




Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
 EM|consulte
www.em-consulte.com



MISE AU POINT

Hypoxie et fonction mitochondriale

Hypoxia and mitochondrial function

L. Dupic^{a,*}, O. Huet^c, A. Harrois^b, J. Duranteau^b

^a Service de réanimation pédiatrique polyvalente, CHU Necker–Enfants-Malades, université Paris Descartes, 143, rue de Sèvres, 75015 Paris, France

^b Département d'anesthésie-réanimation chirurgicale, CHU de Bicêtre, université Paris Sud 11, 78, rue du Général-Leclerc, 94275 Le Kremlin-Bicêtre, France

^c Baker IDI Heart and Diabetes Institute, PO Box 6492, Saint Kilda Road, Central Victoria 8008, Australie

Reçu le 23 juin 2010 ; accepté le 28 juin 2010

Disponible sur Internet le 23 juillet 2010

MOTS CLÉS

Mitochondrie ;
Hypoxie ;
HIF ;
Espèces radicalaires
de l'oxygène

KEYWORDS

Mitochondria;
Hypoxia;
HIF;

Résumé L'hypoxie place la cellule face à un déficit métabolique qui lui impose de devoir adapter son métabolisme pour subsister. Plusieurs mécanismes d'adaptation à l'hypoxie permettent aux cellules de compenser les variations aiguës et chroniques en oxygène. De plus en plus d'arguments dans la littérature suggèrent que la mitochondrie joue un rôle central dans l'adaptation cellulaire à l'hypoxie en détectant les variations de pression artérielle en oxygène (PaO₂) et en initiant la génération des facteurs induits par hypoxie. En situation d'hypoxie la mitochondrie est productrice d'espèces radicalaires de l'oxygène qui participent à l'activation des facteurs induits par l'hypoxie (*hypoxia inducible factors* [HIF]) qui conduisent à l'augmentation de l'expression des nombreux gènes impliqués dans la réponse cellulaire à l'hypoxie et/ou l'ischémie. La mitochondrie, en plus de son rôle essentiel dans le métabolisme cellulaire, apparaît être le « capteur » qui perçoit les variations d'oxygène au sein de la cellule et qui module la réponse à l'hypoxie par le biais des espèces radicalaires libérées au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Son rôle apparaît majeur dans des réponses physiologiques à l'hypoxie comme la synthèse d'érythropoïétine et la vasoconstriction artérielle pulmonaire.
© 2010 Publié par Elsevier Masson SAS pour la Société de réanimation de langue française.

Summary Hypoxia is a major metabolic challenge for the cell. All cells have the ability to sense O₂, and to activate adaptive processes that will enhance the likelihood of survival. Mitochondria have long been considered a likely site of oxygen sensing, and the electron transport chain acts as an O₂ sensor by releasing reactive oxygen species (ROS) in response to hypoxia. The ROS released during hypoxia act as signalling agents that trigger diverse functional responses, including activation of gene expression through the stabilization of the transcription factor

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : laurentdupic@yahoo.fr (L. Dupic).

Reactive oxygen species

hypoxia inducible factor (HIF)- α . The primary site of ROS production during hypoxia appears to be the complex III. Well-known examples of specialized oxygen sensing systems include the arterial chemoreceptors that increase the level of alveolar ventilation when PaO₂ decreases. Similarly, cells of the liver and kidney adjust the secretion of the hormone erythropoietin in order to assure adequate tissue oxygenation. Cellular hypoxia leads to the upregulation of genes involved in glucose uptake, glucose metabolism, cell survival, vascular tone, cytoskeletal organization, apoptosis, cell adhesion and iron metabolism.

© 2010 Published by Elsevier Masson SAS on behalf of Société de réanimation de langue française.

Introduction

L'hypoxie place la cellule face à un déficit métabolique qui lui impose de devoir adapter son métabolisme pour subsister. Chez les eucaryotes, la plus grande partie de la formation d'ATP aérobie se déroule dans la mitochondrie, véritable usine énergétique. Pour beaucoup d'organismes, l'accepteur ultime d'électrons est l'oxygène. La forme réduite de cet accepteur est l'eau qui est donc le produit final de ce métabolisme. Ce processus qui consomme de l'oxygène dans ses étapes finales est appelé respiration aérobie. Au contraire, les métabolismes qui mettent en jeu des accepteurs d'électrons qui ne nécessitent pas d'oxygène correspondent à la respiration anaérobie. Ainsi, l'oxygène est l'élément central du métabolisme cellulaire car il permet la synthèse d'ATP en étant le dernier accepteur d'électrons au sein de la phosphorylation oxydative.

