

УДК: 616.831-005.4:616-089:617.5

РОЛЬ HIF-1A В РАЗВИТИЕ ПАТОГЕНЕЗА ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГАВохидова Дилдора Аликуловна¹, Усманова Дурдона Джурабаевна¹, Ходжиметов Дилшод Найимович², Вохидов Аликул Мельтошевич³

1 - Ташкентский педиатрический медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Ташкент

2 - Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр нейрохирургии.

3 - Самаркандский государственный медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Самарканд

МИЯ ИШЕМИК ШИКАСТЛАНИШИНИНГ ПАТОГЕНЕЗИНИ РИВОЖЛАНИШИДА HIF-1A НИНГ ЎРНИВохидова Дилдора Аликуловна¹, Усманова Дурдона Джурабаевна¹, Ходжиметов Дилшод Найимович², Вохидов Аликул Мельтошевич³

1 - Тошкент педиатрия тиббиёт институти, Ўзбекистон Республикаси, Тошкент ш.

3 - Республика ихтисослаштирилган нейрохирургия илмий-амалий тиббиёт маркази

2 - Самарқанд давлат тиббиёт институти, Ўзбекистон Республикаси, Самарқанд ш.

THE ROLE OF HIF-1A IN THE DEVELOPMENT OF THE PATHOGENESIS OF ISCHEMIC BRAIN DAMAGEVokhidova Dildora Alikulovna¹, Usmanova Durdon Djurabaevna¹, Khodjimetov Dilshod Nayimovich³, Vokhidov Alikul Meltoshevich²

1. Tashkent Pediatric Medical Institute Republic of Uzbekistan, Tashkent

2. Republican specialized scientific and practical medical center of neurosurgery

3. Samarkand State Medical Institute Republic of Uzbekistan, Samarkand

e-mail: mcsnod89@gmail.com

Резюме. Бош мияга кислородни етказиб бериш ва истеъмоли ўртасидаги номуаносиблик нейронларнинг ўлимига олиб келадиган мураккаб биокимёвий жараён ва молекуляр ўзгаришларни келтириб чиқаради. Бундай вазиятда омон қолиш учун асаб тўқималари транскрипция омиллари, гипоксия келтириб чиқарувчи омил (HIF) каби баъзи механизмларни фаоллаштиради. Бу кислород гомеостазининг транскрипция регулятори ва эритропоэз, ангиогенез шунингдек глюкоза метаболизи ва транспортида шитрок этадиган генларни фаоллаштириш орқали мослашувчанликни шакллантиришда муҳим омилдир. HIF шунингдек хужайралар ўлимига олиб келадиган митохондриал дисфункцияни келтириб чиқарадиган проапопстик молекулаларни қўзғатиш орқали ишемик реперфузиядан шикастланишни олдини олади.

Калит сўзлар: гипоксия келтириб чиқарадиган омил, ишемик реперфузия, шикастланиш, нейронпротекция, гипоксия, апопоз.

Abstract. Imbalance between the supply and consumption of oxygen in the brain initiates a complex biochemical cycle and molecular changes leading to the death of neurons. In order to survive such an unfavorable situation, the nervous tissue must incorporate some cellular mechanisms, such as the induction of various transcription factors, a hypoxia-induced factor (HIF). This is a transcriptional regulator of oxygen homeostasis and a key factor in the generation of adaptive responses through the activation of various target genes involved in erythropoiesis, angiogenesis, as well as glucose metabolism and transport. On the other hand, some studies claim that HIF also plays a detrimental role in ischemic reperfusion (IR) damage by inducing proapoptotic molecules that cause mitochondrial dysfunction leading to cell death.

Key words: hypoxia-induced factor, ischemic reperfusion, injury, neuroprotection, hypoxia, apoptosis.

Введение. Головной мозг использует 20% сердечного выброса для своего удовлетворительного функционирования, хотя мозг составляет всего 2% от общей массы тела. Мозгу постоянно нужны кислород и глюкоза, чтобы выполнять основные функции человеческого организма. В среднем взрослый человек потребляет 250 мл/минуту кислорода или около 360 л кислорода в день. Уменьшение поступления кислорода в головной мозг всего на 2% может привести к гипоксии, а снижение концентрации кислорода до 0,02% считается тяжелой гипоксией (аноксией).

