

DOI: 10.13376/j.cbls/2024180

文章编号: 1004-0374(2024)12-1525-10

HIF-1 α 在新生儿缺血缺氧性脑损伤中的作用

兰 平^{1,2}, 尚文豆^{1,2}, 何 治^{1,2,3*}, 陈 越^{1,2,3*}

(1 三峡大学国家中药管理局中药药理科研三级实验室, 宜昌 443002;
2 三峡大学基础医学院, 宜昌 443002; 3 嘉兴大学医学院, 嘉兴 314000)

摘 要: 新生儿缺血缺氧性脑损伤 (neonatal hypoxic ischemic brain damage, HIBD) 是指围产期因多种不利因素导致新生儿大脑部分或完全缺血缺氧而引起的脑损伤疾病, 其致死率和致残率高, 发病机制复杂。缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 是调节细胞适应缺氧环境的关键转录因子。在 HIBD 中, HIF-1 α 的表达对神经元既有保护作用也有毒性作用, 主要与新生儿大脑缺血缺氧的时间和程度有关。本文就 HIF-1 α 及其所调控的下游基因在 HIBD 中的具体作用机制进行综述。

关键词: 缺氧诱导因子-1 α ; 新生儿; 缺血缺氧性脑损伤

中图分类号: R722 **文献标志码:** A

The role of HIF-1 α in neonatal hypoxic ischemic brain damage

LAN Ping^{1,2}, SHANG Wen-Dou^{1,2}, HE Zhi^{1,2,3*}, CHEN Yue^{1,2,3*}

(1 Third-grade Pharmacological Laboratory on Traditional Chinese Medicine, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China Three Gorges University, Yichang 443002, China; 2 Basic Medical College, China Three Gorges University, Yichang 443002, China; 3 Jiaxing University Medical College, Jiaxing 314000, China)

Abstract: Neonatal hypoxic ischemic brain damage (HIBD) is the major cause of mortality and morbidity to the newborn in the perinatal period, which results from partially or completely ischemia and hypoxia to the brain of neonates and leads to brain injury. HIBD is highly lethal and disabling, and its pathogenesis is complicated and not completely clear. Hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) is a key transcription factor regulating cellular adaptation to hypoxic environments. In HIBD, HIF-1 α has both neuroprotective and neurotoxic effects, mainly related to the duration and degree of neonatal cerebral ischemia and hypoxia. The research evidence of HIF-1 α in HIBD and downstream events, as well as the specific mechanisms are summarized and discussed in this review.

Key words: hypoxia-inducible factor-1 α ; neonatal; hypoxic ischemic brain damage

新生儿缺血缺氧性脑损伤 (hypoxic ischemic brain damage, HIBD) 是指围产期脑部血流减少导致脑组织葡萄糖和氧气供应不足, 引起谷氨酸兴奋性毒性、氧化应激和炎症等一系列病理过程, 进而导致新生儿癫痫、脑瘫、运动和感觉障碍, 甚至死亡的一种神经系统疾病。根据 2022 年世界卫生组织统计, 全世界每年因 HIBD 死亡的新生儿人数占新生儿总死亡人数的 1/4, 在发达国家和发展中国家其年发病率分别为 1% 和 26%^[1]。HIBD 发病原因多样且发病机制复杂。从病理生理角度来说, 大致可将缺血缺氧发生至神经元死亡的过程分为三个阶段:

第一阶段为 HIBD 后的 6 h 内, 该阶段的主要特点是细胞内 Ca²⁺ 超载引起的兴奋性谷氨酸累积和线粒体代谢障碍; 第二阶段是损伤后的 6~15 h 内, 该阶段因脑循环的恢复导致神经元发生继发性细胞能量衰竭, 大量活性氧物质产生而使机体处于氧化应激状态, 并进一步破坏线粒体功能, 最后激活小

收稿日期: 2024-06-19; 修回日期: 2024-08-02

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82073824);
湖北省自然科学基金青年项目(2021CFB232)

*通信作者: E-mail: 329856208@qq.com (何治);
yueyue.cc11@foxmail.com (陈越)

胶质细胞, 诱发细胞死亡; 第三阶段发生在脑损伤后的数天至数月, 该阶段的特点是中枢和外周免疫细胞介导产生炎症^[2]。行之有效的 HIBD 挽救措施是减少神经元的死亡数量或通过延缓神经元死亡来为其他治疗方案争取到更长的时间窗。目前, 低温治疗 (therapeutic hypothermia, TH) 是唯一获得临床批准的治疗方式, 但 HIBD 早期诊断难度高、治疗时间窗狭窄, 再加上低温治疗的纳入标准严格等因素, 导致其治疗效果不尽如人意, 且患者获益有限^[3]。因此, 对该疾病机制的深入了解是寻找更有效治疗策略的必由之路。

缺氧诱导因子 1 (hypoxia inducible factor-1, HIF-1) 是缺氧应激病理生理反应的关键调节因子, 由氧敏感型 HIF-1 α 和结构型 HIF-1 β 两种亚基聚集而成。 α 亚基在哺乳动物中有三种亚型, 分别是 HIF-1 α 、HIF-2 α 、HIF-3 α , 其中 HIF-1 α 在缺氧信号通路中发挥主要作用。HIF-1 α 的表达和调控取决于细胞内的氧气浓度, 其在常氧 (21% O₂) 条件下被降解, 而在缺氧时被激活, 并通过调控靶基因转录和激活相关下游信号通路而发挥多种病理生理作用^[4]。本文简要介绍 HIF-1 α 的基本概念, 重点阐述 HIF-1 α 在 HIBD 中的作用机制, 并希望在此基础上为 HIBD 的治疗寻找更多有效的靶点。

1 HIF-1 α 的结构与功能

1.1 HIF-1 α 的结构

HIF-1 α 是一种含有 826 个氨基酸残基的蛋白质, 相对分子质量为 120 kDa, 位于 14 号染色体的 q21~q24 处, 由结构化的 N 末端结构域和功能化的 C 末端结构域组成。N 末端由转录因子家族成员 bHLH、结构二聚化基本序列 PAS-A 和 PAS-B 组成, 其功能为介导 HIF-1 二聚体的形成和促进 HIF-1 与靶基因的缺氧反应原件 (hypoxia response element,

HRE) 结合; 中间区域由氧依赖性降解结构域 (oxygen-dependent degradation domain, ODDD) 和 N 端 531~575 位氨基酸之间的激活区 (transactivation domain, TAD) 组成, 分别起到调节氧稳定性和防止 HIF-1 α 降解的作用; C 端的 786~826 位氨基酸之间也有一个 TAD, 其与组蛋白乙酰化转移酶环磷酸腺苷反应元件结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB) 和 p300 结合, 在缺氧条件下调节 HIF-1 α 的转录 (图 1)^[5]。