Lors d'une hypoxie, la cellule risque de ne plus disposer de suffisamment d'oxygène pour assurer la synthèse d'ATP qui était la sienne et maintenir son métabolisme énergétique. Une diminution critique de la synthèse d'ATP peut induire alors une dépolarisation de la membrane plasmique, une ouverture des canaux voltage-dépendants du sarcolemme et une chute du potentiel de membrane mitochondrial [1]. Il en résulte une accumulation de Ca²⁺ dans la cellule et dans la mitochondrie qui provoque des lésions cellulaires irréversibles (ouverture du pore de transition mitochondrial) [2].

Cependant, la cellule est susceptible de maintenir un taux d'ATP suffisant pour sa survie grâce à la possibilité de moduler son métabolisme et de produire de l'ATP par voie anaérobie. Plusieurs mécanismes d'adaptation à l'hypoxie permettent aux cellules de compenser les variations aiguës et chroniques en oxygène. Par exemple, les chémorécepteurs artériels sont sensibles aux variations de pression artérielle en oxygène (PaO₂) et stimulent immédiatement les systèmes cardiovasculaires et respiratoires en cas de diminution de la PaO₂. De même, les cellules rénales sont capables d'ajuster leur sécrétion d'érythropoïétine (EPO) en cas d'oxygénation rénale inadéquate. Ainsi, toutes les cellules ont la capacité de détecter des variations de PaO₂ et d'initier l'expression de gènes par l'activation de facteurs induits par hypoxie [3]. De plus en plus d'arguments dans la littérature suggèrent que la mitochondrie pourrait jouer un rôle central dans l'adaptation cellulaire à l'hypoxie en détectant les variations de PaO₂ et en initiant la génération des facteurs induits par hypoxie [4–8].

Adaptation à l'hypoxie : mitochondrie et détection des variations de PaO₂ (*oxygen sensing*)

Au cours de ces dernières années, plusieurs théories ont été avancées pour expliquer comment une cellule pouvait percevoir la pression partielle intracellulaire en oxygène (*oxygen sensing*). Malgré une meilleure compréhension des mécanismes mis en jeu, le sujet reste actuellement extrêmement discuté. La mitochondrie est depuis longtemps suggérée comme pouvant être un détecteur de la quantité d'oxygène au sein de la cellule. En effet, c'est elle qui consomme l'oxygène et elle représente donc le site intracellulaire où la pression partielle en oxygène est la plus basse. Dans cette hypothèse, les espèces radicalaires de l'oxygène (ERO) pourraient jouer un rôle de médiateurs intracellulaires entre la mitochondrie et les mécanismes d'adaptations cellulaires à l'hypoxie. Au niveau de la mitochondrie, les transporteurs d'électrons sont organisés sur la membrane interne mitochondriale en complexes respiratoires. Le complexe I qui contient de la flavine mono nucléotide (FMN) et des cofacteurs comme les centres fer-soufre est appelé nicotinamide adénine di nucléotide (NADH) déshydrogénase. L'hydrogène qui est le substrat de l'enzyme est apporté par le NADH, puis est transféré vers le coenzyme Q. Le complexe II transfère également les électrons au coenzyme Q à partir du FAD produit dans le cycle de Krebs. Le complexe III qui contient le cytochrome *b*, un centre fer-soufre et le cytochrome *c*₁ est appelé coenzyme Q-cytochrome *c* oxydoréductase. Les électrons sont transférés vers le cytochrome *c* qui se déplace dans l'espace intermembranaire. Le complexe IV qui contient les cytochromes *a* et *a*₃ et des protéines fer-cuivre est appelé cytochrome *c* oxydase. Les électrons provenant du cytochrome *c* sont transférés vers l'oxygène provenant d'une simple diffusion à partir des capillaires. La réduction de l'oxygène produit de l'eau qui est donc le produit final de ce métabolisme oxydatif. La chaîne respiratoire mitochondriale, induit en permanence au niveau des complexes I et III mitochondriaux une production d'ERO [9–12]. Ainsi, lors du fonctionnement normal de la chaîne respiratoire, 0,4 à 4 % de l'oxygène consommé s'échappe sous forme d'anion superoxyde (O₂⁻) au niveau des complexes I et III mitochondriaux. L'anion superoxyde est rapidement transformé par la superoxyde dismutase (SOD) en une ERO plus stable mais hautement diffusible, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Lors d'une hypoxie, la diminution d'oxygène au niveau du dernier complexe mitochondrial (complexe IV – cytochrome oxydase) impliquerait une diminution de l'activité de ce

