

Характеристика групи генів із низьким рівнем експресії в підшлунковій залозі щурів за умов впливу багатоденної переривчастої гіпоксії

Т. В. Іваненко^{ID}*^{A,B,C,D,F}, Ю. М. Колесник^{ID}^{A,E,F}, А. В. Абрамов^{ID}^{A,E,F}

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

У сучасній медичній науці чимало уваги приділяють з'ясуванню молекулярних механізмів, що лежать в основі адаптації до незвичних за походженням та/або надзвичайних за силою факторів навколишнього середовища.

Мета роботи – визначити особливості групи генів із низьким рівнем експресії, пов'язаних із гіпоксією, у підшлунковій залозі щурів лінії Вістар за умов впливу переривчастої гіпоксії.

Матеріали і методи. Дослідження здійснили на 10 білих статевозрілих щурах лінії Вістар, яких поділили на 2 групи (по 5 тварин у кожній). Тварини 1 групи – контрольні (інтактні). Щурам 2 групи проводили гіпоксичні тренування протягом 15 днів по 6 годин щоденно: на 1–5 день в умовах барокамери імітували підйом на висоту від одного до п'яти кілометрів над рівнем моря, а останні 10 днів – 6 км над рівнем моря.

Для аналізу експресії генів використали метод полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу (ПЛР) CFX-96 Touch™ (Bio-Rad, США) та набір RT² Profiler™ PCR Array Rat Hypoxia Signaling Pathway (QIAGEN, Німеччина), де об'єктом дослідження в експериментальних тварин були 84 гени.

Результати. У результаті ПЛР-дослідження генів у зразках підшлункової залози інтактних тварин і щурів, які зазнали впливу гіпоксичних тренувань, встановлено: серед 84 генів, пов'язаних із гіпоксією, виявлено групу з 5 генів із низьким рівнем експресії ($\Delta\Delta Ct < 30$). До цього патерну належать гени *Bhlhe40*, *Ctsa*, *Hif1a*, *Lox* та *Slc16a3*, експресія яких статистично знижена. Так, порівняно з рівнем експресії в інтактних тварин, експресія *Bhlhe40* зменшилася в 2,59 раза, *Ctsa* – в 6,02 раза, *Hif1a* – в 3,85 раза, *Lox* – в 3,01 раза, *Slc16a3* – в 2,40 раза.

Висновки. Переривчаста гіпоксія знижує експресію гена *Bhlhe40* в 2,59 раза; це можна визначити як елемент адаптації клітин до низького рівня кисню та модуляцію генетичних програм. Зменшення експресії генів *Ctsa* в 6,02 раза, *Hif1a* в 3,85 раза та *Lox* в 3,01 раза при переривчастій гіпоксії свідчить, що ці ефекти можна використовувати як саногенні фактори при інсулінорезистентності та цукровому діабеті 2 типу. Зменшений в 2,40 раза рівень експресії *Slc16a3*, імовірно, є елементом метаболічної адаптації та адаптації метаболічного шляху клітин до умов гіпоксії.

Ключові слова:

підшлункова залоза, переривчаста гіпоксія, гени *Bhlhe40*, *Ctsa*, *Hif1a*, *Lox*, *Slc16a3*, інсулін, глюкоза, вуглеводний обмін, жировий обмін, інсуліно-резистентність.

Патологія. 2024.

Т. 21, № 1(60).
С. 23-27

*E-mail:

ivanenko.tv@zsmu.zp.ua

Characteristic of a group of genes with low level of expression in the pancreas of rats under conditions of multi-day intermittent hypoxia influence

T. V. Ivanenko, Yu. M. Kolesnyk, A. V. Abramov

In modern medical science great attention is paid to the clarification of the molecular mechanisms, which are the basis of adaptation to environmental factors of unusual origin and/or extraordinary strength.

The aim of the study is to determine the features of a group of genes with low expression level, associated with hypoxia in the pancreas of Wistar rats under conditions of intermittent hypoxia.

