

**ФАКТОР, ЩО ІНДУКУЄТЬСЯ ГІПОКСІЄЮ: ПАТЕРНИ ТА ДУАЛІЗМ ЕФЕКТІВ**

Надійшов 20.03.2014

---

В огляді охарактеризовані особливості молекулярної структури фактора, що індукується гіпоксією (HIF), та механізми активації комплексу HIF – ключового фактора в адаптації клітини до ішемічного та гіпоксичного уражень. Описані тканинспецифічність експресії  $\alpha$ -субодиниці HIF різних підтипів та найбільш характерні гени-мішені, які активуються вказаним комплексом. Крім того, проаналізовані особливості HIF-опосередкованих клітинних відповідей при ішемічному ушкодженні (що складає одну з основних медико-клінічних проблем сьогодення), та аргументовані доцільність і перспективність подальшого дослідження сигнальних шляхів за участю транскрипційного фактора HIF-1.

---

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** фактор, що індукується гіпоксією (HIF), транскрипція, гіпоксія, ішемічне ураження мозку, нейропротекція.

**ВСТУП**

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), ішемічні ураження мозку є однією з головних причин смертності. Відомо, що на підтримання функціонування мозку витрачається близько 20 % енергетичних ресурсів організму, і це потребує постійного ефективного постачання клітин ЦНС киснем. Забезпечення кисневого гомеостазу вимагає координованого функціонування фізіологічних систем хребетних як на клітинному, так і на системному рівні. Різні за тривалістю і рівнем порушення кисневого гомеостазу спричинюють гіпоксичні ураження. Гіпоксичні впливи на мозок можуть призводити до порушення уваги, пам'яті та інших ментальних процесів, а в разі високої інтенсивності таких впливів – до ішемічної загибелі центральних нейронів. Дослідження компенсаторних механізмів адаптації до зміни рівня кисню та гіпоксичних уражень різної тяжкості є високоактуальними. Зокрема, вони сконцентровані на пошуку ефективних нейропротективних засобів попередження розвитку гіпоксичного/ішемічного ураження мозку. В даному аспекті виключно важливим та цікавим об'єктом є фактор, що індукується гіпоксією, – специфічний білок, котрий істотно впливає на експресію низки генів.

У 1992 р. група дослідників з Університету Джона Хопкінса в Балтіморі (США) на чолі з Грегом Семензою вперше ідентифікували транскрипційний фактор, що індукується гіпоксією (hypoxia-inducible factor – HIF) [1–4]. HIF є білком, гетеродимерним комплексом, складеним із двох субодиниць –  $\beta$ -субодиниці, яка конститутивно експресується в клітинах, та  $\alpha$ -субодиниці, стабільність і рівень експресії якої регулюються рівнем кисню [5]. На сьогодні в родині HIF ідентифіковані  $\alpha$ -субодиниці трьох підтипів (HIF-1 $\alpha$ , HIF-2 $\alpha$  та HIF-3 $\alpha$ ) та  $\beta$ -субодиниці також трьох підтипів (HIF-1 $\beta$ , HIF-2 $\beta$  та HIF-3 $\beta$ ). Ці субодиниці кодуються різними генами; їх молекулярно-структурна організація та функціональні ролі є досить специфічними [6–9]. З моменту відкриття HIF клітинні та молекулярні механізми, в яких задіяний даний транскрипційний фактор, піддаються активним дослідженням. Такий інтерес зумовлений як фундаментальною, так і практичною значущістю розуміння механізмів, в котрі задіяний HIF. Прогрес у цьому аспекті дозволить ефективно модулювати фізіологічну адаптацію до гіпоксичних станів, причому від рівня поодинокі клітини до тканин та організму в цілому. Крім того, результати дослідження генів-мішеней, які активуються HIF, дали значний поштовх у розумінні патогенетичних основ злоскісних новоутворень [10] та нейродегенеративних захворювань, зокрема хвороб Паркінсона [11, 12],

---

<sup>1</sup>Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ (Україна).  
Ел. пошта: annastasiamai@gmail.com (А. М. Майстренко).

Альцгеймера [13, 14] та Хантінгтона [15, 16].

У даній статті ми розглянули особливості молекулярної структури та механізмів активації комплексу HIF, провели аналіз тканиноспецифічної експресії  $\alpha$ -субодиниць різних підтипів та найбільш характерних генів-мішеней, які активуються даним комплексом, та проаналізували особливості HIF-опосередкованих клітинних відповідей при ішемічному ушкодженні – **одній з основних медико-клінічних проблем сьогодення.**

## СУБОДИНИЧНА ОРГАНІЗАЦІЯ HIF

Субодиниці  $\alpha$  та  $\beta$ , що входять до складу комплексу HIF і формують гетеродимер, належать до білків родини **bHLH-PAS та характеризуються наявністю двох доменів – базового домену-мотиву типу “спіраль–петля–спіраль” (basic helix-loop-helix – bHLH) та домену PAS, назва якого є акронімом першого відкритого білка родини PAS (Drosophila period (Per) and single-minded (Sim) proteins and mammalian aryl hydrocarbon receptor (AHR) and aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT) protein) [6].** Домени bHLH та PAS забезпечують гетеродимеризацію  $\alpha$ - і  $\beta$ -субодиниць та наступне зв’язування утвореного гетерокомплексу із ДНК.

Субодиниця  $\alpha$  вміщує два термінальні трансактиваційні домени – C-TAD та N-TAD (C-terminal and N-terminal transactivation domains), відомі також під назвами CAD та NAD [17]. Термінальний трансактиваційний домен NAD, у свою чергу, вміщує кисеньзалежний деградаційний домен ODD (oxygen-dependent degradation domain) і забезпечує стабілізацію  $\alpha$ -субодиниці. Домен же CAD є відповідальним за взаємодію комплексу HIF з коактиватором p300/CBP [18] та наступну активацію транскрипції генів-мішеней [19].

