

І.М. Маньковська, Т.В. Серебровська

Мітохондрії як мішень інтервальної гіпоксії

Ін-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ; E-mail: sereb@biph.kiev.ua

У огляді розглядаються механізми впливу інтервального гіпоксичного тренування (ІГТ) на структуру та функції мітохондрій порівняно з дією гострої гіпоксії (ГГ). Показано, що ГГ викликає набухання, вакуолізацію органел, дезорганізацію та деструкцію мітохондріальних мембран. При дії ІГТ збільшується загальна кількість мітохондрій і зменшується кількість структурно змінених органел, з'являються енергетично активні мітохондрії з везикулярними кристами, утворюються мікромітохондрії. Одним з ключових механізмів пошкодження клітин при гіпоксії та реоксигенації є надмірне виробництво активних форм кисню (АФК) в мітохондріях, які окиснюють білки, ліпіди і ДНК. З іншого боку, низький рівень продукції АФК є захисним і виступає як тригер для адаптивних реакцій. ІГТ перепрограмує метаболізм мітохондрій, що забезпечує адекватну продукцію АТФ. Активація транспорту калію в мітохондріальній матрикс при ІГТ забезпечує захисний механізм від перевантаження іонами Са, викликаного гострою гіпоксією. Інтенсивність енергопродукції мітохондріальних нейронів безпосередньо пов'язана з регуляцією метаболізму нейротрансмітерів – глутамату та ГАМК, які зокрема задіяні в механізмах формування дихального ритмогенезу. Застосування ІГТ сприяє оптимізації цих процесів. Всі реакції адаптації до нього зумовлені факторами, індукованими гіпоксією: HIF-1, HIF-2, HIF-3, що мають транскрипційну активність. Кожна з HIF-субодиниць відіграє свою роль залежно від режиму гіпоксичного навантаження. Встановлені закономірності можуть мати значення при виборі протоколів ІГТ для профілактики та лікування різних хвороб. Нові дані щодо органоспецифічності функцій HIF дають потенційну можливість фармакологічного регулювання системи HIF як нового терапевтичного підходу до лікування. Ключові слова: мітохондріальна дисфункція, інтервальна гіпоксія, морфологія мітохондрій, вільнорадикальні процеси, глутаматергічна система, фактор, індукований гіпоксією.

ВСТУП

Нещодавні відкриття, які продемонстрували ключову роль мітохондрій у фізіології та патології людини і тварин, поставили ці субклітинні складно організовані структури в центр біомедичних досліджень у всьому світі та ініціювали розвиток таких нових напрямів, як мітохондріальна фізіологія [1], мітохондріальна фармакологія [2], мітохондріальна медицина [3, 4], мітохондріальна генетика [5]. Мітохондрії – це «охоронці воріт» (“gate-keepers”) між виживанням і загибеллю клітин, вони регулюють енергетичний обмін, клітинну сигналізацію та диференціацію, редокс-баланс та іонний гомеостаз [6].

© І.М. Маньковська, Т.В. Серебровська

У період еволюції аеробні організми виробили надзвичайно витончену та гармонійну клітинну систему для відповіді на зміни концентрації кисню у позаклітинному середовищі, оскільки молекулярний кисень діє як кінцевий акцептор електронів у мітохондріальному дихальному ланцюзі для продукції енергії в процесі окисного фосфорилування. Дихальний ланцюг мітохондрій реагує на зміни вмісту кисню у позаклітинному середовищі та ініціює каскад функціонально-метаболических внутрішньоклітинних реакцій, які формують сумарну відповідь організму на ці зміни [7, 8]. Наслідком неадекватного постачання тканин киснем є дисфункція мі-

тохондріального апарату, яка в свою чергу слугує провідним базисним молекулярним механізмом у відповіді клітини на дефіцит кисню. Мітохондріальна дисфункція при гіпоксії призводить до акумуляції в цитоплазмі клітин інтермедіатів метаболізму ліпідів і вуглеводів, накопичення іонів кальцію, вивільнення з мітохондрій цитохрому *c* та розвитку апоптозу клітин. За умов гіпоксії дихальний ланцюг мітохондрій є головним внутрішньоклітинним джерелом генерації активних форм кисню (АФК), надмірне утворення яких порушує метаболічні процеси, структуру білків, мітохондріальний геном [9, 10]. Таким чином, АФК виступають як основні медіатори клітинного пошкодження при гіпоксії. Мітохондріальна дисфункція при кисневому голодуванні тканин – обов'язкова складова більшості патологічних процесів в організмі.

З іншого боку, відомо, що адаптація до інтервального гіпоксичного подразнення викликає позитивні зміни в роботі мітохондріального апарату клітин, перебудовує тканинне енергозабезпечення, пов'язане з більш економним використанням кисню, стабілізує мітохондріальні мембрани тощо [7, 10, 11]. Механізми адаптації до інтервальної гіпоксії дають змогу організму не тільки виживати в умовах гострого дефіциту кисню, а й підвищувати його стійкість до емоційного стресу, інтенсивних фізичних навантажень тощо. Інтервальні гіпоксичні тренування (ІГТ) здійснюють свій антигіпоксичний вплив через стимуляцію власних ендогенних механізмів захисту організму на всіх рівнях – від гена до цілого органа чи тканини. Так, відома функція АФК як внутрішньоклітинних месенджерів, що регулюють різноманітні клітинні процеси за допомогою активації факторів транскрипції антиоксидантних ферментів, регуляторних і захисних білків [12, 13]. Саме АФК відіграють роль тригера, який здатен ініціювати каскад внутрішньоклітинної редокс-сигналізації з наступною активацією редокс-чутливих факторів транскрипції та

генів, що регулюють синтез і міграцію в клітині регуляторних компонентів [14]. В останнє десятиріччя були досліджені нові шляхи мітохондріальної сигналізації, які включають вивільнення метаболітів, мітохондріальну динаміку та рухливість, взаємодію з такими органелами, як ендоплазматичний ретикулум [23]. Встановили, що сигналізація, залежна від мітохондрій, має дивергентні фізіологічні та патофізіологічні наслідки.

До недавнього часу дослідження інтервальної гіпоксії в Західній Європі та Північній Америці були в основному зосереджені на негативних наслідках хронічної інтервальної гіпоксії, пов'язаних із синдромом сонного апное. Наприклад, Nanduri та співавт. [16], Prabhakar та Semenza [17] вважають, що інтервальна гіпоксія майже завжди являє собою стимул, який викликає мультиорганну патологію, біохімічні зрушення і зміни патерна експресії генів. Проте протягом останнього десятиліття такий розрив у поглядах між Сходом і Заходом поступово скорочується, і взаєморозуміння в цій сфері стає яснішим [18, 19].