Materials and methods. The study was conducted on 10 white, sexually mature Wistar rats, which were divided into 2 groups (5 animals in each). Animals of group 1 were part of the control (intact) group. The animals of the 2nd group were subjected to hypoxic training according to the following scheme: for 15 days, 6 hours daily, namely on days 1–5 they simulated an ascent to a height of one to five kilometers above sea level under the conditions of a barometer, and the last 10 days 6 km above the sea level.

To analyze gene expression, we used the polymerase chain reaction method with real-time reverse transcription (PCR) CFX-96 Touch™ (Bio-Rad, USA) and the RT² Profiler™ PCR Array Rat Hypoxia Signaling Pathway kit (QIAGEN, Germany), where 84 genes were the subject of research in experimental animals.

Results. According to the results of the PCR study of genes in the pancreas samples of intact animals and animals exposed to hypoxic training, it was established that out of 84 genes associated with hypoxia, a group of 5 genes with a low expression level ($\Delta\Delta Ct < 30$) was found. This pattern includes *Bhlhe40* genes, *Ctsa*, *Hif1a*, *Lox*, and *Slc16a3*, the expression of which is statistically reduced. Thus, compared to the level of their expression in intact animals, the expression of *Bhlhe40* decreased by 2.59 times, *Ctsa* by 6.02 times, *Hif1a* by 3.85 times, *Lox* by 3.01 times, and *Slc16a3* by 2.40 times.

Conclusions. Intermittent hypoxia reduces the expression of the *Bhlhe40* gene by 2.59 times, which can be considered as an element of adaptation of cells to a low level of oxygen and modulation of genetic programs. The decrease in *Ctsa*

Keywords:

pancreas, hypoxia, *Bhlhe40* genes, *Ctsa*, *Hif1a*, *Lox*, *Slc16a3*, insulin, glucose, carbohydrate metabolism, fat metabolism, insulin resistance.

Pathologia.

2024;21(1):23-27

gene expression by 6.02, *Hif1a* by 3.85, and *Lox* by 3.01 times during intermittent hypoxia demonstrates, that these effects can be used as sanogenic factors in insulin resistance and type 2 diabetes. The 2.40-fold decreased expression level of *Slc16a3* is probably an element of metabolic adaptation and adaptation of the metabolic pathway of cells to hypoxia conditions.

У сучасній медичній науці чимало уваги приділяють з'ясуванню молекулярних механізмів, що лежать в основі адаптації до незвичних за походженням та/або надзвичайних за силою факторів навколишнього середовища.

Одним з універсальних факторів, що впливає на життєдіяльність будь-якої клітини, є гіпоксія. Зазначимо, що це стосується не тільки ключових органів і систем, відповідальних за кисневе забезпечення, але й, наприклад, ендокринних бета-клітин підшлункової залози [1]. Наші попередні дослідження дають змогу зрозуміти, які зміни відбуваються в патерні генів, що діють у межах сигнального шляху розвитку гіпоксії, та як зміна їх експресії може впливати на функцію підшлункової залози під час дії переривчастої гіпоксії [2].

Ця стаття присвячена дослідженню групи генів, які за умов багатоденного впливу переривчастої гіпоксії відповідають низьким рівнем експресії в клітинах підшлункової залози щурів. Шляхом аналізу функціональної можливості цих генів вивчено нові аспекти процесу адаптації підшлункової залози до дозованих гіпоксичних навантажень. Це сприятиме розробленню нових методів лікування та профілактики захворювань, пов'язаних із цим органом.

Мета роботи

Визначити особливості групи генів із низьким рівнем експресії, пов'язаних із гіпоксією, у підшлунковій залозі щурів лінії Вістар за умов впливу переривчастої гіпоксії.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили на 10 білих статевозрілих щурах лінії Вістар, яких поділили на 2 групи (по 5 тварин у кожній). Тварини 1 групи – контрольні (інтактні). Щурам 2 групи проводили гіпоксичні тренування протягом 15 днів по 6 годин щоденно: на 1–5 день в умовах барокамери імітували підйом на висоту від одного до п'яти кілометрів над рівнем моря, а останні 10 днів – 6 км над рівнем моря.