1.2 HIF-1 α 的氧依赖性调节

HIF-1 转录因子的激活主要依赖于 HIF-1 α 亚基的稳定。在常氧情况下, HIF-1 α 生成并被迅速降解。HIF-1 α 存在 3 个羟基化位点, 其中 ODDD 存在 2 个脯氨酸残基, C 端 TAD 中存在 1 个天冬氨酸残基。HIF-1 α 中的脯氨酸残基被氧依赖性脯氨酰-4-羟化酶 (prolyl-4-hydroxylases, PHD) 羟基化, 进而被 E3 泛素连接酶 Von Hippel-Lindau 蛋白 (VHL) 选择性降解。另一种调节机制由天冬酰胺羟化酶介导, 其中缺氧抑制因子 (factor inhibiting HIF, FIH) 将 HIF-1 α 的 C 端 TAD 结构域内的天冬氨酸残基羟基化, 阻止其与转录共激活因子 CREB 结合蛋白 (CREB-binding protein, CBP)/p300 结合。PHD 和 FIH 途径的羟化作用均依赖于充足的 O₂ 和 2-氧戊二酸 (2-oxoglutarate, 2-OG) 作为底物, 并且需要 Fe²⁺ 作为辅助因子。当发生缺血缺氧时, 除了活性氧介导半胱氨酸氧化抑制 PHD 和 FIH 的活性外, 线粒体电子传递链紊乱产生过量的活性氧将 Fe²⁺ 氧化成 Fe³⁺ 也抑制了 PHD 和 FIH 的活性, 这些因素导致 HIF-1 α 不被降解并与 HIF-1 β 聚集成二聚体, 随后移位到细胞核与 HRE 结合, 调控细胞内氧稳态相关基因的转录^[6]。

1.3 HIF-1 α 的非氧依赖性调节途径

除了氧依赖性途径, HIF-1 α 还参与非氧依赖

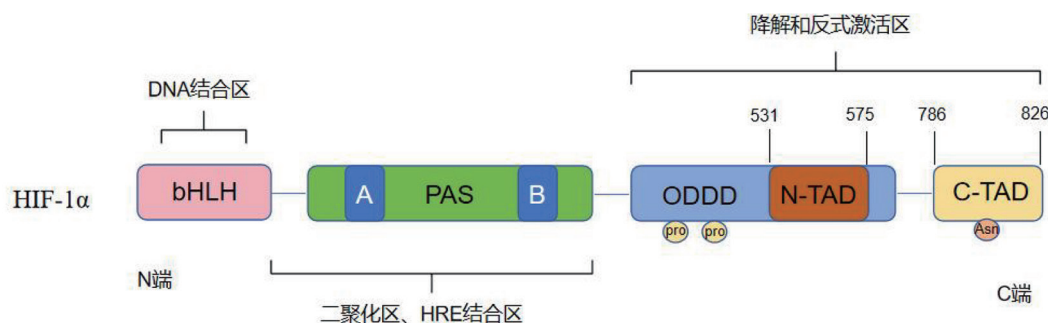


图1 HIF-1 α 的二维结构示意图

性调节途径。核因子- κ B (nuclear-factor kappa B, NF- κ B) 信号通路通过控制缺氧反应性炎症基因的表达而直接触发 HIF-1 α 的转录, 而使用该通路的选择性抑制剂 (吡咯烷二硫代氨基甲酸酯) 则可以抑制 HIF-1 α 蛋白的生成^[7]。此外, 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路在调节 HIF-1 α 中也起到重要作用。一项胰腺癌细胞缺氧实验发现, 激活后的 MAPK 促进 HIF-1 α 发生磷酸化, 从而抑制 HIF-1 α 的 VHL 依赖性降解^[8]。此外, MAPK 还通过促进 HIF-p300/CBP 复合物的形成, 进而调节 p300/CBP 的反式激活来影响 HIF-1 α 的活性^[9]。

2 HIF-1 α 和HIBD

在中枢神经系统中, 神经元对缺血缺氧极为敏感, 并且这种现象在未成熟大脑中更为明显^[10]。为了维持神经元的内环境稳态, HIF-1 α 通过调控葡萄糖转运蛋白 (glucose transporter, Glut)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、促红细胞生成素 (erythropoietin, EPO) 等基因的表达而发挥神经保护或神经毒性作用。研究发现, HIF-1 α 在 HIBD 中具有双重作用, 一方面通过调节线粒体代谢、促进血管生成、加速红细胞生成、调节氧化还原稳态等发挥神经保护作用; 另一方面, HIF-1 α 通过增加血脑屏障的通透性、调节炎症因子的释放

和诱导细胞死亡而加重脑损伤 (图 2)^[11]。

2.1 HIF-1 α 调控线粒体代谢

大脑是一个对氧气和葡萄糖高需求的器官, 其中线粒体在氧化磷酸化供能中处于中心地位。HIBD 发生时, 线粒体通过调节线粒体复合物的活性、将氧化磷酸化转变为糖酵解等方式来满足细胞的代谢需求。Lee 等^[12]发现, 缺氧时 HIF-1 α 会改变线粒体电子传递链中复合物的亚基和水解酶的表达来降低代谢水平, 具体表现为 HIF-1 α 上调复合物 IV 中的细胞色素 C 氧化酶 4-2 (cytochrome C oxidase 4-2, COX4-2) 和线粒体 LON (Lon protease, LON) 蛋白酶的表达, 除了 COX4-2 直接替换 COX4-1, LON 促进 COX4-1 的降解也间接增加 COX4-2 的表达, 从而提高线粒体呼吸效率并减少自由基的产生。此外, Douiev 等^[13]对 COX4-1 基因敲除的人包皮成纤维细胞进行缺氧处理后发现, HIF-1 α 稳定表达的同时伴随着 COX4-2 的 mRNA 和蛋白水平提高。除了影响线粒体复合物的活性, HIF-1 α 还通过增强 Glut1 活性来促进神经元存活。Guo 等^[14]发现, 敲除人神经母细胞瘤细胞的 HIF-1 α 基因除了抑制胞内葡萄糖-6 磷酸脱氢酶的活性而影响有氧代谢, 还通过抑制 Glut1 的表达来增加细胞死亡数量。线粒体有氧代谢转向糖酵解的关键环节是丙酮酸向乳酸而不是向乙酰辅酶 A 的转化。HIF-1 α 可以激活丙酮酸脱氢酶激酶 1 (pyruvate dehydrogenase kinase 1,