На сьогодні найбільш детально досліджено молекулярно-структурну організацію субодиниці HIF-1 $\alpha$ , яка була відкрита першою. Субодиниця HIF-2 $\alpha$ , ідентифікована пізніше (у 1997 р.), є структурно спорідненою з HIF-1 $\alpha$ . Обидві субодиниці мають термінальні трансактиваційні домени CAD та NAD. Амінокислотний склад субодиниці HIF-2 $\alpha$  співпадає з таким HIF-1 $\alpha$  на 48 %. Незважаючи на досить високу структурну гомологію, HIF-1 $\alpha$  та HIF-2 $\alpha$  активують різні гени-мішені [20]. Субодиницю HIF-3 $\alpha$  було відкрито в 1998 р., і її функціональна роль досі залишається малозрозумілою [21]. Структурно HIF-3 $\alpha$  вміщує тільки термінальний трансакти-

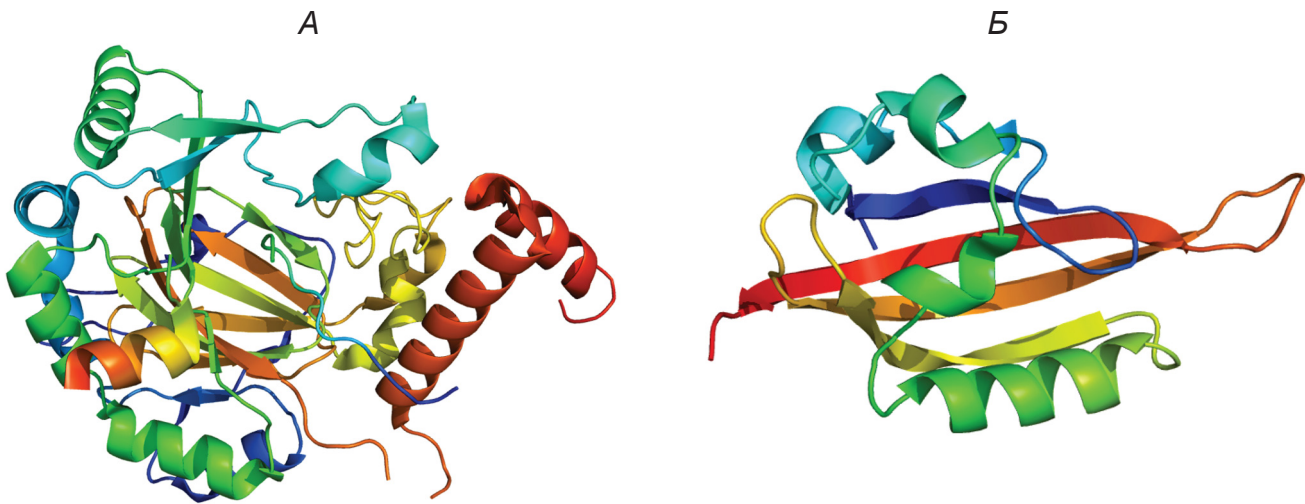
ваційний домен NAD і виступає негативним регулятором експресії генів, які індукуються гіпоксією. Сплайсинговий варіант HIF-3 $\alpha$  IPAS має здатність приєднуватися до HIF-1 $\alpha$ , інгібуючи таким чином транскрипційну активність останньої [22]; **ізоформа ж HIF-3 $\alpha$ 4 приєднується до HIF-2 $\alpha$ , блокуючи її функціонування [23–30].**

Субодиниця  $\beta$  конститутивно експресується в клітинах і, як вже вказувалося, має три альтернативних сплайс-варіанти (HIF-1 $\beta$ , HIF-2 $\beta$  та HIF-3 $\beta$ ). Вона має лише один трансактиваційний TAD-домен і може входити до складу різноманітних комплексів, які зв’язуються з ДНК.

## ТКАНИННА СПЕЦИФІЧНІСТЬ ЕКСПРЕСІЇ СУБОДИНИЦЬ HIF

Субодиниця HIF-1 $\alpha$  експресується в різних типах тканин, однак найвищий рівень її експресії спостерігається в нервовій тканині, причому саме в нейронах [6, 31]. Експресія субодиниці HIF-2 $\alpha$  є більш тканиноспецифічною; ця субодиниця є характерною для ендотелію нирок, легень, тканин серця, тонкого кишківника та підшлункової залози, гепатоцитів, а також клітин нейробластоми [32–36]. Подібно до HIF-1 $\alpha$ , субодиниця HIF-3 $\alpha$  експресується в різних тканинах [21]. Сплайсинговий варіант HIF (IPAS) зустрічається переважно в клітинах Пуркін’є мозочка та епітелії рогівки; високий рівень експресії HIF-3 $\alpha$  також було виявлено в тканинах легень та серця при гіпоксії [22, 37].

Відомості про клітинну специфічність експресії різних субодиниць HIF, незважаючи на певний прогрес, поки що залишаються недостатніми. Намагання численних дослідників встановити особливості клітинної експресії субодиниць HIF з використанням генноінженерних підходів зіткнулись із серйозною проблемою: генетичне «вимкнення» навіть однієї із субодиниць HIF призводило до летальних наслідків. Так, в умовах трансгенного нокауту субодиниці HIF-1 $\alpha$  ембріони мишей гинули на 11-й день ембріонального розвитку внаслідок порушення розвитку кровоносних судин, дефектів формування нервової складки та формування розладів серцево-судинної системи [38, 39]. Трансгенний нокаут субодиниці HIF-2 $\alpha$  призводив до загибелі ембріона через 16.5 доби ембріонального розвитку внаслідок сповільнення серцевого ритму, неправильних злиття та ремоделювання судин, порушення розвитку легень [40]. Нокаут конститу-



**Рис. 1.** Компоненти молекулярної структури субодиниці HIF-1 $\alpha$  [31].  
 А – домен bHLH, Б – домен PAS ендотеліального білка HIF-1 [32].

тивної субодиниці HIF-1 $\beta$  також супроводжувався дефектами формування кровоносних судин, розладами ангиогенезу жовтчного мішка і зябрової дуги, пригніченням розвитку ембріона та смертю через 10.5 доби ембріонального розвитку [41, 42]. Висока летальність після генетичного «вимкнення» експресії однієї із субодиниць HIF істотно ускладнює дослідження клітинної специфічності та з'ясування функціональної ролі субодиниць HIF різних підтипів із застосуванням сучасних методологічних та методичних підходів.

### МЕХАНІЗМИ АКТИВАЦІЇ ТА РЕГУЛЯЦІЇ КОМПЛЕКСУ HIF-1

Субодиниця HIF-1 $\alpha$  постійно експресується в клітинах; період її напіврозпаду в нормоксичних умовах є досить коротким (приблизно 5 хв [43]). Внутрішньоклітинні ферменти, що відносяться до родини проліл-гідролаз, каталізують гідроксилування пролінових залишків Pro402 та Pro564 (останні знаходяться в ODD-домени HIF-1 $\alpha$ ). Ідентифіковано три ізоформи цих ензимів (PHD1–3), які присутні в клітинах у великій кількості [1, 19, 44]. Гідроксилування пролінових залишків служить сигналом для розпізнавання  $\alpha$ -субодиниці білком pVHL (von Hippel-Lindau; даний білок є компонентом убіквітин-лігази E3), приєднання убіквітину та наступної протеасомної деградації  $\alpha$ -субодиниці (рис. 2) [7, 45].

Альтернативним механізмом інактивації HIF-комплексу в умовах присутності кисню є блоку-

вання взаємодії термінального трансактиваційного домену CAD субодиниці HIF-1 $\alpha$  з коактиватором транскрипції p300/CBP [43]. Таке блокування опосередковується ферментом HIF-аспарагініл-гідроксилазою, який інгібує HIF-1 (factor inhibiting HIF-1, FIH-1) [19, 33]. Активація проліл-гідролаз та FIH-1 забезпечує блокування субодиниці HIF-1 $\alpha$  та попереджує подальшу активацію транскрипції генів.