Таким образом, даже незначительное уменьшение кислорода может привести к ряду патологических состояний таких как мозговой инсульт и другие ишемические повреждения спинного и головного мозга. Адаптация к устойчивому снижению поступления кислорода (гипоксия) требует изменений в экспрессии генов, что приводит к снижению потребления кислорода и увеличению его доставки, и тем самым противодействует пагубным влияниям гипоксии [19]. Инсульт является вторым ведущим невровазкулярным заболеванием имеющим высокий показатель смертности и

инвалидизации. Починами его могут быть эмболия, тромбоз или системная гипорперфузия, которая индуцирует экзотоксичность, ацидотоксичность, и множество клеточных и молекулярных процессов включающих ионный дисбаланс, перинфарктная деполяризация, перегрузка кальцием, разобщение сигнальных путей, нейровоспаление, окислительный и нитратный стресс, приводящий к клеточному некрозу и апоптозу [15, 16].

Противоположно этому в организме активируются эндогенные адаптивные и регенеративные механизмы, чтобы спасти поврежденные клетки от ишемии. Регулирование многих из этих процессов происходит на уровне транскрипции, который включает в себя активацию различных транскрипционных факторов, включая индуцируемый гипоксией фактор (HIF), который является необходимым медиатор кислородного гомеостаза. Это процесс опосредует большое количество генных каскадов, что способствует нейрональной адаптация к выживанию в условиях гипоксии. Во время гипоксического состояния или церебральной ишемии. HIF включает некоторые нейропротекторы, а также несколько вредных путей. В этом обзоре кратко рассматриваются общие введение в изучении HIF, его структура и регулирование, также положительная и отрицательная роль при церебральной ИР повреждении.

Механизм действия, регуляция HIF. Открытие кислородо-чувствительной экспрессии и изменения в транскрипции гена эритропоэтина (Epo) в линии культуры ткани, полученных из гепатомы человека [9], в конечном итоге привело к открытию HIF [27]. Он относится к семейству PAS (PER-ARNT-SIM) и состоит из двух белковых субъединиц базового спираль – петля – спираль (bHLH): один из которых регулируется кислородом альфа (α) субъединица и второй не зависящий от кислорода бета (β) субъединица, которая также известна как ядерный переносчик углеводородных рецепторов арил (aryl hydrocarbon receptor nuclear transporter (ARNT) [23]. Транскрипция и трансляция α субъединицы является конститутивным, но стабильность этой белковой субъединицы зависит от концентрации кислорода, тогда как транскрипция субъединицы β , мРНК и стабильность не зависят от кислорода [27]. Субъединица ARNT дает транскрипционный ответ на ксенобиотические соединения, такие как диоксин или бензопирен путем димеризации с арильными углеводородными рецепторами (Ahr) [17].

В ответ на скудную концентрацию кислорода, в ядре начинается димеризация α и β субъединиц, и это активирует гетродимерные связи с цисактивным элементом, реагирующим на гипоксию (HRE) в генах-мишенях с ко-активатором транскрипции p300 / CBP (CREB-связывающий белок) и ДНК-полимеразой II. После этого тран-

скрипционный комплекс транскрибирует ряд генов, ответственных за ангиогенез, тонус сосудов, гликолиз, функцию митохондрий и выживание клеток [7, 8].

HIF-1 имеющий молекулярную массу 120 кДа, встречается в большинстве тканей при нормоксическом состоянии. Играет важную роль в эмбриональном развитии. Мыши с нокаутным HIF-1 геном умирают на 11 день эмбриогенеза из-за с нарушения морфогенеза, васкуляризации и закрытие нервной трубки [14]. Кроме того, активность HIF-1 была индуцирована в условиях гипоксии во всех клетках, что говорит о том, что HIF-1 играет более важную роль в кислородном гомеостазе. Роль HIF в церебральной ишемии. После наступление церебральной ишемии HIF помогает нейронам справиться с такой неблагоприятной ситуацией и порождает адаптивные ответы на уровне транскрипции. Во время гипоксии, HIF вызывает увеличение экспрессии нескольких генов участвует в ангиогенезе, гликолизе, транспорте глюкозы, тонусе сосудов и функции митохондрий, которые в совокупности инициируют механизмы выживания клеток при таких неблагоприятных условиях. Помимо этого, HIF также участвует в активация нескольких генов, таких как p53, Bnip участвующих в апоптозе.

В последнее время все больше исследуется полезная роль HIF при мозговом инсульте и болезни Альцгеймера. В ответ на недостаточное поступление кислорода, накопление HIF-1 изменяется. Самая первая экспрессия мРНК HIF-1 наблюдается в мозге крыс и мышей подвергшейся гипоксии через 30-60 мин. Это увеличение мРНК, кодирующей HIF-1 в ответ на длительную очаговую церебральную ишемию [28]. После 7,5 ч ишемии, наблюдалось увеличение экспрессии HIF-1 в 15–17 раз, и которая оставалась постоянной до 19–24 ч в зоне пенумбры [3]. Далее отмечается 1.8–2.5-кратное увеличение белков HIF-1 α и HIF-1 β в течении 20 ч после реперфузия [20].