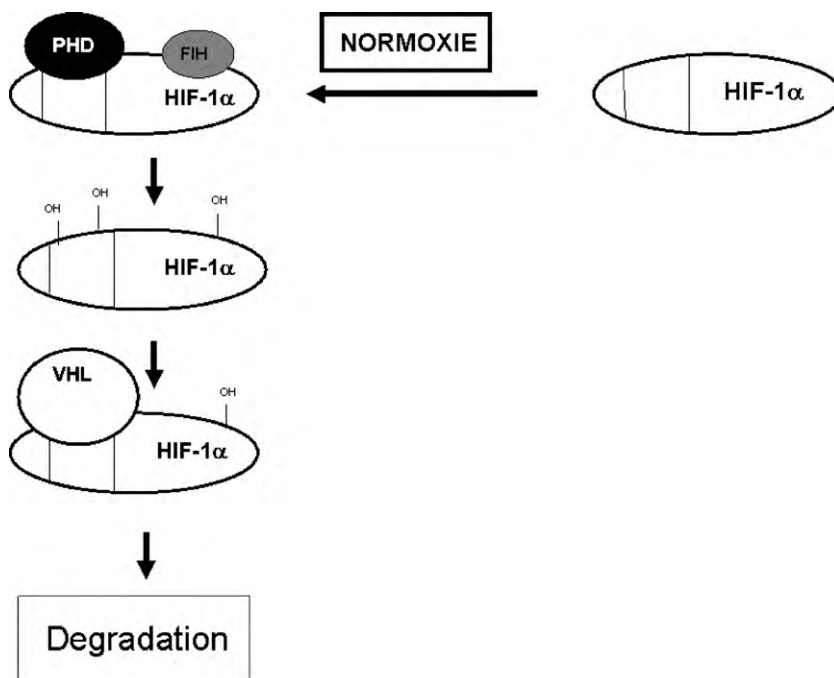


Figure 1 En situation de normoxie la sous-unité *hypoxia inducible factors* (HIF)-1 α est hydroxylée sur ses acides aminés proline par des prolylhydroxylases (PHD). Cette hydroxylation permet à HIF-1 α d'être reconnu par le facteur de suppression tumorale von Hippel-Lindau et d'être dégradé.

complexe et une production accrue d'ERO au niveau du complexe III mitochondrial avec une élévation brutale de la quantité d'anion superoxyde qui s'échappe de la mitochondrie [6,12]. Cette élévation d'O₂⁻ serait le signal initiateur de plusieurs mécanismes d'adaptation cellulaire à l'hypoxie comme la régulation de *hypoxia inducible factor* (HIF), la synthèse d'EPO, de facteurs de croissance vasculaire ou de transporteur du glucose (GLUT-1). Cette diminution de l'activité de la cytochrome oxydase s'accompagne d'une diminution du métabolisme cellulaire [12,13]. Ce phénomène appelé *hypoxic conformance of metabolism* entraîne une diminution d'utilisation de l'ATP cellulaire et donc une préservation des capacités énergétiques cellulaires.

Adaptation à l'hypoxie : régulation des facteurs induits par l'hypoxie (*hypoxia inducible factors*)

Les facteurs induits par l'hypoxie sont à l'origine de l'augmentation de l'expression de plus de 200 gènes impliqués dans la réponse cellulaire à l'hypoxie et/ou l'ischémie [14,15]. HIF-1, le complexe le plus actif de la famille des HIF, découvert par Gregg Semenza qui étudiait le gène de l'EPO, est une protéine qui est un hétérodimère composé de deux sous-unités, HIF- α et HIF- β . Chacune de ces sous-unités a une structure de base du type hélice, boucle, hélice ainsi que deux domaines chacune appartenant à la famille des facteurs de transcription du type PER-ARNT-SIM (PAS-A et PAS-B). HIF- β est exprimé de manière constante et indépendante du taux d'oxygène. Au contraire, HIF- α est régulé par l'oxygène et est rapidement dégradé en normoxie par des prolylhydroxylases (PHD). En normoxie, HIF- α est hydrolysé au niveau de deux prolines situées dans l'*oxygen-dependent degradation domain* (domaine