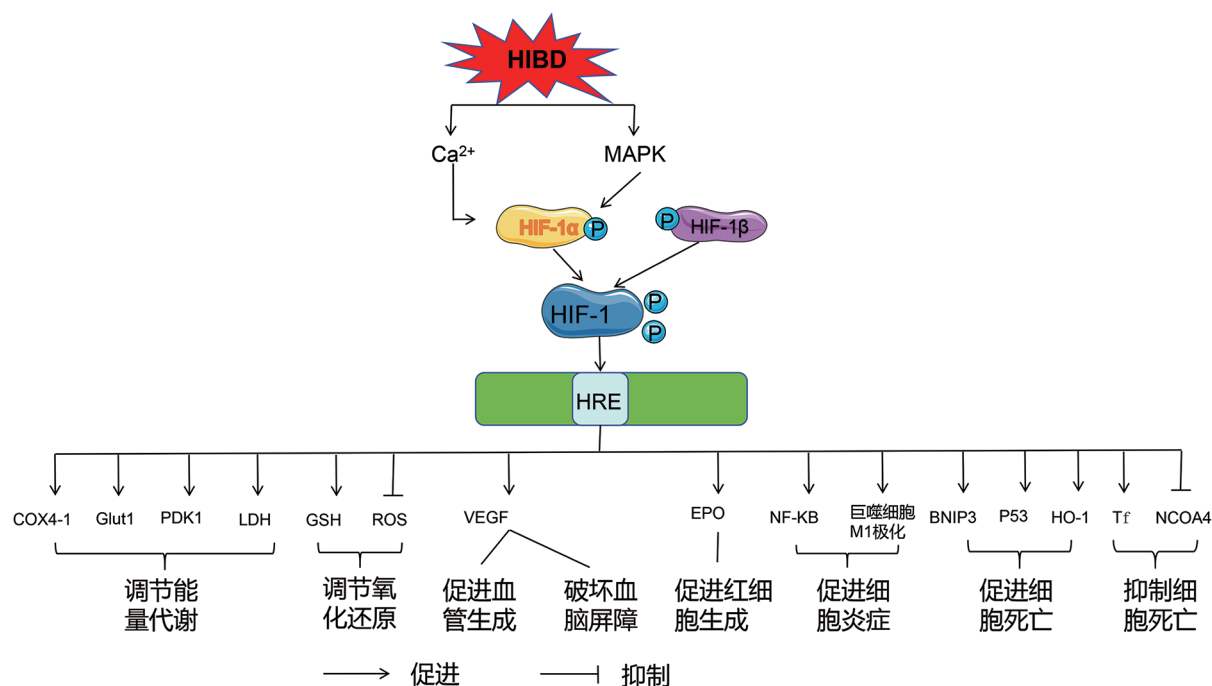


图2 HIF-1 α 在HIBD中的作用简图

PDK1), 促使丙酮酸脱氢酶磷酸化而失活, 阻止丙酮酸向乙酰辅酶 A 的转化; 与此同时, HIF-1 α 还会激活乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase A, LDHA) 促进丙酮酸向乳酸转化^[15]。研究发现, 缺氧会导致 PDK1 和 LDHA 的 mRNA 上调, 并且基因组学分析显示这种变化是由 HIF-1 α 信号通路所介导^[16]。同样, 使用 1- 甲基-2- 羟基-2,2,4- 三甲基-1,2- 二氢喹啉 (1-benzoyl-6-hydroxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline, BHDQ) 治疗大鼠脑缺血时发现, BHDQ 降低 HIF-1 α 活性的同时也使得大脑中乳酸和丙酮酸水平向正常水平恢复, 通过促进有氧代谢而发挥神经保护作用^[17]。

2.2 HIF-1 α 调控氧化还原稳态

细胞的氧化还原动态平衡表现为氧化剂和抗氧化剂之间的平衡。作为缺氧环境下维持机体氧化还原稳态的关键因子, HIF-1 α 通过减少线粒体活性氧的产生来减少细胞的氧化损伤。一项小鼠胚胎成纤维细胞缺氧实验结果显示, 敲除 HIF-1 α 基因会导致细胞内活性氧超载而引起细胞死亡^[18]。线粒体作为活性氧的主要来源, 抑制它的生物发生是减少活性氧产生的一种有效措施。过氧化物酶体增殖受体 γ 辅激活因子 1 α (peroxisome proliferators-activated receptor γ coactivator 1 α , PGC-1 α) 作为 HIF-1 α 下游靶基因之一, 在低氧条件下被 HIF-1 α 抑制进而减少线粒体的数量。Huang 等^[19] 对 C2C12 细胞进行缺氧处理后发现, 低氧诱导的 HIF-1 α 通过 PPAR/PGC-1 α 信号通路抑制线粒体发生而减少活性氧的产生。另一种减少线粒体数量的方法是促进线粒体自噬。Bcl-2 相互作用蛋白 3 (Bcl2 interacting protein 3, BNIP3) 是线粒体自噬的关键分子, 低氧下 HIF-1 α 可增强 BNIP3 的表达而促进线粒体自噬。Fu 等^[20] 发现敲除肾脏管状细胞的 HIF-1 α 基因会增加细胞活性氧的产生, 而过表达 HIF-1 α 基因则可以逆转上述情况。此外, HIF-1 α 还通过抑制线粒体复合物 I 的活性来减少活性氧的产生。一项对乳腺癌细胞进行缺氧处理的研究结果表明, HIF-1 α 激活的 microRNA-210 通过抑制复合物 I 中硫铁蛋白簇的活性来降低线粒体产生活性氧^[21]。同样, Chan 等^[22] 通过敲除小鼠 VHL 基因证明了 microRNA-210 表达的升高具有 HIF-1 α 依赖性, 且上述现象发生的同时伴随着复合物 I 中硫铁蛋白簇活性的降低和有氧代谢活性氧产生的减少。

另一方面, HIF-1 α 通过增加还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 的合成来调节细胞的氧化还原

稳态。GSH 作为体内主要的抗氧化剂, 其水平的维持依赖于还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (triphosphopyridine nucleotide, NADPH) 的参与。研究表明, HIF-1 α 可以激活丝氨酸羟甲基转移酶 -2 和亚甲基四氢叶酸脱氢酶 -2 的转录以增加线粒体 NADPH 的生成^[23]。在 K562 细胞中, 过表达 HIF-1 α 在降低 NADPH 氧化酶表达的同时也会降低细胞内活性氧的水平^[24]。此外, 缺血缺氧时 HIF-1 α 会激活磷酸甘油脱氢酶、磷酸丝氨酸转氨酶 -1 和磷酸丝氨酸磷酸酶的转录, 促进葡萄糖向丝氨酸的转化, 而丝氨酸作为 GSH 合成的必需氨基酸, 其含量增加有利于体内 GSH 的合成。

