксії HIF-1 α стабільно переноситься в ядро та утворює гетеродимерний комплекс з HIF-1 β , який регулює транскрипцію >150 генів-мішеней. Вони поєднують експресію двох специфічних функціональних генів: васкулярного ендотеліального фактору росту (VEGF) і еритропоетину (EPO). VEGF збільшує проліферацію, виживання та міграцію ендотеліальних клітин, сприяє ангіогенезу та доправляє O₂ і поживні речовини; EPO стимулює проліферацію та виживання клітин-попередників еритроцитів, які підтримують здатність крові транспортувати кисень.

Родина генів-факторів транскрипції HIF складається з чотирьох білків ортологів: HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α та HIF-1 β . HIF-1 α і HIF-1 β наявні у тварин-метазоанів. Вони висококонсервативні, експресуються у ссавців в усіх тканинах. HIF-2 α і HIF-3 α трапляється у хребетних і експресуються специфічним для клітинного типу способом. Показано, що HIF-1 α має важливе значення для ембріонального розвитку, а HIF-2 α регулює транскрипцію еритропоетину (EPO), щоб виробляти постнатально в нирках білок еритропоетин. Кожний ген, який кодує білки HIF, HIF1A (HIF-1 α), EPAS1 (HIF-2 α) і HIF3A (HIF-3 α), за допомогою альтернативного сплайсингу, кодує ряд ізоформ білка, що забезпечує додаткові функціональні можливості організму тварин (рис.3.4.2.).

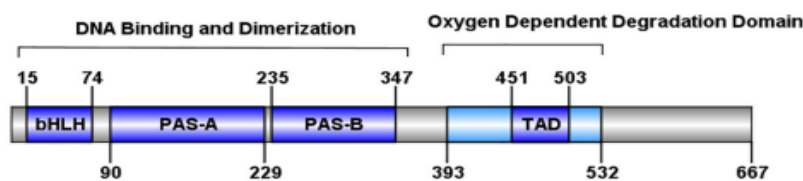
HIF-1 α



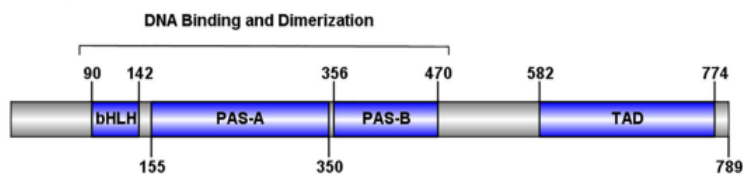
HIF-2 α



HIF-3 α



HIF-1 β / ARNT



PHD2

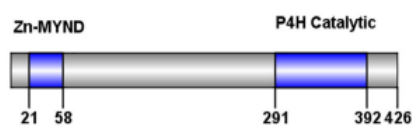


Рис. 3.4.2. Доменна структура білків HIF-шляху людини Показано структуру домену для HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α , HIF-1 β і PHD2. Загальна схема домену для білків HIF схожа та містить N-кінцевий домен bHLH, за яким ідуть два домени PAS і кисневозалежний домен розпаду (відсутній у HIF-1 β). HIF-1 α і HIF-2 α містять два трансактиваційні домени в C-кінцевій частині білка, тоді як HIF-3 α і HIF-1 β мають один. PHD2 має структуру домену, який містить домен цинкового пальця N-кінцевого типу MYND (міслоїдний, нервовий і DEAF-1) і C-кінцевий каталітичний домен проліл-4-гідроксилази (Pamenter et al., 2020).

HIFs 1-3 мають консервативну доменну структуру, яка складається з N-кінцевого домену зв'язування ДНК (bHLH), двох доменів Per-Arnt-Sim (PAS), кисневозалежного домену деградації та двох трансактиваційних доменів. HIF-1 β , також відомий як білок арил-вуглеводневого ядерного транслокатора (ARNT). Він має певну гомологію з HIF 1-3, але не має кисневозалежного домену деградації. Домени bHLH і PAS-A взаємодіють з ДНК, тоді як домени PAS є ключовими для гетеродимеризації. Кисневозалежний домен деградації взаємодіє з низкою регуляторних білків, які модулюють стабільність молекули та спрямовують молекулу на деградацію, а домени трансактивації залучають у ядрі коактиватори p300 і CREB-зв'язуючий білок.

У нормоксичних умовах HIF-1 α і HIF-2 α регулюються посттрансляційно через гідроксилювання специфічних залишків проліну в киснезалежному домені деградації (рис.3.4.3).

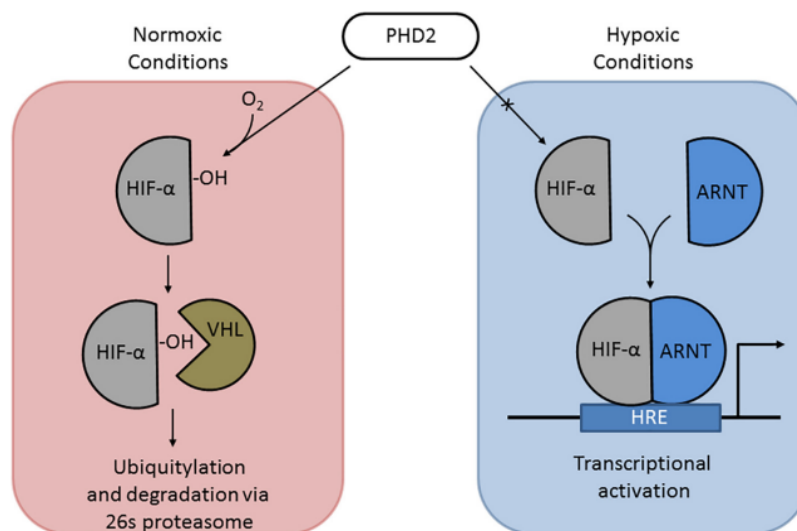


Рисунок 3.4.3. Шлях HIF (Ліворуч) У нормоксичних умовах PHD2 гідроксильє пролін 531 HIF-2 α , який потім може розпізнаватися VHL, націлюючи його на убіквітилізацію та деградацію. **(Праворуч)** В умовах гіпоксії PHD2 не може гідроксильовати α -субодиниці HIF, що дозволяє йому стабілізуватися та переміщуватися до ядра для димеризації за допомогою ARNT; комплекс HIF- α -ARNT в ядрі запускає активацію транскрипції на елементах відповіді на гіпоксію (HRE). (Pamenter et al., 2020).

Гідроксилювання здійснюється білками домену пролілгідролази (PHD) PHD1-3. Гідроксилюваний HIF- α розпізнається білком фон Гіппеля-Ліндау (VHL), який спрямований на HIF для деградації через убіквітинпротеосомний шлях. В умовах гіпоксії ця залежна від кисню модифікація припиняється, що призводить до стабілізації та накопичення HIF-1 α та/або HIF-2 α в клітині. HIF-1 α та/або HIF-2 α локалізуються в ядрі та димеризуються з HIF-1 β , який необхідний для зв'язування ДНК і модуляції транскрипції. Комплекси HIF-1 і HIF-2 (димер HIF-1 α /2 α і HIF-1 β) розпізнають елементи реакції на гіпоксію (HRE), які містять короткі консервативні послідовності ДНК (5'-RCGTG-3'). HREs активують експресію генів, пов'язаних із гіпоксією, наприклад, *EPO*, *VEGF* (ангіогенез), *ALDOA*, *ENO1* та *LDHA* (гліколітичні ферменти). На додаток до активації генів, комплекси HIF можуть активувати транскрипційні репресори через транскрипційний фактор RE1 (REST) цільового гена HIF.

Фактор росту ендотелію судин (VEGF) є багатофункціональним фактором росту, який сприяє ангіогенезу та діастолі, підвищує проникність судин і сприяє проліферації та виживанню клітин. Гіпоксія може швидко та сильно індукувати експресію мРНК VEGF через підвищення стабільності та здатності білка HIF-1 α до лігування ДНК. Дослідження виявили, що жорсткий контроль ангіогенезу може бути новим механізмом стійкості до гіпоксії у тварин, які виживають у гіпоксичних середовищах.

Еритропоетин (ЕРО) – гемопоетичний цитокін, який регулює еритропоез і сприяє диференціації та проліферації відносно зрілих еритроїдних клітин-попередників. Крім того, ЕРО також має сильний ефект проендотеліальної експресії на ендотеліальних клітинах судин. Гіпоксія – найважливіший індуктор ЕРО.

**Перелік назв генів, які активуються в результаті гіпоксії,
назв білків та їхніх функцій (Pamenter et al., 2020).**

Назва гена	Аббревіатура білка	Назва білка	Функції
<i>HIF1A</i>	HIF-1 α	Фактор, активований гіпоксією 1 α	Фактор транскрипції
<i>EPAS1</i>	HIF-2 α	Фактор, активований гіпоксією 2 α ; Білок 1 ендотеліального домену PAS	Фактор транскрипції
<i>HIF3A</i>	HIF-3 α	Фактор, активований гіпоксією 3 α	Фактор транскрипції
<i>ARNT</i>	HIF-1 β / ARNT	Ядерний транслокатор арилового вуглеводневого рецептора	Фактор транскрипції
<i>EGLN1</i>	PHD1	Фактор, індукований гіпоксією пролілгідроксилаза 1	Пролілгідролаза
<i>EGLN2</i>	PHD2	Фактор пролілгідроксилази, індукований гіпоксією 2	Пролілгідролаза
<i>EGLN3</i>	PHD3	Фактор пролілгідроксилази, індукований гіпоксією 3	Пролілгідролаза
<i>EPO</i>	EPO	Еритропоетин	Гормон
<i>VEGF</i>	VEGF	Фактор росту ендотелію судин	Сигнальний протеїн; ангіогенний фактор
<i>ALDOA</i>	ALDOA	Альдолаза, Фруктозобісфосфат А	Відіграє ключову роль у гліколізі та глюконеогенезі. Каталізує оборотне перетворення фруктозо-1,6-бісфосфату на гліцеральдегід-3-фосфат (G3P) і дигідроксіацетонфосфат (DHAP)
<i>ENO1</i>	ENO1	Енолаза 1	Гліколітичний фермент. Каталізує перетворення 2-фосфогліцерату на фосфоенолпіруват
<i>LDHA</i>	LDHA; LDH5	Лактатдегідрогеназа А	Каталізує взаємоперетворення пірувату та L-лактату із супутнім взаємоперетворенням NADH та NAD ⁺
<i>SIRT7</i>	SIRT7	Сіртуїн 7	НАД-залежна деацетилаза
<i>RYR2</i>	RYR2	Рецептор раїнодину	Кальцієвий канал, який забезпечує вивільнення Ca ²⁺ із саркоплазматичного ретикулуму в цитоплазму
<i>ANGPT1</i>	ANGPT1	Ангіопоедин 1	Сигнальний білок, котрий бере участь у ангіогенезі

<i>FIGF</i>	FIGF; VEGF-D	C-fos-індукований фактор росту; фактор росту ендотелію судин D	Фактор росту, активний в ангіогенезі
<i>PGF</i>	PGF	Плацентарний фактор росту	Фактор росту, активний в ангіогенезі
<i>REST</i>	REST	Фактор транскрипції, котрий пригнічує транскрипцію	Репресор транскрипції
<i>TMPRSS6</i>	TMPRSS6	Трансмембранна серинова протеаза 6; матриптаза-2	Серинова протеаза, яка гідролізує ряд білків, включно з колагеном I типу, фібронектин і фібриноген
<i>HFE</i>	HFE	Білок-регулятор гомеостатичного заліза людини	Регулює засвоєння циркулюючого заліза
<i>ANGPTL3</i>	ANGPTL3	Ангіопоетиноподібний протеїн 3	Секреторний білок, який регулює рівень ліпідів у плазмі крові
<i>PRCP</i>	PRCP	Лізосомальна пролілкарбоксипептидаза	Гідролізує С-кінцеві амінокислоти, пов'язані з проліном у пептидах
<i>SEC24B</i>	SEC24B	SEC24 Гомолог В, компонент комплексу оболонки COPII; білок транспортний білок Sec24B	Частина комплексу білків покриття II (COPII), який сприяє утворенню транспортних везикул з ендоплазматичного ретикулуму (ER)
<i>EPHA1</i>	EPHA1	Еритропоетин-продукуючий рецептор гепатоми A1; EPH тирозин кіназа 1	Рецепторна тирозинкіназа
<i>MCAM</i>	MCAM; MUC18;	Молекула клітинної адгезії меланоми	Клітинна адгезія
<i>KAT6A</i>	KAT6A	Лізин Ацетилтрансфераза 6A	Гістон ацетилтрансфераза
<i>SLC29A1</i>	ENT1	Рівноважний нуклеозидний транспортер 1	Натрієвонезалежний транспортер для пуринових і піримідинових нуклеозидів та певних нуклеотидів
<i>MYO5B</i>	MYO5B	Міозин ВБ	Може бути залучений до діяльності з транспортування везикул через його зв'язок з комплексом CART
<i>AJUBA</i>	JUB; AJUBA	LIM доменовмісний білок Аджу́ба	Адаптерний/каскадний білок
<i>COX1</i>	COX-1; PTGS	Циклооксигеназа; простагландин-ендопероксид синтетаза	Ключовий фермент біосинтезу простагландинів
<i>VEGFB</i>	VEGFB	Фактор росту ендотелію судин В	Фактор росту ендотелію судин
<i>ELTD1</i>	ELTD1	EGF, латрофілін і білок 1, що містить сім трансмембранних доменів	Задіяний в ангіогенезі

Морфофізіологічні та біохімічні адаптації тварин до умов високогір'я

Висота впливає на організм тварин через низку факторів. Це зменшення парціального тиску кисню в повітрі (внаслідок зниження загального барометричного тиску зі збільшенням висоти); зниження температури навколишнього середовища; зростання дії ультрафіолетової сонячної радіації, яка на більших висотах змінює чутливість організму до гіпоксії, а на рівнині в більшості затримується атмосферою; низька мінералізація води; чистота повітря.

Тибетське плато – велика територія, відома як «дах світу», на ньому височіє гора Еверест. Низькі температури, нестача O_2 , сильний ультрафіолет і сухість – відмінні риси клімату плато. Усі ці кліматичні фактори прямо чи опосередковано впливають на виживання організмів. Типові рівні O_2 , N_2 і CO_2 в атмосфері становлять приблизно 21 %, 78 % і 0,03 % відповідно. Однак концентрація O_2 у наземному середовищі може бути змінена висотою та проблемами циркуляції повітря. Атмосферний тиск і парціальний тиск O_2 зменшуються приблизно на 0,67 і 0,14 кПа на кожні 100 м над рівнем моря. Наприклад, концентрація O_2 на висоті 4000 м над рівнем моря становить лише 182,10 г/м³, що еквівалентно 60,84 % рівня моря; абсолютний рівень O_2 на вершині гори Еверест, на висоті 8844 м, становить менше 1/4 рівня моря.