Виникає питання: що є ключовим механізмом, який визначає адаптивну чи дезадаптивну природу різних парадигм інтервальної гіпоксії, які молекулярні шляхи опосередковують патологічну або фізіологічну реакцію на гіпоксію? Нині немає жодних точних свідчень про механізми перемикання з адаптивної на дезадаптивну відповідь на гіпоксичний стимул. Зроблено декілька спроб проаналізувати це питання [7, 20, 21]. Найбільш значний внесок зробили Prabhakar та Semenza [17], які описали транскрипційну регуляцію експресії генів, що опосередкована факторами, індукованими гіпоксією 1 і 2 (HIF-1 і HIF-2). Автори висловлюють основну думку, що HIF-сигналізація не є лінійним процесом, а являє собою складну мережу з, можливо, сотні вхідних стимулів і тисячі потенційних відповідних вихідних, кожен з яких репрезентує різні гени-мішені. Відкриття сімейства HIF дало змогу по-новому

поглянути на молекулярні основи адаптивних і дезадаптивних відповідей на клітинному та системному рівні при дії безперервної та періодичної гіпоксії. Проте поки вони не можуть відповісти на практичне питання: яка доза та режим гіпоксичного подразнення найбільш вигідні для тварин і людей.

У цьому огляді ми розглянемо механізми впливу періодичної гіпоксії на структуру та функції мітохондрій різних тканин і можливості застосування інтервальної гіпоксії для запобігання розвитку мітохондріальної дисфункції при різних гіпоксичних станах, акцентуючи увагу на останніх роботах співробітників відділу з вивчення гіпоксичних станів Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України.

Морфологічні зміни мітохондрій при різних типах гіпоксії

Треба відмітити, що вплив інтервальної гіпоксії на ультраструктуру мітохондрій досліджений недостатньо. В літературі є лише поодинокі праці, в яких наголошується, що інтервальна гіпоксія (перебування на висоті 5000 м по 6 год на добу протягом 28 діб) запобігає розвитку порушень ультраструктури мітохондрій міокарда та делеції мітоДНК у кардіоміоцитах, які виникають під час ішемії–реперфузії [22].

У циклі експериментальних робіт Розової [23, 24], проведених на щурах, показано, що гостра гіпоксична гіпоксія (дихання газовою сумішшю з 7 % кисню в азоті впродовж 30 хв) викликала в тканинах легень і міокарда набухання мітохондрій різного ступеня вираженості, часткову або повну вакуолізацію органел, порушення регулярності крист з набуханням міжкристних проміжків, дезорганізацію і деструкцію мітохондріальних мембран – частіше внутрішньої, іноді і зовнішньої. У деяких мітохондріях утворювалися дрібні оптично щільні структури, оточені сформованою мембранною оболонкою (мікромітохондрії).

Найбільш виражена мітохондріальна дисфункція спостерігається в тканині легень

при респіраторній гіпоксії, що розвивається при експериментальній пневмонії: розплавлення крист, повна вакуолізація, порушення цілісності мітохондріальних мембран (як внутрішньої, так і зовнішньої). Збільшується загальна кількість лізосом, особливо вторинних, які щільно прилягають до мітохондрій, що є свідченням посилення дегенеративних процесів у них та напруженого, менш економічного їх функціонування.

Значна гетерогенність змін мітохондрій була також у міокарді при дії гострої гіпоксичної гіпоксії. Відбувався виражений поділ мітохондрій на органели в різних конфігураційних енергозалежних станах, що може свідчити про наявність термінових адаптивних змін у серцевому м'язі, спрямованих на підтримання адекватного енергозабезпечення при змінених умовах існування. Крім того, часто спостерігались ознаки прямого ділення мітохондрій, що властиво гострогіпоксичному впливу. Утворювалися також преципітати кальцію на внутрішній мембрані мітохондрій.

На відміну від гострої гіпоксії, при дії ІГТ зміни морфофункціонального стану досліджуваних тканин значною мірою носять компенсаторно-приспосувальний характер [25]. Відносно тканини серця такий висновок базувався на тому, що при менш виражених проявах гіпоксичного набряку зростає загальна кількість мітохондрій та вдвічі зменшується кількість структурно змінених органел, з'являються енергетично активні мітохондрії з везикулярними кристами. У мітохондріях легень і серця зі зміненою ультраструктурою утворюються мікромітохондрії діаметром 10–15 нм. Такий процес спостерігається лише при гіпоксичній гіпоксії.

Одержані результати можна розглядати з позиції того, що ІГТ значно поліпшує контроль якості мітохондрій, який регулюється балансом між їхнім біогенезом та аутофагічною деструкцією. Тобто цей контроль якості досягається встановленням тонкого балансу між елімінацією пошкоджених і дисфункціональних мітохондрій через аутофагію (мі-

тофагію) та генерацією нових і «здорових» мітохондрій завдяки процесам біогенезу, злиття (fusion) та розділу (fission) [26]. Взагалі, встановлення молекулярних та клітинних механізмів мітохондріального біогенезу і ауто/мітофагії наразі є найважливішою темою мітохондріології.

Таким чином, дослідники дійшли висновку, що гостра гіпоксична гіпоксія викликає органоспецифічні деструктивні зміни в ультраструктурі мітохондрій легеневої та серцевої тканин. Найсильніше ушкодженою виявилася тканина легень, а найбільш стійким до різних типів гіпоксії є міокард. При ІГТ найбільш ефективним режимом для позитивних ультраструктурних змін у тканинах організму виявилися 5-хвилинні експозиції газової суміші з 12 % O_2 з 15-хвилинними нормоксичними інтервалами.

Роль вільнорадикальних процесів у формуванні мітохондріальної дисфункції та при адаптації до ІГТ

Як було розглянуто раніше, АФК відіграють ключову роль у важливих регуляторних механізмах клітини та є не тільки ушкоджувальними агентами, але й фізіологічними месенджерерами, що запускають різні сигнальні каскади та є початковою, чутливою до окисно-відновного стану, ланкою редоксигналізації, що забезпечує передачу сигналу від місця генерації АФК до ядра клітини [27]. Дефіцит кисню порушує енергетичний обмін і стимулює вільнорадикальне окиснення, а активація цих процесів, ушкоджуючи мембрани мітохондрій і лізосом, збільшує енергодефіцит, формується „хибне коло”, що насамкінець може викликати незворотні ушкодження й загибель клітин.

З іншого боку, ланка антиоксидантних реакцій у механізмах захисту від негативного впливу АФК є провідною і найбільш потужною, оскільки вона не тільки запобігає розвитку вільнорадикальних реакцій, нагромадженню супероксид-аніонів, перекисів,

але й підтримує високу активність окисно-відновних процесів, забезпечує елімінацію кінцевих кисневих метаболітів із залученням їх в енергетичний обмін, сприяє активності синтетичних процесів [28].

Рівень порушень оксидативних процесів у мітохондріях (інтенсивність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та окисної модифікації білків) за умов гострої гіпоксичної гіпоксії активно вивчали у відділі гіпоксичних станів Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України [25, 29]. Згідно з результатами досліджень, гостра гіпоксична гіпоксія (газова суміш з 7 % O_2) викликала у щурів інтенсифікацію процесів ПОЛ, підвищення вмісту окисненого (GSSG) та зниження вмісту відновленого (GSH) глутатіону, збільшення вмісту окисно-модифікованих білків. Було виявлено високий ступінь негативної кореляції між оксидативними змінами у мітохондріях і показниками окисного фосфорилування, а також між інтенсифікацією оксидативних процесів у мітохондріях та активністю антиоксидантних ферментів системи глутатіону, рівнем експресії білка та мРНК марганцевої супероксиддисмутази [30]. Це свідчить про ключову роль АФК як у формуванні мітохондріальної дисфункції при гострій гіпоксії, так і в регуляції відповіді антиоксидантних систем на оксидативний стрес.