ODD). Les prolines hydroxylées sont reconnues par le facteur de suppression tumorale von Hippel-Lindau (pVHL) qui dégrade la sous-unité alpha [16]. Lorsque l'apport en O₂ devient insuffisant, l'activité des PHD est inhibée et HIF- α s'accumule, migre vers le noyau cellulaire et s'associe à HIF- β pour initier la transcription des gènes impliqués dans la réponse à l'hypoxie (Fig. 1). Les mécanismes prévenant l'hydroxylation de HIF- α restent débattus, mais là encore, il apparaît que cette hydroxylation pourrait être prévenue par la génération d'ERO mitochondriaux [7,14,17,18]. Cela s'appuie sur le fait que les cellules dépourvues d'ADN mitochondrial (cellules ρ^0) semblent incapables d'assurer la stabilisation d'HIF- α au cours de l'hypoxie [18]. De même, l'administration d'inhibiteurs de la chaîne respiratoire mitochondriale inhibe la stabilisation hypoxique de HIF- α [18]. L'utilisation d'inhibiteurs spécifiques des différents complexes de la chaîne respiratoire montre que les ERO produites par le complexe III interviendraient de manières prépondérantes par rapport aux ERO produites par le complexe I [19]. De même, Gerald et al., en utilisant un modèle cellulaire ayant perdu ses capacités antioxydantes, ont montré qu'il existait un lien entre stress oxydatif et inhibition de HIF. Ces différentes approches suggèrent que la voie de signalisation de HIF en situation d'hypoxie est dépendante d'une altération de la fonction mitochondriale par l'intermédiaire de la production d'ERO probablement par une accumulation de fer (Fe₃⁺) qui inhiberait la PHD (Fig. 2) [20]. Une autre hypothèse est actuellement débattue sur la participation de la mitochondrie dans l'inhibition de la voie de HIF en situation d'hypoxie. Le rationnel de cette hypothèse est basé sur le fait que la constante de dissociation (K_m) de la cytochrome oxydase est faible (< 1 μ M) et impose une large utilisation de l'oxygène disponible dans la cellule. Les PHD qui interviennent dans l'hydroxylation de

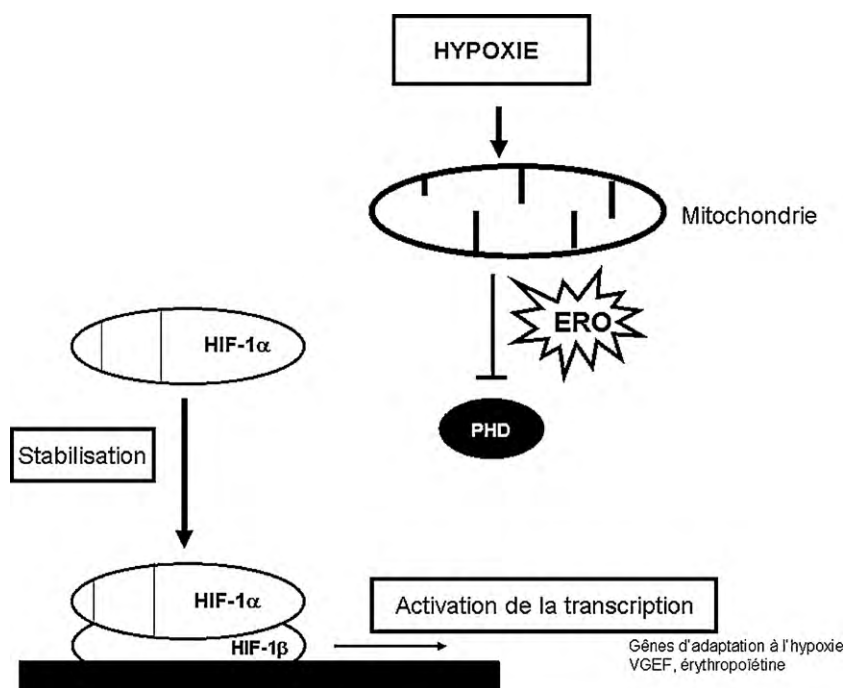


Figure 2 Dans des conditions d'hypoxie, les espèces radicalaires en oxygène (ERO) produites en quelques minutes inhibent l'activité des PHD ce qui empêche la dégradation de *hypoxia inducible factors* (HIF)-1 α qui va alors se lier à HIF- β . La partie *N*-terminale de HIF- β contient les domaines *Basis Helix Loop helix* (bHLH) et PAS qui permettent la dimérisation de HIF-1 et leur fixation sur le promoteur de nombreux gènes impliqués dans la glycolyse, l'angiogénèse et la survie cellulaire.

HIF- α ont un K_m plus élevée. Ainsi en situation d'hypoxie les cytochromes utiliseraient tout l'oxygène, ce qui empêcherait les PHD de fonctionner et permettrait l'activation de HIF-1 [21–23].