Существует немало доказательств того, что накопление HIF-1 α начинается уже через 1 ч после восстановления кровотока и сохраняется до 7 дней после преходящей ишемии, вызванной остановка сердца и его реанимации [6]. HIF-1 белок значительно накапливается в мозге крыс при длительной гипобарической гипоксии до 14 дней и который возвращается к базальному уровню на 21-й день [6]. В случае очаговой церебральной ишемии индукция HIF-1 α и транскрипционной активации его целевых генов встречаются в зоне пенумбры [3, 10]. Увеличение уровня HIF-1, который инициирует снабжение кровью, кислородом и питательными веществами в пенумбре, у мышей достигалось введением ДНК HIF-1 α ΔODD с наночастицами [24]. Баранова и соавт. [2] выполнил окклюзия средней мозговой артерии

(СМА) у мышей с нокаутированными генами и продемонстрировали двухфазную активацию HIF в нейронах. Его выражение было максимальным через 6 ч, которое уменьшилось на конец первого дня и снова увеличивался со второго дня и оставался повышенным до 8 дней восстановления. Более того, нокаут HIF-1 проявляет нейропротекторные свойства в ответ на гипоксическое повреждение [11].

Недавнее исследование [31] утверждает, что природный метаболит эстрогена 2-метоксиэстрадиол (2МЕ) ингибирует индукцию HIF-1 α , которая уменьшает выживаемость нервных клеток при ишемии у крыс. Недавнее наблюдение, показали что HIF-1 α показывает двухфазный паттерн выражения, ранняя фаза экспрессии вносит вклад в апоптоз, но поздняя фаза экспрессии повышает выживаемость клеток [30].

Защитная функция HIF. В ответ на более низкую концентрацию кислорода HIF-1 α накапливается и запускает экспрессию нескольких генов, которые инициируют ангиогенез, эритропоэз, поддержание тонуса сосудов, митохондриальные функция, выживание клеток после ишемического/гипоксического (И/Г) повреждения. Есть много доказательств того, что активация HIF-1 имеет защитные свойства при церебральной ишемии. Предварительная гипобарическая гипоксии обеспечивает глубокую защиту от очаговой церебральной ишемии у мышей [4].

Предварительная лечение (прекондиция) с CoCl₂ и десфероксамином (ДФО), индукторы HIF-1, показывает защитные свойства от церебральной ишемии 75 и 56% соответственно [20, 21]. Прекодиция с CoCl₂ увеличивает накопление HIF-1 α который включает защитный механизм через активацию натриево-кальциевый канал-1 (NCX1) [25]. ДФО и дигидроксibenзойная кислота (ДГБ) предотвращают повреждение нейронов от постоянной церебральной ишемии ингибированием антагонистов HIF, повышая его уровень [22]. Поэтому более точные молекулярные исследования механизмов HIF-1 α при церебральной ишемии при прекодиции даст возможность изучить роль и модуляцию HIF-1.

Отрицательные эффекты HIF. Хотя, с одной стороны, HIF играют значительную роль в нейропротекторном механизме, но с другой стороны, он также ведет себя как индуктор апоптоза при церебральном инсульте. Это подтверждается исследованиями Jiang et al. [12], он показал, что блок HIF-1 α в первичной культуре от новорожденных мышей с помощью доминантно-негативной формы HIF, которая ингибирует активность HIF-1, приводя к уменьшению повреждение нейронов в ответ на уменьшение глюкозы и кислорода. Это дополнительно подтверждается наблюдением, что HIF-1 отвечает за индукцию апоптоза при сниже-

нии количества глюкозы и кислорода [5]. Среди множества генов участвующих в регуляции клеточного цикла p53 и p21 регулируется HIF-1 α . Белок p53 является регулятором апоптоза, вызванного гипоксией посредством регуляции генов, связанных с апоптоза, таких как PERP, NOXA, PUMA и Bax [18]. Ингибирование NOXA снижает гибель клеток вызванной гипоксией при ишемии, связанной со снижением экспрессии HIF-1. Это означает, что активация NOXA зависит от HIF-1 при гипоксии и участвует в гибели гипоксических клеток [13]. Апоптоз, индуцированный в корковых нейронах ассоциируется с усилением активности HIF-1 α и предотвращает деградацию белка p53, что свидетельствует о пагубной роли HIF-1 [1]. Активизация HIF-1 также связан с увеличением лактатдегидрогеназы [3], и это увеличение коррелирует с увеличением производства лактата, который несет ответственность за негативные последствия после церебральной ишемии.