При застосуванні ІГТ як в експерименті, так і в клінічній практиці, відмічалися різноманітні зміни прооксидантно-антиоксидантного стану мітохондрій різних тканин. В експерименті після ІГТ було показано значне підвищення активності антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутаза, каталази, глутатіонредуктази в міокарді, в той час як їх підвищення в мозку та печінці було менш вираженим [31, 32]. ІГТ, застосовані у хворих на ішемічну хворобу серця, а також при лікуванні бронхіальної астми у дітей, викликали зниження концентрації продуктів, що реагують на тіобарбітурову кислоту, підвищення активності супероксиддисмутази, каталази

та глутатіонредуктази відносно вихідних значень [33–35].

Введення в режим тренування гіпероксичної компоненти дало змогу досягти більш швидкого позитивного результату [30]. Інтервальні гіпоксично/гіпероксичні тренування (ІГТ) дають можливість підвищувати рівень АФК-сигналу без посилення негативних наслідків прооксидантного впливу [32].

Показано, що на тлі ІГТ підвищується ефективність процесів окисного фосфорилування, знижується гіперактивація марганцевої супероксиддисмутази у мітохондріях міокарда щурів і посилюється експресія білка цього антиоксидантного ферменту після тестової дії гострої гіпоксії [36].

Підсумовуючи вищезгадане, можна зробити висновок, що використання ІГТ і особливо, ІГТ для попередження оксидативних порушень у мітохондріях виявилось ефективним, зокрема таким, що вагомо підвищувало резистентність клітинних структур до впливу гострої гіпоксичної гіпоксії. Їх застосування значно гальмує вплив гострої гіпоксії на розвиток мітохондріальної дисфункції, знижує рівень оксидативних пошкоджень мітохондрій, підвищує потужність ендогенної антиоксидантної системи.

Дихальна функція мітохондрій при мітохондріальній дисфункції та за умов адаптації до ІГТ

Доведено, що дисфункція мітохондріальних ферментів, насамперед мітохондріального ферментного комплексу I, лежить в основі будь-якої форми гіпоксії і є молекулярним механізмом, який визначає енергетичні порушення в умовах обмеження доставки кисню до клітини [7]. Відновлення електронно-транспортної функції дихального ланцюга при гіпоксії – важливе завдання антигіпоксичного захисту, що зумовлює створення антигіпоксичних засобів енерготропної дії.

Відомо, що на внутрішній мембрані мітохондрій локалізуються ферменти синтезу АТФ, системи транспорту іонів, а також пе-

реносники електронів дихального ланцюга, які безпосередньо беруть участь у продукції енергії, необхідної для функціонування клітин. Порівняно недавно виявлено участь мітохондрій у регуляції кальцієвого гомеостазу клітини та підтримання фізіологічно необхідного вмісту цитозольного кальцію [37, 38]. За фізіологічних умов відкривання нещодавно виявлених мітохондріальних АТФ-залежних калієвих каналів відбувається при різкому зниженні внутрішньоклітинної концентрації АТФ, наприклад при ішемії [39]. Доведено, що транспорт іонів калію, активований відкриванням калієвих АТФ-каналів – це сильний модулятор основних мітохондріальних функцій: споживання кисню [39, 40], генерації протонного градієнта та трансмембранного потенціалу [41], синтезу [42] та гідролізу АТФ [43], тобто всіх основних характеристик енергетичного стану мітохондрій.

Крім того, показано, що активація аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів ($K_{\text{АТФ}}$ -каналів) є захисним механізмом від перевантаження мітохондрій іонами кальцію, яке є однією з причин розвитку мітохондріальної дисфункції [44]. Дослідженню ролі мітохондріального АТФ-залежного калієвого каналу в регуляції функціональних характеристик дихального ланцюга мітохондрій при патологічних станах, що супроводжуються розвитком мітохондріальної дисфункції, присвячений цикл робіт співробітників Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця.

При розвитку експериментальної мітохондріальної дисфункції, викликаній тривалим іммобілізаційним стресом, введенням ротенону чи дією гострої гіпоксичної гіпоксії, знижується швидкість дихання мітохондрій у різних тканинах (печінка, головний мозок, пародонт), що більш істотно проявляється за умов окиснення НАД-залежного субстрату дихального ланцюга – α -кетоглутарату, тобто спостерігається тенденція до обмеження ролі НАД-залежних субстратів у загальному окисненні [45–47]. Це ще раз підкреслює

положення Лук'янової [7] про те, що саме зі зниження функціонування мітохондрій на субстратній, а не на термінальній ділянці дихального ланцюга, починається порушення утилізації кисню.

При вивченні дії ІГТ на мітохондріальне дихання із застосуванням різних субстратів окиснення [11, 45–47] було показано, що зміни функціонування мітохондрій печінки пов'язані зі підвищенням значення дихального контролю за Чансом та коефіцієнта АДФ/О, збільшенням швидкості дихання мітохондрій у активному метаболічному стані під дією роз'єднувача дихання з фосфорилуванням, зниженням активності сукцинатдегідрогенази. Позитивні зміни спостерігалися впродовж 2 міс після останнього сеансу ІГТ. Ці дані збігаються з результатами нещодавніх робіт [48–50], в яких показано, що періодична гіпобарична гіпоксія значно підвищує стійкість енергетичного метаболізму мітохондрій міокарду до ішемії–реперфузії, аноксії–реоксигенації чи інтенсивного фізичного навантаження.

Важливим регулятором функціонування дихального ланцюга та кальцій-акумуляуючої системи мітохондрій є транспорт іонів калію. Показано, що між змінами кальцій-транспортних характеристик (початкова швидкість накопичення кальцію, V_0 та кальцієва ємність) і вмістом калію в середовищі інкубації спостерігається зворотна залежність: підвищення концентрації калію різко гальмує захват кальцію мітохондріями [51]. Водночас з підвищенням концентрації калію його вхід із середовища в матрикс посилюється. Можна передбачити, що активація транспорту калію в мітохондріальний матрикс при ІГТ забезпечує захисний механізм від перевантаження іонами Са. Зміна активності мітоАТФ-залежних калієвих каналів є важливою ланкою механізму регуляції функціонального стану мітохондрій і супроводжується зниженням негативних наслідків мітохондріальної дисфункції при гіпоксії.

Вплив різних режимів інтервальної гіпоксії на оксигенацію тканин і мітохондріальне дихання

Поширення методів гіпоксичного тренування/лікування в клініці, спортивній і військовій практиці в останні десятиліття викликало жваву дискусію про найбільш ефективні режими ІГТ. Традиційні нормобаричні протоколи включають чергування періодів дихання гіпоксичними газовими сумішами з диханням навколишнім повітрям або гіпероксичними сумішами (30 % O_2). Для реалізації різних видів гіпоксичного тренування були розроблені численні пристрої, в тому числі гіпобаричні камери, кімнати зі зниженим вмістом кисню в повітрі, індивідуальні гіпоксикатори, які виробляють гіпоксичне повітря різними способами [52–54]. Гіпоксичні схеми, які використовуються для вивчення адаптації до ІГТ, варіюють у широких межах: від 3–12 коротких гіпоксичних сесій по 2–10 хв з 2–20-хвилинними нормоксичними інтервалами протягом 7–30 діб, до гіпоксичних впливів тривалістю 1–12 год протягом 2–90 діб поспіль. Щоб визначити, який тип режиму є більш плідним, було виконано багато експериментів на тваринах і обстежень людей [55–62].