В умовах гіпоксії проліл-гідролази та FIH інактивуються; це супроводжується стабілізацією субодиниці HIF-1 $\alpha$  та її подальшою транслокацією в ядро, де HIF-1 $\alpha$  гетеродимеризується із субодиницею HIF-1 $\beta$  з наступним приєднанням комплексу HIF до ДНК. Приєднання гетерокомплексу HIF-1 до ДНК відбувається в так званій ділянці HRE (regioni відповіді на гіпоксію, hypoxia response element). Там HIF-1 взаємодіє з коактиватором транскрипції CBP/p300, активуючи численні гени-мішені [18].

### ГЕНИ-МІШЕНІ ДЛЯ HIF

На сьогодні відомо більше 100 генів-мішеней, які активуються HIF-1. У людини HIF-1 прямо чи опосередковано регулює близько 2 % генів ендотеліальних клітин артерій кровоносної системи [1, 20, 47]. Незважаючи на структурну подібність субодиниць HIF-1 $\alpha$ , HIF-2 $\alpha$  та HIF-3 $\alpha$ , вони після димеризації з HIF-1 $\beta$  активують різні гени-мішені. Згідно з результатами досліджень *in vitro*, гетеродимер субодиниць HIF-1 $\beta$  та HIF-1 $\alpha$  активує ті гени, котрі кодують білки, опосередковуючі клітинну відповідь

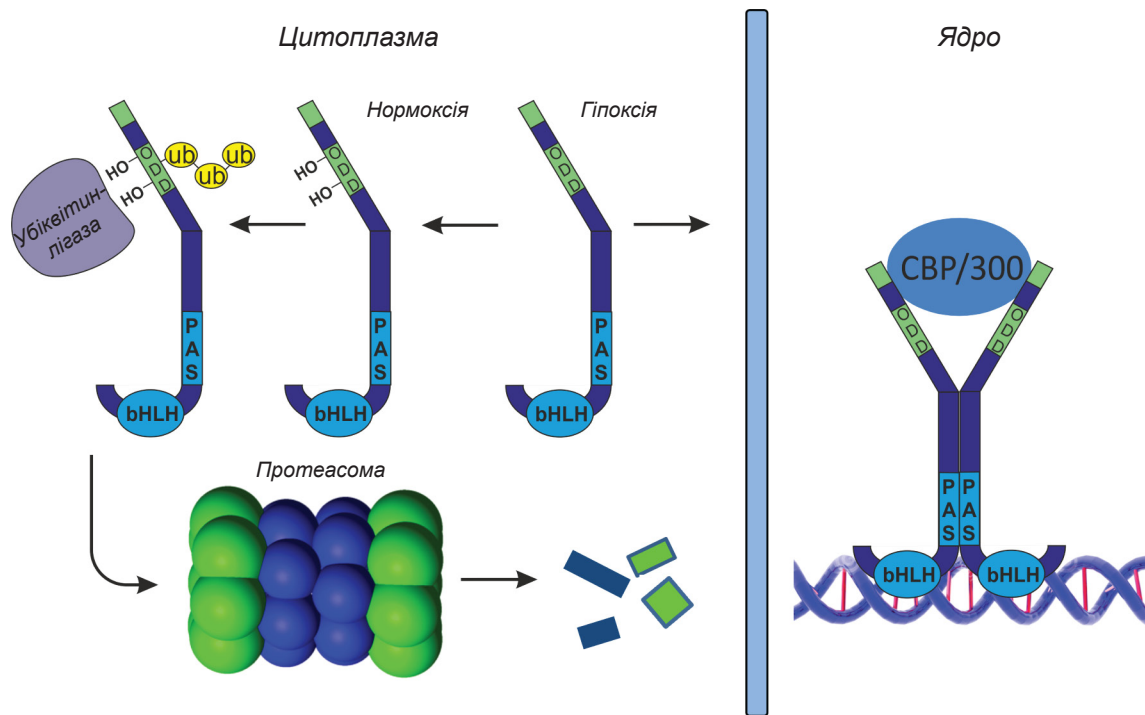
на гостре гіпоксичне ураження. В той же час для комплексу HIF- $\beta$  та HIF-2 $\alpha$  є характерною активація генів, які опосередковують клітинні реакції на помірну гіпоксію [28]. HIF-1 активує гени, котрі кодують еритропоетин (EPO) та судинний ендотеліальний фактор росту (VEGF). Еритропоетин попереджує загибель нейронів в умовах окисного та азотно-окисного стресу *in vitro* та сприяє відновленню мозку після інсульту *in vivo* [48–53]. Це ключовий механізм, який лежить в основі характерних нейропротективних властивостей HIF-комплексу. Крім активації генів EPO та VEGF, у сферу впливів HIF-1 входить також активація експресії генів, кодуючих проапоптотичні білки (такі, як p53, BNIP3 та ін.) [54–57]. Зокрема, білок p53 є тригером апоптозу, що індукується гіпоксією. Цей білок активує такі проапоптотичні гени, як *Bax*, *NOXA*, *PUMA* та *PERP* [54, 58]. Як наслідок, апоптоз істотно інтенсифікується, і рівень клітинної смертності в умовах гіпоксичного ураження зростає. Таке різноманіття генів-мішеней, що активуються HIF-комплексом, зумовлює дуалізм ефектів, опосередкованих HIF-1.

Крім генів, які кодують первинні послідовності білків еритропоезу, ангіогенезу та проапоптотичних білків, до генів-мішеней HIF-1 належать гени, що кодують численні білки-регулятори клітинного метаболізму. До них, зокрема, відносяться металопротеїни – білки, які регулюють метаболізм заліза

(трансферин, церулоплазмін, рецептор трансферину) [59, 60], глюкозні транспортери 1 та 3 – білки, що беруть участь у метаболізмі глюкози [57], білки позаклітинного матриксу, структурні білки цитоскелета, хемокіни, а також білки ліпідного метаболізму, що впливають на судинний тонус [61] та ін. На сьогодні пошук генів-мішеней HIF триває та є досить активним.