Після декапітації експериментальних тварин під тиопенталовим наркозом (50 мг/кг) забирали підшлункову залозу. Зразки фіксували в розчині Буена (20 годин) і після стандартної гістологічної обробки заливали в парапласт (MkCormick, США).

Для аналізу експресії генів використали метод полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу (ПЛР) CFX-96 Touch™ (Bio-Rad, США) та набір RT² Profiler™ PCR Array Rat Hypoxia Signaling Pathway (QIAGEN, Німеччина), де об'єктом дослідження у експериментальних тварин були 84 гени (5 із них визначені як гени з низьким рівнем експресії порівняно з інтактною групою тварин $\Delta\Delta Ct < 30$), що беруть участь у сигнальному шляху дії гіпоксії та визначені в підшлунковій залозі.

Статистичний аналіз даних ПЛР-дослідження виконали за допомогою програмного забезпечення PCR GeneGlobe (QIAGEN, Німеччина) з використанням $\Delta\Delta Ct$ методу [3].

Результати

У результаті ПЛР-дослідження генів у зразках підшлункової залози інтактних тварин і щурів, які зазнали впливу гіпоксичних тренувань, встановлено: серед 84 генів, пов'язаних із гіпоксією, виявлено групу з 5 генів із низьким рівнем експресії ($\Delta\Delta Ct < 30$). До цього патерну належать гени *Bhlhe40*, *Ctsa*, *Hif1a*, *Lox* та *Slc16a3*, експресія яких статистично знижена. Так, порівняно з рівнем експресії в інтактних тварин, експресія *Bhlhe40* зменшилася в 2,59 раза, *Ctsa* – в 6,02 раза, *Hif1a* – в 3,85 раза, *Lox* – в 3,01 раза, *Slc16a3* – в 2,40 раза.

Обговорення

Детального опису потребує кожен із п'яти наведених генів для можливого пояснення та розуміння молекулярних механізмів, що визначені у результаті попередніх досліджень [4,5,6].

Відомо, що ген *Bhlhe40* кодує білок, який відіграє ключову роль у регулюванні метаболізму, вуглеводного та жирового обмінів. *Bhlhe40* відомий своєю участю у контролі експресії низки генів, пов'язаних із метаболізмом, зокрема генів, що кодують гормони, рецептори та фактори транскрипції. Він також задіяний у регуляції таких процесів, як голод, енергетичний баланс і відповідь на стрес [7]. У дослідженнях інших авторів показано, що підвищення експресії гена *Bhlhe40* може призводити до різних порушень метаболізму, як-от цукровий діабет та ожиріння, через його вплив на гормональну систему та регуляцію енергетичного обміну в організмі. Доведено, що цей ген впливає на рівень інсуліну та глюкози в крові, що є ключовими аспектами виникнення цукрового діабету. В окремих дослідженнях встановлено, що експресія гена *Bhlhe40* може змінюватися при цукровому діабеті. Так, виявлено підвищення рівня експресії цього гена у хворих на цукровий діабет [8].

Показано, що ген *Bhlhe40* бере участь у молекулярних механізмах відповіді організму на гіпоксію через модуляцію генетичних програм, які регулюють різні аспекти клітинного метаболізму та виживання [9,10], забезпечуючи адаптацію клітин до низьких рівнів кисню. Встановлено, що підвищення експресії гена *Bhlhe40* при гіпоксії може відбуватися завдяки взаємодії з гіпоксія-індукованим фактором (HIF) або з іншими транскрипційними чинниками [9]. Однак виявлене зниження експресії *Bhlhe40* у підшлунковій залозі при багатоденному впливі переривчастої гіпоксії може відбивати специфіку адаптації цього органа до гіпоксії та спрямоване на оптимізацію внутрішньо-

клітинних процесів виживання в умовах кисневого голодування. Саме тому ген *Bhlhe40* привертає увагу дослідників як потенційна мішень для терапії різних патологій, пов'язаних із гіпоксією: ішемічної хвороби серця, гіпоксичних уражень мозку та інші захворювань, в розвитку яких важливу роль відіграє гіпоксія.