Найбільш інформативними показниками гіпоксичного впливу на організм є ступінь оксигенації тканин і тканинне дихання. Метою одного з наших досліджень було порівняти ефекти п'яти найбільш поширених режимів гіпоксичного тренування на PO_2 в литковому м'язі щура і з'ясувати, який з них найкраще впливає на мітохондріальне дихання [47].

Виявилось, що найбільш ефективним є режим з 5-хвилинними періодами дихання газовою сумішшю з 12 % O_2 , що перериваються 5-хвилинними інтервалами дихання кімнатним повітрям, 5–6 разів на добу протягом 2- або 3 тиж залежно від мети тренування/лікування. Такий режим призводить до мінімального зниження м'язового PO_2 в кінці кожного гіпоксичного періоду та швидкого відновлення при диханні повітрям. Двотиж-

невий курс ІГТ в цьому режимі підвищив базальну оксигенацію тканин при нормоксії, а також при гострому гіпоксичному тесті (дихання сумішшю з 7 % O₂ протягом 30 хв). Крім того, адаптація до ІГТ за цих умов викликала реорганізацію роботи енергетичного апарату мітохондрій печінки та серця на користь НАД-залежного окиснення субстратів і підвищення ефективності окисного фосфорилування. Позитивні зміни спостерігалися в тканині печінки після 7 діб ІГТ, а у міокарді – після 21 доби і зберігалися протягом 3 міс після закінчення процедури. Ці експериментальні дослідження можуть бути корисними при розробці режимів гіпоксичного тренування для здорових людей різних категорій і пацієнтів з різними захворюваннями.

Особливості функціонування глутаматергічної системи респіраторних структур стовбура мозку при мітохондріальній дисфункції та її корекція за допомогою ІГТ

Зміни енергетичного статусу мітохондрій нейронів стовбура мозку при мітохондріальних дисфункціях викликають особливий інтерес. Існує ймовірність того, що інтенсивність енергопродукції мітохондрій нейронів довгастого мозку може бути безпосередньо пов'язана з регуляцією метаболізму окремих нейротрансмітерів – глутамату та його біохімічного похідного ГАМК, основних збуджувальних і гальмівних агентів, які задіяні в механізмах формування дихального ритмогенезу [63]. Взаємозв'язок подібного роду визначає той факт, що метаболізм глутамату і ГАМК безпосередньо залежить від вмісту продукції макроергів [64]. Вивченню цього питання присвячений цикл робіт Колеснікової [45, 65].

Автор використала модель, яка базується на здатності токсичного агента ротенону викликати блокаду комплексу I дихального ланцюга мітохондрій внаслідок зв'язування з PPST-субодиницею мультиполіпептидного комплексу НАДН-убіхінон редуктази. Було

показано, що дисфункція мітохондрій нейронів стовбурових структур супроводжується зниженням піку та частоти електроміографічної активності діафрагми, а також рівня енергетичного метаболізму нейронів, зокрема, зменшенням швидкості фосфорилування, що врешті-решт визначає зменшення чутливості мозку до гіпоксичної стимуляції. Помірна гіпоксія, якій піддавалися тварини упродовж 30 хв, справляла парадоксальний стимулювальний ефект на швидкість дихання, а також спряження окиснення та фосфорилування. Блокада глутаматних NMDA-рецепторів нейронів стовбура мозку сприяла підвищенню частоти електроміографічної активності, що розглядається як результат скасування участі цих рецепторів та залучення AMPA-рецепторного апарату в механізми роботи центрального генератора ритму дихання. Результати дослідження свідчать про те, що енергетичний статус мітохондрій нейронів стовбура мозку, мабуть, є одним з потенційних тригерів формування респіраторної активності в центральному генераторі ритму за віссю основних нейротрансмітерів – «Глутамат-ГАМК». Застосування ІГТ сприяло оптимізації спряженості процесів окиснення і фосфорилування та ефективності використання кисню в мітохондріях нейронів стовбура мозку, що усуває дисрегуляцію метаболізму основних нейротрансмітерів, які беруть участь у формуванні дихального ритмогенезу.

Участь фактора, індукованого гіпоксією, в адаптації організму до ІГТ

Реакція клітини на нестачу кисню має особливе значення для розуміння патологічних процесів, що відбуваються в організмі. Кілька років тому стало відомо, що найважливішу роль у цих процесах відіграє киснечутливий протеїновий комплекс з транскрипційною активністю – фактор, індукований гіпоксією (HIF). Численні огляди останніх років свідчать про пильну увагу фізіологів, генетиків і клініцистів до цієї проблеми. Ми сконцен-

труємося на деяких останніх повідомленнях про участь HIF у розвитку мітохондріальної дисфункції і вплив на ці процеси періодичної гіпоксії.

HIF є гетеродимерним транскрипційним комплексом, який складається з киснерегульованих α -субодиниць [HIF-1 α , HIF-2 α або HIF-3 α] та кисненезалежної β -субодиниці. Якщо HIF-2 α проявляє функціональну подібність до HIF-1 α , який детально досліджений, то про особливості експресії та функціональну роль HIF-3 α в різних тканинах за нормоксичних і гіпоксичних умов відомо дуже мало. Крім того, в літературі здебільшого зустрічаються дані про активацію білків HIF за умов гіпоксії, а відомостей стосовно експресії мРНК різних субодиниць HIF дуже мало.

Нещодавно було показано, що HIF-1 відіграє критичну роль у регуляції продукції вільних радикалів кисню у мітохондріях завдяки різним механізмам: прямим – регуляція біосинтезу та аутофагії мітохондрій, перебування патерна експресії субодиниць цитохром с-оксидази, а також опосередкованим – регуляція експресії піруват дегідрогенази-кінази-1 (PDK-1), яка фосфорилує та інактивує проліл гідроксилази [17]. При дослідженні регуляції мітохондріального метаболізму за допомогою HIF-1 показано, що при гіпоксії та, відповідно, при збільшенні продукції АФК мітохондріями, підвищується експресія HIF-1 α та його генів-мішеней [20, 66].

Отже, з одного боку, HIF-1 спричиняє розвиток клітинної адаптації до гіпоксії за допомогою активного зниження споживання кисню в мітохондріях через дію PDK-1, що за гіпоксичних умов стимулює гліколітичні процеси у клітині та запускає процес аутофагії через BNIP-3 [67, 68]. З іншого боку, HIF-1 впливає на експресію miR-210, що здатна знижувати вираженість апоптозу та регулювати експресію субодиниці цитохром оксидази COX-4, пов'язаної з продукцією АФК, швидкістю споживання кисню та утворенням АФК у мітохондріях. Очевидно, що порушення функціонування системи HIF при різних стрес-

сорних чинниках може викликати розвиток мітохондріальної дисфункції. Проте механізми подібних впливів тільки починають вивчати.