## HIF-1 ТА ОНКОГЕНЕЗ

У багатьох випадках розвитку злоякісних новоутворень у людей спостерігається посилена експресія субодиниць HIF-1 $\alpha$  і HIF-2 $\alpha$  [62]. Це зумовлено прогресуючою гіпоксією всередині пухлинної маси та адаптаційних процесів, індукованих тривалою гіпоксією. Гіпоксичні умови, які створюються через недостатню кількість або навіть відсутність судин у новоутвореній пухлині та відповідне недостатнє забезпечення тканин киснем, призводять до стабілізації та активації HIF-1. Крім того, що продукція HIF-1 стимулюється гіпоксією, даний фактор також активується під дією фактора росту та онкогенів. Це зумовлює посилення проліферації клітин [10] та підвищує рівень їх виживання, забезпечуючи кореляцію між ростом тканин і їх кисневим забезпеченням. Фактори росту акти-



Р и с. 2. Кисеньзалежний механізм регуляції стабільності субодиниці HIF-1 $\alpha$  (адаптовано із [46]).



вують внутрішньоклітинні метаболічні шляхи, зокрема каскади фосфорилування, в яких задіяні мітогенактивована протеїнкіназа (mitogen-activated protein kinase – MAPK) та фосфоінозитид-3-кіназа (phosphoinositide 3-kinase – PI3K). Такі ефекти посилюють відповідь HIF на гіпоксію із залученням як посттрансляційного, так і трансляційного контролю [17]. З цим узгоджуються також результати імуногістохімічних досліджень, в яких був виявлений помірний базовий рівень білка HIF-1 $\alpha$  в доброякісних утвореннях, на противагу істотному підвищенню вказаного рівня в первинних злоякісних пухлинах та в їх метастазах [62, 63]. Існує пряма кореляція між ступенем підвищення експресії HIF-1 $\alpha$  та рівнем смертності пацієнтів з онкологічними захворюваннями [10].

Не тільки HIF-1 $\alpha$ , але й HIF-2 $\alpha$  є фактором, що істотно впливає на ріст злоякісних пухлин [64]. Проонкотичний ефект HIF пов'язаний із необхідністю посиленого постачання клітин киснем для забезпечення прогресивного росту пухлинної маси завдяки активації ангиогенезу та посилення гліколізу (так званий ефект Варбурга). Ці процеси забезпечуються стабілізацією субодиниці HIF-1 $\alpha$  з подальшою активацією комплексу HIF-1 та наступною індукцією підвищеної експресії еритропоєтину та ендотеліального фактора росту судин.

## НІФ-ОПОСЕРЕДКОВАНІ НЕЙРОПРОТЕКЦІЯ ТА АПОПТОЗ

Клітинні ефекти, які опосередковує HIF-1 у нервовій тканині в умовах ішемічного ураження, досить суперечливі. Результати численних досліджень продемонстрували, що вже через 1 год після моделювання ішемічного ураження мозку щурів зупинкою роботи серця спостерігається акумуляція білка HIF-1 $\alpha$  в мозкових тканинах. Підвищений рівень HIF-1 $\alpha$  в нервовій тканині зберігався протягом тижня і супроводжувався активацією численних генів-мішеней [65]. Рівень білка HIF-1 $\alpha$  в мозку таких щурів був високим протягом 14 діб після індукції тривалої гіпоксії і знижувався починаючи лише з 21-ї доби [65, 66]. Зміни рівня експресії HIF-1 $\alpha$  при ішемічному ураженні нейронів (фокальній ішемізації кори) у щурів були двофазними. Рівень експресії HIF-1 $\alpha$  драматично зростав (на 10 порядків) з 1-ї по 6-ту год після ішемічного ураження, знижувався протягом короткого проміжку часу в наступні 24 год із подальшою фазою по-

вторного драматичного зростання (на сім порядків) на другу добу після ураження, причому високий рівень підтримувався протягом наступних восьми діб [67]. Було виявлено, що протягом 1–24 год після ішемічного ураження відбувається активація генів-мішеней, які кодують ферменти гліколізу, білки проангіогенезу та фактори, задіяні в посиленні загибелі клітини [67]. Вже на другу добу після ішемічного ураження кори спостерігалися зниження експресії проапоптотичних факторів, таких як bNIP3, Noxa, Nix та RTP801, а також активація генів, що беруть участь в ангиогенезі (VEGF, Flt-1, PAI-1, Ang-2 та Flk), еритропоезі та ін. При цьому залишалися високими рівні експресії еритропоетину, енолази та глутаматного транспортера 1-го типу [67]. Таким чином, активація HIF-1 індукує включення істотних компенсаторних механізмів (еритропоезу, гліколізу), які швидко нейтралізують дефіцит кисню, посилюють васкуляризацію та ін., забезпечуючи відставлену в часі нейропротекцію. Підтвердженням цього слугує той факт, що селективне пригнічення експресії HIF-1 $\alpha$  в нейронах завдяки генетичному нокдауну призводило до посилення ушкоджень тканин мозку в моделі з оклюзією середньої церебральної артерії, а також зменшення кількості клітин, здатних вижити після подібного ішемічного ураження [67]. В експериментах із фармакологічним блокуванням HIF-1 $\alpha$  за допомогою 2-метоксиестрадіолу (2-MEO) було показано, що ступінь ушкодження зони CA1 гіпокампа в умовах ішемічного ураження (модель із 10-хвилинною двосудинною оклюзією) стає вірогідно більшим [68]. Активація згаданого фактора сприяла виживанню нейронів як *in vitro*, так і *in vivo*, що підтверджує нейропротекторну роль HIF-1 $\alpha$  [69]. Це спостерігалось у випадку, коли активатори додавали не тільки перед створенням гіпоксичних умов [70, 71], але й після дії ішемії [67]. У наших попередніх дослідженнях ми виявили, що застосування комбінованого інгібування HIF-проліл-гідроксилаз *in situ* та активації транскрипційного фактора за допомогою 2,4-піридинкарбоксихлориду діетилового ефіру призводило до істотного збільшення кількості живих нейронів у зонах CA1 та CA3 гіпокампа після тривалого ішемічного ушкодження [71]. Подібний ефект зменшення ступеня ураження після ішемічного впливу спостерігали й інші дослідники з використанням іншого інгібітора проліл-гідроксилаз (FG-4497) [72].

З іншого боку, комбінування фармакологічного блокування HIF-1 $\alpha$  із застосуванням 2-MEO та

пригнічення експресії HIF-1 $\alpha$  на генетичному рівні інтерферуючими РНК (si-RNA) призводило до зменшення кількості ушкоджених нейронів в умовах тривалого ішемічного ураження (при додаванні 2-MEO та si-RNA через 30 хв після моделювання умов ішемії в культурі первинних нейронів) [64]. Застосування ж фармакологічного блокування роботи HIF-1 $\alpha$  та інгібування його експресії на пізніх стадіях постішемічного ураження (дії 2-MEO протягом 8 год та дії si-RNA через 12 год після моделювання ішемії) не супроводжувалися позитивними ефектами, а рівень виживання нейронів знижувався [73]. У низці досліджень було також продемонстровано, що селективне вимкнення експресії HIF-1 $\alpha$  в нейронах (при нокдауні відповідного гена) призводило до зниження інтенсивності ішемічного ураження нейронів і підвищення ступеня їх виживання в умовах ішемії [74]. Характерно, що рівні експресії певних генів-мішеней (HIF-1, VEGF та GADD45) залишалися в цьому випадку незмінними [74]. Останній факт свідчить на користь того, що регуляція експресії даних генів опосередковується не лише HIF, а й іншими транскрипційними факторами.