2.3 HIF-1 α 调控血管生成

HIF-1 α 对血管生成的许多基因都具有调控作用, 其中 VEGF 作为最重要的调控因子直接参与血管生成的多个过程。研究表明, VEGF 在不同的 HIBD 时期对神经元具有不同的作用。在 HIBD 早期, VEGF 通过促进紧密连接蛋白分解来增加血脑屏障的通透性, 导致脑水肿和神经元损伤, 并且脑损伤程度与 VEGF 的表达呈正相关。Mu 等^[25] 在 P10 大鼠脑缺血模型的大脑皮层中发现, HIF-1 α 和 VEGF 的含量在缺血 8 h 后均显著增加, 并伴随脑组织水肿。还有研究显示, 早期缺血缺氧大脑中的 VEGF 与内皮生长因子受体结合进而激活 PI3K-Akt 信号通路, 最终激活一氧化氮合酶生成过氧亚硝酸盐, 破坏血管内皮中的钙黏蛋白来增加血脑屏障的通透性^[26]。在 HIBD 后期, VEGF 则通过促进血管生成而发挥神经保护作用。在 P7 小鼠脑缺血模型中, 缺血 24 h 后腹腔注射 FG-4497 (PHD 抑制剂) 导致脑内 HIF-1 α 大量聚集, VEGF 表达特异性上调且损伤区微血管的生成增加^[27]。同样, 张勇等^[28] 使用针刺治疗缺血缺氧新生大鼠发现, 于脑损伤 1 天后进行连续 28 天的针刺百汇穴可以显著上调 HIF-1 α 和 VEGF 的表达而减轻脑损伤。

2.4 HIF-1 α 调控EPO

EPO 是 HIF-1 α 的靶基因之一, 也是一种主要的造血细胞因子, 与特定的细胞表面 EPO 受体结合而刺激红系前体细胞增殖和分化, 并通过促进红细胞的生成来改善氧气输送, 以保护细胞免受缺氧损伤。对 P10 大鼠脑卒中模型的研究发现, HIF-1 α 在脑缺血 8 h 后达到峰值, 同时也伴随着 EPO 显著增加^[29]。研究显示, EPO 在大脑发育和缺血缺氧环境中均发挥重要作用。在大脑发育早期, EPO 可以促进新生小鼠脑室下区神经元轴突髓鞘形成和小

胶质细胞成熟^[30]。缺血缺氧时, HIF-1 α 显著增加大脑 EPO 的生成, 并通过增加红细胞的数量来减轻脑组织损伤。Li 等^[31]通过对大鼠大脑中动脉栓塞模型 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 的研究发现, 脑缺血 1 h 后脑内注射 HIF-1 α 可以显著增加 EPO 的 mRNA 和蛋白水平并发挥神经保护作用。同样, 使用重组人源 EPO 治疗 HIBD 的研究证明, EPO 可以通过 EPOR-ERK1 信号通路增加脑白质损伤区域的血管生成而起到神经保护作用^[32]。另外, EPO 联合亚低温治疗对 HIBD 的神经保护作用强于它们的单一治疗, 这表明亚低温与 EPO 的联合使用可能是一种有前景的治疗方式^[33]。

2.5 HIF-1 α 和细胞炎症

细胞炎症是 HIBD 发生发展的一个重要过程, 因缺血缺氧死亡的神经元会激活小胶质细胞和星形胶质细胞释放促炎细胞因子和趋化因子, 招募外周免疫细胞到大脑损伤区域并进一步扩大神经功能损伤^[34]。HIF-1 α 作为细胞免疫和炎症的关键转录调节因子, 通过调节炎症细胞因子的释放和炎症细胞的浸润参与神经炎症的形成。细胞炎症最常见的炎症小体 3 (nucleotide-binding, oligomerization domain, leucine-rich repeat and pyrin domain-containing 3, NLRP3) 的转录和激活受转录因子 NF- κ B 所调控, 而 HIF-1 α 可以调节 NF- κ B 的活性^[35]。Jiang 等^[36]的研究发现, 对大鼠 MCAO 模型使用 HIF-1 α 抑制剂 (YC-1) 可以降低 NLRP3 的 mRNA 和蛋白表达水平, 减少卒中后神经元的凋亡并发挥神经保护作用。同样, 对新生小鼠 HIBD 模型的研究也表明, miR-374a-5p 通过调节 NLRP3 来抑制小胶质细胞释放促炎细胞因子, 从而改善神经炎症^[37]。此外, 研究还发现 HIF-1 α 通过促进巨噬细胞 M1 型极化而促进炎症发生。在脂多糖诱导的骨髓细胞炎症模型中, He 等^[38]证明 HIF-1 α 可以通过 HIF-1 α /丙酮酸激酶 M2 (pyruvate kinase M2, PKM2) 信号通路促进巨噬细胞的 M1 型极化以及释放促炎细胞因子 (白介素 -6、肿瘤坏死因子 - α) 而加重炎症反应, 而使用 PKM2 抑制剂治疗后, 骨髓细胞的炎症反应受到抑制。

2.6 HIF-1 α 和细胞凋亡

细胞凋亡是一种受严格调控的细胞死亡方式, 是维持内环境稳态的重要机制, 主要由内源性 (线粒体) 和外源性 (死亡受体) 途径介导, 且这种细胞死亡方式在发育大脑中尤为突出^[39]。Carmeliet 等^[40]通过体外研究发现, HIF-1 α 基因敲除的胚胎

干细胞在经历缺氧缺糖后, 相较于对照组, 表现出更多的细胞增殖和更少的细胞凋亡。HIF-1 α 通过上调多种促凋亡分子来促进细胞凋亡, 其中 B 细胞淋巴瘤 -2 (B cell lymphoma 2 family protein, Bcl-2) 蛋白家族和胱天蛋白酶 (Caspase) 家族在细胞凋亡中发挥关键作用。

BNIP3 是 HIF-1 α 介导细胞发生死亡的关键下游分子之一, 激活后的 BNIP3 与 Beclin1 竞争性结合 Bcl-2 并与 Bcl-2 形成复合物, 随后进入细胞核参与 DNA 转录和 mRNA 剪切而促进细胞凋亡。HIF-1 α 在持续缺氧条件下会不断增加 BNIP3 的表达。Guo 等^[41]在 HIF-1 α 过表达的心肌细胞模型中发现, 该基因过表达会显著增加 BNIP3 的表达, 并且 BNIP3 的表达水平和细胞凋亡的数量呈正相关。同样, 在 MCAO 模型中, HIF-1 α 基因敲除可以显著降低 BNIP3 的 mRNA 和蛋白质表达水平, 并改善缺血卒中后神经元的存活率和运动功能^[42]。

肿瘤抑制因子 P53 是细胞凋亡的另一个关键转录调节因子, 在严重缺氧条件下表达增加。一方面 P53 通过上调靶基因 (P21、NOVA) 的表达来诱导神经元凋亡, 另一方面 P53 通过移位到线粒体内膜上, 调控 Bcl-2 家族成员 Bax、Bid 等基因的表达, 改变线粒体膜通透性和促进细胞色素 c (cytochrome c, Cyt-c) 的释放来启动 Caspase 依赖性细胞凋亡途径。缺氧损伤后 HIF-1 α 会增加 P53 的稳定性, 具体表现为 HIF-1 α 通过抑制 MDM2 (P53 泛素连接酶) 介导的 P53 泛素化降解和阻止 P53 核移位来调节细胞凋亡^[43]。Chen 等^[44]通过大鼠 MCAO 模型发现, 使用 siRNA 抑制 HIF-1 α 的表达可以通过减少 P53 和 Caspase-3 蛋白的表达而减少神经元死亡。而在同样的 MCAO 模型中, Xie 等^[45]还揭示了 miR-125b 通过靶向 P53 阻断 Bax/Cyt-c/Caspase-3 凋亡信号通路而发挥神经保护作用。同样, 这种情况也发生在新生儿中, P53 基因缺失的新生大鼠在缺血缺氧后脑损伤较对照组更轻^[46]。