Зокрема, показано, що супресія мітохондріальних генів доксорубіцином впливає на такі енергочутливі молекули, як АТФ-активована протеїнкіназа (АМРК), HIF-1, нуклеарний респіраторний фактор 1 (NRF-1) та проліфератор-активований рецептор γ -коактиватор-1 α (PGC-1 α) [69, 70]. Протеомний аналіз дав змогу показати послідовні зміни протеїнів, що включені в систему енергопродукції та мітохондріального антиоксидантного захисту [71]. Такий аналіз також довів, що при періодичній гіпоксії дуже виразно зростала експресія не менш як 9 протеїнів, які залучаються в мітохондріальний енергетичний метаболізм [49].

У відділі з вивчення гіпоксичних станів Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України на підставі комплексного дослідження розподілу в різних органах щурів матричної РНК усіх субодиниць HIF за нормоксичних та гіпоксичних умов отримано нові дані про зміни кількості мРНК HIF-1 α , HIF-1 β , HIF-2 α і HIF-3 α у різних органах [72–75]. Застосування методу полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі дало можливість уперше встановити значне підвищення рівня експресії мРНК субодиниці HIF-3 α у серці, легенях і нирках щурів при ІГТ.

Для того, щоб пояснити можливу реакцію збільшення експресії мРНК саме субодиниці HIF-3 α , за допомогою сучасної біоінформативної технології було проведено пошук елементів, чутливих до гіпоксії (послідовності HRE – A/GCGTG) у промоторах таких генів щура: EPO, VEGF, IGF-2 (про які вже достеменно відомо, що їх експресія регулюється транскрипційним фактором HIF) та HIF-3 α . Результати пошуку дали змогу припустити, що експресія саме гена HIF-3 α може контролюватися іншими α -субодиницями HIF. Отже, білки HIF-1 α та HIF-2 α ймовірно стимулюватимуть експресію матричної РНК гена HIF-3 α при гіпоксії.

Таким чином, збільшення експресії мРНК гена HIF-3 α при гострій гіпоксії та ІГТ певною мірою може бути зумовлене наявністю у промоторі цього гена елемента, чутливого до гіпоксії. І це збільшення виступає маркером реакції навіть на помірну гіпоксію з боку системи транскрипційних факторів HIF і мРНК їх гена-мішені еритропоетину. В літературі є нечисленні відомості про те, які молекулярні механізми задіяні в індукції експресії HIF-1 α при періодичній гіпоксії, – це генерація АФК через НАДФН-окисдазу, АФК-залежний кальцієвий сигнальний шлях, який включає активацію фосфоліпази С- γ і групи кіназ: протеїнкінази С, mTOR і S6-кінази. В результаті, збільшення mTOR-залежного синтезу HIF-1 α і зменшення пролілігдроксилазалежної HIF-1 α деградації роблять свій внесок в акумуляцію HIF-1 α при інтервальній гіпоксії [76].

Портніченко та співавт. [77, 78] досліджували зміни споживання кисню, температури тіла та експресії генів HIF-1 α та HIF-3 α в легенях у щурів молодого та зрілого віку, адаптованих до впливу хронічної гіпоксії на висоті 2100 м, та при адаптації до періодичної гіпоксії у барокамері. Виділено чотири фази фізіологічних змін при дії ІГТ. Перша фаза, гіпометаболічна (1–3 сеанси), характеризується зниженням споживання кисню та температури тіла, індукцією HIF-1 α та HIF-3 α . У другій, перехідній фазі (3–4 сеанси) відбувається перебудовується метаболізм і знижується гіпоксична реактивність. Третя фаза, гіперметаболічна (4–5 сеанси), характеризується посиленням енергетичного метаболізму і компенсацією гіпоксичних порушень. Четверта фаза (після 5-го сеансу) – це стан метаболічної адаптації з нормалізацією споживання кисню та температури тіла, експресії HIF-1 α та HIF-3 α , мітохондріального дихання, підвищенням окиснення НАД-залежних вуглеводних і ліпідних субстратів. ІГТ призводили до транскрипційної активації гена HIF-1 α в легенях і сприяли швидкому відновленню метаболізму у 6-місячних щурів. У 12-місячних тварин спостерігали фор-

мування HIF-3 α -опосередкованих захисних механізмів у легенях і повільне відновлення метаболічних процесів.

Встановлені закономірності реакції різних субодиниць HIF на гостру та інтервальну гіпоксію можуть мати значення при виборі протоколів ІГТ для профілактики та лікування різних хвороб, а також при тренуванні спортсменів. Крім того, нові дані щодо функцій HIF в енергетичному метаболізмі (з огляду на органоспецифічність) з'ясовують можливість фармакологічного регулювання системи HIF як нового терапевтичного підходу до лікування багатьох хвороб, включаючи рак, діабет, жирову дистрофію печінки тощо [20].

Таким чином, розкриття молекулярних, генетично детермінованих механізмів адаптації до періодичної гіпоксії є фундаментальним аспектом фізіології і патофізіології та може слугувати потенційно новим терапевтичним підходом до лікування хвороб людини, пов'язаних з дією хронічної гіпоксії різного генезу. Проведені дослідження дозволили встановити закономірності розвитку мітохондріальної дисфункції у різних тканинах тварин і людини та їх зв'язок з порушеннями системних, тканинних, клітинних та генетичних механізмів доставки та утилізації кисню в мітохондріях. Це дає підґрунтя для подальшого удосконалення методів ІГТ з урахуванням індивідуальних особливостей організму кожного пацієнта.

И.Н. Маньковская, Т.В. Серебровская

МИТОХОНДРИИ КАК МИШЕНЬ ИНТЕРВАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ

В обзоре рассматриваются механизмы влияния интервальной гипоксической тренировки (ИГТ) на структуру и функции митохондрий в сравнении с действием острой гипоксии. Показано, что острая гипоксия вызывает набухание митохондрий, вакуолизацию органелл, дезорганизацию и деструкцию митохондриальных мембран. При воздействии ИГТ увеличивается общее количество митохондрий и уменьшается количество структурно измененных органелл, появляются энергетически активные митохондрии с везикулярными кристами, происходит образование

микромитохондрий. Одним из ключевых механизмов повреждения клеток при гипоксии и реоксигенации является чрезмерное производство активных форм кислорода (АФК) в митохондриях, которые окисляют белки, липиды и ДНК. С другой стороны, низкое содержание продукции АФК является защитным и служит в качестве триггера для адаптивных реакций. ИГТ перепрограммирует метаболизм митохондрий, обеспечивая адекватную продукцию АТФ. Активация транспорта калия в митохондриальный матрикс при ИГТ является защитным механизмом от перегрузки ионами Са, вызванного острой гипоксией. Интенсивность энергопродукции митохондриальных нейронов непосредственно связана с регуляцией метаболизма нейротрансмиттеров – глутамата и ГАМК, которые, в частности, задействованы в механизмах формирования дыхательного ритмогенеза. Применение ИГТ способствует оптимизации этих процессов. Все реакции адаптации к ИГТ обусловлены факторами, индуцируемыми гипоксией: HIF-1, HIF-2, HIF-3, обладающими транскрипционной активностью. Каждая из HIF-субъединиц играет свою роль в зависимости от режима гипоксической нагрузки. Установленные закономерности могут иметь значение при выборе режимов ИГТ для профилактики и лечения различных болезней. Новые данные об органоспецифичности функций HIF дают потенциальную возможность фармакологического регулирования системы HIF в качестве нового терапевтического подхода к лечению заболеваний. Ключевые слова: митохондриальная дисфункция, интервальная гипоксия, морфология митохондрий, свободнорадикальные процессы, глутаматергическая система, фактор, индуцируемый гипоксией.