Тривале перебування в умовах нестачі кисню викликає значні зміни системи дихання. З морфологічних змін варто вказати на збільшення розмірів грудної клітки. Останнє встановлено для людини, яка постійно живе на висотах. Ці морфологічні зміни супроводжуються значним зростанням глибини дихання та загальної величини легеневої вентиляції, що дуже чітко проявляється в людини при підйомі з рівнини на висоту.

Збільшення глибини і частоти дихання призводить до зростання величини альвеолярної вентиляції легень, завдяки чому в альвеолах підтримується нижчий парціальний тиск CO_2 . Останнє – чинник, який знижує збудження

дихального центру. Нестача вуглекислоти в альвеолярному повітрі й у крові призводить до акапнії, тобто стану, коли легенева вентиляція, через зниження збудливості дихального центру, не зростає, незважаючи на явища кисневого голодування. При цьому внаслідок зниження вмісту CO_2 у крові погіршуються умови постачання тканин киснем, оскільки зменшується ступінь дисоціації оксигемоглобіну. Чутливість до акапнії в різних організмів сильно відрізняється. Так, у людини акапнія швидко призводить до появи кисневого голодування та гірської хвороби. У ссавців, котрим властивий механізм поліепоное, який завжди супроводжується значним вимиванням вуглекислоти з альвеолярного повітря та з крові, цього майже не спостерігається.

Зміна кровообігу при перебуванні на висотах зводиться до значного збільшення хвилинного об'єму кровообігу, при цьому зростає частота пульсу. Сприятливим критерієм акліматизації вважається відсутність реакції з боку серцево-судинної системи за дії гіпоксії.

У горах зростає кров'яний тиск, те ж спостерігається й у дослідах у барокамерах. Однак у багатьох гірських місцевостях (наприклад, система Тянь-Шань) ці явища не виникають, а в Альпах і на Кавказі, навпаки, вони виражені дуже яскраво.

Встановлені морфологічні зміни серця (збільшується вага серця, відбувається гіпертрофія міокарда) у птахів і ссавців, а також у людини.

Особливе значення у відмінностях кровообігу мають зміни мозкового кровообігу, який значно зростає. Зокрема, у процесі акліматизації до висот у пацюків виявлено стійке (на 30–40 %) посилення кровообігу мозку. Крім того, підвищується кровопостачання печінки і м'язів.

З'ясовано, що в процесі акліматизації до перебування в горах помітне збільшення вмісту гемоглобіну й еритроцитів у крові. Ці зміни в картині червоної крові відбуваються внаслідок посилення кровотворення. При нетривалих впливах гіпоксії спостерігається перерозподіл крові, завдяки чому відбувається зростання кисневої ємності всієї циркулюючої крові. Посилене

кровотворення настає внаслідок подразнення кісткового мозку; перерозподіл крові – завдяки спустошенню кров'яних депо: селезінки, печінки, судин шкіри. Вміст еритроцитів і гемоглобіну в крові визначає її кисневу ємність. Інший бік дихальної функції крові – характер дисоціації оксигемоглобіну, що визначає особливості перенесення кисню з легень у тканини. Крива дисоціації залежить, з одного боку, від природних особливостей гемоглобіну тварин цього виду, а з іншої – від середовища, у якому відбувається реакція окиснення та відновлення гемоглобіну (рН плазми, вміст CO_2 , вміст Cl^- у плазмі). Крім того, до факторів, які впливають на криву дисоціації оксигемоглобіну, належить інтенсивність гліколізу в еритроцитах і розщеплення в них же карбоангідразою бікарбонатів. Отже, еритроцит як фізико-хімічна система також впливає на дихальну функцію крові.

В умовах гіпоксії зберігається сталість кисневих потреб. Зниження споживання кисню при високих ступенях гіпоксії викликає нагромадження в організмі продуктів неповного окиснення та наступне зростання споживання кисню після повернення до нормальних умов дихання. Пристосування до умов кисневого голодування – здатність утримувати споживання кисню під час гіпоксії на одному рівні. Існує явище гіпоксичного парадокса, коли за нестачі кисню кисневі потреби зростають. В його основі – прояв гіпоксії ще до того, як у клітинах відбудуться гіпоксичні зміни обміну. Споживання кисню тканинами залишається на попередньому рівні чи навіть трохи зростає, тоді як організм дає виразні симптоми кисневого голодування внаслідок зниження напруги кисню у крові та тканинах. Це явище пояснюється по-різному. По-перше, рефлекс, які викликають відповідні компенсаторні реакції (зростання дихання та кровообігу), виникають і розвиваються при такій напрузі кисню, яка ще не настільки низька, щоб спричиняти безпосереднє порушення аеробних процесів у клітинах. Тому за наявності значного збільшення дихання, кровообігу й інших функцій, що характеризують певну фазу гіпоксії, споживання кисню може трохи підвищуватися. По-друге, є і біохімічний аспект цих зсувів,

оскільки сама собою величина напруги кисню – важлива умова діяльності різних ферментативних систем. Відомо, що за певних умов, знижена напруга кисню може викликати посилення аеробного гліколізу без змін величини споживання кисню. Чутлива реакція до зменшення напруги кисню – синтез ацетилхоліну і будь-які інші біохімічні процеси.

Низька температура середовища підвищує вимоги організму до мінімального тиску кисню, при якому можуть повною мірою здійснюватися окисні процеси. Це залежить не від збільшення кисневих потреб, а від своєрідних змін регуляції обміну гіпоксії. Доведено зростання стійкості організму до гіпоксії за високих температур середовища і зниження за низьких. При зменшенні барометричного тиску зниження газообміну в пацюків залежить від того, за якої температури вони утримувалися до досліду. У тварин, котрі тривалис час перебувати за температур середовища 6–8 ° С, зниження обміну при гіпоксії виражене при вищому тиску O₂, ніж у тих, які утримувалися за 26–28 ° С.

За дії гіпоксії (вдихання суміші з 12,5 %-ним вмістом O₂) спостерігається зменшення електричних відповідей у м'язів кролика. Таке зниження електричної активності супроводжується зниженням загального газообміну. Перехід від гіпоксичного стану до нормального підвищення енергетичних витрат супроводжується зростанням електричних явищ у м'язах у стані спокою. Електричні явища в м'язі визначаються імпульсацією з ЦНС, тому немає сенсу вважати зниження обміну речовин при гіпоксії лише проявом підпорядкування тканинних процесів нестачі кисню та заміною частини окисних перетворень аеробними. Останнє, безсумнівно, має місце, але супроводжується глибокими змінами трофічної функції ЦНС.

Температура тіла навіть при помірній гіпоксії майже завжди знижується. Дані щодо зниження кисневих потреб при гіпоксії можуть бути поставлені в пряму залежність від цього зниження температури тіла і тканин і, очевидно, від загального зниження збудливості нервової системи, що виражається в зниженні

величин рефлекторних відповідей при глибокій гіпоксії. Порушується також і умовно-рефлекторна діяльність. Особливо страждає при цьому гальмівний процес (розгальмовування диференціювання). При гіпоксії різко порушується шлункове травлення — виділення шлункового соку.

Специфічна роль ендокринних регуляцій і, зокрема, щитовидної залози в пристосуванні організму до гіпоксії залишається ще не ясною. Встановлено, що тиреоїдектомія зумовлює підвищення стійкості організму до нестачі кисню. З іншого боку, є дані про те, що гіпоксичний стан, наприклад отруєння окисом вуглецю, може бути причиною гіпертиреозидизму. На висотах знижується інтенсивність дії тиреотропного гормону гіпофіза. Чимало клініцистів спостерігали в горах зниження симптомів гіпертиреозидизму. Показана залежність стійкості організму до гострої гіпоксії від функції щитовидної залози і кори наднирників. Пригнічення цих функцій приводять до збільшення часу виживання тварин при зниженому барометричному тиску.

Адаптація до висоти зменшує активність щитовидної залози, а штучне введення тироксину сповільнює адаптацію. В адаптованих пацюків тироксин впливає на споживання корму (збільшує його), ніж у тварин на рівні моря.

Експериментальний підйом тварин у барокамері приводить до помітних змін поведінки. На висоті припиняється їх активність. Адаптація мишей до висоти поступово зменшує цей ефект і активність стає нормальною. Водночас не спостерігається залежності між реакцією крові та змінами активності. Дихальна функція крові не забезпечує адаптації до висоти, а є лише одним з її компонентів. Рухова активність на висоті при адаптації відновлюється раніше, ніж настають зміни в крові.

Щоб краще виживати в середовищах з низьким умістом O_2 , тварини або збільшують використання O_2 , або знижують швидкість метаболізму в усьому тілі і на клітинному рівні. У гіпоксичних середовищах організм отримує енергію за допомогою анаеробного гліколізу, і лише дві молекули АТФ можуть бути вироблені з однієї молекули глюкози за допомогою анаеробного

гліколізу. Отже, ключовим фактором стійкості до хронічної гіпоксії є узгодження метаболічної потреби з енергопостачанням, і більшість тварин, стійких до гіпоксії демонструють значне зниження швидкості метаболізму під час дефіциту O_2 .

У дрібних ссавців фізіологічні реакції на гіпоксію на великій висоті різноманітні та численні. Показано, що коли китайські полівки (*Neodon fuscus*) піддавалися дії гіпоксичного середовища, вони, як виявилось, поліпшували окислення жирних кислот на основі посиленого окисного фосфорилування. Водночас посилення експресії *Acot4* в пероксисомах китайських полівок допомагала їм уникнути надмірного виснаження ліпідів і шкідливого впливу на плазматичну мембрану. Навпаки, пригнічення експресії *Gpat4* зменшувало синтез лізофосфатидної кислоти на основі 3-фосфогліцерату гліцерину та ацил-коензиму А (ацил-КоА), зменшуючи синтез фосфоліпідів і тригліцеридів. Зниження експресії *Gpat4* також може сприяти надходженню в мітохондрії більшої кількості ацил-КоА для β -окислення. Ці адаптації можуть пояснити підтримку адекватного енергозабезпечення скелетної м'язової тканини китайських полівок за умов гіпоксичного стресу. Крім того, експресія лактатдегідрогенази-С у скелетних м'язах чорногубої пискухи (*Ochotona curzoniae*) підвищує їх анаеробну гліколітичну здатність, зменшує залежність тварин від O_2 і поліпшує їхню адаптацію до гіпоксичного середовища Тібетського плато.

Молекулярно-генетичні особливості адаптації високогірних популяцій ссавців та птахів

Дослідження популяцій одомашнених високогірних ссавців дає можливість порівняти стратегії адаптації до гіпоксії між відносно короткостроковим і довготривалим (у масштабі поколінь) впливом середовищ із низьким вмістом кисню. Приклад короточасної адаптації до хронічної

гіпоксії у домашніх ссавців можна знайти у диких коней Андського Парамо. Цей регіон Анд – складне середовище із великою різницею температури, вологості та кількості опадів, високою радіацією та мінімальною доступністю їжі. Як наслідок, копитні тварини, які еволюціонували природним шляхом, щоб жити в цій ніші, значною мірою змістили свій ареал у помірніші регіони. І навпаки, популяції диких коней, які спочатку були завезені іспанськими конкістадорами в 1500-х роках, процвітали в цій ніші, і успіх інтродукованих коней протягом останніх ~200 поколінь дає важливу можливість оцінити генетичні зміни, спричинені відносно коротким періодом адаптації. Геномний аналіз між популяціями диких коней в Андах та їхніх низинних іберійських предків виявив у високогірній популяції мутацію в EPAS1. Важливо зазначити, що для високогірних популяцій характерна спільність виникнення мутацій у генах, пов'язаних з HIF.

Проведено геномний аналіз тибетських мастифів, які проживають на Тибетському плато. Вони були селекційно виведені з місцевих низинних китайських собак. Встановлено, що у цих мастифів рівень гемоглобіну нижчий, ніж у місцевих китайських собак. Аналіз геному виявив мутацію в EPAS1, а також у SIRT7, яка негативно регулює HIF1 і HIF2. Частота специфічних варіантів цих генів змінювалась залежно від висоти над рівнем моря. Виявлено чотири нові несинонімічні мутації в EPAS1 між популяціями собак, які живуть на великій висоті, порівняно з популяціями середньої та низької висоти. Також встановлено, що у високогірних популяціях собак менший периферичний судинний опір, щоб посилити потік крові, оскільки в'язкість крові на висоті збільшується через зростання концентрації гемоглобіну.

Така адаптація у собак, пристосованих до життя в горах, може бути наслідком прискореної адаптації через комбінацію, тобто поширення корисних алелів між близькоспорідненими видами. У цьому разі є докази того, що мутації в EPAS1 у високогірних собак викликані комбінацією від схрещування з тибетськими вовками. Сірий вовк – найпоширеніший наземний ссавець із 32

підвидами. Один із них тибетський сірий вовк (*Canis lupis chanco*), який є ендеміком Тибетського плато. Генетичне порівняння між популяціями тибетського сірого вовка та низькогірних вовків у Китаї виявило позитивний відбір генів, пов'язаних із гіпоксією, у сигнальних шляхах HIF, включаючи три SNP (однонуклеотидний поліморфізм), унікальні для високогірних популяцій у *EPAS1*, два SNP у *RYR2* та один у *ANGPT1*. Разом з *EPAS1*, в HIF-шляху активується експресія *ANGPT1*, що може посилювати васкуляризацію і, в такий спосіб, доставку кисню. Дослідження ступеня домішок генетичного матеріалу від тибетських мастифів і високогірних вовків за геном *EPAS1* виявило переважання генетичного матеріалу високогірних сірих вовків у локусі *EPAS1* високогірних домашніх собак. Це відкриття свідчить про те, що адаптивний варіант *EPAS1* був переданий від вовків до собак через схрещування, прискорюючи адаптацію до великої висоти у пізніх видів через адаптивну інтрогресію.