Ainsi, l'activation de HIF pourrait générer l'expression de gènes impliqués dans la glycolyse et renforcer la protection cellulaire à l'hypoxie en augmentant la capacité cellulaire à générer de l'ATP par la glycolyse anaérobie. HIF stimule également la synthèse de l'EPO qui permet la stimulation de l'érythroblastose médullaire [3,24–27]. HIF joue également un rôle important dans la détermination de la capacité antioxydante d'une cellule. Par exemple, des souris délétées de HIF-2 α développent des dysfonctions d'organes associées à des diminutions d'expression des anti-oxydants enzymatiques et au développement de lésions de stress oxydant [28]. L'activation de HIF conduit également à l'expression de l'hème oxygénase-1 (HO-1), susceptible de réguler la survie cellulaire lors des phénomènes d'ischémie ou de reperfusion et de stress oxydant, de la NO synthase inductible, ou du *vascular endothelial growth factor* (VEGF) impliqué dans l'adaptation locale microvasculaire. Ainsi, l'activation de HIF apparaît améliorer la survie cellulaire lors de l'hypoxie par le biais de multiples mécanismes dont l'augmentation des capacités antioxydantes, la stimulation de l'angiogénèse, et des effets anti-apoptotiques.

Adaptation à l'hypoxie : l'exemple de l'hypertension artérielle pulmonaire

L'induction de la transcription de HIF intervient en quelques heures après l'exposition à l'hypoxie. Au niveau pulmonaire,

lorsqu'une hypoxie apparaît au niveau alvéolaire, une élévation de la pression artérielle pulmonaire survient afin d'améliorer les échanges gazeux en redistribuant le débit sanguin pulmonaire des alvéoles les moins bien oxygénées vers les alvéoles les mieux oxygénées. Depuis la découverte de ce phénomène d'hypertension artérielle pulmonaire, une des questions centrales dans ce domaine est de comprendre comment les variations de PaO_2 alvéolaires sont perçues et conduisent à une modulation de la pression artérielle pulmonaire.

Une nouvelle fois la mitochondrie, par le biais des ERO, est apparue comme le détecteur potentiel des variations de PaO_2 alvéolaires. Deux théories s'opposent sur les conséquences de la baisse de la PaO_2 alvéolaire sur la production mitochondriale d'ERO. La première théorie propose que la production d'ERO par la mitochondrie diminue au cours de l'hypoxie [29–31] alors que la seconde propose que l'hypoxie induit une élévation paradoxale des ERO [32–35]. Pour les tenants de la première théorie, il existe en normoxie une production mitochondriale d'ERO de base qui diminue avec la baisse de l'oxygène par diminution du fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale [29–31]. L'hypoxie diminue le transport d'électrons le long de la chaîne respiratoire mitochondriale et diminue la production d'ERO au niveau des complexes mitochondriaux I et/ou III avec une élévation du NAD(P)H cytosolique. La diminution de l'utilisation du NADH par la mitochondrie provoquerait alors une orientation de la balance redox cytosolique vers un état plus réduit avec une élévation du ratio $[NADH]/[NAD^+]$ et $[glutathion\ réduit\ (GSH)]/[glutathion\ oxydé\ (GSSG)]$ (principal antioxydant endogène). Cet état réduit induirait une inhibition des courants K^+ par le biais

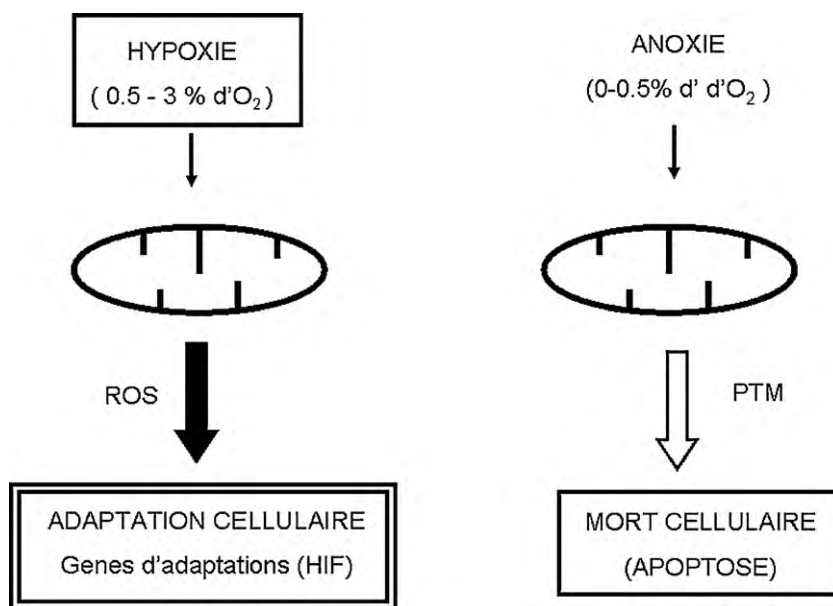


Figure 3 En fonction du taux d'oxygène détecté par la mitochondrie, soit la cellule met en jeu des mécanismes transcriptionnels de gènes d'adaptation médiés par la production d'espèces radicalaires de l'oxygène (ERO) et *hypoxia inducible factors* (HIF), ou bien une mort cellulaire par apoptose par la mise en jeu de pores de transition membranaire (PTM) qui va permettre l'activation de l'apoptose.