I.M. Mankovska, T.V. Serebrovska

MITOCHONDRIA AS A TARGET OF INTERMITTENT HYPOXIA

Mitochondria (Mt) play a key role in the physiology and pathology of humans and animals. Signaling from Mt has divergent physiological and pathophysiological consequences. Critical lack of oxygen causes Mt dysfunction, while adaptation to intermittent hypoxia training (IHT) leads to positive changes in Mt. The focus of this review is to summarize the current knowledge about the mechanisms of IHT impact on Mt structure and functions in compare with the effects of acute hypoxia (AH). It was shown that AH causes mitochondrial swelling, vacuolization of organelles, disorganization and destruction of Mt membranes. When exposed to IHT, the increase in the total number of Mt, the reduction of the number of structurally modified organelles, the appearance of energetically active Mt with vesicular cristae, the microMt formation are observed. AH is associated with oxidative damage, calcium dyshomeostasis, defective ATP synthesis, or induction of the permeability transition pore. Under IHT, the low level of ROS production is protective and serves as a trigger for adaptive responses. IHT leads to reprogramming of Mt metabolism, providing adequate ATP production.

Activation of potassium transport in the Mt matrix during IHT is a protective mechanism against Ca²⁺ overload caused by AH. Mt energy production in brainstem neurons is directly related to the regulation of neurotransmitters - glutamate and GABA which involved in the respiratory rhythmogenesis formation. All adaptive reactions to hypoxia are regulated by HIF-factors (HIF-1, HIF-2, HIF-3). Each of HIF-subunits plays a certain role depending on the mode of hypoxic stress. These peculiarities can be important when choosing a mode of IHT for the prevention and treatment of various diseases. New data about the HIF organ specificity provide potential pharmacological regulation of HIFs as a new therapeutic tool. Key words: mitochondrial dysfunction, intermittent hypoxia, morphology of mitochondria, free radical processes, glutamatergic system, HIF.

O.O.Bogomoletz Institute of Physiology NASU, Kyiv

REFERENCES

1. Bolisetty S, Jaimes EA. Mitochondria and reactive oxygen species: physiology and pathophysiology. *Int J Mol Sci* 2013;14(3):6306-44.
2. Smith RA, Hartley RC, Cocheme HM, Murphy MP. Mitochondrial pharmacology. *Trends Pharmacol Sci*. 2012;33(6):341-52.
3. Giorgi C, Agnoletto C, Bononi A, Bonora M, De Marchi E, Marchi S, Missiroli S, Patergnani S, Poletti F, Rimessi A, Suski JM, Wieckowski MR, Pinton P. Mitochondrial calcium homeostasis as potential target for mitochondrial medicine. *Mitochondrion*. 2012;12(1):77-85.
4. Ylikallio E, Suomalainen A. Mechanisms of mitochondrial diseases. *Ann Med*. 2012;44(1):41-59.
5. Cooper A, Laluzza-Fox C, Anderson S, Rambaut A, Austin J, Ward R. Complete mitochondrial genome sequences of two extinct moas clarify ratite evolution. *Nature*. 2001;409(6821): 704-7.
6. Sheu SS, Dirksen RT, Pugh EN. The 65th Symposium of the Society for General Physiologists: Energizing research in mitochondrial physiology and medicine. *J Gen Physiol*. 2011; 138(6):563-67.
7. Lukyanova LD, Kirova Yu I, and Germanova EL. Energotropic Effects of Intermittent Hypoxia: Role of Succinate-Dependent Signaling. In: Lei Xi & Tatiana V. Serebrovska (Eds). *Intermittent Hypoxia and Human Diseases 2012*; Springer, UK, Chapter 20: 239-52.
8. Vladimirov JuA. Deregulation of mitochondrial membrane permeability, necrosis and apoptosis. *Deregulation pathology: A guide for doctors and biologists* (ed. GN Kryzhanovsky). M.: Medicine. 2002; 127-56.
9. Cadenas E, Boveris A. Mitochondrial free radical production, antioxidant defenses and cell signaling. *The Handbook of Environmental Chemistry*. 2005;2(O):219-34.
10. Sazontova TG, Anchishkina NA, Zhukova AG, Bedareva IV, Pylaeva EA, Kriventsova NA, Polianskaia AA, Iurasov AR, Arkhipenko IuV. [Reactive oxygen species and redox-signaling during adaptation to changes of oxygen