Подібна історія адаптації встановлена при аналізі тибетських овець (*Ovis aries*), яких люди також вивели на висоту як одомашнених тварин (приблизно 3100 років тому). На відміну від собак, у високогірних популяціях тибетських овець порівняно з низинними популяціями разом із вищим гематокритом спостерігається вища концентрація гемоглобіну. Ці адаптації пов'язані з короткочасним життям на висоті. Порівнянно з рівнинними породами овець, у тибетських овець змінилися показники вмісту газів у крові, а також активується сигнальний шлях HIFs. Вважається, що ці фенотипові та генетичні зміни у тибетських овець – важлива основа для адаптації до високогірної гіпоксії, а варіації генів, котрі кодують субодиниці, які входять до складу HIFs, такі як HIF-1 α , можуть впливати на показники газів крові. Було секвеновано 9-й, 10-й, 12-й екзони гена HIF-1 α для пошуку варіацій і знайдено три SNP. Виявлено значні відмінності між вмістом газів у крові високогірних порід (тибетських овець та овець гансійського альпійського мериноса) та низькогірних порід (овець ху), що свідчить про те, що відмінності в показниках газів крові в

основному спричинені різницею у висоті над рівнем моря. Комбінації гаплотипів H2H3 і H1H3 найчастіше траплялися в тибетській популяції овець. H2H3 збільшує здатність крові переносити O₂, підвищуючи гематокрит і концентрацію гемоглобіну. H1H3 сприяє тому, що O₂ легше відщеплюється від оксигемоглобіну, знижуючи парціальний тиск кисню і насичення киснем. Ці результати свідчать про те, що варіанти HIF-1α сприяють підвищенню здатності утилізації кисню у тибетських овець, що може бути основою для виживання і розмноження тибетських овець на Тибетському плато. Проте позитивний відбір у тибетських овець стався у вигляді 12 мутацій гена *EPAS1*. Цікаво, що, як і у собак, зміни в геномі овець можуть бути наслідком адаптивної інтрогресії від місцевих видів, у цьому разі від архарів (*Ovis ammon*).

Яки (*Bos grunniens*) – одні з найбільших ссавців Тибетського нагір'я. На плато проживають як одомашнені, так і дикі популяції яків, які приблизно 4500 років тому були виведені людьми на висоту. Фізіологічна адаптація до гіпоксії у цього виду має збільшену площу легеневої поверхні, знижені бар'єри дифузії газу, нижчий уміст гемоглобіну і більші розміри легень, порівняно з великою рогатою худобою, яка живе у низинах. Геномний аналіз яків показує, що у високогірних популяціях відбулися кілька HIF-специфічних мутацій порівняно з тваринами, котрі живуть в низинах, включно з двома важливими регуляторами HIF (*ADAM17* та *ARG2*). Крім того, транскриптомний аналіз яків, ендемічних для висотного градієнта, продемонстрував, що з висотою у тварин зростає експресія *EPAS1*. Геномний аналіз тибетської великої рогатої худоби свідчить про інтрогресію адаптивних мутацій, викликаних життям в умовах гіпоксії через гібридизацію з яками. Очевидно, що це звичайний шлях прискорення адаптивних мутацій у одомашнених видів, вивезених людьми на велику висоту.

Порівняння геному тибетських диких кабанів, які живуть на висоті ~ 4300 м над рівнем моря, та європейської домашньої свині дюрорк виявило 13 генів,

які у «відповідь на гіпоксію» посилили свою експресію. Деякі з них, в подальшому, є мішенями шляхів HIF, включно з *FIGF*, *PGF*. Подібний фенотип трапляється у тибетських свиней, вихідців із Тибетського плато, які мешкають у межах від 2900 до 4300 м над рівнем моря. Подібно до адаптованих до гіпоксії тибетських популяцій людини, тибетські свині на великій висоті мають зменшену реакцію еритропоезу на гіпоксію та нижчі концентрації гемоглобіну порівняно з низинними свиньми, які живуть на рівні моря або акліматизованими до високогір'я. Порівняльний аналіз геному показав, що популяції тибетських свиней демонструють мутацію втрати функції в *EPAS1*. Крім того, виявлено, що зі збільшенням висоти проживання у тибетських свиней збільшуються мутації інтронної послідовності 5'-CGTG-3' *TMPRSS6*. *TMPRSS6* є геном шляху HIF, пов'язаним із концентрацією заліза в сироватці крові та рівнями гемоглобіну. Рівень гемоглобіну залежить від висоти проживання свиней. Послідовність інтрона 5'-CGTG-3' пов'язана зі зв'язуванням з HREs. Це свідчить про те, що у цього виду зі збільшенням висоти HIF-модуляція властивостей крові піддається дарвінівському відбору. Тобто, у цих свиней ця мутація, ймовірно, сприяє гальмуванню реакції еритропоезу на гіпоксію.

Протилежний гематологічний фенотип виявлено у тибетських кашемірових кіз (*Capra hircus*). Вони – одні із найдавніших одомашнених видів у Тибеті. Серед китайських травоядних тварин *Capra hircus* мають найширший діапазон існування, який охоплює територію від рівня моря до вершини

Тибетського плато (~ 0 – 5000 м). На відміну від багатьох великих

високогірних ссавців, доступні деякі фізіологічні дані щодо їх адаптації до висоти порівняно з популяціями низин: популяції високогір'їв мають вищу

концентрацію гемоглобіну та нижчу частоту серцевих скорочень у спокої. Це різко контрастує з попередніми дослідженнями тибетських популяцій людей і свиней, де концентрації гемоглобіну нижчі порівняно з неадаптованими популяціями людей, але кровотік вищий. Генетичний аналіз *Capra hircus* виявив місенс-мутацію в *EPAS1*, яка призводить до амінокислотної заміни в HIF-2 α на ділянці, суміжній з димеризаційною ділянкою з HIF-1 β . Це свідчить про те, що мутації в *EPAS1* можуть призвести до посилення або зниження регуляції сигнальних шляхів, пов'язаних з HIF. Ця відмінність у генно-керованій фізіологічній функції, яка залежить від місця мутації, може бути ключовим фактором адаптації проти дезадаптація до високогір'я в різних популяціях тварин і людини.

Один із найкраще вивчених високогірних ссавців є також одним із найменших. Цокор-плато (*Myospalax baileyi*) мешкає на Тибетському плато та живе в підземних гніздах, у яких рівень кисню в навколишньому середовищі, навіть нижчий, ніж на поверхні плато. Порівняно з низинними гризунами цокори-плато мають високий вміст гемоглобіну і гематокрит, а також низьку частоту серцевих скорочень. Генетичне порівняння між цим видом і норвезьким щуром (*Rattus norvegicus*) виявило 12 позитивно відібраних генів, пов'язаних з розвитком кровоносних судин, серед яких *ANGPTL3*, *PRCP*, *SEC24B*, *EPHA1*, *MCAM*, *KAT6A*. Більшість цих генів регулюється через HIF-шлях. Крім того, оцінка паралельної еволюції між плато-цокором і голим землекопом виявила кілька генів, пов'язаних із гіпоксією, які були однаково модифіковані в обох видів, стійких до гіпоксії, включно з *EPAS1*, *SLC29A1*, *MYO5B*, *AJUBA*. Крім того, мутації *EPAS1* як у голих сліпаків, так і у плато-цокорів ідентичні. *AJUBA* також є ключовим регулятором функції HIF і мутований в обох видів подібним способом. Крім того, аналіз транскриптомів між різними популяціями *Zokors*, показав, що всі мутації *EPAS1*, *COX1* та *EGLN1* зі збільшенням висоти масштабуються.

Багато видів птахів під час своїх щорічних міграцій живуть у високогірних регіонах. Крім гіпоксії та гіпотермії, які впливають на тварин на висоті, під час активного польоту, птахи зустрічаються з додатковими проблемами, пов'язаними з холодним повітрям та його низькою густиною. Деякі птахи, які живуть у високогір'ї, компенсують ці проблеми збільшенням розміру крил і амплітуди розмаху. Проте це супроводжується додатковими змінами: збільшенням маси тіла та вищою швидкістю метаболізму, що посилює енергетичні проблеми при гіпобаричній гіпоксії. Отже, спосіб життя різних видів птахів має великий вплив на еволюцію адаптації до життя на великій висоті.

Хижі птахи – найкращий приклад видів птахів, ендемічних для високогір'я. На Тибетському плато це балабан (*Falco cherrug*), який колонізував цей регіон 2000 років тому. Порівняння геномів популяцій соколів всієї Євразії з трьох висот (низинна місцевість, степ і Тибетське плато) виявило сильний позитивний екзонний сигнал відбору на гені *EPAS1*, незважаючи на цей дуже короткий час колонізації цих птахів на висоті. Встановлено також зміни гемоглобіну. Транскриптомний аналіз показав, що 50 % транскриптів (6/12), активованих у балабана, пов'язані з реакцією на гіпоксію або гемопоез. У балабана також виявлено підвищений вміст транскриптів, які регулюються транскрипцією *EPAS1*.

Дослідження андських качок, серед яких багато видів, які охоплюють як низинні, так і високогірні популяції, виявило конвергентну еволюцію HIF-шляху між висогірними популяціями та популяціями низин жовтодзьобого шилохвоста (*Anas georgica*), чирянки рудої (*A. cyanoptera*) та жовтодзьобого чирка (*A. flavirostris flavirostris/A. f. oxyptera*). У високогірних популяціях птахів встановлено сильний вплив конвергентної еволюції HIF-шляху із загальними мутаціями, виявленими в екзонних ділянках гена *EPAS1* та інтронних ділянках гена *ELGN1*.

Цікавою альтернативною моделлю є нелітаючі птахи. Зокрема, тибетська синиця (*Parus humilis*), переважно наземний птах, ендемік Тибетського нагір'я, зустрічається вище 3300 м над рівнем моря. Генетичний аналіз тибетської земляної синиці показав, що більшість категорій генної онтології (GO), модифікованих у цього виду, порівняно з близькоспорідненими великою синицею (*P. major*) і жовтощокою синицею (*P. sibilans*), були пов'язані з підвищеним енергетичним метаболізмом, імовірно, для підтримки виробництва тепла в цьому холодному кліматі. Крім того, подібно до тибетських популяцій людей, у земляних синиць деякі гени, пов'язані з гіпоксією, також перебувають під позитивним відбором, включно з інгібітором альфа-субодиниці HIF1 (*HIF1AN*), *ANGP4* (*ANGPTL4*), який бере участь в ангіогенезі, і *ADAM9* (*ADAMTS9*), котрий є важливим регулятором HIF1. Кожен з них входить до 2 % генів-кандидатів на селекцію у тибетців.

Досліджувалися фізіолого-біохімічні та молекулярно-генетичні особливості адаптації до умов гіпоксії у тибетської курки (*Gallus gallus*). Це аборигенна порода, поширена на Тибетському плато, не літає та пристосована до життя на великій висоті. Порівняно з низькогірними курми, тибетська курка менша, має вищі гематокрит і концентрацію гемоглобіну, а також вищу спорідненість гемоглобіну до кисню. Порівняльний аналіз SNP тибетських і низинних курей виявив два SNP у *G. gallus EPAS1*, які корелюють з адаптацією до висот.

Адаптація людей до умов високогір'я. Три основні фактори створюють навантаження для людей на великих висотах: 1) знижений парціальний тиск кисню, 2) підвищена сонячна радіація, 3) холод. Найважливіший із них — поступове падіння парціального тиску кисню зі збільшенням висоти. Зі збільшенням висоти атмосферний тиск падає, тоді як концентрація кисню залишається постійною до великих висот. Парціальний тиск кисню падає пропорційно зниженню атмосферного тиску; наприклад, він знижується до

половини на висоті 5500 м над рівнем моря. Реакція організму на кисневу недостатність залежить не тільки від сили прояву останньої, але також і від тривалості навантаження. Залежно від тривалості впливу розрізняють гостру гіпоксію (при різкій втраті тиску всередині літака або при неполадках у дихальній апаратурі), гіпоксію, яка швидко розвивається (при підйомі у фунікулері) і хронічну гіпоксію (при тривалому перебуванні на великих висотах). Витривалість щодо висоти залежить також від характеру підйому; великі висоти легше переносяться, якщо людина досягає їх активно (пішки), а не пасивно (на машині чи літаку).

Висотна хвороба – це термін, який означає чимало фізіологічних розладів, викликаних кисневою недостатністю. Головні їхні симптоми – зниження розумової та фізичної працездатності, швидка стомлюваність і відчуття дискомфорту.

Характерні ознаки кисневої недостатності на великій висоті: зниження сили волі, сонливість, втрата апетиту, задишка, тахікардія, запаморочення, блювота, головний біль і апатія (хоча може відзначатися й ейфорія). Залежно від схильності людини і від конкретних обставин ці симптоми виявляються по одному чи в різних комбінаціях. Їхнє значення як сигналів небезпеки часто не усвідомлюється чи недооцінюється. Особливо небезпечна киснева недостатність, яка повільно розвивається, зокрема для людини у стані спокою, тому що може призвести до втрати свідомості, до появи яких-небудь симптомів, які слугують сигналом небезпеки, починаючи з висот 3000 м та більше. Типові його ознаки, як і алкогольної інтоксикації, – це ейфорія, нездатність усвідомлювати небезпеку і неадекватна оцінка того, що відбувається.

Усі ефекти кисневої недостатності можна поділити за чотирма зонами висоти, розмежованими порогами ефектів. Цей поділ, звичайно, умовний, тому що є різні перехідні ефекти, а пороги можуть змінюватися за рахунок акліматизації та схильності.

Нейтральна зона – до висоти 2000 м над рівнем моря фізіологічні функції (максимальна швидкість динамічної роботи) страждають мало чи зовсім не підпадають під вплив.

Зона повної компенсації – на висотах між 2000 і 4000 м. Навіть у спокої стає помітною реакція на знижене постачання киснем: трохи зростають частота скорочення серця, серцевий викид і хвилинний об'єм дихання. Збільшення цих показників під час роботи на таких висотах відбувається значніше, ніж на рівні моря, тому і фізична, і розумова працездатність значно знижуються.

Зона неповної компенсації (зона небезпеки) – на висотах від 4000 до 7000 м у неакліматизованої людини розвиваються різні розлади. Після досягнення межі безпеки на висоті 4000 м сильно падає фізична працездатність, а також слабшає здатність до реакції та прийняття рішень. Виникають м'язові посмикування, знижується артеріальний тиск, поступово затуманюється свідомість. Ці зміни зворотні.

Критична зона – починаючи з 7000 м і вище, парціальний тиск кисню в альвеолярному повітрі стає нижчий від критичного порога – 30–35 мм рт. ст. (4,0–4,7 кПа). Настають потенційно летальні розлади центральної нервової системи, що супроводжуються втратою свідомості та судомами; ці порушення зворотні за умови швидкого підвищення P_{O_2} у повітрі, яке вдихається. У критичній зоні вирішальне значення має тривалість кисневої недостатності. Якщо гіпоксія продовжується занадто довго, відбуваються порушення в регулюючих ланках ЦНС і настає смерть.