Дуалізм HIF-опосередкованих механізмів проявляється також у впливі активних форм кисню (reactive oxygen species – ROS) на HIF-1 $\alpha$ . Було показано, що в умовах гіпоксії ROS зумовлюють деградацію HIF-1 $\alpha$  в нейронах [75]. Як виявилось, цей ефект поєднується зі зниженням рівня експресії HIF-1 $\alpha$  під час ішемії [76, 77]. З іншого боку, повідомлялося, що впливи ROS призводили до акумулювання HIF-1 $\alpha$  в результаті посилення експресії даної субстанції, а також до інтенсифікації експресії еритропоєтину [78]. Чим зумовлені такі фактично протилежні відомості, залишається незрозумілим; неясні також молекулярні механізми, що опосередковують відповідні ефекти.

Мало дослідженими на сьогодні залишаються причинно-наслідкові зв'язки між впливами HIF та механізмами внутрішньоклітинної сигналізації, котрі відповідальні за координованість сигнальних та ефекторних механізмів. Як виявилось, HIF-1 $\alpha$  потенціює утворення аденозину, що супроводжувалося зниженням входу Ca<sup>2+</sup> у клітини [79–81]. Це свідчить про те, що дію HIF-1 $\alpha$  можна розглядати як внутрішньоклітинний механізм послаблення кальційіндукованої цитотоксичності. Генетично зумовлене пригнічення експресії HIF-1 $\alpha$  протидіяло глутаматній цитотоксичності щодо культивованих клітин HT22, в той час як активація HIF-1 $\alpha$  за

допомогою приєднання транскрипційного активатора VP16, навпаки, сприяла розвитку глутаматної інтоксикації та посилювала загибель нейронів [82, 83]. З іншого боку, стабілізація субодиниці HIF-1 $\alpha$  під дією інгібіторів проліл-гідроксилаз призводила до підвищення рівня виживання клітин [74]. Як було виявлено в наших нещодавніх дослідженнях змін кальцієвої сигналізації в нейронах гіпокампа в умовах тривалої ішемії, блокування деградації субодиниці HIF-1 $\alpha$  інгібіторами проліл-гідроксилаз попереджує порушення згаданої сигналізації, котрі розвиваються в разі тривалої ішемії. Така протекторна дія супроводжується зростанням рівня експресії Ca<sup>2+</sup>-АТФаз ендоплазматичного ретикулу (SERCA), що забезпечує акумуляцію внутрішньоклітинного кальцію (дані будуть опубліковані). Це є опосередкованим підтвердженням здатності HIF-1 модулювати експресію гена, який кодує SERCA. Такий ген, очевидно, є новою потенційною мішенню для HIF-1 у нейронах. Цікаво, що рівень експресії SERCA в нейронах зони CA3 гіпокампа, високорезистентних до ішемії, є істотно підвищеним. Ці дані свідчать про те, що SERCA-опосередкований механізм попереджує кальційіндуковану цитотоксичність у нейронах згаданої зони гіпокампа і що активність подібного механізму є одним із факторів ендогенної нейропротекції при активації HIF-1.

## ПРАКТИЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ ТА ПОДАЛЬШІ ПЕРСПЕКТИВИ ДОСЛІДЖЕНЬ КЛІТИННИХ МЕХАНІЗМІВ, В ЯКІ ЗАДІЯНИЙ HIF

Кількість запитань щодо молекулярних та внутрішньоклітинних механізмів роботи HIF та його генів-мішеней на даному етапі наукових досліджень є значно більшою, ніж кількість отриманих відповідей. Слід, проте, мати на увазі, що розуміння фундаментальних аспектів регуляції цих механізмів та можливостей їх корекції зумовлює потенційну можливість істотного прогресу в сфері терапевтичної та фармакологічної корекції наслідків ішемічного ураження мозку. Такі патології, згідно з відомостями Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВОЗ), займають друге місце серед причин смертності після ішемічних уражень серця.

Складність і (в деяких випадках) різноспрямованість опосередкованих HIF клітинних ефектів зумовлюють істотні утруднення в порівнянні отри-

муваних наукових результатів та їх узагальненні. Різноманіття HIF-опосередкованих ефектів може бути пов'язаним як із різним ступенем ішемічного ураження, так і з відмінностями експериментальних моделей, які застосовуються в дослідженнях на різних рівнях (від клітинного до рівня цілого організму). Крім того, дуалізм HIF-опосередкованих впливів (активація нейропротективних та проапоптотичних механізмів) може свідчити про те, що така складність, очевидно, зумовлена активацією не лише даного, але й інших факторів. Враховуючи це, особливу увагу варто приділити також пошуку «партнерів» HIF, активація яких також зумовлює внутрішньоклітинні процеси клітинної адаптації до змін кисневого гомеостазу. Очевидно, важливо встановити так звану точку відліку, на якій відбувається «перемикання» активації нейропротекторних механізмів на ініціацію сценарію запрограмованої загибелі клітин (апоптозу). Важливим завданням клінічних досліджень може бути розробка методів активації ендогенної нейропротекції за участю HIF для удосконалення лікувальної стратегії при ішемічному інсульті. Розуміння сигнальних шляхів, які опосередковують посилення виживання чи загибелі клітин в умовах гіпоксичних станів, є необхідною умовою прогресу в даному аспекті.

Дана робота є оглядом відомостей, наданих в літературі, і тому не потребує підтвердження відповідності існуючим міжнародним етичним нормам щодо наукових публікацій в галузі нейрофізіології та молекулярної біології.