2.7 HIF-1 α 和铁死亡

铁是人体内最丰富的元素之一, 参与多种重要的生物活动, 如氧气运输、作为辅助因子激活各种酶、参与氧化还原反应等, 其平衡对于维持细胞稳态至关重要。铁死亡是一种铁离子依赖的程序性细胞死亡, 主要表现为细胞内铁离子累积和脂质过氧化等。未成熟大脑的抗氧化系统发育不成熟, 加之含有丰富的多不饱和脂肪酸, 因此容易发生铁死亡, 并促进 HIBD 的形成^[47]。研究表明, HIF-1 α 的靶

基因如血红素加氧酶 1 (heme oxygenase-1, HO-1)、BNIP3、转铁蛋白 (transferrin, Tf) 等参与体内铁稳态的调节^[48]。Tf 是一种铁结合的血浆糖蛋白, 维持血浆中游离铁的正常水平。缺氧时 HIF-1 α 会与 Tf 启动子区域内的 HRE 结合而促进 Tf 的表达, 通过结合过多的游离铁而减少细胞死亡^[49]。Guardia 等^[50]通过对 HIBD 模型的研究表明, 鼻内给药 Tf 减少脑组织中铁含量的同时增加未成熟大脑中少突胶质细胞的髓鞘形成, 并减少神经元死亡。另外, 低氧时 HIF-1 α 上调的 BNIP3 会抑制核受体辅活化因子 4 (nuclear receptor coactivator 4, NCOA4), 介导铁结合蛋白自噬, 降低细胞内的铁水平, 同时低水平的铁还会抑制 HIF-1 α 的降解。Li 等^[51]发现, 敲除黑色素瘤细胞中的 BNIP3 基因会促进铁结合蛋白的自噬降解而导致细胞内铁水平增加。同样, 使用 HIF-1 α 稳定剂——氯化钴可以增加 NCOA4 的 mRNA 和蛋白表达水平而减少肝细胞内游离铁的水平, 且这种变化是由 HIF-1 α /BNIP3/NCOA4 信号通路所介导^[52]。目前该方面机制研究尚未在 HIBD 中进行, 鉴于疾病机制的同源性, 靶向 HIF-1 α /NCOA4 信号通路抑制铁死亡或许是一种治疗 HIBD 的有效途径。HO-1 是一种催化血红素降解生成胆绿素、Fe²⁺ 和一氧化碳的酶, 缺氧时 HIF-1 α 会促进 HO-1 的表达而增加游离铁的水平。据报道, HIF-1 α /HO-1 通路可在多种细胞中诱导铁死亡。在过表达 HO-1 的小鼠纹状体星形胶质细胞中发生异常铁累积, 并伴随着神经元缺失和认知功能障碍^[53]。同样在癫痫小鼠模型中, 激活 HIF-1 α /HO-1 信号通路会通过铁死亡增加海马神经元的死亡数量^[54]。最近, Zheng 等^[55]通过 HIBD 模型证明, 使用铁死亡抑制剂 liprostatin-1 能有效减少 HIF-1 α 的表达并改善脑组织损伤。

2.8 HIF-1 α 和表观遗传调控

表观遗传调控是一种不改变 DNA 序列而影响基因表达和细胞遗传状态的生物过程, 包括 DNA 甲基化、组蛋白乙酰化、SUMO 化和 MicroRNA 调节等, 对未成熟大脑的神经发育和血管形成具有重要作用。研究显示, 缺氧带来的表观遗传调控会导致神经元和血管发育异常, 增加未成熟大脑对缺血缺氧的敏感性^[56]; 作为调节缺氧转录反应的关键转录因子, HIF-1 α 的表达也受到表观遗传机制调控^[57]。

DNA 甲基化是指 DNA 甲基转移酶将甲基从 S-腺苷甲硫氨酸转移到胞嘧啶残基上形成 5-甲基胞嘧啶, 引起染色质结构、DNA 构象、DNA 稳定

性的改变, 从而控制基因表达的一种生理过程。先前的研究发现, 未成熟大脑遭受 HIBD 后会出现长达 30 天的低甲基化状态, 同时这种低甲基化状态伴随着 HIF-1 α 表达的升高^[58]。Koslowski 等^[59]揭示, HIF-1 α 启动子中 CpG 岛发生甲基化会抑制 HIF-1 α 的表达, 而使用 DNA 甲基转移酶抑制剂阻断甲基化的发生则可以上调 HIF-1 α 的表达。SET7/9 是一种赖氨酸单甲基转移酶, Lee 等^[60]通过对血管生成模型的研究发现, 使用赖氨酸特异性去甲基化酶 1 除抑制赖氨酸甲基化外, 还促进 HIF-1 α 与 VEGF 启动子的结合并增加 HIF-1 α 依赖性血管生成。同样, SET7/9 基因敲除小鼠研究也显示, 赖氨酸 32 位点甲基化缺陷导致小鼠体内 HIF-1 α 表达上调且视网膜血管生成增多^[61]。除了 SET7/9 单甲基化外, 在 HeLa 细胞模型中赖氨酸甲基转移酶 G9a 及其旁系同源物 G9a 样蛋白可直接与 HIF-1 的 α 亚基结合并二甲基化 HIF-1 α 中的赖氨酸, 从而抑制 HIF-1 α 及其下游靶基因的表达^[62]。

组蛋白乙酰化修饰是指通过组蛋白乙酰化酶将乙酰辅酶 A 中的乙酰基转移到组蛋白 N 端特定的赖氨酸残基上, 降低组蛋白与 DNA 的亲水性, 使染色质疏松, 有利于转录因子结合到 DNA 链上而促进基因转录的一种生理过程。一项关于内皮细胞的研究显示, 缺氧会导致 VEGF 家族成员——胎盘生长因子的内含子中组蛋白 H3 和 H4 表现出 HIF-1 α 依赖性的高乙酰化, 这表明 HIF-1 α 通过对 HRE 的染色质重塑参与缺氧时 VEGF 表达的上调^[63]。P300 是一种组蛋白乙酰化转移酶, Formisano 等^[64]研究缺血预处理后再行短暂 MCAO 处理的模型发现, HIF-1 和 p300、转录因子特定蛋白 1 形成复合物并定位于钠钙交换体 1, 使其发生高乙酰化, 通过增加质膜上钠钙交换体的表达而起到神经保护作用。丙酮酸脱氢酶磷酸酶 1 (pyruvate dehydrogenase phosphatase 1, PDP1) 是一种代谢酶, 通过去磷酸化并激活丙酮酸脱氢酶, 从而促进丙酮酸向乙酰辅酶 A 的转化。PDP1 表达水平的下降导致 HIF-1 α 靶基因启动子的组蛋白 H3 乙酰化水平降低, 抑制 HIF-1 α 在缺氧条件下与相应 HRE 的结合, 而使用乙酸盐或组蛋白去乙酰化酶抑制剂 (曲古抑菌素 A) 则可以逆转这种情况^[65]。