Гіпоксія, зумовлена великою висотою (чи іншими обставинами, наприклад серцевою недостатністю), викликає розвиток адаптивних реакцій малої, проміжної чи великої тривалості. Для короткочасних реакцій потрібно лише кілька годин, тоді як істинна акліматизація до великих висот відбувається за період від кількох днів до місяців. На висоті 2000 і більше метрів частота скорочень серця у спокої зростає та на висоті 6000 м досягає приблизно 120 за хв. Зростання такого показника під час навантаження значно більше, ніж на

рівні моря. Ударний об'єм змінюється несуттєво; спостерігається як його збільшення, так і зниження. Тому серцевий викид у спокої збільшується несуттєво, але чіткіше, ніж при навантаженні. Помітно не змінюється зі збільшенням висоти при навантаженні артеріальний тиск. Однак у легеневій артерії, особливо у спокої, може відбуватися наростання тиску, яке пов'язане з набряком легень.

Оскільки P_{O_2} в альвеолярному повітрі знижується зі збільшенням висоти, P_{O_2} в артеріальній крові також падає. На висоті 2000 м в умовах спокою P_{O_2} в альвеолярному повітрі складає 76 мм рт. ст. (10,1 кПа), а в артеріальній крові — 73 мм рт.ст. (9,7 кПа); проте насичення киснем гемоглобіну в артеріальній крові усе ще становить 93 %. Два додаткові фактори порушують транспорт кисню. По-перше, гіпервентиляція призводить до респіраторного алкалозу, що викликає зсув кривої дисоціації оксигемоглобіну вліво. Цей зсув сприяє зв'язуванню кисню в легенях, але заважає його виділенню в тканинах. По-друге, під час навантаження різниця величин парціального тиску O_2 в альвеолярному повітрі й артеріальній крові в легенях збільшується з наростанням споживання кисню. Під час важкої роботи вона може досягати 15 мм рт. ст. (2,0 кПа). За умови, що P_{O_2} в альвеолярному повітрі на висоті 2000 м дорівнює 76 мм рт. ст. (10,1 кПа), будь-яке збільшення P_{O_2} викликає помітне падіння насичення артеріальної крові киснем через зсуви до ділянки із крутішим нахилом кривої дисоціації оксигемоглобіну. Під час важкої роботи на висоті 2000 м насичення киснем становить менше 90 %, що відповідає P_{O_2} в артеріальній крові нижче 65 мм рт. ст. (8,6 кПа); унаслідок цього максимальна працездатність на висоті 2000 м знижується майже на 10 % (і приблизно на 20 % — на висоті 3500 м).

Гіпервентиляція при адаптації до великої висоти викликає посилене виділення діоксиду вуглецю. Парціальний тиск CO_2 у крові падає, і розвивається респіраторний алкалоз. На висоті 4000 м P_{CO_2} в артеріальній крові складає близько 30 мм рт. ст. (4,0 кПа); на висоті 6500 м воно дорівнює лише 20

мм рт. ст. (2,7 кПа), а рН артеріальної крові стає вищою за 7,5. Надлишок основ при гострому стресі, зумовленому підйомом на великі висоти, не змінюється.

Життя в умовах високогір'я протягом більш-менш тривалих періодів часу призведе до адаптивних змін у серцево-судинній, дихальній, м'язовій та кровоносній системах. Ці зміни являють собою в основному реакції на артеріальну гіпоксію та респіраторний алкалоз. Установлено значні індивідуальні розбіжності у величині та динаміці цих змін, які можуть проходити через фазу надлишкових зсувів (в еритропоезі). Для повної акліматизації необхідно від кількох місяців до кількох років. Проте, як показують експедиції, навіть за кілька тижнів можна достатньо акліматизуватися і, отже, набути толерантності до висоти. Загалом, завдяки акліматизації люди можуть перебувати протягом короткого часу без спеціального устаткування на висотах, де в іншому разі їх чекала б загибель. Акліматизовані альпіністи здатні проводити певний час на висотах, які перевищують 8000 м, без кисневого апарата, а деякі люди піднімаються до висоти майже 8900 м; однак гранична висота, на якій можна перебувати протягом тривалого часу, значно менша.

Найвисокогірніші поселення людей знаходяться в Андах на висоті приблизно 5300 м. Це, очевидно, найбільша висота, яку здатна постійно витримувати людина. Але до регулярної роботи на великих висотах організм, мабуть, пристосовується легше, ніж до постійного проживання, адже існують шахти, які діють на висоті 6200 м. Імовірно, регуляція дихання (за участю м'язових рецепторів) може забезпечувати стан фізіологічної стійкості до висоти під час роботи, але не в умовах спокою. Серед жителів високогірних селищ протягом сторіч відбувався природний добір; рівень їхньої акліматизації, імовірно, можна вважати максимально досяжним унаслідок адаптації.

У процесі початкової фази акліматизації людей до гірських умов відбуваються зміни в функціонуванні серцево-судинної системи: збільшується частота скорочень серця у спокої; потім вона знижується і на висотах до 5000 м

може стабілізуватися на рівнях нижчих за вихідний. Ударний обсяг кардинально не змінюється, відповідно серцевий викид у спокої змінюється мало, а максимальний серцевий викид зменшується.

На початку періоду перебування на великій висоті число еритроцитів у крові іноді падає через швидше їхнє руйнування, однак через кілька днів з'являються всі ознаки посиленого еритропоезу. Ретикулоцитів стає значно більше, вміст еритроцитів збільшується, а концентрація гемоглобіну (Hb) зростає при деякому падінні середньої кількості Hb на клітину (щодо нормального рівня (31 пг/еритроцит)). Чим суттєвіша киснева недостатність через висоту, тим більше виражена стимуляція еритропоезу, хоча швидкість утворення інших клітин крові не змінюється. Досліди показали, що через дві доби перебування на висоті 4500 м число еритроцитів і концентрація гемоглобіну збільшуються більше ніж на 10 %. Приблизно через 10 діб швидка фаза наростання числа еритроцитів і концентрації гемоглобіну завершується. Наступне за нею повільне збільшення, яке триває місяцями (максимальні величини гемоглобін — 270 г/л крові; гематокрит — 70 %), завершується невеликим зниженням до стабільного високого рівня. Інша зміна в перші дві доби — ріст вмісту 2,3-дифосфогліцерату в еритроцитах приблизно від 85 до 140 мкг/мл крові, що супроводжується зсувом кривої дисоціації оксигемоглобіну вправо.

Оскільки вміст гемоглобіну в крові збільшується, його здатність транспортувати кисень залишається майже незмінною при збільшенні висоти до 5000 м, зважаючи на зниження насичення киснем. Підвищення гематокриту викликає суттєве наростання в'язкості крові, кровообіг у капілярах знижується; у результаті на проміжних стадіях акліматизації максимальний серцевий викид зменшується. Тому під час важкої роботи максимальна швидкість транспорту кисню не збільшується, навіть якщо людина повертається на висоту рівня моря після акліматизації до великих висот. Отже, така акліматизація не дає значного підвищення працездатності під час виконання важких робіт на рівні моря. Зсув

кривої дисоціації оксигемоглобіну вліво, який виникає унаслідок респіраторного алкалозу, спочатку компенсується збільшенням вмісту 2,3-дифосфогліцерату; після тривалішої адаптації надкомпенсація приводить до зрушення кривої вправо, у результаті чого посилюється віддача кисню в тканинах.

У ході акліматизації нирки виділяють більше бікарбонату. Ця ниркова компенсація респіраторного алкалозу повертає рН крові до норми. Крім того, оскільки кількість гемоглобіну збільшується, зростає і буферна ємність крові. Однак буферна ємність тканин знижується через компенсаторну втрату бікарбонату. Тому відбувається перерозподіл електролітів між внутрішньо- і позаклітинним просторами.

У міру акліматизації щільність капілярів у м'язах збільшується; дифузійні відстані між капілярами і внутрішніми ділянками м'язів скорочуються. Усередині м'язової клітини різні ферментативні системи, особливо мітохондріальні, адаптуються до кисневої недостатності, що сприяє аеробному метаболізму, незважаючи на знижене значення P_{O_2} .

Перебування на великих висотах пов'язане зі зниженням парціального тиску кисню в повітрі, яке вдихається, й альвеолярному газі. При тривалому проживанні в умовах високогір'я у людей зростає життєва ємність легень, підвищується киснева ємність крові (за рахунок збільшення числа еритроцитів і вмісту гемоглобіну зокрема фетального, котрий має вищу спорідненість до O_2), у м'язах стає більше міоглобіну, у мітохондріях посилюється активність ферментів, які забезпечують біологічне окислювання та гліколіз.

Популяції людей, котрі протягом сотень поколінь проживали на Тибетському, Андському та Ефіопському нагір'ях у Центральній Азії, Південній Америці та Східній Африці, відповідно, протягом кількох тисячоліть, незважаючи на виклики, пов'язані з гіпоксією навколишнього середовища на висотах понад 3500 м, безперервно заселяли та успішно передавали спадкові ознаки, необхідні для виживання. Тибетське плато було безперервно заселене

найдовше, причому присутність людини була зазначена за 30 000–40 000 років тому. Унікальні набори рис, які виявляють гірські жителі сьогодні, свідчать про те, що різні популяційні історії сформували адаптивне та дезадаптивне середовище в кожній популяції, хоча існують помітні варіації всередині популяції в кількох ключових рисах.

Нещодавно узагальнено ключові фізіологічні риси, які демонструє кожне континентальне населення. У людей тибетського та ефіопського високогір'я, як правило, у середньому нижча концентрація гемоглобіну порівняно з акліматизованими на великій висоті прибульцями та жителями Анд. Однак у цих групах існують значні відмінності. Зокрема, в Андах спостерігається підвищена частота надмірного еритроцитозу та хронічної гірської хвороби (ХГХ). Багато жителів Анд, порівняно з тибетцями, демонструють знижену реакцію на гіпоксичну вентиляцію та хвилинну вентиляцію легень і відчують додаткові проблеми з гіпоксією під час сну, що може посилювати порушення адаптації в цій популяції. Показано, що у тибетців є адаптивні гени, залучені до сприйняття гіпоксії та відповіді на неї, зокрема *EPAS1*, *EGLN1*, *PPARA* (активований проліфератор пероксидом рецептор альфа). Ці гени у тибетців також пов'язані з відносно нижчою концентрацією гемоглобіну. Встановлено зв'язок між геном *PPARA* та метаболічними параметрами, які свідчать про зниження окислення жирних кислот, на додаток до більшого використання кисню та захисту від окисного стресу в скелетних м'язах. Показано, що у тибетців, в першому екзоні гена *EGLN1* виявлено з високою частотою варіанти (Asp4Glu4; Cys127Ser), які призводять до посилення функції PHD2, а це викликає посилену деградацію HIF в умовах гіпоксії. Секвенування повного геному ДНК архаїчних популяцій, включно з неандертальцями і денісівцями, дало можливість шукати генетичну суміш у геномах сучасних популяцій людини. Встановлено, що у тибетців у локусі гена *EPAS1* відбулась адаптивна інтрогресія, найбільше схожа на ДНК денісівців. Архаїчна генетична суміш забезпечила варіації, які допомогли тибетцям адаптуватись до середовища на

великій висоті. Дослідження андської популяції людей показали, що для виживання цієї популяції важливі гени, пов'язані із серцевою функцією, зокрема *VEGFB*, *ELTD1*, а не гени реакції організму на гіпоксію. Порівняння повногеномних послідовностей високогірних аргентинців і корінних американців низин виявили міссенс-мутації у гені *EPAS1*, одному з основних адаптивних генів, зареєстрованих у тибетців та в гені *GPR126*, який пов'язаний із функцією легень. Гірські ефіопи також виявляють чіткі фізіологічні і генетичні пристосування до висоти. Аналіз послідовності повного геному показує, що три гени, які містяться в одній ділянці 19-ої хромосоми (гени, котрі кодують транскрипційний репресор сарісуа, гормоночутливий тип ліпази Е та каталітичну субодиницю 2 фактору активації тромбоцитів ацетилгідролази 1b) сприяють адаптації до гіпоксії у ефіопських горян. Проведення порівняльного аналізу послідовностей цілого геному свідчить про те, що для адаптації до умов гіпоксії вирішальне значення мають ділянки геному, які не кодують білки, включно з гетерохроматиновими або метильованими частинами ДНК. У таких випадках у різних тканинах або на різних стадіях розвитку експресії генів можуть відрізнятися. Розуміння цих точно налаштованих епігенетичних змін, може дати необхідне розуміння молекулярних механізмів адаптації, які впливають на генетичні шляхи адаптації до гіпоксії.

Морфофункціональні особливості пірнаючих тварин

Здатність пірнати характерна для різних видів ссавців. Тривалість перебування ссавців під водою коливається від 50 сек до 2 годин. Найбільшу стійкість до зупинки дихання мають китоподібні: деякі з них здатні перебувати під водою від одного до двох годин. Комахоїдні (хохуля), гризуни (ондатра), а також ластоногі (тюлені) можуть залишатися під водою дуже обмежений час. Серед водних ссавців, здатних до пірнання, тобто які мають підвищену стійкість до гіпоксії, трапляються представники багатьох рядів. Так, з нижчих

ссавців пірнає качконіс, із комахоїдних – хохуля, із гризунів – водний пацюк, ондатра, нутрія, бобер, із наземних хижаків – видра, із нежуйних парнокопитних – бегемот.

Фізіологічні дослідження пірнаючих організмів, зокрема ссавців, стосуються в основному особливостей їхнього легеневого дихання, яке припиняється на тривалий час при пірнанні. Спостерігаються змін дихального апарату, дихальної функції крові, вмісту міогемоглобіну, а також деяких особливостей регуляції дихання та кровообігу в умовах гіпоксії.

Морфологічні відмінності легень полягають у тому, що обсяг їх у пірнаючих організмів значно перевершує обсяг легень у наземних форм. Наприклад, у дельфінів легені становлять за вагою 27 % ваги тіла, натомість у наземних ссавців тільки близько 12 %. Кількість легневих альвеол майже в три рази перевершує даний показник у людини (150 млн у людини і 437 млн у морської свині). Сильно розвинена у дельфінів хрящова тканина, яка оточує не тільки трахею, але і бронхи та бронхіоли і не дозволяє легеням спадатися. Така структура легень в умовах пірнання та підвищення тиску охороняє тварину від кесонної хвороби. Вага серця дельфіна трохи менша, ніж у вовка тієї ж ваги (близько 30 кг). Швидкість кровотоку в пірнаючих організмів знижена. Дихальна функція крові деяких пірнаючих тварин відрізняється трохи підвищеною кисневою ємністю.

З упевненістю можна говорити про велику кисневу ємність крові тільки в деяких пірнаючих форм. Одне збільшення дихальної функції крові не може забезпечити можливості пірнання. Вміст міогемоглобіну в м'язах типових пірнаючих тварин, особливо китів, різко зростає. У тюленя кількість його в 7 разів вища, ніж у бика. Така ж картина встановлена і для серцевого м'яза. Ці факти підтверджені для китів і тюленів. Отже, величезні маси м'язів великих морських ссавців під час пірнання постачаються киснем за рахунок відновлення м'язового гемоглобіну.