d'une action sur les sous-unités des canaux potassiques redox-sensibles. L'inhibition des canaux potassiques induirait alors une dépolarisation membranaire avec ouverture des canaux Ca²⁺ voltage-dépendants de type L. La seconde théorie suggère qu'une hypoxie aiguë pulmonaire provoque une élévation des ERO dans les cellules musculaires lisses artérielles pulmonaires [32,34,36] avec une atténuation de la réponse artériolaire pulmonaire vasoconstrictrice lors de l'administration d'antioxydants. Comme, nous l'avons précédemment vu dans cet article, la production des ERO serait alors secondaire à une élévation des ERO au niveau du complexe III mitochondrial à la suite d'une diminution de l'activité de la cytochrome oxydase liée à la diminution de l'oxygène. L'élévation des ERO provoquerait alors une vasoconstriction artérielle pulmonaire par le biais d'une libération de Ca²⁺ à partir du réticulum sarcoplasmique par l'intermédiaire de récepteurs à la ryanodine qui possède des cystéines thiols redox-sensibles. Il est difficile actuellement de définitivement conclure entre ces deux théories car nous sommes aux limites des outils que nous utilisons pour explorer les productions d'ERO et la fonction mitochondriale. Cependant, des publications récentes utilisant de nouveaux marqueurs radicalaires vont dans le sens d'une production mitochondriale d'ERO impliquée dans le développement d'une hypertension artérielle pulmonaire [37]. Le développement d'outils génétiques et pharmacologiques permettant de moduler la production d'ERO et la fonction mitochondriale devraient nous aider à progresser dans la compréhension de l'hypertension artérielle pulmonaire.

Hypoxie-anoxie et mort cellulaire

Comme nous l'avons vu, selon la disponibilité en oxygène, la cellule répond à l'hypoxie par des mécanismes adaptatifs cellulaires qui permettent sa survie. Cependant, pour

des hypoxies importantes (<0,5%) et/ou prolongées un processus de mort cellulaire peut survenir par un processus de nécrose ou d'apoptose cellulaire (Fig. 3). L'apoptose est une mort programmée génétiquement qui est essentielle au développement normal d'un organe ou d'un organisme. Elle est activée par des récepteurs de mort cellulaire, des oncogènes et l'anoxie. Deux voies de signalisations intracellulaires sont mises en jeu : la voie intrinsèque et extrinsèque [38]. Ces deux voies activent des protéases cystéines dépendantes : les caspases. Celles-ci clivent les protéines et entraînent la mort cellulaire. La voie extrinsèque passe par des récepteurs membranaires et dépend de la caspase 8 [2]. La voie intrinsèque est dépendante de la mitochondrie elle est stimulée lors de l'hypoxie profonde et de l'anoxie. Elle implique une perméabilisation de la membrane mitochondriale externe par les pores de transition de perméabilité membranaire mitochondriale et est régulée par des protéines de la famille des BCL2 [2]. Les protéines BCL2 qui sont impliquées dans cette perméabilisation membranaire mitochondriale sont les BH3 (BAX et BOK) [39,40]. Ces protéines activent, durant l'hypoxie, la perméabilisation membranaire mitochondriale. Cette perméabilisation entraîne une libération cytosolique de facteur proapoptotiques comme le Smac/diablo, le *apoptosis inducing factor* (AIF) et le cytochrome c. Lorsqu'il se retrouve dans le cytosol, le cytochrome c se lie avec APAF 1 et la procaspase 9. Cette liaison ATP-dépendante (en situation d'hypoxie l'ATP est fourni par la glycolyse) permet de former l'apoptosome qui active la voie des caspases par la caspase 9 et l'apoptose cellulaire.