3 神经保护策略

低温治疗 (TH) 是目前唯一获批的 HIBD 治疗方法。临床研究表明, 将患有中到重度 HIBD 的婴

儿置于 33~34 °C 并持续 72 h, 然后以 0.5 °C/h 的速度逐渐升温直到核心温度保持在 36.5~37.0 °C, 可以有效减少新生儿的脑损伤和降低致残率^[66]。然而, TH 会伴随心动过缓、低血压、血小板减少等并发症的发生^[67], 因此, 即使是接受了 TH 的婴儿也有较高的致残率和死亡率。另外, 受地区和经济发展的影响, TH 的治疗效果也存在很大的差别。一项多国随机对照试验表明, 在不发达国家 TH 对 HIBD 的治疗不仅效果不理想, 甚至会加剧婴儿的脑损伤^[68]。鉴于 HIF-1 α 在 HIBD 中的重要作用, 因此其可能是治疗 HIBD 的一个潜在靶点。

2- 甲氧基雌二醇 (methoxyestradiol, 2-ME) 是雌二醇的代谢产物, 由 2 位碳原子先羟基化再甲基化而形成, 通过结合到微管蛋白的秋水仙碱部位而抑制 HIF-1 α 的翻译。在新生大鼠缺血缺氧 5 min 后, Chen 等^[69] 对幼鼠分别腹腔注射不同剂量的 2-ME, 结果显示 2-ME 以剂量依赖方式减少脑损伤。而在神经元的缺氧实验中, 缺氧 8 h 后给予 2-ME 则会增加神经元的损伤, 抑制血管内皮生长因子的表达^[70]。

牡荆素是一种 HIF-1 α 抑制剂。在新生大鼠 HIBD 模型中, 缺氧 5 min 后腹腔注射牡荆素以剂量依赖方式减少脑梗死体积和减轻脑水肿, 而缺血缺氧 3 h 后给予牡荆素则会增加神经元的损伤^[71]。

如前文所述, Fe²⁺ 是 PDH 催化 HIF-1 α 羟基化的必需辅助因子, 减少 Fe²⁺ 的含量可以稳定 HIF-1 α 的表达, 并促进血管内皮生长因子等基因的表达。去铁胺是一种高亲和力的铁络合剂, 其可以显著减少 MCAO 大鼠模型的脑梗死体积^[72]。同样, 使用与 Fe²⁺ 竞争性结合 PDH 的二价金属离子也可以稳定 HIF-1 α 的表达。Dai 等^[73] 通过向缺血缺氧的新生大鼠注射氯化钴后发现, 氯化钴会引起 HIF-1 α 蛋白水平升高并减少脑梗死体积。

4 总结与展望

HIF-1 α 在 HIBD 发生后被激活并通过调控靶基因转录而发挥重要作用, 包括在细胞炎症、细胞死亡、能量代谢等多个方面。在 HIBD 发生发展过程中, HIF-1 α 对大脑的作用取决于缺血缺氧持续的时间和程度。尽管近几年在 HIBD 的研究上取得了快速的进展, 但考虑到 HIBD 形成机制的复杂性, 关于 HIF-1 α 的许多问题仍然有待解决, 例如何时激活抑或何时抑制对神经具有保护作用, 这需要进行更多的研究来明确 HIF-1 α 与其他靶点的相互作用。了解作用机制后针对 HIF-1 α 开发药物对于靶

向 HIF-1 α 治疗 HIBD 是非常有意义的, 尽管已有一些能靶向 HIF-1 α 的药物, 但在它们能够用于临床治疗之前, 还需要大量的实验去摸索药物的最佳使用方式, 同时更加全面地认识疾病。在现有的诸多潜在药物中, 天然产物由于其具有多种药理作用和安全性的特点, 可能具有更大的前景。随着对 HIF-1 α 作用和调控机制的进一步研究, HIF-1 α 有望成为 HIBD 治疗的潜在有效靶点。

此外, 关于缺血缺氧带来的脑损伤的发病机制, 新生儿和成人之间存在着较大差异: 酶和受体表达性质和水平不同、代谢药物的肾脏和肝脏的个体差异等^[74]。基于此, 我们更应该谨慎评估新生儿的给药与治疗问题。总的来说, 研究 HIBD 的治疗是一个极具挑战和不断发展的工作, 这需要对 HIBD 的病理生理机制有全面的了解, 并在此基础上展开更加严格和精准的动物和临床研究。

[参 考 文 献]

- [1] Acun C, Karnati S, Padiyar S, et al. Trends of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy prevalence and associated risk factors in the United States, 2010 to 2018. *Am J Obstet Gynecol*, 2022, 227: 751.e1-10
- [2] Greco P, Nencini G, Piva I, et al. Pathophysiology of hypoxic-ischemic encephalopathy: a review of the past and a view on the future. *Acta Neurol Belg*, 2020, 120: 277-88
- [3] Eriksson WM, Löwing K, Grossmann KR, et al. Long-term motor development after hypothermia-treated hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Eur J Paediatr Neurol*, 2023, 47: 110-7
- [4] Majmundar AJ, Wong WJ, Simon MC. Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress. *Mol Cell*, 2010, 40: 294-309
- [5] Chen H, Ma D, Yue F, et al. The potential role of hypoxia-inducible factor-1 in the progression and therapy of central nervous system diseases. *Curr Neuropharmacol*, 2022, 20: 1651-66
- [6] Semenza GL. Regulation of erythropoiesis by the hypoxia-inducible factor pathway: effects of genetic and pharmacological perturbations. *Annu Rev Med*, 2023, 74: 307-19
- [7] Hassanein E, Mohamed WR, Ahmed OS, et al. The role of inflammation in cadmium nephrotoxicity: NF- κ B comes into view. *Life Sci*, 2022, 308: 120971
- [8] Kwon SJ, Song JJ, Lee YJ. Signal pathway of hypoxia-inducible factor-1 α phosphorylation and its interaction with von Hippel-Lindau tumor suppressor protein during ischemia in MiaPaCa-2 pancreatic cancer cells. *Clin Cancer Res*, 2005, 11: 7607-13
- [9] Sang N, Stiehl DP, Bohensky J, et al. MAPK signaling up-regulates the activity of hypoxia-inducible factors by its