Невозможно постулировать причину положительного и отрицательного влияние HIF в патофизиологии ишемии головного мозга. Несколько исследований говорят о двойственном влиянии HIF-1, которое полностью зависит от тяжести или длительность ишемического или гипоксического инсульта. Исследования с 30 минутной транзиторной очаговой ишемией [2] и с 75-минутной двусторонней окклюзией общей сонной артерии [11] указывают на двойственный характер влияния HIF. В то время как некоторые наблюдения показывают, что HIF-1 имеет клеточно-специфичную двойную природу.

Экспрессии HIF-1 α в нейронах и глиальных клетках имели разные исходы ишемического повреждения. Потеря функций HIF-1 α в нейронах снижает их жизнеспособность после гипоксии, тогда как селективная потеря HIF-1 α функция в астроцитах защищает смерть клеток при гипоксии [26]. Исследования Ян и др. [29] также поддерживают, что HIF-1 α функционируют по-разному в разных клетках в зависимости от функций белков, кодируемыми его нижестоящими генами в конкретном типе клеток. Следовательно, индукция HIF-1 α , накопление в ишемическом состоянии в разных типах нейрональных клеток может быть ответственна за его двойственный характер и факторы, влияющие на его регулирование могут открыть новые терапевтические подходы при церебральном инсульте. Во время ИР повреждений, активные формы кислорода (АФК) и белки теплового шока (БТШ) влияют на регуляцию HIF-1 α и могут предоставить новые подходы для эффективного лечения церебрального инсульта.

Выводы. HIF-1, важный транскрипционный фактор кислородного гомеостаз, который имеет адаптивный ответ на патологические состо-

яния, возникающих вследствие гипоксии. Он активирует различные гены, которые индуцируют защитные реакции при цереброваскулярных заболеваниях и нейродегенеративных расстройствах. Исследования показывают, что HIF может служить новой терапевтической мишенью при лечении церебральной ишемии. Инсульт является второй по значимости причиной смерти во всем мире, и поэтому постоянно ведутся работы по выявлению новых классов терапевтические молекулы для лечения мозгового инсульта у человека.

Во время ишемии серьезное повреждение происходит из-за образование свободных радикалов, приводящих окислительному стрессу и смерти нейронов. Поэтому первые усилия были направлены на открыть новых терапевтические молекулы, имеющие потенциальный антиоксидантный эффект. Попытки не была клинически плодотворными так как болезнь многофакторная и борьба с одним фактором может не дать обнадеживающих результатов.

Теперь адаптивные эндогенные пути могут открыть новый путь к выявлению основных механизмов, связанных с ишемическим повреждением. HIF является фактором транскрипции, ответственным за активацию различных генов, ответственных за выживание клеток в ишемическом состоянии. Поэтому широкие исследования посвящённые роли и регулированию HIF-1 при ишемическом повреждении могут выявить некоторые новые факты для разработки лучших терапевтических подходов для лечения церебрального инсульта.

HIF играет как положительную, так и отрицательную роль при гипоксии. Тяжесть ишемии/гипоксии также может быть решающим фактором его двойного воздействия. HIF-1 вызывает экспрессию широкого спектра генов и функций этих генов зависит от конкретных типов клеток, так как HIF-1 может функционировать по-разному в разных клетках. Поэтому будущие исследования необходимо сосредоточиться на конкретных типах клеток и клеточных мишенях для лучшего понимание роли HIF-1 в инсульте, а также при других патологических состояниях. Более того, ингибиторы антагонистов могут быть использованы в качестве потенциальной цели, по разработке новых терапевтических компонент для лечения ишемического состояния.

Таким образом, HIF-1 является новой терапевтической мишенью при лечении инсульта и др. нейродегенеративные заболевания у человека.