- level]. *Fiziol Zh.* 2008;54(2):18-32. Review. [Russian].
11. Mankovska IM, Gavenauskas BL, Nosar VI, Nazarenko AI, Rozova KV, Bratus LV. Mechanisms of muscle tissue adaptation to load hypoxia under intermittent hypoxia. *Sports medicine.* 2005; 1: 3-11. [Ukrainian].
 12. Guzy RD, Hoyos B, Robin E, Chen H, Liu L, Mansfield KD, Simon MC, Hammerling U, Schumacker PT. Mitochondrial complex III is required for hypoxia-induced ROS production and cellular oxygen sensing *Cell Metab.* 2005;1:401-08.
 13. Yin F, Boveris A, Cadenas E. Mitochondrial energy metabolism and redox signaling in brain aging and neurodegeneration. *Antioxid Redox Signal.* 2014;20(2):353-71.
 14. Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial ROS-induced ROS release: an update and review. *Biochim Biophys Acta.* 2006; 1757(5-6):509-17.
 15. Chandel NS. Mitochondria as signaling organelles *BMC Biol.* 2014;12(1): 34-40.
 16. Nanduri J, Vang N, Yuan G, Khan SA, Souvannakitti D, Peng YJ, Kumar GK, Garcia JA, Prabhakar NR. Intermittent hypoxia degrades HIF-2 via calpains resulting in oxidative stress: implications for recurrent apnea-induced morbidities. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:1199-1204.
 17. Prabhakar NR, Semenza GL. Adaptive and maladaptive cardiorespiratory responses to continuous and intermittent hypoxia mediated by hypoxia-inducible factors 1 and 2. *Physiol Rev.* 2012;92: 967-1003.
 18. Xi L, Serebrovskaya TV (Eds). *Intermittent Hypoxia: From Molecular Mechanisms to Clinical Applications.* Nova Science Publishers NY. 2009; 602 pp.
 19. Semenza GL. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. *Cell.* 2012;148(3):399-408.
 20. Goda N, Kanai M. Hypoxia-inducible factors and their roles in energy metabolism. *Int J Hematol.* 2012;95:457-63.
 21. Serebrovskaya TV, Manukhina EB, Smith ML, Downey HF, and Mallet RT. Intermittent Hypoxia: Cause of or Therapy for Systemic Hypertension? *Exp Biol Med (Maywood).* 2008;233(6):627-50.
 22. Zhong N, Zhang Y, Zhu H.F, Zhou ZN. Intermittent hypoxia exposure prevents mtDNA deletion and mitochondrial structure damage produced by ischemia/reperfusion injury. *Scheng Li Xue Bao.* 2000;52(5):375-80.
 23. Rozova KV, Trepatskaya TV. Ultrastructural features of destruction and morphogenesis of mitochondria in body tissues during hypoxia of different genesis. In: Challenges, achievements and prospects of life sciences development and health care practice. Proceedings of SI Georgievski Crimean state medical university. 2006; 142 (III): 126-9.
 24. Rozova KV. Effect of normo- and hypobaric hypoxia on ultrastructure of the lung and myocardial tissue. *Fiziol Zh.* 2008;54(2):63-8. Ukrainian.
 25. Gonchar OA, Rozova EV. Effects of different modes of interval hypoxic training on morphological characteristics and antioxidant status of heart and lung tissues. *Bull Exp Biol Med.* 2007 Aug;144(2):249-52. Russian.
 26. Gustafsson AB, Gottlieb RA. Autophagy in ischemic heart disease. *Circ Res.* 2009;104:150-8.
 27. Semenza GL. Life with oxygen. *Science.* 2007;318:62-4.
 28. Skulachev VP. New data on biochemical mechanism of programmed senescence of organisms and antioxidant defense of mitochondria. *Biochemistry,* 2009;74(12): 1400-03.
 29. Gonchar O, Mankovska I. Moderate hypoxia/hyperoxia attenuates acute hypoxia-induced oxidative damage and improves antioxidant defense in lung mitochondria. *Acta Physiol Hungarica.* 2012; 99(4): 436-46.
 30. Steshenko MM. Changes in prooxidant-antioxidant balance and functional state of rat myocardium mitochondria during acute hypoxia and means for they prevention. Ph.D. thesis. Kyiv. 2012; 24 pp.
 31. Arkhipenko YuV, Sazontova TG, Zhukova AG. Adaptation to periodic hypoxia and hyperoxia improves resistance of membrane structures in heart, liver, and brain. *Bull Exp Biol Med.* 2005;140 (3):278-81.
 32. Sazontova TG, Arkhipenko YuV. Intermittent hypoxia in resistance of cardiac membrane structures: role of reactive oxygen species and redox signaling. In: *Intermittent Hypoxia: From Molecular Mechanisms to Clinical Applications* (Eds: Lei Xi, Serebrovskaya Tatiana V). Nova Science Publishers NY. 2009; Chapter 5: 113-50.
 33. El'chaninova SA, Smagina IV, Koreniak NA, Varshavskii Bla. The influence of interval hypoxic training on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity. *Fiziol Cheloveka.* 2003 May-Jun;29(3):72-5. [Russian].
 34. Kalachev AG, Elchaninova SA, Filippova AG. Using of long hypoxic training for secondary prevention of coronary heart disease. *Bulletin arrhythmology.* 2004; 35: 30-1. [Russian].
 35. Serebrovskaya TV, Nesvitailova KV, Bakunovsky AN, and Mankovska IN. Intermittent Hypoxia in Treatment of Bronchial Asthma in Childhood. In: Lei Xi, Serebrovskaya Tatiana V (Eds). *Intermittent Hypoxia and Human Diseases / Springer, UK.* 2012; Chapter 11: 235-46.
 36. Steshenko MM, Gonchar OO, Mankovska MI. Mitochondrial oxidative violations during hypoxia and its correction by means of interval hypoxic-hyperoxic training. *Exper & Clin Physiol and Biochem.* 2010; (1): 12-17. [Ukrainian].
 37. Mironova GD, Kachaeva EV, Kopylov AT. Mitochondrial ATP-dependent potassium channel. 1. The structure of the channel, the mechanisms of its functioning and regulation]. *Vestn Ross Akad Med Nauk.* 2007;(2):34-43. [Russian].
 38. Akopova OV, Kolchinskaya LI, Nosar VI, Smirnov AN, Malysheva MK, Mankovska IN, Sagach VF. The effect of permeability transition pore opening on reactive oxygen species production in rat brain mitochondria. *Укр біохім журн.* 2011;83(6): 46-55.
 39. Dzeja PP, Holmuchamedov EL, Ozcan C, Pucar D, Jahangir A, Terzic A. Mitochondria: gateway for cytoprotection. *Circ Res.* 2000; 89 (9): 744-46.