- effects on p300. *J Biol Chem*, 2003, 278: 14013-9
- [10] Dietz RM, Dingman AL, Herson PS. Cerebral ischemia in the developing brain. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2022, 42: 1777-96
- [11] Chen W, Ostrowski RP, Obenaus A, et al. Prodeath or prosurvival: two facets of hypoxia inducible factor-1 in perinatal brain injury. *Exp Neurol*, 2009, 216: 7-15
- [12] Lee P, Chandel NS, Simon MC. Cellular adaptation to hypoxia through hypoxia inducible factors and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21: 268-83
- [13] Douiev L, Miller C, Ruppo S, et al. Upregulation of COX4-2 via HIF-1 α in mitochondrial COX4-1 deficiency. *Cells*, 2021, 10: 452
- [14] Guo S, Miyake M, Liu KJ, et al. Specific inhibition of hypoxia inducible factor 1 exaggerates cell injury induced by *in vitro* ischemia through deteriorating cellular redox environment. *J Neurochem*, 2009, 108: 1309-21
- [15] Yang C, Jiang L, Zhang H, et al. Analysis of hypoxia-induced metabolic reprogramming. *Methods Enzymol*, 2014, 542: 425-55
- [16] Ravel-Godreuil C, Roy ER, Puttapaka SN, et al. Transcriptional responses of different brain cell types to oxygen decline. *Brain Sci*, 2024, 14: 341
- [17] Kryl'Skii ED, Chupandina EE, Popova TN, et al. 1-benzoyl-6-hydroxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline exerts a neuroprotective effect and normalises redox homeostasis in a rat model of cerebral ischemia/reperfusion. *Metab Brain Dis*, 2022, 37: 1271-82
- [18] Kim JW, Tchernyshyov I, Semenza GL et al. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metab*, 2006, 3: 177-85
- [19] Huang X, Zhao L, Peng R. Hypoxia-inducible factor 1 and mitochondria: an intimate connection. *Biomolecules*, 2022, 13: 50
- [20] Fu ZJ, Wang ZY, Xu L, et al. HIF-1 α -BNIP3-mediated mitophagy in tubular cells protects against renal ischemia/reperfusion injury. *Redox Biol*, 2020, 36: 101671
- [21] Favaro E, Ramachandran A, McCormick R, et al. MicroRNA-210 regulates mitochondrial free radical response to hypoxia and krebs cycle in cancer cells by targeting iron sulfur cluster protein ISCU. *PLoS One*, 2010, 5: 10345
- [22] Chan SY, Zhang YY, Hemann C, et al. MicroRNA-210 controls mitochondrial metabolism during hypoxia by repressing the iron-sulfur cluster assembly proteins ISCU1/2. *Cell Metab*, 2009, 10: 273-84
- [23] Samanta D, Semenza GL. Maintenance of redox homeostasis by hypoxia-inducible factors. *Redox Biol*, 2017, 13: 331-5
- [24] Sun R, Meng X, Pu Y, et al. Overexpression of HIF-1 α could partially protect K562 cells from 1,4-benzoquinone induced toxicity by inhibiting ROS, apoptosis and enhancing glycolysis. *Toxicol In Vitro*, 2019, 55: 18-23
- [25] Mu D, Jiang X, Sheldon RA, et al. Regulation of hypoxia-inducible factor 1 α and induction of vascular endothelial growth factor in a rat neonatal stroke model. *Neurobiol Dis*, 2003, 14: 524-34
- [26] Choi YK. Detrimental roles of hypoxia-inducible factor-1 α in severe hypoxic brain diseases. *Int J Mol Sci*, 2024, 25: 4465
- [27] Trollmann R, Richter M, Jung S, et al. Pharmacologic stabilization of hypoxia-inducible transcription factors protects developing mouse brain from hypoxia-induced apoptotic cell death. *Neuroscience*, 2014, 278: 327-42
- [28] 张勇, 翟红印, 郭智宽, 等. 针刺对缺氧缺血性脑病模型幼鼠HIF-1 α 、VEGF表达的影响. *辽宁中医杂志*, 2021, 48: 185-8
- [29] Mu D, Chang YS, Vexler ZS et al. Hypoxia-inducible factor 1 α and erythropoietin upregulation with deferoxamine salvage after neonatal stroke. *Exp Neurol*, 2005, 195: 407-15
- [30] Muttathukunnel P, Wälti M, Aboouf MA, et al. Erythropoietin regulates developmental myelination in the brain stimulating postnatal oligodendrocyte maturation. *Sci Rep*, 2023, 13: 19522
- [31] Li J, Tao T, Xu J, et al. HIF-1 α attenuates neuronal apoptosis by upregulating EPO expression following cerebral ischemia-reperfusion injury in a rat MCAO model. *Int J Mol Med*, 2020, 45: 1027-36
- [32] Zhu L, Yuan Q, Jing C, et al. Angiogenic responses are enhanced by recombinant human erythropoietin in a model of periventricular white matter damage of neonatal rats through EPOR-ERK1 signaling. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2024, 83: 161-7
- [33] Oorschot DE, Sizemore RJ, Amer AR. Treatment of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy with erythropoietin alone, and erythropoietin combined with hypothermia: history, current status, and future research. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 1487
- [34] Maïza A, Hamoudi R, Mabondzo A. Targeting the multiple complex processes of hypoxia-ischemia to achieve neuroprotection. *Int J Mol Sci*, 2024, 25: 5449
- [35] Liu T, Zhang L, Joo D et al. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduc Target Ther*, 2017, 2: 17023
- [36] Jiang Q, Geng X, Warren J, et al. Hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) mediates NLRP3 inflammasome-dependent-pyroptotic and apoptotic cell death following ischemic stroke. *Neuroscience*, 2020, 448: 126-39
- [37] Chen Z, Hu Y, Lu R, et al. MicroRNA-374a-5p inhibits neuroinflammation in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy via regulating NLRP3 inflammasome targeted Smad6. *Life Sci*, 2020, 252: 117664
- [38] He S, Fan C, Ji Y, et al. SENP3 facilitates M1 macrophage polarization via the HIF-1 α /PKM2 axis in lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Innate Immun*, 2023, 29: 25-34
- [39] Pfisterer U, Khodosevich K. Neuronal survival in the brain: neuron type-specific mechanisms. *Cell Death Dis*, 2017, 8: 2643
- [40] Carmeliet P, Dor Y, Herbert JM, et al. Role of HIF-1 α in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis. *Nature*, 1998, 394: 485-90
- [41] Guo K, Searfoss G, Krolkowski D, et al. Hypoxia induces