Ген *Ctsa* кодує катепсин А, один із класу протеаз, що мають важливе значення для розщеплення білків у клітинах. Катепсин А локалізується передусім у лізосомах, де він бере участь у регуляції різних клітинних процесів, зокрема руйнуванні внутрішньо-клітинних білків і рециклінгу компонентів клітини [11]. Встановлено, що під час гіпоксичного стану експресія гена *Ctsa* може бути модульована. Це призводить до змін у клітинних механізмах, які виникають відповідно до зниження рівня кисню [12]. Отже, переривчаста гіпоксія, як і стала гіпоксія, може впливати на експресію гена *Ctsa*. Втім під час нашого дослідження виявили, що реакція на переривчасту гіпоксію відрізняється від реакції на постійну гіпоксію. Імовірно, так відбувається внаслідок того, що організм сприймає та відповідає на ці два типи стресу по-різному. Припускаємо, що переривчаста гіпоксія може мати різні ефекти на експресію генів порівняно з постійною гіпоксією. Наприклад, переривчаста гіпоксія може стимулювати адаптивні механізми, що сприяють регуляції експресії генів, включаючи ген *Ctsa*.

У дослідженнях інших авторів показано, що гіпоксія може впливати на активність лізосомальних протеаз, як-от катепсинів. Оскільки ген *Ctsa* кодує катепсин А, його експресія або активність може бути регульована в умовах гіпоксії (наприклад, при онкологічних захворюваннях) та сприяти забезпеченню клітинного виживання та адаптації до таких умов [13]. Доведено також, що ген *Ctsa* може бути пов'язаний із метаболічними захворюваннями. Наприклад, в окремих публікаціях показано зв'язок між дефектами гена *Ctsa* та розвитком різних форм цукрового діабету [14]. Дослідження на тваринах та клітинах людини показали, що катепсин А бере участь у регулюванні метаболізму глюкози та інсулінорезистентності. Зокрема, виявлено, що високий рівень катепсину А може сприяти зменшенню інсулінової чутливості клітин, а отже впливати на виникнення інсулінорезистентності, яка є ключовим фактором у розвитку цукрового діабету 2 типу [14].

Крім того, за даними досліджень, виявлено зв'язки між геном *Ctsa* та метаболічними ускладненнями цукрового діабету – діабетичною нефропатією та ретинопатією. Підвищення рівня катепсину А впливає на розвиток і прогресування цих ускладнень [15].

Відомо, що ген *Hif1a* кодує білок HIF-1 α , який є частиною комплексу гіпоксія-індукованого фактора 1 (HIF-1) та відіграє ключову роль у регуляції клітинної відповіді на гіпоксію. Під впливом гіпоксії рівень кисню в клітинах спадає, що призводить до стабілізації білка HIF-1 α та активації комплексу HIF-1, оскільки в умовах гіпоксії не відбувається його розкладання. Стабільний HIF-1 α утворює комплекс з іншими білками, утворюючи активний HIF-1. Цей комплекс проникає в ядро клітини, де впливає на експресію різних генів, що регулюють клітинну відповідь на гіпоксію. Активованій

HIF-1 комплекс регулює експресію широкого спектра генів, які відповідають за адаптацію клітин до гіпоксії, включаючи гени, що кодують фактори росту, гліколіз, ангіогенез, апоптоз та інші клітинні процеси [16]. Крім того, ген *Hif1a* відіграє важливу роль у регуляції метаболізму, а також у патогенезі багатьох захворювань, як-от рак, серцево-судинні захворювання, ішемічна хвороба, цукровий діабет, захворювання нервової системи.