Регуляція дихання та кровообігу в пірнаючих форм відрізняється малою чутливістю дихального центру до нагромадження CO_2 . Відсутність реакції на нагромадження CO_2 характерна і для таких пірнаючих форм, як тюлені, бобри, ондатри, тобто тварин, які далеко стоять у систематичному ряді один від одного. Напруга CO_2 в альвеолярному повітрі під час пірнання різко зростає, але це не слугує подразником для дихального центру. Отже, кисень, котрий є у легенях, може бути використаний більшою мірою, ніж у непірнаючих організмів. Однак останнім часом пряма нечутливість дихального центру до нагромадження вуглекислоти підлягає сумніву.

У пірнаючих тварин під час пірнання постійно спостерігається зменшення частоти пульсу. Очевидно, це пов'язано зі зменшенням кровопостачання м'язів, які у всіх пірнаючих тварин (крім китоподібних) під час пірнання розслаблюються.

Виявлено зміни серцевої діяльності у тварин при пірнанні на різні глибини. При нетривалих зануреннях тюленів (не більш як 15 хв) спостерігалася лише скороминуща брадикардія, яка змінювалася тахікардією. Якщо період брадикардії продовжувався 3 хв, то період «відбудови» тривав до 5–10 хв. Встановлено зв'язок брадикардії з віком тварини. У старих тюленів ці явища розвиваються повільніше, ніж у молодих. Глибші занурення (від 24 до 91 м) здійснювалися у спеціальній камері наповненій водою, в якій підвищували тиск. При цьому у всіх тварин (як старих, так і молодих) одразу настає брадикардія (пульс зростає від 4 до 15 разів на хвилину). Через три хвилини вона замінюється тахікардією, яка доходить до 30 пульсових ударів на хвилину. Цікаво, що в повітряному середовищі аналогічні підвищення тиску викликають лише дуже слабкий ефект із боку серця. Тільки при дуже великих зростаннях тиску в повітрі (відповідають глибинні занурення 60 м) спостерігалися брадикардія й одночасне зменшення частоти дихання.

Регуляція лужно-кислотної рівноваги в пірнаючих тварин відрізняється підвищеними лужними резервами крові. Сумарний запас кисню до моменту

пірнання складається зі вмісту його в легенях, крові та м'язах. Крім того, є певна його кількість у підшкірному жирі, де може розчинитися кисню в 5 разів більше, ніж у воді. Повне використання кисню з легень завдяки відсутності реакції на нагромадження CO_2 , використання запасів кисню з міогемоглобіну, значні зміни кровообігу з переважним постачанням мозку зумовлюють здатність тварини до існування в умовах тривалого відключення акту дихання. Очевидно, подразником дихального центру цих тварин слугує нестача кисню, яка впливає на рецептори каротидного синуса.

У кінцевому підсумку тривалість пірнання визначається запасами кисню в організмі та здатністю тканин, зокрема і нервової системи, функціонувати в умовах різкої гіпоксії. У пірнаючих тварин значний вміст кисню у тканинах і крові.

Зовсім особливе значення у фізіології пірнаючих тварин мають сіткоподібні судинні сплетення, так звана чудесна мережа. Ці утворення трапляється у китоподібних у грудній клітці вздовж сонної та хребетної артерій. Чудесна мережа забезпечує кровопостачання мозку під час пірнання. При цьому різко скорочується кровообіг у м'язах і зростає в ЦНС. Явища, які виникають при пірнанні, характеризують як своєрідний рефлекс пірнання. Останній припускає трансформацію кровообігу в серцево-мозковий ланцюг, що спрямовує всі резерви O_2 до серця та мозку, майже цілком припиняючи кровообіг навіть в інтенсивно працюючих м'язах.

Рефлекс пірнання починається з подразнення рецепторних закінчень носа і через бульбарні механізми різко посилює реакцію, яка збуджується через хеморецептори судин. Шкірні артеріовенозні анастомози забезпечують швидке повернення крові до серця без втрат O_2 у тканинах. Такий кругообіг дає можливість повністю використовувати резерви O_2 мозком і серцем у період пірнання. При винирюванні спостерігається швидке збільшення хвилинного об'єму серця (до 50 разів проти рівня спокою).

Нервові регуляції пірнання варто розглядати як систему рефлекторних актів, пов'язаних із подразненням певних рецепторних утворень на поверхні шкіри. Велике значення в цих актах має терморецепція, тому що завдяки значній теплопровідності води подразнення виникають при кожному зануренні. У жаб переважне значення має спеціальна хеморецепція.

Дослідження споживання кисню під час пірнання показало підвищення газообміну тільки в першу хвилину після 10–15-хвилинного занурення у воду. Потім настає досить тривале (у межах до 10–25 хв) зниження споживання кисню, нижче вихідного рівня. У результаті цього зниження сумарне споживання O_2 за період відновлення може бути нижчим, ніж до занурення. Тому виключення легеневого дихання, зниження м'язового тонуусу й зменшення частоти пульсу приводить до значного зниження кисневого запиту в пірнаючих тюленів. Щоправда, ці досліди поставлені в умовах насильницького занурення, у спокої. Дуже цікаве запитання, як розвиваються ці явища при інтенсивній м'язовій роботі – плаванні в погоні за рибою.

Отже, основні фізіологічні механізми, що визначають тривалість пірнання, – це, з одного боку, обмеження кисневих потреб організму завдяки розслабленню скелетних м'язів, а з іншого – наявність певних запасів кисню в тілі (у крові, м'язах і повітроносних шляхах). Важливий механізм – нечутливість дихального центру пірнаючих тварин до нагромадження вугільної кислоти у крові, завдяки чому можлива повніша утилізація кисню крові.

Адаптація водних тварин до умов гіпоксії

Гіпоксія у воді виникає за умови, коли рівень розчиненого у воді кисню менше 2,8 мг O_2 /л, що еквівалентно 2 мл O_2 /л. Існують різні причини виникнення гіпоксії:

- природне явище, викликане вертикальною стратифікацією, такою як утворення галоклінів і термоклінів.

- надмірне антропогенне надходження органічних речовин у водойми з поганою циркуляцією.

Гіпоксія пригнічує імунну здатність риб, збільшує смертність молодих риб, зменшує темпи росту та змінює поведінку риб.

Водні тварини реагують на гіпоксію, спочатку намагаючись підтримувати надходження кисню, потім через збереження енерговитрат та зменшення енергообміну та, нарешті, підвищенням енергетичної ефективності тих метаболічних процесів, які залишаються та отримують енергію з анаеробних джерел. Підтримка надходження кисню може бути досягнена завдяки збільшенню потоку води над зябрами та підвищенню дифузійної здатності зябер за рахунок збільшення кількості перфузованих зябрових ламелей.

Друга стратегія виживання в умовах гіпоксії – це збереження енерговитрат через метаболічну депресію. Це може бути опосередковано зниженням загального метаболізму, регуляції синтезу білка або регуляції та/або модифікації деяких регуляторних ферментів в анаеробних та аеробних шляхах.

Деякі риби можуть регулювати виробництво енергії в анаеробіозі через ковалентну модифікацію деяких регуляторних ферментів при гліколізі.

Короткострокові фізіологічні реакції, зумовлюють збільшення частоти та/або ударного об'єму зябрової вентиляції, регулювання частки метаболічної депресії. У риб виявлено різні типові біохімічні реакції на гіпоксію, включно зі збільшенням маси глікогену, особливо в печінці.

У тварин чутливість до кисню та його регуляція в основному здійснюється за допомогою гіпоксія-індукованого фактору (HIF), а ключові компоненти цього шляху вважаються висококонсервативними у метазоїдів, як зазначалось в розділі 2.4.2. Морські припливно-відпливні біотопи – динамічне середовище, а їхні мешканці, як відомо, витримують значні коливання солоності, температури, рН та кисню. Встановлено, що поширені в припливно-відпливній зоні веслоногі раки (*Tigriopus californicus*) втратили основні генетичні компоненти HIF-шляху, але все ще демонструють стійкість до

гіпоксії та транскрипційну реакцію на гіпоксію. Дослідження білкових доменів геному веслоногих раків із подальшим філогенетичним аналізом сімейств генів не виявило двох ключових регуляторних елементів відповіді метазоан на гіпоксію, а саме транскрипційного фактору HIF- α та його киснево-чутливого репресора пролілгідроксилази EGLN. Незважаючи на цю втрату, фенотипічні дослідження показали, що цей вид толерантний до екстремально низьких рівнів доступного O₂ протягом щонайменше 24 годин як на стадії личинки, так і на стадії дорослої особини. Сиквенування РНК (seq) *Tigriopus californicus*, які перебували в майже безкисневих умовах, показало диференційовану експресію понад 400 генів, що свідчить про індукцію гліколітичного метаболізму без пригнічення окислювального фосфорилування. Крім того, гени, які беруть участь у метаболізмі хітину та реорганізації кутикули, демонструють цілком узгоджену картину змін під час аноксії, що вказує на цей шлях як на потенційне рішення проблеми низької доступності кисню у цієї маленької тварини, яка не має дихальних структур або пігменту.

Особливості фізіологічної гіпоксії в наземних тварин

Обмеження доставки кисню внаслідок зменшення можливостей дихання чи підвищення кисневої потреби тканин має велике значення при різних формах діяльності тварин. До першої групи явищ належать усі випадки завмирання тварин у зв'язку з реакціями нападу (наприклад, у хижих) чи захисними (у гризунів). Обмеження дихання тут пов'язане з гальмуванням дихального центру і, звичайно, не веде до значної гіпоксії в організмі. Так, зменшення частоти і глибини дихання можна спостерігати в кішки, яка вистежує здобич (мишу чи птаха), лисиці тощо. Ці стани супроводжуються значним зменшенням м'язового тону й у результаті – зниженням кисневої потреби організму. Завмирання гризунів при дії подразників є захисним природнім явищем. Це своєрідний прояв пасивно-захисної реакції та може

продовжуватися дуже тривалий час у таких видів, як домова миша, чорний пацюк, садова соня і т.ін. Спеціальне дослідження на садовій соні встановило різке зниження газообміну при експозиції тварин у камері на гілці під водою.

Серед сухопутних ссавців найяскравіший прояв цих реакцій спостерігається в їжаків як видів, котрі відрізняються своєрідною оборонною реакцією згортання. Ця реакція в їжака супроводжується не тільки зміною пози, але і різким збільшенням мертвого простору дихальних шляхів унаслідок занурення отворів рота і носа в порожнину, обмежену кільцевим шкірним м'язом, який скорочується. У такому стані згортання їжак перебуває під час сну, зимової сплячки і захисної реакції на сильні подразники. Отже, фізіологічна гіпоксія, викликана згортанням, виникає у їжаків як при здійсненні короткочасної захисної реакції, так і при тривалому стані згортання під час зимової сплячки. У ранній весняний період, безпосередньо за пробудженням після зимової сплячки, у таких їжаків має місце дуже низьке насичення артеріальної крові киснем. Одночасно в ранній весняний період у вухастого їжака дуже високий рівень основного обміну.

Насичення киснем артеріальної крові зростає від 43,7 до 68 %, при цьому спостерігається зниження теплопродукції з 128,0 до 87,9 кал на 1 кг ваги за добу. Спеціальні розрахунки і визначення кривої дисоціації оксигемоглобіну в крові їжаків показали, що вміст CO_2 в альвеолярному повітрі в їжаків після сплячки повинен досягати близько 12 %, що набагато перевищує ці величини у ссавців. Оскільки після зимової сплячки їжаки виявляються активними, полюють і багато часу перебувають у стані згортання, то така напруга кисню в крові — наслідок тривалого зниження збудливості дихального центру при зимовій сплячці. Тільки знижена збудливість дихального центру в цей час може допомогти тварині існувати без явищ важкої задухи в цих різко змінених умовах.

З пробудженням від сплячки ця низька збудливість зберігається ще якийсь час, зумовлюючи тривалу і стійку гіпоксемію в тварин, які прокинулися.

Досліджували газообмінну і дихальну функції крові в їжаків у стані згортання та незгортання. Встановлено, що короткочасне 15-хвилинне згортання викликає у вухастого їжака різке зниження споживання кисню (у середньому на 43,5 %) порівняно з розгорнутим станом. При цьому спостерігається прогресуюча гіпоксемія. Відсоток насичення киснем артеріальної крові тим нижчий, чим довше продовжується стан згортання. Натомість у розкрученому стані насичення артеріальної крові у їжаків дорівнює майже 100 %, у стані згортання насичення киснем артеріальної крові падає при збільшенні тривалості згортання. Різке зниження споживання кисню під час згортання – наслідок розслаблення скелетних м'язів, діяльність яких триває у стані функціонального антагонізму зі шкірно-м'язовим апаратом їжака.

Фізіолого-біохімічні та молекулярно-генетичні пристосування тварин до проживання в норах та підземних лабіринтах

У всьому світі в підземних норах оселилися понад 300 ссавців, таких як сліпак (*Spalax galili*), голий сліпак (*Heterocephalus glaber*), цокори (*Myospalax baileyi*) та інші. Абсолютна та відносна кількість O_2 у підземних печерах сильно коливається як у часі, так і в просторі. Наприклад, у підземних лабіринтах літні опади та зимовий мерзлий ґрунт створюють тимчасові або тривалі умови з низьким вмістом O_2 . У просторовому плані система печер може бути дуже складною структурою. Багато кротів, які мешкають у колоніях, мають глибокі гнізда – середовище, яке може дуже обмежувати вентиляцію. Крім того, наявність великої кількості ссавців також призводить до швидких і різких змін у газовому складі підземних тунелів. Незважаючи на такі переваги підземних тунелів, як мікрокліматична стабільність, відносно низька часова мінливість доступності харчових ресурсів і низький ризик хижаків, таке середовище стресове.

У зоні, де будує свої нори багато гризунів, уміст кисню знижується на 1–3 % і більше, а концентрація CO₂ може досягати 2–3 %, тобто невелика гіпоксія поєднується з гіперкапнією.

Є кілька видів гризунів, які живуть у гіпоксичних нішах. Низький рівень O₂ може призвести до збільшення виробництва активних форм кисню (АФК) в організмі, що викликає оксидативний стрес. Проте системи антиоксидантного захисту в організмах протидіють несприятливому впливу АФК. Підтримання балансу між виробництвом і споживанням енергії також є ключовим для переносимості гіпоксії. Загалом, щоб адаптуватися до гіпоксії, тварини можуть виробляти енергію за допомогою анаеробного метаболізму, щоб підтримувати свій метаболізм, і коли постачання O₂ обмежене, швидкість метаболізму більшості тварин, стійких до гіпоксії, сильно знижується. До фізіологічних змін, котрі забезпечують адаптацію до такого середовища, у тварин, які живуть у норах, належить: здатність зв'язувати кисень при його зниженій напрузі в повітрі, яке вдихається; збільшена буферна ємність рідин тіла; слабка дихальна реакція на CO₂.