Conclusion

En situation d'hypoxie, la mitochondrie est productrice d'ERO qui participent à l'activation des facteurs induits

par l'hypoxie (HIF) qui conduisent à l'augmentation de l'expression des nombreux gènes impliqués dans la réponse cellulaire à l'hypoxie et/ou l'ischémie. La mitochondrie, en plus de son rôle essentiel dans le métabolisme cellulaire, apparaît être le « capteur » qui perçoit les variations d'oxygène au sein de la cellule et qui module la réponse à l'hypoxie par le biais des espèces radicalaires libérées au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Son rôle apparaît majeur dans des réponses physiologiques à l'hypoxie comme la synthèse d'EPO et la vasoconstriction artérielle pulmonaire. De nombreux aspects de la réponse cellulaire à l'hypoxie restent à explorer. Le développement d'outils génétiques et pharmacologiques permettant de moduler la production d'ERO et la fonction mitochondriale devraient nous aider à progresser dans la compréhension de la réponse à l'hypoxie.

Conflit d'intérêt

Nous n'avons aucun conflit d'intérêt à déclarer.

Références

- [1] Piper HM. Metabolic processes leading to myocardial cell death. *Methods Achiev Exp Pathol* 1988;13:144–80.
- [2] Snyder CM, Chandel NS. Mitochondrial regulation of cell survival and death during low-oxygen conditions. *Antioxid Redox Signal* 2009;11:2673–83.
- [3] Semenza GL. Regulation of erythropoietin production. New insights into molecular mechanisms of oxygen homeostasis. *Hematol Oncol Clin North Am* 1994;8:863–84.
- [4] Brunelle JK, Bell EL, Quesada NM, Vercauteren K, Tiranti V, Zeviani M, et al. Oxygen sensing requires mitochondrial ROS but not oxidative phosphorylation. *Cell Metab* 2005;1:409–14.
- [5] Bell EL, Emerling BM, Chandel NS. Mitochondrial regulation of oxygen sensing. *Mitochondrion* 2005;5(994):322–32.
- [6] Chandel NS, Maltepe E, Goldwasser E, Mathieu CE, Simon MC, Schumacker PT. Mitochondrial reactive oxygen species trigger hypoxia-induced transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:11715–20.
- [7] Bell EL, Klimova TA, Eisenbart J, Schumacker PT, Chandel NS. Mitochondrial reactive oxygen species trigger hypoxia-inducible factor-dependent extension of the replicative life span during hypoxia. *Mol Cell Biol* 2007;27:5737–45.
- [8] Harrois A, Huet O, Duranteau J. Alterations of mitochondrial function in sepsis and critical illness. *Curr Opin Anaesthesiol* 2009;22:143–9.
- [9] Guzy RD, Schumacker PT. Oxygen sensing by mitochondria at complex III: the paradox of increased reactive oxygen species during hypoxia. *Exp Physiol* 2006;91:807–19.
- [10] Corda S, Laplace C, Vicaut E, Duranteau J. Rapid reactive oxygen species production by mitochondria in endothelial cells exposed to tumor necrosis factor-alpha is mediated by ceramide. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;24:762–8.
- [11] Therade-Matharan S, Laemmel E, Duranteau J, Vicaut E. Reoxygenation after hypoxia and glucose depletion causes reactive oxygen species production by mitochondria in HUVEC. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;287:R1037–43.
- [12] Duranteau J, Chandel NS, Kulisz A, Shao Z, Schumacker PT. Intracellular signaling by reactive oxygen species during hypoxia in cardiomyocytes. *J Biol Chem* 1998;273:11619–24.
- [13] Budinger GR, Duranteau J, Chandel NS, Schumacker PT. Hibernation during hypoxia in cardiomyocytes. Role of mitochondria as the O₂ sensor. *J Biol Chem* 1998;273:3320–6.
- [14] Schumacker PT. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Crit Care Med* 2005;33:S423–5.
- [15] Safran M, Kaelin Jr WG. HIF hydroxylation and the mammalian oxygen-sensing pathway. *J Clin Invest* 2003;111:779–83.
- [16] Jaakkola P, Mole DR, Tian YM, Wilson MI, Gielbert J, Gaskell SJ, et al. Targeting of HIF-alpha to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation. *Science* 2001;292:468–72.
- [17] Loor G, Schumacker PT. Role of hypoxia-inducible factor in cell survival during myocardial ischemia-reperfusion. *Cell Death Differ* 2008;15:686–90.
- [18] Chandel NS, McClintock DS, Feliciano CE, Wood TM, Melendez JA, Rodriguez AM, et al. Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1alpha during hypoxia: a mechanism of O₂ sensing. *J Biol Chem* 2000;275:25130–8.
- [19] Agani FH, Pichiule P, Chavez JC, LaManna JC. The role of mitochondria in the regulation of hypoxia-inducible factor 1 expression during hypoxia. *J Biol Chem* 2000;275:35863–7.
- [20] Gerald D, Berra E, Frapart YM, Chan DA, Giaccia AJ, Mansuy D, et al. JunD reduces tumor angiogenesis by protecting cells from oxidative stress. *Cell* 2004;118:781–94.
- [21] Hagen T, Taylor CT, Lam F, Moncada S. Redistribution of intracellular oxygen in hypoxia by nitric oxide: effect on HIF1alpha. *Science* 2003;302:1975–8.
- [22] Taylor CT. Mitochondria, oxygen sensing, and the regulation of HIF-2alpha. Focus on "induction of HIF-2alpha is dependent on mitochondrial O₂ consumption in an O₂-sensitive adrenomedullary chromaffin cell line". *Am J Physiol Cell Physiol* 2008;294:C1300–2.
- [23] Taylor CT. Mitochondria and cellular oxygen sensing in the HIF pathway. *Biochem J* 2008;409:19–26.
- [24] Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 and the molecular physiology of oxygen homeostasis. *J Lab Clin Med* 1998;131:207–14.
- [25] Semenza GL. Surviving ischemia: adaptive responses mediated by hypoxia-inducible factor 1. *J Clin Invest* 2000;106:809–12.
- [26] Semenza GL, Shimoda LA, Prabhakar NR. Regulation of gene expression by HIF-1. *Novartis Found Symp* 2006;272:2–8.
- [27] Maxwell PH, Wiesener MS, Chang GW, Clifford SC, Vaux EC, Cockman ME, et al. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature* 1999;399:271–5.
- [28] Scortegagna M, Ding K, Oktay Y, Gaur A, Thurmond F, Yan LJ, et al. Multiple organ pathology, metabolic abnormalities and impaired homeostasis of reactive oxygen species in Epas1-/- mice. *Nat Genet* 2003;35:331–40.
- [29] Archer S, Michelakis E. The mechanism(s) of hypoxic pulmonary vasoconstriction: potassium channels, redox O(2) sensors, and controversies. *News Physiol Sci* 2002;17:131–7.
- [30] Archer SL, Michelakis ED, Thebaud B, Bonnet S, Moudgil R, Wu XC, et al. A central role for oxygen-sensitive K⁺ channels and mitochondria in the specialized oxygen-sensing system. *Novartis Found Symp* 2006;272:157–71 [discussion 155–171, 157–214].
- [31] Michelakis ED, Thebaud B, Weir EK, Archer SL. Hypoxic pulmonary vasoconstriction: redox regulation of O₂-sensitive K⁺ channels by a mitochondrial O₂-sensor in resistance artery smooth muscle cells. *J Mol Cell Cardiol* 2004;37:1119–36.
- [32] Killilea DW, Hester R, Balczon R, Babal P, Gillespie MN. Free radical production in hypoxic pulmonary artery smooth muscle cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;2(79):L408–12.
- [33] Waypa GB, Schumacker PT. Role for mitochondrial reactive oxygen species in hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Novartis Found Symp* 2006;272:176–92.