Зменшення рівня експресії гена *Hif1a*, що можна визначити як зниження активності HIF-1 α , може мати певні корисні ефекти для організму в різних контекстах. Так, при запаленні зменшення експресії *Hif1a* може сприяти зменшенню вироблення запальних цитокінів і зменшенню активації запальних шляхів. Цей ефект можна використати під час лікування захворювань, пов'язаних із запаленням: міокардиту, артриту, хронічних захворювань легень тощо [17].

Стимуляцію синтезу білка HIF-1 α часто визначають у ракових клітинах; він зумовлює їх виживання та прогресування. Тому зменшення експресії *Hif1a* може сприяти зниженню можливості розвитку ракових пухлин або затримці їх росту [18].

Високий рівень білка HIF-1 α може спричиняти розвиток інсулінорезистентності, що є основним фактором виникнення цукрового діабету 2 типу. Зменшення активності гена *Hif1a* поліпшує чутливість клітин до інсуліну і зменшує ризик розвитку діабету [19,20].

Хоча білок HIF-1 α відіграє важливу роль у клітинній адаптації до гіпоксії, надмірна або тривала активація гена *Hif1a* може мати й негативні наслідки, а зниження його експресії може сприяти підтриманню нормальної клітинної функції за умов низького рівня кисню без надмірного напруження механізмів адаптації [21].

Ген *Lox* та його продукт лізілоксидаза (LOX) відіграють важливу роль у клітинній відповіді на гіпоксичні стани. В окремих дослідженнях показано, що гіпоксія може впливати на експресію гена *Lox* та активність ферменту LOX. Наслідками цього можуть бути зміни в процесах ангіогенезу, регульованні запальних процесів та імунної відповіді, перебігу і розвитку таких патологій, як фіброз, рак і кардіоваскулярні захворювання [22].

Виявлене зниження експресії гена *Lox* при переривчастій гіпоксії також можна визначити як захисний механізм організму. Одна з можливих інтерпретацій цього явища полягає в тому, що зниження експресії гену *Lox* може допомагати зберегти енергію та ресурси клітини в умовах недостатності кисню. Умови гіпоксії часто спричиняють стрес для клітин, оскільки кисень використовується для вироблення енергії в процесі окиснення. Зниження експресії гена *Lox* може бути спрямованим на раціоналізацію використання енергії клітини, оскільки синтез білка може потребувати значних ресурсів. Зниження експресії *Lox* може допомогти зменшити цей витратний процес і забезпечити клітинне заощадження енергії для важливіших функцій – виживання й адаптації до гіпоксії. Оскільки лізілоксидаза відіграє важливу роль у структурі екстрацелюлярної матриці, її зниження може допомогти зменшити вироблення вільних радикалів і запобігти окиснювальному стресу, що може бути особливо інтенсивним в умовах гіпоксії.

Зниження рівня експресії гена *Lox* може мати і корисні наслідки, зокрема в контексті патологічних станів, коли перебіг захворювання асоційований зі збільшеною експресією цього гена. Деякі позитивні ефекти зниження експресії гена *Lox* пов'язані з покращенням метаболізму молекулярної структури та функції екстрацелюлярної матриці. Це, своєю чергою, впливає на метаболізм білків сполучної тканини. Зменшення експресії гена *Lox* сприяє покращенню метаболізму цих молекул і загалом тканин внаслідок зменшення фіброзу, а підвищення рівня експресії гена *Lox* призводить до формування зайвих хрящоподібних матриць і фіброзу в різних тканинах [23].

Відомо, що зниження експресії гена *Lox* зменшує ризик розвитку інсулінорезистентності та наступного розвитку цукрового діабету 2 типу [24]. LOX впливає на запалення через взаємодію з екстрацелюлярною матрицею та клітинами імунної системи. Зниження експресії гена *Lox* може сприяти зменшенню запалення та його негативних наслідків, а як відомо, цукровий діабет часто супроводжується запаленням та оксидативним стресом [25].