Цілком можливо, що морфологія, властивості крові, фізіологія, біохімія та структура генних продуктів і функції дрібних ссавців, які живуть на плато або в підземних печерах, могли змінитися, коли вони адаптувалися до життя в середовищі з низьким умістом кисню. Наприклад, у деяких підземних ссавців, які тривалий час живуть у безкисневих і темних печерах, сенсорні системи мають певні особливості, такі як спеціалізовані циркадні ритми, підвищена гострота слуху, знижений зір та загострений нюх (табл. 3.4.2).

На додаток до можливих еволюційних стратегій адаптації до гіпоксії, які спостерігаються у видів, наведених у таблиці 3.4.2. африканські сліпаки, які живуть у підземних норах, розвинули механізми адаптації до гіпоксичних, гіперкапнічних і гіперамонійних тунельних систем. Вони здатні витримувати надзвичайно низький рівень кисню протягом кількох годин без будь-яких

значних пошкоджень клітин. Північноамериканські гризуни (*Peromyscus maniculatus*), які живуть у холодніших альпійських регіонах, для підтримки термогенезу мають більшу кількість окисних м'язів, здатних сприяти високій швидкості окислення ліпідів.

Встановлено, що ссавці, які живуть у середовищах з хронічною гіпоксією, мають адаптивну толерантність до гіпоксичного стресу. Наприклад, у відповідь на гіпоксію у цокорів (*Myospalax cansus*) розвинулася система антиоксидантного захисту.

Таблиця 3.4.2

Еволюція гіпоксичних адаптацій у толерантних до гіпоксії дрібних ссавців

Види	Значні фізіологічні адаптації до гіпоксичного стресу
Чорногубі пискухи (високогірні)	Споживання з низьким вмістом O ₂ і висока пропускна здатність із високим умістом O ₂ без надмірної в'язкості крові; зниження тиску в легеневій артерії з гіпоксією; високий уміст мітохондрій у скелетних м'язах і серцевому м'язі; висока щільність мікроциркуляторного русла.
Польові миші-економки (високогірні)	Висока тканиноспецифічна експресія HIF-1α і HIF-2α.
Польові миші (високогірні)	Збільшує синтез Hb для полегшення транспорту O ₂ ; певні гени <i>Acs16</i> , <i>Gpat4</i> і <i>Ndufb7</i> беруть участь у регуляції синтезу ліпідів, β-окисленні жирних кислот, синтезу гемоглобіну та передачі електронів.
Голі землерийки (підземні)	Низький попит на O ₂ , гемоглобін із вищою афінністю зв'язування O ₂ ; висока здатність до знешкодження АФК, гіпотермії, зниження швидкості метаболізму та ЧСС за наявності гіпоксичного стресу.
Китайські польові миші (підземні)	Дегенерація очей; вища щільність капілярів і показників крові (гематокрит, середній об'єм еритроцитів, середній гемоглобін еритроцитів); висока пропускна здатність O ₂ і низьке споживання O ₂ ; поліпшення репарації ДНК та запобігання пошкодженню.
Сліпі землерийки (підземні)	Підшкірні очі не можуть формувати зображення; в умовах гіпоксії ЕРО та HIF-1α надмірно експресуються, легені мають більшу здатність до газообміну та більшу кількість еритроцитів; підвищення рівня гемоглобіноксигенази-1; висока щільність судин, коротші відстані дифузії O ₂ ; модифікації метилювання p53 блокують репресори транскрипції.
Китайські цокори (високогірні підземні)	Збільшення поверхневої щільності мітохондрій міокарда, щільності мікросудин і вмісту міоглобіну; збільшення мікросудинної щільності скелетних м'язів, вмісту міоглобіну та кількості і площі мітохондрій; високий парціальний тиск O ₂ і насичення O ₂ артеріальної крові з високим рівнем використання O ₂ ; антигіпоксична дія ліпідорозчинних та спирторозчинних компонентів.

Встановлено зростання активності і експресії генів супероксидредуктази (SOD) і каталази (CAT) в мозку та печінці тварин за дії гіпоксії порівняно з нормоксією. Деякі види, стійкі до гіпоксії, можуть пережити цикли окисного стресу, спричинені реоксигенацією, і підтримувати окисне пошкодження на контрольованому рівні. Наприклад, більш висока здатність поглинати АФК у голих сліпаків (*Heterocephalus glaber*) може зменшити окисне пошкодження, пов'язане з впливом гіпоксії/реоксигенації (наприклад, пов'язане ішемічно-реперфузійне пошкодження). Проте було показано, що сліпаки (*Spalax galili*) мають вищий рівень ферментів, котрі знешкоджують АФК, порівняно зі ссавцями, стійкими до гіпоксії.

Nrf2 – це один із низки ключових факторів транскрипції у сліпаків (*Spalax galili*). Він необхідний для захисту від окислювального стресу та має унікальну структуру. Незважаючи на те, що Nrf2 у більшості ссавців висококонсервативний, у сліпаків (*Spalax galili*) він має 27 специфічних амінокислотних замін, і шість із них містяться у структурному домені Neh6. В умовах окислювального стресу навколишнього середовища Nrf2 важливі для стабілізації білка та його транскрипційної активності.

Потужний антиоксидантний механізм *Heterocephalus glaber* здатний знешкоджувати АФК до того, як він пошкодить ДНК та інші макромолекули, у такий спосіб забезпечуючи клітинний гомеостаз. Інші шість видів африканських кротів також не показали жодних ознак пошкодження білка чи ДНК під час гіпоксії та жодних змін у антиоксидантній здатності мозку. Можливо, мозок цих видів підвищує або підтримує високі рівні експресії генів/білків і ферментативної активності антиоксидантних ферментів, відмінних від глутатіонпероксидази (GPx), водночас як в умовах гіпоксії допомагає їм протистояти епізодичному окислювальному стресу.

Однією з найбільших проблем ссавців у підземних тунелях, є високі витрати енергії на розкопки для пошуку обмежених харчових ресурсів під землею та підтримки печерних споруд. Наприклад, у голих сліпаків

(*Heterocephalus glaber*), як це характерно для стійких до гіпоксії підземних щурів, базальний рівень метаболізму приблизно на 30 % нижчий, ніж у ссавців такого ж розміру. Голі сліпаки (*Heterocephalus glaber*) демонструють поведінку, відмінну від інших дорослих ссавців. Вони в основному споживають ліпіди в умовах нормоксії. Але під час важкої гіпоксії у них відбувається анаеробний метаболізм за рахунок розщеплення фруктози. Під час гіпоксії їхня залежність від метаболізму вуглеводів посилюється виснаженням глікогену в печінці та підвищенням рівня глюкози в крові. Кероване фруктозою гліколітичне дихання в тканинах сліпаків дає змогу уникнути пригнічення гліколізу за допомогою фосфоглюкокінази, у такий спосіб підтримуючи виживання в гіпоксичних середовищах. Цокори (*Myospalax baileyi*) також використовують фруктозу для прискорення постачання енергії на основі глюкози як основного метаболічного субстрату.

Голий землекоп найстійкіший до гіпоксії ссавець. У лабораторії тварина витримує < 3% кисню протягом кількох годин та 8–10 % O₂ протягом днів або тижнів. Дослідження мітохондрій головного мозку голого землекопа показало, що вони мають значно вищий мембранний потенціал і концентрацію Ca²⁺, ніж мітохондрії мозку миші. Це сприяє протидії шкідливому впливу позамітохондріального Ca²⁺ на окисне фосфорилування та цілісність мембрани. Здатність мітохондрій головного мозку голого землекопа безпечно утримувати великі об'єми Ca²⁺ може бути пов'язана з ультраструктурними відмінностями, які підтримують поглинання та фізичне зберігання Ca²⁺ у мітохондріях. Зокрема, порівняно з мозком миші, мітохондрії головного мозку голого землекопа більші та мають вищу щільність крист і підвищену фізичну взаємодію між суміжними мітохондріальними мембранами, що пов'язано з поліпшеним енергетичним гомеостазом та керуванням Ca²⁺. Вчені припускають, що надмірне надходження Ca²⁺ у мозок голого землекопа буферизується фізичним накопиченням у великих мітохондріях, що зменшує

шкідливе перевантаження Ca^{2+} і, отже, може сприяти толерантності до гіпоксії та ішемії мозку голого землекопа.

Як зазначалося раніше, вищі організми розвинули складні регуляторні механізми, щоб реагувати на зміни концентрації O_2 у навколишньому середовищі, і цей ключовий механізм адаптаційних змін тісно пов'язаний із активацією індукованого гіпоксією фактору-1 α (HIF-1 α). На сьогодні встановлено ряд ключових генів і білків, пов'язаних із адаптацією до гіпоксії у дрібних ссавців (<http://ihypoxia.omicsbio.info/>). Як основний регулятор гіпоксичної відповіді, HIF-1 α може прямо чи опосередковано впливати на сотні генів і регулювати їх експресію. HIF-1 α швидко деградує в нормоксичному стані. Але в умовах низького вмісту O_2 HIF-1 α відповідає не тільки за перехід від окисного фосфорилування до гліколізу, але й за інші адаптивні процеси, такі як ангіогенез, виживання клітин і проліферація. Цікаво, що рівень експресії мРНК HIF-1 α у підземних щурів значно вищий, ніж у наземних ссавців на всіх стадіях розвитку.

Як було зазначено, фактор росту ендотелію судин (VEGF) багатofункціональний. Виявлено, що в умовах гіпоксії в мозку сліпаків значно посилювалася експресія гена *VEGF*. Експресія мРНК гена *VEGF* у мозковій тканині та скелетних м'язах цокорів (*Myospalax baileyi*) була значно вищою, ніж у щурів Sprague-Dawley (SD); експресія *VEGF* також посилювалась в тканинах мозку мандаринових полівок (*Lasiopodomys mandarinus*). Ці дослідження надають додаткові докази того, що види, стійкі до гіпоксії, можуть мати ефективніший ангіогенний або нейропротекторний механізм для адаптації до екстремальних підземних гіпоксичних середовищ.

Дослідження генетичних особливостей у підземних гризунів показало, що під час гіпоксичного стресу експресія еритропоєтину (*EPO*) у нирках дорослих сліпаків (*Spalax galili*) була значно вищою, ніж у *Rattus norvegicus*. Сліпаки (*Spalax galili*) також можуть витримувати екстремальні гіпоксичні умови підземних нір під час повеней завдяки надмірній експресії *EPO* in

in vivo. Виявлено, що зі збільшенням висоти спостерігається посилення відносної експресії мРНК *EPO* в печінці та нирках цокорів. Важливо, що збільшення експресії мРНК *EPO* у нирках було в п'ять разів більшим, ніж у печінці. Ці висновки надають важливу інформацію для розуміння можливої ролі *EPO* у дрібних ссавців, стійких до гіпоксії.

Дослідження геному у підземних ссавців виявили адаптивну еволюцію генів, пов'язаних із зором (*Crygs*, *Crybb3*, *Gnat2* тощо) і шкірою (*Krt9*, *Pomr*, *Col4a4* тощо), а також комплексів стійкості до стресу (комплексу шелтерину, комплексу протеасом, рибонуклеопротейну). Масштабні дослідження секвенування транскриптомів у сліпаків (*Spalax galili*) показують, що апоптоз пригнічується, а експресія ангіогенного фактору в гіпоксичних середовищах жорстко регулюється.

Дослідження реакції скелетної м'язової тканини на гіпоксичні умови у китайських полівок, полівок Брандта та мишей Куньмін методом порівняльної транскриптоміки виявило, що ці види використовують різні стратегії транспорту O_2 та енергетичного метаболізму, щоб упоратися з гіпоксичними умовами. Серед них транспорт кисню через збільшення синтезу гемоглобіну у китайських полівок. Цей вид також регулює синтез ліпідів, β -окислення жирних кислот, синтез гемоглобіну, електронно-зчеплену передачу та інші біологічні процеси за допомогою комбінації генів, включно з *Acs16*, *Gpat4* і *Ndufb7*, і такий спосіб забезпечує достатнє енергозабезпечення скелетної м'язової тканини за умов гіпоксії. Аналіз транскриптомних даних цокора (*Myospalax baileyi*) і голого землекопа (*Heterocephalus glaber*) виявив важливу адаптивну еволюцію в експресії генів, пов'язаних із транспортом O_2 , метаболізмом O_2 , відновленням ДНК. Аналіз транскриптомів мозку та м'язів у сліпаків (*Spalax galili*) свідчить про значну гіперекспресію генів, пов'язаних із процесами антиапоптозу, раку, ембріонального розвитку та ангіогенезу. Ці механізми допомагають сліпакам (*Spalax galili*) виживати в підземних норах з низьким вмістом O_2 . Крім того, аналіз транскриптомів головного мозку

китайських польових мишей в умовах гіпоксії показав, що шляхи посиленої регуляції були в основному тими, які пригнічували ангіогенез і відповіді на зовнішні подразники, тоді як способи зниженої регуляції були пов'язані з процесами споживання O_2 , такими як окисне фосфорилування та секреція білка, що свідчить про те, що китайські польові миші мають більшу здатність відчувати та регулювати O_2 .

Отже, тварини розвинули складні фізіологічні та молекулярні системи адаптації, які допомагають їм виживати в гіпоксичних середовищах.