Автори – А. М. Майстренко, О. В. Копач та Г. Г. Скібо – підтверджують відсутність конфліктів, що стосуються комерційних або фінансових відносин, відносин з організаціями або особами, будь-яким чином пов'язаними з виконанням роботи, а також взаємовідносин співавторів статті.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. W. Risau, "Mechanisms of angiogenesis," *Nature*, **386**, No. 6626, 671-674 (1997).
2. G. L. Semenza, "O<sub>2</sub>-regulated gene expression: transcriptional control of cardiorespiratory physiology by HIF-1," *J. Appl. Physiol.*, **96**, No. 3, 1170-1177 (2004).
3. R. H. Wenger, "Cellular adaptation to hypoxia: O<sub>2</sub>-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O<sub>2</sub>-regulated gene expression," *FASEB J.*, **16**, No. 10, 1151-1162 (2002).
4. G. L. Semenza and G. L. Wang, "A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein-synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation," *Mol. Cell. Biol.*, **12**, No. 12, 5447-5454 (1992).
5. I. Flamme, T. Fröhlich, M. Von Reutern, et al., "HRF, a putative basic helix-loop-helix-PAS-domain transcription factor is closely related to hypoxia-inducible factor-1 and developmentally expressed in blood vessels," *Mech. Dev.*, **63**, No. 1, 51-60 (1997).
6. G. L. Wang, B. H. Jiang, E. A. Rue, and G. L. Semenza, "Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O<sub>2</sub> tension," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, No. 12, 5510-5514 (1995).
7. L. E. Huang, Z. Arany, D. M. Livingston, and H. Franklin Bunn, "Activation of hypoxia-inducible transcription factor depends primarily upon redox-sensitive stabilization of its  $\alpha$  subunit," *J. Biol. Chem.*, **271**, No. 50, 32253-32259 (1996).
8. L. E. Huang, J. Gu, M. Schau, and H. F. Bunn, "Regulation of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  is mediated by an O<sub>2</sub>-dependent degradation domain via the ubiquitin-proteasome pathway," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, No. 14, 7987-7992 (1998).
9. G. Semenza, "Signal transduction to hypoxia-inducible factor 1," *Biochem. Pharmacol.*, **64**, Nos. 5/6, 993-998 (2002).
10. G. L. Semenza, "Targeting HIF-1 for cancer therapy," *Nat. Rev. Cancer*, **3**, No. 10, 721-732 (2003).
11. S. M. Cardoso, P. I. Moreira, P. Agostinho, et al., "Neurodegenerative pathways in Parkinson's disease: therapeutic strategies," *Current Drug Targets CNS Neurol. Disord.*, **4**, No. 4, 405-419 (2005).
12. D. W. Lee, S. Rajagopalan, A. Siddiq, et al., "Inhibition of prolyl hydroxylase protects against 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced neurotoxicity. Model for the potential involvement of the hypoxia-inducible factor pathway in Parkinson disease," *J. Biol. Chem.*, **284**, No. 42, 29065-29076 (2009).
13. Y. Liu, F. Liu, K. Iqbal, et al., "Decreased glucose transporters correlate to abnormal hyperphosphorylation of tau in Alzheimer disease," *FEBS Lett.*, **582**, No. 2, 359-364 (2008).
14. D. Schubert, T. Soucek, and B. Blouw, "The induction of HIF-1 reduces astrocyte activation by amyloid beta peptide," *Eur. J. Neurosci.*, **29**, No. 7, 1323-1334 (2009).
15. T. Nguyen, A. Hamby, and S. M. Massa, "Clioquinol down-regulates mutant huntingtin expression in vitro and mitigates pathology in a Huntington's disease mouse model," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, No. 33, 11840-11845 (2005).
16. Y. T. Yang, T. C. Ju, and D. I. Yang, "Induction of hypoxia inducible factor-1 attenuates metabolic insults induced by 3-nitropropionic acid in rat C6 glioma cells," *J. Neurochem.*, **93**, No. 3, 513-525 (2005).
17. M. Ivan, K. Kondo, H. Yang, et al., "HIF- $\alpha$  targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O<sub>2</sub> sensing," *Science*, **292**, No. 5516, 464-468 (2001).
18. S. J. Freedman, Z.-Y. J. Sun, F. Poy, et al., "Structural basis for recruitment of CBP/p300 by hypoxia-inducible factor-1  $\alpha$ ," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, No. 8, 5367-5372 (2002).
19. N. Masson and P. J. Ratcliffe, "HIF prolyl and asparaginyl hydroxylases in the biological response to intracellular O<sub>2</sub> levels," *J. Cell Sci.*, **116**, No. 15, 3041-3049 (2003).
20. D. J. Manalo, A. Rowan, T. Lavoie, et al., "Transcriptional regulation of vascular endothelial cell responses to hypoxia by HIF-1," *Blood*, **105**, No. 2, 659-669 (2005).
21. Y. Z. Gu, S. M. Moran, J. B. Hogenesch, et al., "Molecular