- [34] Waypa GB, Guzy R, Mungai PT, Mack MM, Marks JD, Roe MW, et al. Increases in mitochondrial reactive oxygen species trigger hypoxia-induced calcium responses in pulmonary artery smooth muscle cells. *Circ Res* 2006;99:970–8.
- [35] Waypa GB, Marks JD, Guzy R, Mungai PT, Schriewer J, Dokic D, et al. Hypoxia triggers subcellular compartmental redox signaling in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 2010;106:526–35.
- [36] Wang QS, Zheng YM, Dong L, Ho YS, Guo Z, Wang YX. Role of mitochondrial reactive oxygen species in hypoxia-dependent increase in intracellular calcium in pulmonary artery myocytes. *Free Radic Biol Med* 2007;42:642–53.
- [37] Waypa GB, Schumacker PT. Oxygen sensing in hypoxic pulmonary vasoconstriction: using new tools to answer an age-old question. *Exp Physiol* 2008;93:133–8.
- [38] Green DR. Apoptotic pathways: paper wraps stone blunts scissors. *Cell* 2000;102:1–4.
- [39] Antonsson B, Montessuit S, Lauper S, Eskes R, Martinou JC. Bax oligomerization is required for channel-forming activity in liposomes and to trigger cytochrome C release from mitochondria. *Biochem J* 2000;345(Pt 2):271–8.
- [40] Antonsson B, Martinou JC. The Bcl-2 protein family. *Exp Cell Res* 2000;256:50–7.