- the expression of the pro-apoptotic gene BNIP3. *Cell Death Differ*, 2001, 8: 367-76
- [42] Bartczek P, Li L, Ernst AS, et al. Neuronal HIF-1 α and HIF-2 α deficiency improves neuronal survival and sensorimotor function in the early acute phase after ischemic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2017, 37: 291-306
- [43] Almeida A, Sánchez-Morán I, Rodríguez C. Mitochondrial-nuclear p53 trafficking controls neuronal susceptibility in stroke. *IUBMB Life*, 2021, 73: 582-91
- [44] Chen C, Hu Q, Yan et al. Early inhibition of HIF-1 α with small interfering RNA reduces ischemic-reperfused brain injury in rats. *Neurobiol Dis*, 2009, 33: 509-17
- [45] Xie YL, Zhang B, Jing L. MiR-125b blocks Bax/Cytochrome C/Caspase-3 apoptotic signaling pathway in rat models of cerebral ischemia-reperfusion injury by targeting p53. *Neurol Res*, 2018, 40: 828-37
- [46] Renolleau S, Benjelloun N, Ben-Ari Y et al. Regulation of apoptosis-associated proteins in cell death following transient focal ischemia in rat pups. *Apoptosis*, 1997, 2: 368-76
- [47] Chen W, Zheng D, Yang C. The emerging roles of ferroptosis in neonatal diseases. *J Inflamm Res*, 2023, 16: 2661-74
- [48] Hirota K. An intimate crosstalk between iron homeostasis and oxygen metabolism regulated by the hypoxia-inducible factors (HIFs). *Free Radic Biol Med*, 2019, 133: 118-29
- [49] Petralla S, Saveleva L, Kanninen KM, et al. Increased expression of transferrin receptor 1 in the brain cortex of 5xFAD mouse model of Alzheimer's disease is associated with activation of HIF-1 signaling pathway. *Mol Neurobiol*, 2024, 61: 6383-94
- [50] Guardia CM, Paez PM, Pasquini LA et al. Inhalation of growth factors and apo-transferrin to protect and repair the hypoxic-ischemic brain. *Pharmacol Res*, 2016, 109: 81-5
- [51] Li JY, Feng YH, Li YX, et al. Ferritinophagy: a novel insight into the double-edged sword in ferritinophagy-ferroptosis axis and human diseases. *Cell Prolif*, 2024, 13: 621
- [52] Li X, Lozovatsky L, Sukumaran A, et al. NCOA4 is regulated by HIF and mediates mobilization of murine hepatic iron stores after blood loss. *Blood*, 2020, 136: 2691-702
- [53] Song W, Cressatti M, Zukor H, et al. Parkinsonian features in aging GFAP.HMOX1 transgenic mice overexpressing human HO-1 in the astroglial compartment. *Neurobiol Aging*, 2017, 58: 163-79
- [54] Liang Z, Zheng Z, Guo Q, et al. The role of HIF-1 α /HO-1 pathway in hippocampal neuronal ferroptosis in epilepsy. *iScience*, 2023, 26: 108098
- [55] Zheng J, Fang Y, Zhang M, et al. Mechanisms of ferroptosis in hypoxic-ischemic brain damage in neonatal rats. *Exp Neurol*, 2024, 372: 114641
- [56] Ma Q, Zhang L. Epigenetic programming of hypoxic-ischemic encephalopathy in response to fetal hypoxia. *Prog Neurobiol*, 2015, 124: 28-48
- [57] Kumral A, Tuzun F, Tugyan K, et al. Role of epigenetic regulatory mechanisms in neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Early Hum Dev*, 2013, 89: 165-73
- [58] Li Y, Ma Q, Halavi S, et al. Fetal stress-mediated hypomethylation increases the brain susceptibility to hypoxic-ischemic injury in neonatal rats. *Exp Neurol*, 2016, 275: 1-10
- [59] Koslowski M, Luxemburger U, Türeci O et al. Tumor-associated CpG demethylation augments hypoxia-induced effects by positive autoregulation of HIF-1 α . *Oncogene*, 2011, 30: 876-82
- [60] Lee JY, Park JH, Choi HJ, et al. LSD1 demethylates HIF1 α to inhibit hydroxylation and ubiquitin-mediated degradation in tumor angiogenesis. *Oncogene*, 2017, 36: 5512-21
- [61] Kim Y, Nam HJ, Lee J, et al. Methylation-dependent regulation of HIF-1 α stability restricts retinal and tumour angiogenesis. *Nat Commun*, 2016, 7: 10347
- [62] Bao L, Chen Y, Lai HT, et al. Methylation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α by G9a/GLP inhibits HIF-1 transcriptional activity and cell migration. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46: 6576-91
- [63] Tudisco L, Della RF, Tarallo V, et al. Epigenetic control of hypoxia inducible factor-1 α -dependent expression of placental growth factor in hypoxic conditions. *Epigenetics*, 2014, 9: 600-10
- [64] Formisano L, Guida N, Valsecchi V, et al. Sp3/REST/HDAC1/HDAC2 complex represses and Sp1/HIF-1/p300 complex activates *ncx1* gene transcription, in brain ischemia and in ischemic brain preconditioning, by epigenetic mechanism. *J Neurosci*, 2015, 35: 7332-48
- [65] Karagiota A, Kanoura A, Paraskeva E, et al. Pyruvate dehydrogenase phosphatase 1 (PDP1) stimulates HIF activity by supporting histone acetylation under hypoxia. *FEBS J*, 2023, 290: 2165-79
- [66] Shankaran S, Laptook AR, Pappas A, et al. Effect of depth and duration of cooling on death or disability at age 18 months among neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy: a randomized clinical trial. *JAMA*, 2017, 318: 57-67
- [67] Karcioğlu O, Topacoglu H, Dikme O, et al. A systematic review of safety and adverse effects in the practice of therapeutic hypothermia. *Am J Emerg Med*, 2018, 36: 1886-94
- [68] Thayyil S, Oliveira V, Lally PJ, et al. Hypothermia for encephalopathy in low and middle-income countries (HELIX): study protocol for a randomised controlled trial. *Trials*, 2017, 18: 432
- [69] Chen W, Jadhav V, Tang J, et al. HIF-1 α inhibition ameliorates neonatal brain injury in a rat pup hypoxic-ischemic model. *Neurobiol Dis*, 2008, 31: 433-41
- [70] Yeh SH, Ou LC, Gean PW, et al. Selective inhibition of early- but not late-expressed HIF-1 α is neuroprotective in rats after focal ischemic brain damage. *Brain Pathol*, 2011, 21: 249-62
- [71] Min JW, Hu JJ, He M, et al. Vitexin reduces hypoxia-ischemia neonatal brain injury by the inhibition of HIF-1 α

- in a rat pup model. *Neuropharmacology*, 2015, 99: 38-50
- [72] Hanson LR, Roeytenberg A, Martinez PM, et al. Intranasal deferoxamine provides increased brain exposure and significant protection in rat ischemic stroke. *J Pharmacol Exp Ther*, 2009, 330: 679-86
- [73] Dai Y, Li W, Zhong M, et al. Preconditioning and post-treatment with cobalt chloride in rat model of perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Brain Dev*, 2014, 36: 228-40
- [74] Rodriguez-Nogales C, Gonzalez-Fernandez Y, Aldaz A, et al. Nanomedicines for pediatric cancers. *ACS Nano*, 2018, 12: 7482-96