- characterization and chromosomal localization of a third alpha-class hypoxia inducible factor subunit, HIF3alpha," *Gene Expr.*, **7**, No. 3, 205-213 (1998).
22. Y. Makino, R. Cao, K. Svensson, et al., "Inhibitory PAS domain protein is a negative regulator of hypoxia-inducible gene expression," *Nature*, **414**, No. 6863, 550-554 (2001).
  23. Y. Makino, A. Kanopka, W. J. Wilson, et al., "Inhibitory PAS domain protein (IPAS) is a hypoxia-inducible splicing variant of the hypoxia-inducible factor-3 $\alpha$  locus," *J. Biol. Chem.*, **277**, 32405-32408 (2002).
  24. M. Maynard, A. Evans, W. Shi, et al., "Dominant-negative HIF-3 $\alpha$ 4 suppresses VHL-null renal cell carcinoma progression," *Cell Cycle*, **6**, No. 22, 2810-2816 (2007).
  25. M. Sato, T. Tanaka, T. Maeno, et al., "Inducible expression of endothelial PAS domain protein-1 by hypoxia in human lung adenocarcinoma A549 cells: Role of Src family kinases-dependent pathway," *Am. J. Respirat. Cell Mol. Biol.*, **26**, No. 1, 127-134 (2002).
  26. T. Uchida, F. Rossignol, M. A. Matthay, et al., "Prolonged hypoxia differentially regulates hypoxia-inducible factor (HIF)-1 $\alpha$  and HIF-2 $\alpha$  expression in lung epithelial cells: implication of natural antisense HIF-1 $\alpha$ ," *J. Biol. Chem.*, **279**, No. 15, 14871-14878 (2004).
  27. M. S. Wiesener, J. Ju, C. Warnecke, et al., "Widespread hypoxia-inducible expression of HIF-2 $\alpha$  in distinct cell populations of different organs," *FASEB J.*, **17**, 271-273 (2003).
  28. M. S. Wiesener, H. Turley, W. E. Allen, et al., "Induction of endothelial PAS domain protein-1 by hypoxia: characterization and comparison with hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ ," *Blood*, **92**, No. 7, 2260-2268 (1998).
  29. M. Heidbreder, F. Fröhlich, O. Jöhren, et al., "Hypoxia rapidly activates HIF-3  $\alpha$  mRNA expression," **17**, No. 11, 1541-15433 (2003).
  30. J. L. Ruas, L. Poellinger, and T. Pereira, "Functional analysis of hypoxia-inducible factor-1  $\alpha$ -mediated transactivation. Identification of amino acid residues critical for transcriptional activation and/or interaction with CREB-binding protein," *J. Biol. Chem.*, **277**, 38723-38730 (2002).
  31. J. M. Elkins, K. S. Hewitson, L. A. McNeill, et al., "Structure of factor inhibiting hypoxia-inducible factor (HIF) reveals mechanism of oxidative modification of HIF-1  $\alpha$ ," *J. Biol. Chem.*, **278**, No. 3, 1802-1806 (2003).
  32. P. J. A. Erbel, P. B. Card, O. Karakuzu, et al., "Structural basis for PAS domain heterodimerization in the basic helix-loop-helix-PAS transcription factor hypoxia-inducible factor," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, No. 26, 15504-15509 (2003).
  33. G. L. Semenza, "Hypoxia-inducible factor 1: Master regulator of O<sub>2</sub> homeostasis," *Current Opin. Gen. Dev.*, **8**, No. 5, 588-594 (1998).
  34. M. Ema, S. Taya, N. Yokotani, et al., "A novel bHLH-PAS factor with close sequence similarity to hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  regulates the VEGF expression and is potentially involved in lung and vascular development," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, No. 9, 4273-4278 (1997).
  35. H. Tian, S. L. McKnight, and D. W. Russell, "Endothelial PAS domain protein 1 (EPAS1), a transcription factor selectively expressed in endothelial cells," *Gen. Dev.*, **11**, No. 1, 72-82 (1997).
  36. H. Tian, R. E. Hammer, A. M. Matsumoto, et al., "The hypoxia-responsive transcription factor EPAS1 is essential for catecholamine homeostasis and protection against heart failure during embryonic development," *Gen. Dev.*, **12**, No. 21, 3320-3324 (1998).
  37. C. Rosenberger, "Expression of hypoxia-inducible factor-1 and -2 in hypoxic and ischemic rat kidneys," *J. Am. Soc. Nephrol.*, **13**, No. 7, 1721-1732 (2002).
  38. L. Holmquist-Mengelbier, E. Fredlund, T. Löfstedt, et al., "Recruitment of HIF-1 $\alpha$  and HIF-2 $\alpha$  to common target genes is differentially regulated in neuroblastoma: HIF-2 $\alpha$  promotes an aggressive phenotype," *Cancer Cell*, **10**, No. 5, 413-423 (2006).
  39. Y. Makino, A. Kanopka, W. J. Wilson, et al., "Inhibitory PAS domain protein (IPAS) is a hypoxia-inducible splicing variant of the hypoxia-inducible factor-3 $\alpha$  locus," *J. Biol. Chem.*, **277**, No. 36, 32405-32408 (2002).
  40. N. V. Iyer, L. E. Kotch, F. Agani, et al., "Cellular and developmental control of O<sub>2</sub> homeostasis by hypoxia-inducible factor 1  $\alpha$ ," *Gen. Dev.*, **12**, No. 2, 149-162 (1998).
  41. H. E. Ryan, J. Lo, and R. S. Johnson, "HIF-1 $\alpha$  is required for solid tumor formation and embryonic vascularization," *EMBO J.*, **17**, No. 11, 3005-3015 (1998).
  42. J. Peng, L. Zhang, L. Drysdale, and G. H. Fong, "The transcription factor EPAS-1/hypoxia-inducible factor 2 $\alpha$  plays an important role in vascular remodeling," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 8386-8391 (2000).
  43. E. Maltepe, J. V. Schmidt, D. Baunoch, et al., "Abnormal angiogenesis and responses to glucose and oxygen deprivation in mice lacking the protein ARNT," *Nature*, **386**, No. 6623, 403-407 (1997).
  44. L. E. Huang and H. F. Bunn, "Hypoxia-inducible factor and its biomedical relevance," *J. Biol. Chem.*, **278**, 19575-19578 (2003).
  45. J. R. Tuckerman, Y. Zhao, K. S. Hewitson, et al., "Determination and comparison of specific activity of the HIF-prolyl hydroxylases," *FEBS Lett.*, **576**, Nos. 1/2, 145-150 (2004).
  46. M. Ivan, K. Kondo, H. Yang, et al., "HIF  $\alpha$  targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O<sub>2</sub> sensing," **292**, No. 5516, 464-468 (2001).
  47. C. W. Pugh, J. F. O'Rourke, M. Nagao, et al., "Activation of hypoxia-inducible factor-1; Definition of regulatory domains within the  $\alpha$  subunit," *J. Biol. Chem.*, **272**, No. 17, 11205-11214 (1997).
  48. C. Brahimi-Horn, N. Mazure, and J. Pouyssegur, "Signalling via the hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  requires multiple posttranslational modifications," *Cell. Signal.*, **17**, No. 1, 1-9 (2005).
  49. H. Jiang, R. Guo, and J. A. Powell-Coffman, "The *Caenorhabditis elegans* *hif-1* gene encodes a bHLH-PAS protein that is required for adaptation to hypoxia," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 7916-7921 (2001).
  50. H. J. Marti, M. Bernaudin, A. Bellail, et al., "Hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression precedes neovascularization after cerebral ischemia," *Am. J. Pathol.*, **156**, No. 3, 965-976 (2000).
  51. M. Sakanaka, T. C. Wen, S. Matsuda, et al., "In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, No. 8, 4635-4640 (1998).
  52. E. Morishita, S. Masuda, M. Nagao, et al., "Erythropoietin receptor is expressed in rat hippocampal and cerebral cortical neurons, and erythropoietin prevents *in vitro* glutamate-induced neuronal death," *Neuroscience*, **76**, No. 1, 105-116 (1996).
  53. M. Bernaudin, H. H. Marti, S. Roussel, et al., "A potential role