Запитання для самоконтролю

1. Охарактеризуйте умови, за яких у тварин може виникнути явище гіпоксії.
2. Який загальний механізм адаптації організму тварин на гіпоксію?
3. Охарактеризуйте механізм відповіді тварин на гіпоксичний стрес на молекулярно-генетичному рівні.
4. Як змінюється реалізація шляху HIF в залежності від концентрації кисню.
5. Експресія яких генів та синтез яких білків зростає у тварин у відповідь на гіпоксію.
6. Охарактеризуйте морфо-функціональні та біохімічні адаптації тварин до умов високогір'я.
7. Проаналізуйте молекулярно-генетичні особливості адаптації високогірних популяцій ссавців та птахів.
8. Вкажіть основні фізіолого-біохімічні та молекулярно-генетичні особливості адаптації людей до умов високогір'я.
9. Охарактеризуйте морфофункціональні особливості пірнаючих тварин.
10. Охарактеризуйте фізіологічну реакцію водних тварин на гіпоксію.
11. Вкажіть основні особливості фізіологічної гіпоксії в наземних тварин.
12. Охарактеризуйте фізіолого-біохімічні та молекулярно-генетичні пристосування тварин до проживання в норах та підземних лабіринтах.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Allahverdiyeva, Y., Aro, E.M. (2012). Photosynthetic responses of plants to excess light: mechanisms and conditions for photoinhibition, excess energy dissipation and repair. In: Eaton-Rye, J., Tripathy, B., Sharkey, T. (eds) Photosynthesis. Advances in photosynthesis and respiration, vol 34. Springer, Dordrecht.
2. Andrási, N., Pettkó-Szandtner, A., & Szabados, L. (2021). Diversity of plant heat shock factors: regulation, interactions, and functions. *Journal of Experimental Botany*, 72(5), 1558-1575.
3. Andreatta, G., & Tessmar-Raible, K. (2020). The Still Dark Side of the Moon: Molecular Mechanisms of Lunar-Controlled Rhythms and Clocks. *Journal of Molecular Biology*, 432 (12), 3525-3546.
4. Balakrishnan, K.N., Ramiah, S.K., & Zulkifli, I. (2023). Heat shock protein response to stress in poultry: A Review. *Animals*, 13, 317.
5. Balasubramaniam, T., Shen, G., Esmaeili, N., & Zhang, H. (2023). Plants' response mechanisms to salinity stress. *Plants*, 12(12), 2253.
6. Berihulay, H., Abied, A., He, X., Jiang, L. & Ma, Y. (2019). Adaptation mechanisms of small ruminants to environmental heat stress, *Animals*, 9, 75.
7. Berka, M., Kopecká, R., Berková, V., Brzobohatý, B., & Černý, M. (2022). Regulation of heat shock proteins 70 and their role in plant immunity. *Journal of Experimental Botany*, 73(7), 1894-1909.
8. Berry, P.E., Dammhahn, M., & Blaum, N. (2023). Keeping cool on hot days: activity responses of African antelope to heat extremes. *Front. Ecol. Evol.*, 11, 1172303.
9. Bharti, R., & Sharma, R. (2022). Effect of heavy metals: An overview. *Materials Today: Proceedings*, 51, 880-885.
10. Bidalia, A., Vikram, K., Yamal, G., Rao, K.S. (2019). Effect of salinity on soil nutrients and plant health. In: Akhtar, M. (eds) Salt stress, microbes, and plant interactions: causes and solution. Springer, Singapore.
11. Blewett T. A., Binning S. A., Weinrauch A. M., Ivy C. M., Rossi G. S., Borowiec B.G., Lau G. Y., Overduin S. L., Aragao, I. & Norin T. (2022) Physiological and behavioural strategies of aquatic animals living in fluctuating environments. *J Exp Biol* 225 (9): jeb242503

12. Bloch, G., Barnes, B.M., Gerkema, M.P., & Helm, B. (2013). Animal activity around the clock with no overt circadian rhythms: patterns, mechanisms and adaptive value. *Proc R Soc B*, 280, 20130019.
13. Bodlah, M. A., Iqbal, J., Ashiq, A., Bodlah, I., Jiang, S., Mudassir, M. A., Rasheed, M. T., & Fareen, A. G. E. (2023). Insect behavioral restraint and adaptation strategies under heat stress: An inclusive review, *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 22 (6), 327-350.
14. Brzezinski, A., Rai, S., Purohit, A., & Pandi-Perumal, S.R. (2021). Melatonin, Clock Genes, and Mammalian Reproduction: What Is the Link? *Int J Mol Sci.* 8, 22(24),13240.
15. Buijs, R. M., Tinoco, E. C. S., Alvarado, G. H., & Escobar, C. (2021) Chapter 15 - The circadian system: From clocks to physiology, editor(s): Swaab D. F., Kreier, F., Lucassen, P.J., Salehi, A., Buijs, R.M. *Handbook of Clinical Neurology*, Elsevier, 179, 233-247.
16. Bulbul A., Anuska & Mishra A. (2022) Effects of dissolved oxygen concentration on freshwater fish: A review International Journal of Fisheries and Aquatic Studies; 10(4): 113-127
17. Buzduga, I. M., Salamon, I., Volkov, R. A., & Panchuk, I. I. (2022). Rapid accumulation of cadmium and antioxidative response in tobacco leaves. *The Open Agriculture Journal*, 16(1).
18. Cai, Y.D. & Chiu, J.C. (2022). Timeless in animal circadian clocks and beyond. *FEBS J*, 289: 6559-6575.
19. Chaudhry, S., & Sidhu, G. P. S. (2022). Climate change regulated abiotic stress mechanisms in plants: a comprehensive review. *Plant Cell Reports*, 41(1), 1-31.
20. Chen, B., Feder, M.E., & Kang, L. (2018). Evolution of heat shock protein expression underlying adaptive responses to environmental stress. *Mol Ecol.*, 27, 3040–3054.
21. Chen, T. H., & Murata, N. (2011). Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. *Plant, cell & environment*, 34(1), 1-20.
22. Cheng, H., Perkins, G.A., Ju, S., Kim, K., Ellisman, M.H., & Pamenter, M.E. (2024), Enhanced mitochondrial buffering prevents Ca²⁺ overload in naked mole-rat brain. *J Physiol*, 602, 5685-5698.

23. Cuypers, A., Vanbuel, I., Iven, V., Kunnen, K., Vandionant, S., Huybrechts, M., & Hendrix, S. (2023). Cadmium-induced oxidative stress responses and acclimation in plants require fine-tuning of redox biology at subcellular level. *Free Radical Biology and Medicine*, 199, 81-96.
24. Debnath, S., Chandel, R. K., Devi, K., & Khan, Z. (2021). Mechanism and molecular response of induced genotoxicity and oxidative stress in plants. *Induced genotoxicity and oxidative stress in plants*, 213-227.
25. Doležal, D. (2023). Molecular mechanism of the circadian clock, *Insect Chronobiology*, 10.1007/978-981-99-0726-7_4, 49-84.
26. Dos Santos, T. B., Ribas, A. F., de Souza, S. G. H., Budzinski, I. G. F., & Domingues, D. S. (2022). Physiological responses to drought, salinity, and heat stress in plants: a review. *Stresses*, 2(1), 113-135.
27. Dzal, Y. A., Jenkin, S. E., Lague, S. L., Reichert, M. N., York, J. M., and Pamenter, M. E. (2015). Oxygen in demand: how oxygen has shaped vertebrate physiology. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 186, 4–26.
28. Drew, K. L., Harris, M. B., LaManna, J. C., Smith, M. A., Zhu, X. W., & Ma, Y. L. (2004). Hypoxia tolerance in mammalian heterotherms. *J.Exp.Biol.*, 207 (18), 3155–3162.
29. Earhart, M. L., Blanchard, T. S., Harman, A. A., & Schulte, P. M. (2022). Hypoxia and high temperature as interacting stressors: will plasticity promote resilience of fishes in a changing world? *The Biological Bulletin*, 243, 2.
30. Everly, G. S., Jr., & Lating, J. M. (2002). *A clinical guide to the treatment of the human stress response* (2nd ed.). Kluwer Academic/Plenum Publishers.
31. Faizan, M., Alam, P., Hussain, A., Karabulut, F., Tonny, S. H., Cheng, S. H., ... & Hayat, S. (2024). Phytochelatins: key regulator against heavy metal toxicity in plants. *Plant Stress*, 11, 100355.
32. Foyer, C. H., & Kunert, K. (2024). The ascorbate–glutathione cycle coming of age. *Journal of Experimental Botany*, 75(9), 2682-2699.
33. Fujita, M., & Hasanuzzaman, M. (2022). Approaches to enhancing antioxidant defense in plants. *Antioxidants*, 11(5), 925.
34. García-Caparrós, P., De Filippis, L., Gul, A., Hasanuzzaman, M., Ozturk, M., Altay, V., & Lao, M. T. (2021). Oxidative stress and antioxidant metabolism under adverse environmental conditions: a review. *The Botanical Review*, 87, 421-466.

35. Gangitano E. , Gnessi L., Lenzi A., & Ray D. (2021) Chronobiology and Metabolism: Is Ketogenic Diet Able to Influence Circadian Rhythm? *Frontiers in Neuroscience* 15, 756970.
36. Gautier, C., Bothorel, B., Ciocca, D., & Simonneaux V. (2018). Gene expression profiling during hibernation in the European hamster. *Scientific Reports*, 8(1).
37. Ghori, N. H., Ghori, T., Hayat, M. Q., Imadi, S. R., Gul, A., Altay, V., & Ozturk, M. (2019). Heavy metal stress and responses in plants. *International journal of environmental science and technology*, 16, 1807-1828.
38. Gong, B., Sun, S., Yan, Y., Jing, X., & Shi, Q. (2018). Glutathione metabolism and its function in higher plants adapting to stress. *Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants*, 181-205.
39. Gorr T. A., Wichmann D., Hu J.,Hermes□Lima M., Welker A. F., Terwilliger N., Wren J. F., Viney M., Morris S., Nilsson G. E., Deten A., Soliz J. & Gassmann M. (2010). Hypoxia tolerance in animals: *Biology and Application Physiological and Biochemical Zoology* 83, (5)
40. Graham, A.M., & Barreto, F.S. (2019). Loss of the HIF pathway in a widely distributed intertidal crustacean, the copepod *Tigriopus californicus* *PNAS*, 116 (26), 12913–12918.
41. Guschina, I. A., & Harwood J. L. (2006). Mechanisms of temperature adaptation in poikilotherms. *FEBS Letters*, 580 (23), 5477-5483.
42. Hao, S., Wang, Y., Yan, Y., Liu, Y., Wang, J., & Chen, S. (2021). A review on plant responses to salt stress and their mechanisms of salt resistance. *Horticulturae*, 7(6), 132.
43. Hardin, P. E & Panda, S. (2013) Circadian timekeeping and output mechanisms in animals, *Current Opinion in Neurobiology*, 23 (5). 724-731.
44. Hart DW, van Jaarsveld B, Lasch KG, Grenfell KL, Oosthuizen MK, & Bennett NC. (2021). Ambient temperature as a strong zeitgeber of circadian rhythms in response to temperature sensitivity and poor heat dissipation abilities in subterranean african mole-rats. *Journal of Biological Rhythms*.;36(5):461-469.
45. Hasanuzzaman, M., & Fujita, M. (2022). Plant oxidative stress: biology, physiology and mitigation. *Plants*, 11(9), 1185.

46. Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Parvin, K., Bhuiyan, T. F., Anee, T. I., Nahar, K., ... & Fujita, M. (2020). Regulation of ROS metabolism in plants under environmental stress: A review of recent experimental evidence. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8695.
47. Hochachka, P. W., Lutz, P. L., Sick, T. J., & Rosenthal, M. (2022). *Surviving hypoxia: mechanisms of control and adaptation*. CRC Press.
48. Hosseinifard, M., Stefaniak, S., Ghorbani Javid, M., Soltani, E., Wojtyla, Ł., & Garnczarska, M. (2022). Contribution of exogenous proline to abiotic stresses tolerance in plants: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 5186.
49. Hoter A., Rizk S., & Naim H.Y. (2019). Cellular and Molecular Adaptation of Arabian Camel to Heat Stress. *Front. Genet., Sec. Evolutionary and Population Genetics* 10.
50. Houdelier, C, Guyomarc'h, C, Lumineau, S, & Richard, J.P. (2002). Circadian rhythms of oviposition and feeding activity in Japanese quail: Effects of cyclic administration of melatonin. *Chrobiol Int*, 19, 1107-1119.
51. Huerta-Sánchez, E., Jin, X., Asan, ... & Nielsen, R. (2014). Altitude adaptation in Tibetans caused by introgression of Denisovan-like DNA. *Nature*, 512, 194–197.
52. Improta GC, Flôres DEFL, Oda GA, & Valentinuzzi VS. (2022) Daylength shapes entrainment patterns to artificial photoperiods in a subterranean rodent. *Journal of Biological Rhythms*;37(3):283-295.
53. Kamran, M., Parveen, A., Ahmar, S., Malik, Z., Hussain, S., Chattha, M. S., ... & Chen, J. T. (2019). An overview of hazardous impacts of soil salinity in crops, tolerance mechanisms, and amelioration through selenium supplementation. *International journal of molecular sciences*, 21(1), 148.
54. Kan, Y., Mu, X. R., Gao, J., Lin, H. X., & Lin, Y. (2023). The molecular basis of heat stress responses in plants. *Molecular Plant*, 16(10), 1612-1634.
55. Kanojia, A., Bhola, D., & Mudgil, Y. (2023). Light signaling as cellular integrator of multiple environmental cues in plants. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 29(10), 1485-1503.
56. Karasek, M. (2004) Melatonin, human aging, and age-related diseases. *Experimental Gerontology*. 39, (11–12), 1723-1729.

57. Karavan, V. V., Kachmaryk, D. Yu., Cherevatov, V. F, &. Yazlovytska L. S. (2021) Influence of wintering temperature on the state of the antioxidative system in *Apis mellifera* L. *The animal biologie*. 23 (4). 32–42. (in Ukrainian).
58. Karavan, V. V., Yazlovytska L. S., Cherevatov, V. F, &. Panchuk, I. I. (2022) Biomarkers of oxidative stress in *Apis mellifera* under different carbohydrate diets. *Sci. Herald Chern. Uni. Biol. (Biol. Sys.)*. 14 (2): 182-188. (in Ukrainian).
59. Kerchev, P. I., & Van Breusegem, F. (2022). Improving oxidative stress resilience in plants. *The Plant Journal*, 109(2), 359-372.
60. Konturek SJ, Konturek PC, Brzozowski T, Bubenik GA. (2007) Role of melatonin in upper gastrointestinal tract. *J Physiol Pharmacol*.58(S6), 23-52.
61. Koukkari, W. L., & Sothorn, R. B. (2007). *Introducing biological rhythms: A primer on the temporal organization of life, with implications for health, society, reproduction, and the natural environment.* Springer Science & Business Media.
62. Kumar, A., & Prasad, M. N. V. (2018). Plant-lead interactions: transport, toxicity, tolerance, and detoxification mechanisms. *Ecotoxicology and environmental safety*, 166, 401-418.
63. Kumar, K., Debnath, P., Singh, S., & Kumar, N. (2023). An overview of plant phenolics and their involvement in abiotic stress tolerance. *Stresses*, 3(3), 570-585.
64. Kumar, S., Abedin, M. M., Singh, A. K., & Das, S. (2020). Role of phenolic compounds in plant-defensive mechanisms. *Plant phenolics in sustainable agriculture. 1*, 517-532.
65. Lee, P., Chandel, N.S. & Simon, M.C. (2020). Cellular adaptation to hypoxia through hypoxia inducible factors and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol.*, 21, 268–283.
66. Li, H., Li, K., Zhang, K., Li, Y., Gu, H., Liu, H., Yang, Z., & Cai, D. (2021). The circadian physiology: implications in livestock health. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 2111.
67. Li, M., Pan, D., Sun, H., Zhang, L., Cheng, H., Shao, T., & Wang, Z. (2021). The hypoxia adaptation of small mammals to plateau and underground burrow conditions. *Anim Models Exp Med.*, 4. 319– 328.