Ген *Slc16a3* кодує білок, відомий як монокарбоксилатний транспортер 4 (MCT4). Функції цього гена сприяють транспорту лактату через клітинні мембрани, що особливо важливо для тканин, які виробляють багато лактату (наприклад, м'язи під час інтенсивної фізичної активності). MCT4 бере участь у регуляції метаболізму глюкози, транспорті пірувату через клітинні мембрани внаслідок гліколізу, що допомагає регулювати метаболізм глюкози і виробництво енергії в клітинах [26].

Зниження експресії гена *Slc16a3* при переривчастій гіпоксії можна визначити як елемент метаболічної адаптації та адаптації метаболічного шляху. Затримка транспорту лактату допомагає клітинам використовувати його як додаткове джерело енергії, оскільки лактат окислюється у мітохондріях навіть в умовах низького рівня кисню. Крім того, зниження експресії гена *Slc16a3* може призводити до змін у метаболічних шляхах, що регулюють обробку лактату й інших карбоксилатів у клітинах. Ці зміни є частиною загальної адаптації клітин до умов гіпоксії [27].

Отже, припускаємо, що виявлене пригнічення експресії окремих генів у клітинах підшлункової залози внаслідок гіпоксії може сприяти оптимальній адаптації цих клітин до нестачі кисню, зменшенню метаболічного стресу клітин, пов'язаного з накопиченням лактату, та підтримці внутрішньоклітинного енергетичного балансу.

Висновки

1. Переривчаста гіпоксія знижує експресію гена *Bhlhe40* в 2,59 раза; це можна визначити як елемент адаптації клітин до низького рівня кисню та модуляцію генетичних програм, які регулюють різні аспекти клітинного метаболізму та виживання.

2. Зменшення експресії генів *Ctfa* в 6,02 раза, *Hif1a* в 3,85 раза та *Lox* в 3,01 раза при переривчастій гіпоксії свідчить, що ці ефекти можна використовувати як саногенні фактори при інсулінорезистентності та цукровому діабеті 2 типу.

3. Зменшений в 2,40 раза рівень експресії *Slc16a3*, імовірно, є елементом метаболічної адаптації та адаптації метаболічного шляху клітин до умов гіпоксії.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 22.02.2024

Після доопрацювання / Revised: 11.03.2024

Схвалено до друку / Accepted: 19.03.2024

Відомості про авторів:

Іваненко Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.
ORCID ID: 0000-0001-6617-5178

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, професор каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, ректор Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, заслужений діяч науки і техніки України.
ORCID ID: 0000-0002-1556-5085

Абрамов А. В., д-р мед. наук, професор каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.
ORCID ID: 0000-0001-8520-2258

Information about the authors:

Ivanenko T. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Physiology with Course of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Kolesnyk Yu. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Physiology with the Course of Normal Physiology, Rector of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Honored Science and Technology Figure of Ukraine.

Abramov A. V., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Physiology with the Course of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

- Hoang M, Joseph JW. The role of α -ketoglutarate and the hypoxia sensing pathway in the regulation of pancreatic β -cell function. *Islets*. 2020;12(5):108-19. doi: 10.1080/19382014.2020.1802183
- Ivanenko TV, Kolesnyk YM, Abramov AV. [Experimental study of the pattern of genes activated by multi-day intermittent hypoxia in the rat pancreas]. *Pathologia*. 2023;20(3):218-21. Ukrainian. doi: 10.14739/2310-1237.2023.3.292536
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001;25(4):402-8. doi: 10.1006/meth.2001.1262
- Ivanenko TV, Kolesnyk YM, Abramova TV. Analiz endokrynnoho statusu ta rivnia ekspresii bilkiv apoptozu i proliferatsii v pankreatychnykh ostrivtsiakh shchuriv z eksperymentalnym tsukrovym diabetom pislia zakinchennia pereryvchastykh hipoksychnykh trenuvan. *Patolohiia, reabilitatsiia, adaptatsiia*. 2017;15(2):17-20. Ukrainian.
- Ivanenko TV. Vliyanie gipoksicheskikh trenirovok na tsitoarkh-itektoniku pankreaticheskikh ostrovkov pri eksperimentalnom sakharnom diabete. *Pathologia*. 2015;(1 Suppl):52-3. Russian.
- Ivanenko TV, Abramov AV, Kolesnyk YM, Zhulinsky VO, Kovalov MM. Stymulatsiia funktsionalnoho stanu beta-klytyn pankreatychnykh ostrivtsiv bahatodennoiu pereryvchastoiu hipoksiieiu. *Zdobutky klinichnoi i eksperymentalnoi medytsyny*. 2013;(2):246. Ukrainian.
- Bottalico LN, Weljie AM. Cross-species physiological interactions of endocrine disrupting chemicals with the circadian clock. *Gen Comp Endocrinol*. 2021;301:113650. doi: 10.1016/j.ygcen.2020.113650
- Xu H, Xiang QY, Li S, Liu YS. High serum Bhlhe40 levels are associated with subclinical atherosclerosis in patients with type 2 diabetes mellitus: A cross-sectional study. *Diab Vasc Dis Res*. 2023;20(2):14791641231169246. doi: 10.1177/14791641231169246