40. Facundo HT, Fornazari M, Kowaltowski AJ. Tissue protection mediated by mitochondrial K⁺ channels. *Biochim Biophys Acta*. 2006; 1762: 202-12.
41. Czyz A, Szweczyk A, Nałecz MJ, Wojtczak L. (). The role of mitochondrial potassium fluxes in controlling the protonmotive force in energized mitochondria. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995;210(1):98-104.
42. Holmuchamedov EL, Wang L, Terzic A. ATP-sensitive K⁺ channel openers prevent Ca²⁺ overload in rat cardiac mitochondria. *J Physiol*. 1999;519(2): 347-62.
43. Cancherini DV, Trabuco LG, Reboucas NA, Kowaltowski AJ. ATP-sensitive K⁺ channel in renal mitochondria. *Am J Physiol*. 2003;285: F1291-6.
44. Fryer RM, Eells JT, Hsu AK, Henry MM, Gross GJ. Ischemic preconditioning in rats: role of mitochondrial KATP channel in preservation of mitochondrial function. *Am J Physiol*. 2000;278, H305-12.
45. Kolesnikova EE, Nosar VI, Mankovskaya IN. The role of glutamate in the mechanisms of adaptation of rat control breathing system to intermittent hypoxia. *Neurophysiology*. 2009; 41 (2): 183-91.
46. Opanasenko HB, Bratus' LV, Havenauskas BL, Honchar OO, Man'kovs'ka IM, Nosar VI, Frantsuzova SB. Disturbances of oxygen-dependent processes in periodontal tissues under prolonged immobilization stress and ways of their pharmacological correction]. *Fiziol Zh*. 2013;59(1):17-24. [Ukrainian].
47. Serebrovskaya TV, Nosar VI, Bratus LV, Gavenauskas BL, Mankovska IM. Tissue oxygenation and mitochondrial respiration under different modes of intermittent hypoxia. *High Alt Med Biol*. 2013;14(3):280-8.
48. Wang ZH, Cai XL, Wu L, Yu Z, Liu JL, Zhou ZN, Liu J, Yang HT. Mitochondrial energy metabolism plays a critical role in the cardioprotection afforded by intermittent hypobaric hypoxia. *Exp Physiol*. 2012;97(10): 1005-18.
49. Magalhaes J, Falcao-Pires I, Goncalves IO, Lumini-Oliveira J, Marques-Aleixo I, dos Passos E, Rocha-Rodrigues S, Machado NG, Moreira AC, Miranda-Silva D, Moura C, Leite-Moreira AF, Oliveira PJ, Torrella JR, Ascensao A. Synergistic impact of endurance training and intermittent hypobaric hypoxia on cardiac function and mitochondrial energetic and signaling. *Int J Cardiol*. 2013; 168:5363-71.
50. Magalhaes J, Goncalves IO, Lumini-Oliveira J, Marques-Aleixo I, dos Passos E, Rocha-Rodrigues S, Machado NG, Moreira AC, Rizo D, Viscor G, Oliveira PJ, Torrella JR, Ascensao A. Modulation of cardiac mitochondrial permeability transition and apoptotic signaling by endurance training and intermittent hypobaric hypoxia. *Int J Cardiol*. 2014, 15;173(1):40-5.
51. Akopova OV, Nosar VI, Bouryi VA, Mankovskaya IN, and Sagach VF. Influence of ATP-Dependent K⁺-Channel Opener on K⁺-Cycle and Oxygen Consumption in Rat Liver Mitochondria. *Biochemistry (Moscow)*. 2010;75(9): 1139-47.
52. Zieliński J. Effects of intermittent hypoxia on pulmonary haemodynamics: animal models versus studies in humans. *Eur Respir J*. 2005;25(1):173-80.
53. Mateika J.H., Sandhu K.S. Experimental protocols and preparations to study respiratory long term facilitation. *Respir Physiol Neurobiol*. 2011;176(1-2):1-11.
54. Lopata VA, Serebrovskaya TV. Hypoxicators: Review of the Operating Principles and Constructions. In: Lei Xi & Tatiana V. Serebrovskaya (Eds). *Intermittent Hypoxia and Human Diseases* /Springer, UK. 2012; Chapter 24: 291-302.
55. Fagan KA. Physiological and genomic consequences of intermittent hypoxia. Selected contribution: Pulmonary hypertension in mice following intermittent hypoxia. *J Appl Physiol*. 2001;90:2502-07.
56. Lin AM, Chen CF, Ho LT. Neuroprotective effect of intermittent hypoxia on iron-induced oxidative injury in rat brain. *Exp Neurol*. 2002;176(2):328-35.
57. Neckár J, Papousek F, Nováková O, Ost'ádal B, Kolár F. Cardioprotective effects of chronic hypoxia and ischaemic preconditioning are not additive. *Basic Res Cardiol*. 2002;97(2):161-67.
58. Zong P, Setty S, Sun W, Martinez R, Tune JD, Ehrenburg IV, Tkatchouk EN, Mallet RT, Downey HF. Intermittent hypoxic training protects canine myocardium from infarction. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2004;229(8):806-12.
59. Vavilova HL, Serebrovs'ka TV, Rudyk OV, Bielikova MV, Kolesnikova IE, Kukoba TV, Sahach VF. Effect of the hypoxia training on the sensitivity of phenylarsineoxide-induced mitochondrial permeability transition pore opening in the rat heart. *Fiziol Zh*. 2005;51(4):3-12.
60. Naryzhnaia NV, Neckar J, Maslov LN, Lishmanov IuB, Kolar F, Lasukova TV. The role of sarcolemmal and mitochondrial K(ATP)-channels in realization of the cardioprotection and antiarrhythmic effect of different regimens of hypobaric adaptation. *Russ Fiziol Zh im IM Sechenova*. 2009;95(8):837-49.
61. Manukhina EB, Jasti D, Vanin AF, Downey HF. Intermittent hypoxia conditioning prevents endothelial dysfunction and improves nitric oxide storage in spontaneously hypertensive rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2011;236(7):867-73.
62. Rozova K, Gonchar O, Mankovska I. Benefits and Risks of Different Regimen of Intermittent Hypoxic Training. In: Lei Xi & Tatiana V. Serebrovskaya (Eds). *Intermittent Hypoxia and Human Diseases*. Springer, UK. 2012;Chapter 22:273-80.
63. Bianchi L, Denavit-Saubie M, Champagnat J. Central control of breathing in mammals: neuronal circuitry, membrane properties, and neurotransmitters. *Physiol Rev*. 1995;75: 1-45.
64. Madl J E, Royer S M. Glutamate dependence of GABA levels in neurons of hypoxic and hypoglycemic rat hippocampal slices. *Neurosci*. 2000; 96(4):657-64.
65. Kolesnikova E É, Nosar' VI, Man'kovskaya I N, Serebrovskaya T V Role of Glutamate NMDA Receptors in the Control of Respiration in Mitochondrial Dysfunction in Brainstem Neurons. *Neurophysiology*. 2012; 44 (2): 98-105.
66. Weidemann A, Johnson RS. Biology of HIF-1 alpha. *Cell*

- Death Differ. 2008; 15:621.
67. Kim JW, Tchernyshov I, Semenza GL, Dang CV. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metab.* 2006;3:177-85.
 68. Zhang H, Bosch-Marce M, Shimoda LA, Tan YS, Baek JH, Wesley JB, Gonzalez FJ, Semenza GL. Mitochondrial autophagy is an HIF-1-dependent adaptive metabolic response to hypoxia. *J Biol Chem.* 2008;283:10892-903.
 69. Fernandez-Markos PJ, Auwerx J. Regulation of PGC-1 α , a nodal regulator of mitochondrial biogenesis. *Am J Clin Nutr.* 2011;93(4): S 884-90.
 70. Montaigne D, Hurt C, Neviere R. Mitochondria death/survival signaling pathways in cardiotoxicity induced by anthracyclines and anticancer-targeted therapies. *Biochem Res. Int.* 2012; 951539.
 71. Stěrba M, Popelová O, Lenčo J, Fučíková A, Brčáková E, Mazurová Y, Jirkovský E, Simůnek T, Adamcová M, Mičuda S, Stulík J, Geršl V. Proteomic insights into chronic anthracycline cardiotoxicity. *J Mol Cell Cardiol.* 2011;50(5):849-62.
 72. Drevitska T, Dosenko V, Nagibin V, Mankovska I. HIF-1 α , HIF2 α , HIF3 α and HIF1 β mRNA expression changes in different tissues under intermittent hypoxic training/ In: *Intermittent Hypoxia. From Molecular Mechanisms to Clinical Applications.* Eds: Lei Xi & Tatiana V. Serebrowskaya/ Nova Science Publishers. 2009;Chapter 21: 419-36.
 73. Drevytska T, Gavenauskas B, Drozdovska S, Nosar V, Dosenko V, Mankovska I. HIF-3 α mRNA expression changes in different tissues and their role in adaptation to intermittent hypoxia and physical exercise. *Pathophysiology.* 2012; 19 (3):205-14.
 74. Mankovska IM, Drevitska TI, Dosenko VE. Role of mRNA Expression of Hypoxia Inducible Factor Subunits in Adaptation to Hypoxia. In: *Adaptation Biology and Medicine (Vol.6: Cell Adaptations and Challenges).* Eds: P.Wang et al. Narosa Publishing House. 2011; 279-92.
 75. Drevytska T, Gavenauskas B, Drozdovska S, Nosar V, Dosenko V, Mankovska I. HIF-3 α mRNA expression changes in different tissues and their role in adaptation to intermittent hypoxia and physical exercise. *Pathophysiology.* 2012;19(3):205-14.
 76. Yuan G, Nanduri J, Khan S, Semenza GL, Prabhakar NR. Induction of HIF-1 expression by intermittent hypoxia: involvement of NADPH oxidase, Ca²⁺-signaling, prolyl hydroxylases, and mTOR. *J Cell Physiol.* 2008;217:674-85.
 77. Portnichenko VI, Portnychenko AG, Dosenko VE, Sidorenko AM. Expression of HIF-1 α and HIF-3 α in the lungs and metabolic changes during intermittent hypoxia in rats of different ages. *Achievements Clin Exper Med.* 2010; 2: 3-8.
 78. Portnichenko VI, Nosar VI, Portnichenko AG, Drevitskaia TI, Sidorenko AM, Man'kovskaia IN. Phase changes in energy metabolism during periodic hypoxia. *Fiziol Zh.* 2012;58(4):3-12. [Russian].

*Матеріал надійшов
до редакції 02.09.2014*