68. Li F, Qiao Z, Duan Q, & Nevo E. (2021). Adaptation of mammals to hypoxia. *Anim Models Exp Med.*, 4, 311–318.
69. Liu, S., Liu, Y., Bao, E., & Tang, S. (2024). The protective role of heat shock proteins against stresses in animal breeding. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(15), 8208.
70. Lu, S., Wei, F., & Li, G. (2021). The evolution of the concept of stress and the framework of the stress system. *Cell Stress*. 5(6), 76-85.
71. Ma, L., Liu, X., Lv, W., & Yang, Y. (2022). Molecular mechanisms of plant responses to salt stress. *Frontiers in Plant Science*, 13, 934877.
72. Mansoor, S., Ali, A., Kour, N., Bornhorst, J., AlHarbi, K., Rinklebe, J., ... & Chung, Y. S. (2023). Heavy metal induced oxidative stress mitigation and ROS scavenging in plants. *Plants*, 12(16), 3003.
73. Mansoor, S., Ali, A., Kour, N., Bornhorst, J., AlHarbi, K., Rinklebe, J., ... & Chung, Y. S. (2023). Heavy metal induced oxidative stress mitigation and ROS scavenging in plants. *Plants*, 12(16), 3003.
74. Mishra, N., Jiang, C., Chen, L., Paul, A., Chatterjee, A., & Shen, G. (2023). Achieving abiotic stress tolerance in plants through antioxidative defense mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1110622.
75. Mittler, R., Zandalinas, S. I., Fichman, Y., & Van Breusegem, F. (2022). Reactive oxygen species signalling in plant stress responses. *Nature reviews Molecular cell biology*, 23(10), 663-679.
76. Muller, P., Li, X. P., & Niyogi, K. K. (2001). Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant physiology*, 125(4), 1558-1566.
77. Okajima, K. (2016). Molecular mechanism of phototropin light signaling. *Journal of plant research*, 129, 149-157.
78. Oliveira, F.G., Monarca, R.I., Rychlik, L., da Luz Mathias, M., & Tapisso, J.T. (2021). Social thermoregulation in Mediterranean greater white-toothed shrews (*Crocidura russula*). *Behav Ecol Sociobiol* 75, 147.
79. Ondrasek, G., Rathod, S., Manohara, K. K., Gireesh, C., Anantha, M. S., Sakhare, A. S., ... & Horvatinec, J. (2022). Salt stress in plants and mitigation approaches. *Plants*, 11(6), 717.

80. Ono, M., Ando, H., Daikoku, T., Fujiwara, T., Mieda, M., Mizumoto, Y., Iizuka, T., Kagami, K., Hosono, T., Nomura, S., Toyoda, N., Sekizuka-Kagami, N., Maida, Y., Kuji, N., Nishi, H., & Fujiwara, H. (2023). the circadian clock, nutritional signals and reproduction: a close relationship. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2), 1545.
81. Palmer, J. (2012). *An Introduction to Biological Rhythms*. Elsevier.
82. Pamenter, M. E. (2022). Adaptations to a hypoxic lifestyle in naked mole-rats *J. Exp. Biol.*, 225 (4).
83. Pamenter, M.E., Hall, J.E., Tanabe, Y. & Simonson, T.S. (2020). Cross-species insights into genomic adaptations to hypoxia. *Front. Genet.*, 11, 743.
84. Panchuk, I. I., Volkov, R. A., & Schöffl, F. (2002). Heat stress-and heat shock transcription factor-dependent expression and activity of ascorbate peroxidase in Arabidopsis. *Plant physiology*, 129(2), 838-853.
85. Panchuk, I. I., Zentgraf, U., & Volkov, R. A. (2005). Expression of the Apx gene family during leaf senescence of Arabidopsis thaliana. *Planta*, 222(5), 926-932.
86. Paris, J.R., Fernandes, F. A. N., Pirri, F., ... & Trucchi, E. (2024). Gene expression shifts in emperor penguin adaptation to the extreme antarctic environment. *Molecular Ecology*, 0,e17552.
87. Patke, A., Young, M.W., & Axelrod, S. (2020). Molecular mechanisms and physiological importance of circadian rhythms. *Nat Rev Mol Cell Biol.*, 21, 67–84.
88. Patra, N., Hariharan, S., Gain, H., Maiti, M. K., Das, A., & Banerjee, J. (2021). TypiCal but DeliCate Ca⁺⁺ re: dissecting the essence of calcium signaling network as a robust response coordinator of versatile abiotic and biotic stimuli in plants. *Frontiers in Plant Science*, 12, 752246.
89. Qamer, Z., Chaudhary, M. T., Du, X., Hinze, L., & Azhar, M. T. (2021). Review of oxidative stress and antioxidative defense mechanisms in Gossypium hirsutum L. in response to extreme abiotic conditions. *Journal of Cotton Research*, 4(1), 9.
90. Rahman, M. A., Woo, J. H., Song, Y., Lee, S. H., Hasan, M. M., Azad, M. A. K., & Lee, K. W. (2022). Heat shock proteins and antioxidant genes involved in heat combined with drought stress responses in perennial rye grass. *Life*, 12(9), 1426.

91. Rajput, V. D., Harish, Singh, R. K., Verma, K. K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F. R., ... & Mandzhieva, S. (2021). Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress. *Biology*, 10(4), 267.
92. Refinetti, R. (2012). Integration of biological clocks and rhythms. *Compr Physiol* 2,1213-1239.
93. Refinetti, R. (2020). Circadian rhythmicity of body temperature and metabolism. *Temperature*, 7(4), 321–362.
94. Richards, J.G. (2011). Physiological, behavioral and biochemical adaptations of intertidal fishes to hypoxia. *J Exp Biol* 214 (2): 191–199.
95. Rivkees, S.A. (2007) The Development of Circadian Rhythms: From Animals to Humans, *Sleep Medicine Clinics*, 2 (3), 331-341
96. Riyazuddin, R., Nisha, N., Ejaz, B., Khan, M. I. R., Kumar, M., Ramteke, P. W., & Gupta, R. (2021). A comprehensive review on the heavy metal toxicity and sequestration in plants. *Biomolecules*, 12(1), 43.
97. Schrader, L.A, Ronnekleiv-Kelly S. M., Hogenesch J. B., Bradfield, C. A., & Malecki K. M.C. (2024) Circadian disruption, clock genes, and metabolic health *J Clin Invest*. 134(14) :e170998.
98. Selye H. (1950) Stress and the general adaptation syndrome *Br. Med. J.* 17; 1(4667). 1383- 1392.
99. Shahid, M. A., Sarkhosh, A., Khan, N., Balal, R. M., Ali, S., Rossi, L., ... & Garcia-Sanchez, F. (2020). Insights into the physiological and biochemical impacts of salt stress on plant growth and development. *Agronomy*, 10(7), 938.
100. Shalaby, S., & Horwitz, B. A. (2015). Plant phenolic compounds and oxidative stress: integrated signals in fungal–plant interactions. *Current genetics*, 61, 347-357.
101. Siehler, O., Wang, S., & Bloch, G. (2021). Social synchronization of circadian rhythms with a focus on honeybees. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 376, 20200342.
102. Speksnijder E.M., Bisschop P.H., Siegelaar S.E., Stenvers D.J., & Kalsbeek A. (2024). Circadian desynchrony and glucose metabolism. *J Pineal Res*. 76:e12956.
103. Stanton, D., Justin, H. S., & Reitzel, A. M. (2022). Step in time: conservation of circadian clock genes in animal evolution. *Integrative and Comparative Biology*, 62 (6) 1503–1518

104. Stavi, I., Thevs, N., & Priori, S. (2021). Soil salinity and sodicity in drylands: A review of causes, effects, monitoring, and restoration measures. *Frontiers in Environmental Science*, 9, 712831.
105. Storey, J. M. & Storey, K. B. (2023). Chaperone proteins: universal roles in surviving environmental stress. *Cell Stress and Chaperones*, 28 (5), 455-466.
106. Storz J. F., & Scott G.R. (2019). Life ascending: mechanism and process in physiological adaptation to high-altitude hypoxia. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 50. 110218-025014
107. Storz, J. F., & Scott, G. R. (2021) Phenotypic plasticity, genetic assimilation, and genetic compensation in hypoxia adaptation of high-altitude vertebrates, *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 253, 110865
108. Storz, J.F. & Chevion Z.A. (2021). Physiological genomics of adaptation to high-altitude hypoxia *Annual Review of Animal Biosciences*, 9 072820-102736
109. Taylor, G.I., Dodwell, P., Gascoigne, A., Gianoutsos, M., Morris, S., Shayan, R., & Fogg, Q.A. (2023). Thermoregulation, not just camouflage: the unique vasculature of giraffe patches. A cadaver study with clinical implications. *Plast Reconstr Surg*. 152(3).669-680.
110. Teets, N. M., Marshall, K. E., & Reynolds, J. A. (2023). Molecular mechanisms of winter survival *Annu. Rev. Entomol.* 68,319–39.
111. Vakkayil, K.L., & Hoppe, T. (2022). Temperature-dependent regulation of proteostasis and longevity. *Front. Aging*, 3, 853588.
112. Volkov, R. A., Panchuk, I. I., & Schöffl, F. (2003). Heat□stress□dependency and developmental modulation of gene expression: the potential of house□keeping genes as internal standards in mRNA expression profiling using real□time RT□PCR. *Journal of Experimental Botany*, 54(391), 2343-2349.
113. Volkov, R. A., Panchuk, I. I., & Schöffl, F. (2005). Small heat shock proteins are differentially regulated during pollen development and following heat stress in tobacco. *Plant molecular biology*, 57, 487-502.
114. Volkov, R. A., Panchuk, I. I., Mullineaux, P. M., & Schöffl, F. (2006). Heat stress-induced H₂O₂ is required for effective expression of heat shock genes in Arabidopsis. *Plant molecular biology*, 61, 733-746.

115. Woodruff, M. J., Zimmer, C., Ardia, D.R., Vitousek, M. N., & Rosvall, K. A. (2022). Heat shock protein gene expression varies among tissues and populations in free-living birds. *Ornithology*, 139 (3), 7, ukac018.
116. Wu, G., Baumeister, R., & Heimbucher, T. (2023). Molecular mechanisms of lipid-based metabolic adaptation strategies in response to cold. *Cells*, 12, 1353.
117. Xiao W. (2015). The hypoxia signaling pathway and hypoxic adaptation in fishes *Sci China Life Sci*, 58 (2).
118. Xiao, F., & Zhou, H. (2023). Plant salt response: Perception, signaling, and tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1053699.
119. Yadav, S. K. (2010). Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South African journal of botany*, 76(2), 167-179.
120. Yang, B., Tang, J., Yu, Z., Khare, T., Srivastav, A., Datir, S., & Kumar, V. (2019). Light stress responses and prospects for engineering light stress tolerance in crop plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38, 1489-1506.
121. Yang, Y., Chu, M.X., & Liu, Q.Y. (2023). The mechanism of circadian clock and its influence on animal circannual rhythm. *Yi Chuan*, 20, 45(5), 409-424.
122. Yang, Y., Xu, W., Jiang, Q., Ye, Y., Tian, J., Huang, Y., Du, X., Li, Y., Zhao, Y., & Liu, Z. (2022). Effects of low temperature on antioxidant and heat shock protein expression profiles and transcriptomic responses in crayfish (*Cherax destructor*). *Antioxidants*, 11(9), 1779.
123. Yazlovytska, L.S., Karavan, V.V., Domaciuk, M., Panchuk, I.I., Borsuk, G. & Volkov, R.A. (2023) Increased survival of honey bees consuming pollen and beebread is associated with elevated biomarkers of oxidative stress. *Front. Ecol. Evol.*, 11,1098350.
124. Zhang, H., Zhu, J., Gong, Z., & Zhu, J. K. (2022). Abiotic stress responses in plants. *Nature Reviews Genetics*, 23(2), 104-119.
125. Zhang, M., Ming, Y., Wang, H. B., & Jin, H. L. (2024). Strategies for adaptation to high light in plants. *aBIOTECH*, 1-13.
126. Zhan, Y., Ning, B., Sun, J., & Chang, Y. (2023). Living in a hypoxic world: A review of the impacts of hypoxia on aquaculture, *Marine Pollution Bulletin*, 194, (A).

127. Zhao, P., He, Z., Xi, Q., Sun, H., Luo, Y., Wang, J., Liu, X., Zhao, Z., & Li, S. (2022). Variations in *HIF-1 α* contributed to high altitude hypoxia adaptation via affected oxygen metabolism in tibetan sheep. *Animals*, 12 (1), 58.
128. Zhao P, Li S, He Z, & Ma X. (2024). Physiological and Genetic Basis of High-Altitude Indigenous Animals' Adaptation to Hypoxic Environments. *Animals (Basel)*. 14(20):3031.
129. Zhao, S., Zhang, Q., Liu, M., Zhou, H., Ma, C., & Wang, P. (2021). Regulation of plant responses to salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4609.
130. Zheng, X, Zhang, K, Zhao, Y, & Fent, K. (2021) Environmental chemicals affect circadian rhythms: An underexplored effect influencing health and fitness in animals and humans, *Environment International*, 149, 106159
131. Zheng C, Zhao Q, Li E, Zhao D, & Sun S. (2022). Role of hypoxia in the behaviour, physiology, immunity and response mechanisms of crustaceans: A review. *Rev Aquac.* ; 14: 676–687.
132. Zhou, H., Shi, H., Yang, Y., Feng, X., Chen, X., Xiao, F., ... & Guo, Y. (2024). Insights into plant salt stress signaling and tolerance. *Journal of Genetics and Genomics*, 51(1), 16-34.
133. Zhu, X., Guan, Y., Signore, A.V.,Storz, J.F. (2018). Divergent and parallel routes of biochemical adaptation in high-altitude passerine birds from the Qinghai-Tibet Plateau. *PNAS*, 115 (8), 1865–1870.

Навчальне видання

Ірина Ігорівна Панчук, Людмила Степанівна Язловицька

**СТРЕСОВІ ФАКТОРИ ТА АДАПТАЦІЯ
У РОСЛИН І ТВАРИН**

Навчальний посібник

Відповідальний за випуск **Волков Р.А.**

Літературний редактор **Лукул О.В.**

Технічний редактор **Чораєва Г.К.**

Електронне видання

Підписано до друку 27.12.2024.

Умов.-друк. арк. 14,4. Обл.-вид. арк. 15,5.

Зам. Н-025.

Видавництво Чернівецького національного університету.

58002, Чернівці, вул. Коцюбинського, 2.

e-mail: ruta@chnu.edu.ua

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 891 від 08.04.2002.