9. Tsuyama T, Sato Y, Yoshizawa T, Matsuoka T, Yamagata K. Hypoxia causes pancreatic β -cell dysfunction and impairs insulin secretion by activating the transcriptional repressor BHLHE40. *EMBO Rep.* 2023;24(8):e56227. doi: [10.15252/embr.202256227](https://doi.org/10.15252/embr.202256227)
10. Wang C, Liu W, Liu Z, Chen L, Liu X, Kuang S. Hypoxia Inhibits Myogenic Differentiation through p53 Protein-dependent Induction of Bhlhe40 Protein. *J Biol Chem.* 2015;290(50):29707-16. doi: [10.1074/jbc.M115.688671](https://doi.org/10.1074/jbc.M115.688671)
11. Caciotti A, Catarzi S, Tonin R, Lugli L, Perez CR, Michelakakis H, et al. Galactosialidosis: review and analysis of CTSA gene mutations. *Orphanet J Rare Dis.* 2013;8:114. doi: [10.1186/1750-1172-8-114](https://doi.org/10.1186/1750-1172-8-114)
12. Cowling RT. Cathepsin A Inhibitors to Treat Heart Disease: Much Potential, Many Questions. *JACC Basic Transl Sci.* 2019;4(3):345-7. doi: [10.1016/j.jacbts.2019.05.004](https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2019.05.004)
13. Toss MS, Miligy IM, Haj-Ahmad R, Gorringer KL, AlKawaz A, Mittal K, et al. The prognostic significance of lysosomal protective protein (cathepsin A) in breast ductal carcinoma in situ. *Histopathology.* 2019;74(7):1025-35. doi: [10.1111/his.13835](https://doi.org/10.1111/his.13835)
14. Linz D, Hohl M, Dhein S, Ruf S, Reil JC, Kabiri M, et al. Cathepsin A mediates susceptibility to atrial tachyarrhythmia and impairment of atrial emptying function in Zucker diabetic fatty rats. *Cardiovasc Res.* 2016;110(3):371-80. doi: [10.1093/cvr/cvw071](https://doi.org/10.1093/cvr/cvw071)
15. Ahmad J, Zubair M, Malik A, Siddiqui MA, Wangnoo SK. Cathepsin-D, adiponectin, TNF- α , IL-6 and hsCRP plasma levels in subjects with diabetic foot and possible correlation with clinical variables: a multicentric study. *Foot (Edinb).* 2012;22(3):194-9. doi: [10.1016/j.foot.2012.03.015](https://doi.org/10.1016/j.foot.2012.03.015)
16. Gladek I, Ferdin J, Horvat S, Calin GA, Kunej T. HIF1A gene polymorphisms and human diseases: Graphical review of 97 association studies. *Genes Chromosomes Cancer.* 2017;56(6):439-52. doi: [10.1002/gcc.22449](https://doi.org/10.1002/gcc.22449)
17. Hua X, Hu G, Hu Q, Chang Y, Hu Y, Gao L, et al. Single-Cell RNA Sequencing to Dissect the Immunological Network of Autoimmune Myocarditis. *Circulation.* 2020;142(4):384-400. doi: [10.1161/CIRCULATIONAHA.119.043545](https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.043545)