- for erythropoietin in focal permanent cerebral ischemia in mice," *J. Cerebr. Blood Flow Metab.*, **19**, 643-651 (1999).
54. Y. Sadamoto, K. Igase, M. Sakanaka, et al., "Erythropoietin prevents place navigation disability and cortical infarction in rats with permanent occlusion of the middle cerebral artery," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **253**, 26-32 (1998).
  55. M. L. Brines, P. Ghezzi, S. Keenan, et al., "Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 10526-10531 (2000).
  56. R. Schmidt-Kastner, C. Aguirre-Chen, T. Kietzmann, et al., "Nuclear localization of the hypoxia-regulated pro-apoptotic protein BNIP3 after global brain ischemia in the rat hippocampus," *Brain Res.*, **1001**, Nos. 1/2, 133-142 (2004).
  57. X. M. Yin, Y. Luo, G. Cao, et al., "Bid-mediated mitochondrial pathway is critical to ischemic neuronal apoptosis and focal cerebral ischemia," *J. Biol. Chem.*, **277**, No. 44, 42074-42081 (2002).
  58. M. Shibata, H. Hattori, T. Sasaki, et al., "Temporal profiles of the subcellular localization of Bim, a BH3-only protein, during middle cerebral artery occlusion in mice," *J. Cerebr. Blood Flow Metab.*, **22**, 810-820 (2002).
  59. M. Chen, H. He, S. Zhan, et al., "Bid is cleaved by calpain to an active fragment in vitro and during myocardial ischemia/reperfusion," *J. Biol. Chem.*, **276**, No. 33, 30724-30728 (2001).
  60. M. W. Halterman and H. J. Federoff, "HIF-1alpha and p53 promote hypoxia-induced delayed neuronal death in models of CNS ischemia," *Exp. Neurol.*, **159**, No. 1, 65-72 (1999).
  61. A. Rolfs, I. Kvietikova, M. Gassmann, and R. H. Wenger, "Oxygen-regulated transferrin expression is mediated by hypoxia-inducible factor-1," *J. Biol. Chem.*, **272**, No. 32, 20055-20062 (1997).
  62. C. N. Lok and P. Ponka, "Identification of a hypoxia response element in the transferrin receptor gene," *J. Biol. Chem.*, **274**, No. 34, 24147-24152 (1999).
  63. Q. Ke and M. Costa, "Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1)," *Mol. Pharmacol.*, **70**, No. 5, 1469-1480 (2006).
  64. H. Zhong, A. M. De Marzo, E. Laughner, et al., "Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha in common human cancers and their metastases," *Cancer Res.*, **59**, No. 22, 5830-5835 (1999).
  65. A. L. Harris, "Hypoxia – a key regulatory factor in tumour growth," *Nat. Rev. Cancer*, **2**, No. 1, 38-47 (2002).
  66. T. N. Seagroves, H. E. Ryan, H. Lu, et al., "Transcription factor HIF-1 is a necessary mediator of the pasteur effect in mammalian cells," *Mol. Cell. Biol.*, **21**, No. 10, 3436-3444 (2001).
  67. J. C. Chavez and J. C. LaManna, "Activation of hypoxia-inducible factor-1 in the rat cerebral cortex after transient global ischemia: potential role of insulin-like growth factor-1," *J. Neurosci.*, **22**, No. 20, 8922-8931 (2002).
  68. I. C. Chover, F. Agani, P. Pichiule, and J. C. Lo Manna, "Expression of hypoxia-inducible factor-1a in the brain of rats during chronic hypoxia," *J. Appl. Physiol.*, **4938**, 1937-1942 (2000).
  69. O. Baranova, L. F. Miranda, P. Pichiule, et al., "Neuron-specific inactivation of the hypoxia inducible factor 1 alpha increases brain injury in a mouse model of transient focal cerebral ischemia," *J. Neurosci.*, **27**, No. 23, 6320-6332 (2007).
  70. D. Zhou, G. A. Matchett, V. Jadhav, et al., "The effect of 2-methoxyestradiol, a HIF-1 alpha inhibitor, in global cerebral ischemia in rats," *Neurol. Res.*, **30**, No. 3, 268-271 (2008).
  71. A. Siddiq, I. A. Ayoub, J. C. Chavez, et al., "Hypoxia-inducible factor prolyl 4-hydroxylase inhibition. A target for neuroprotection in the central nervous system," *J. Biol. Chem.*, **280**, No. 50, 41732-41743 (2005).
  72. M. Bergeron, J. M. Gidday, Y. Y. Aimee, et al., "Role of hypoxia-inducible factor-1 in hypoxia-induced ischemic tolerance in neonatal rat brain," *Ann. Neurol.*, **48**, No. 3, 285-296 (2000).
  73. I. Lushnikova, M. Orlovsky, V. Dosenko, et al., "Brief anoxia preconditioning and HIF prolyl-hydroxylase inhibition enhances neuronal resistance in organotypic hippocampal slices on model of ischemic damage," *Brain Res.*, **1386**, 175-183 (2011).
  74. S. Reischl, L. Li, G. Walkinshaw, et al., "Inhibition of HIF prolyl-4-hydroxylases by FG-4497 reduces brain tissue injury and edema formation during ischemic stroke," *PLoS One*, **9**, No. 1, 84767 (2014).
  75. S. H. Yeh, L. C. Ou, P. W. Gean, et al., "Selective inhibition of early but not late-expressed HIF-1a is neuroprotective in rats after focal ischemic brain damage," *Brain Pathol.*, **21**, No. 3, 249-262 (2011).
  76. R. Helton, J. Cui, J. R. Scheel, et al., "Brain-specific knock-out of hypoxia-inducible factor-1alpha reduces rather than increases hypoxic-ischemic damage," *J. Neurosci.*, **25**, No. 16, 4099-4107 (2005).
  77. S. Guo, M. Miyake, K. J. Liu, and H. Shi, "Specific inhibition of hypoxia inducible factor 1 exaggerates cell injury induced by *in vitro* ischemia through deteriorating cellular redox environment," *J. Neurochem.*, **108**, No. 5, 1309-1321 (2009).
  78. T. L. Wellman, J. Jenkins, P. L. Penar, et al., "Nitric oxide and reactive oxygen species exert opposing effects on the stability of hypoxia-inducible factor-1alpha (HIF-1alpha) in explants of human pial arteries," *FASEB J.*, **18**, No. 2, 379-381 (2004).
  79. S. Guo, O. Bragina, Y. Xu, et al., "Glucose up-regulates HIF-1 alpha expression in primary cortical neurons in response to hypoxia through maintaining cellular redox status," *J. Neurochem.*, **105**, No. 5, 1849-1860 (2008).
  80. J. Liu, P. Narasimhan, F. Yu, and P. H. Chan, "Neuroprotection by hypoxic preconditioning involves oxidative stress-mediated expression of hypoxia-inducible factor and erythropoietin," *Stroke*, **36**, No. 6, 1264-1269 (2005).
  81. C. Heurteaux, I. Lauritzen, C. Widmann, and M. Lazdunski, "Essential role of adenosine, adenosine A1 receptors, and ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in cerebral ischemic preconditioning," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, No. 10, 4666-4670 (1995).
  82. J. Wardas, "Neuroprotective role of adenosine in the CNS," *Pol. J. Pharmacol.*, **54**, No. 4, 313-326 (2002).
  83. J. H. Lin, N. Lou, N. Kang, et al., "A central role of connexin 43 in hypoxic preconditioning," *J. Neurosci.*, **28**, No. 3, 681-695 (2008).
  84. L. R. Aminova, J. C. Chavez, J. Lee, et al., "Prosurvival and prodeath effects of hypoxia-inducible factor-1alpha stabilization in a murine hippocampal cell line," *J. Biol. Chem.*, **280**, No. 5, 3996-4003 (2005).
  85. K. Zaman, H. Ryu, D. Hall, et al., "Protection from oxidative stress-induced apoptosis in cortical neuronal cultures by iron chelators is associated with enhanced DNA binding of hypoxia-inducible factor-1 and ATF-1/CREB and increased expression of glycolytic enzymes, p21(waf1/cip1), and erythropoietin," *J. Neurosci.*, **19**, No. 22, 9821-9830 (1999).