18. Xu F, Huang M, Chen Q, Niu Y, Hu Y, Hu P, et al. LncRNA HIF1A-AS1 Promotes Gemcitabine Resistance of Pancreatic Cancer by Enhancing Glycolysis through Modulating the AKT/YB1/HIF1 α Pathway. *Cancer Res.* 2021;81(22):5678-91. doi: [10.1158/0008-5472.CAN-21-0281](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-21-0281)
19. Liu H, Zhou Y, Li Y, Gong Z. Important roles of Hif1a in maternal or adult BPA exposure induced pancreatic injuries. *Sci Rep.* 2023;13(1):11502. doi: [10.1038/s41598-023-38614-8](https://doi.org/10.1038/s41598-023-38614-8)
20. Wang N, Zhang C, Xu Y, Tan HY, Chen H, Feng Y. Berberine improves insulin-induced diabetic retinopathy through exclusively suppressing Akt/mTOR-mediated HIF-1 α /VEGF activation in retina endothelial cells. *Int J Biol Sci.* 2021;17(15):4316-4326. doi: [10.7150/ijbs.62868](https://doi.org/10.7150/ijbs.62868)
21. Jaśkiewicz M, Moszyńska A, Króliczewski J, Cabaj A, Bartoszewska S, Charzyńska A, et al. The transition from HIF-1 to HIF-2 during prolonged hypoxia results from reactivation of PHDs and HIF1A mRNA instability. *Cell Mol Biol Lett.* 2022;27(1):109. doi: [10.1186/s11658-022-00408-7](https://doi.org/10.1186/s11658-022-00408-7)
22. Saatci O, Kaymak A, Raza U, Ersan PG, Akbulut O, Banister CE, et al. Targeting lysyl oxidase (LOX) overcomes chemotherapy resistance in triple negative breast cancer. *Nat Commun.* 2020;11(1):2416. doi: [10.1038/s41467-020-16199-4](https://doi.org/10.1038/s41467-020-16199-4)
23. Li H, Zhu X, Cao X, Lu Y, Zhou J, Zhang X. Single-cell analysis reveals lysyl oxidase (Lox)⁺ fibroblast subset involved in cardiac fibrosis of diabetic mice. *J Adv Res.* 2023;54:223-37. doi: [10.1016/j.jare.2023.01.018](https://doi.org/10.1016/j.jare.2023.01.018)
24. Yan M, Mehta JL, Hu C. LOX-1 and obesity. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2011;25(5):469-76. doi: [10.1007/s10557-011-6335-3](https://doi.org/10.1007/s10557-011-6335-3)
25. Yan M, Mehta JL, Zhang W, Hu C. LOX-1, oxidative stress and inflammation: a novel mechanism for diabetic cardiovascular complications. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2011;25(5):451-9. doi: [10.1007/s10557-011-6342-4](https://doi.org/10.1007/s10557-011-6342-4)
26. Tao Q, Li X, Zhu T, Ge X, Gong S, Guo J, Ma R. Lactate Transporter SLC16A3 (MCT4) as an Onco-Immunological Biomarker Associating Tumor Microenvironment and Immune Responses in Lung Cancer. *Int J Gen Med.* 2022;15:4465-74. doi: [10.2147/IJGM.S353592](https://doi.org/10.2147/IJGM.S353592)
27. Choi SH, Kim MY, Yoon YS, Koh DI, Kim MK, Cho SY, et al. Hypoxia-induced RelA/p65 derepresses SLC16A3 (MCT4) by downregulating ZBTB7A. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech.* 2019;1862(8):771-85. doi: [10.1016/j.bbaggm.2019.06.004](https://doi.org/10.1016/j.bbaggm.2019.06.004)