Литература:

1. Banasiak KJ, Haddad GG. Hypoxia-induced apoptosis: effect of hypoxic severity and role of p53 in neuronal cell death. *Brain Res.*1998. 797:295–304

2. Baranova O, Miranda LF, 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* .2007. 27:6320–6332
3. Bergeron M. et al. Sharp FR Induction of HIF-1 and its target genes following focal ischaemia in rat brain. *Eur J Neurosci* .1999. 11:4159–4170
4. Bernaudin M. et al. Normobaric hypoxia induces tolerance to focal permanent cerebral ischemia in association with an increased expression of hypoxia-inducible factor-1 and its target genes, erythropoietin and VEGF, in the adult mouse brain. *J Cereb Blood Flow Metab.*2002. 22:393–403
5. Carmeliet P. et al. Role of HIF-1alpha in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis. *Nature* .1998. 394:485–490
6. Chavez JC, LaManna JC 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* .2002. 22:8922–8931
7. Ebert BL, Firth JD, Ratcliffe PJ. Hypoxia and mitochondrial inhibitors regulate expression of glucose transporter-1 via distinct cis-acting sequences. *J Biol Chem* .1995. 270:29083–29089
8. Gleadle JM. et al. Regulation of angiogenic growth factor expression by hypoxia, transition metals, and chelating agents. *Am J Physiol* 1995. 268:1362–1368
9. Goldberg MA. et al. The regulated expression of erythropoietin by two human hepatoma cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA* .1987. 84:7972–7976
10. Halterman MW. et al. Hypoxia-inducible factor-1alpha mediates hypoxia-induced delayed neuronal death that involves p53. *J Neurosci* .1999. 19:6818–6824
11. Helton R. et al. Brain-specific knock-out of HIF-1alpha reduces rather than increases hypoxic-ischemic damage. *J Neurosci*. 2005.25:4099–4107
12. Jiang BH. et al. Dimerization, DNA binding, and transactivation properties of hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem* .1996 271:17771–17778
13. Kim H. et al. Cerebral activation and distribution of inducible hsp110 and hsp70 mRNAs following focal ischemia in rat. *Toxicology* .2001. 167:135–144
14. Kotch LE, Iyer NV, Laughner E, Semenza GL Defective vascularization of HIF-1alpha-null embryos is not associated with VEGF deficiency but with mesenchymal cell death. *Dev Biol*. 1999. 209:254–267
15. Mehta SL, Manhas N, Raghbir R. Molecular targets in cerebral ischemia for developing novel therapeutics. *Brain Res Rev* .2007. 54:34–66
16. Nakka VP. et al. Molecular mechanisms of apoptosis in cerebral ischemia: multiple neuroprotective opportunities. *Mol Neurobiol* .2008. 37:7–38
17. Reisz-Porszasz S. et al. Identification of functional domains of the aryl hydrocarbon receptor nu-

clear translocator protein .ARNT.. Mol Cell Biol. 1994. 14:6075–6086

18. Schuler M, Green DR. Mechanisms of p53-dependent apoptosis. Biochem Soc Trans .2001. 29:684–688

19. Semenza GL .2004. Hydroxylation of HIF-1: oxygen sensing at the molecular level. Physiology. Bethesda. 19:176–182

20. Sharp FR, Bergeron M, Bernaudin M. Hypoxia-inducible factor in brain. Adv Exp Med Biol .2001.502:273–291

21. Sharp FR. et al. Hypoxic preconditioning protects against ischemic brain injury. NeuroRx .2004. 1:26–35

22. Siddiq A. et al. Hypoxiainducible factor prolyl 4-hydroxylase inhibition. A target for neuroprotection in the central nervous system. J Biol Chem .2005. 280:41732–41743

23. Stolze IP. et al. Genetic analysis of the role of the asparaginyl hydroxylase factor inhibiting hypoxia-inducible factor .FIH. in regulating hypoxia-inducible factor .HIF. transcriptional target genes. J Biol Chem .2004. 279:42719–42725

24. Trentin D, Hall H, Wechsler S, Hubbell JA Peptide-matrixmediated gene transfer of an oxygen-insensitive hypoxia-inducible factor-1 α variant for local induction of angiogenesis. Proc Natl Acad Sci USA .2006. 103:2506–2511

25. Valsecchi V. et al. NCX1 Is a novel target gene for hypoxiainducible factor-1 in ischemic brain preconditioning. Stroke .2011. 42:754–763

26. Wang GL, Semenza GL Purification and characterization of hypoxia-inducible factor 1. J Biol Chem .1995. 270:1230–1237

27. Wiener CM, Booth G, Semenza GL In vivo expression of mRNAs encoding hypoxia-inducible factor. Biochem Biophys Res Commun.1996. 2:485–488

28. Yan J, Zhou B, Taheri S, Shi H Differential effects of HIF-1 Inhibition by YC-1 on the overall outcome and blood-brain barrier damage in a rat model of ischemic stroke. PLoS ONE .2011. 6.11.:27798

29. Yeh SH, Ou LC, Gean PW, Hung JJ, Chang WC Selective inhibition of early-but not late-expressed

HIF-1 α is neuroprotective in rats after focal ischemic brain damage. Brain Pathol.2011. 21.3.:249–262

30. Zhou D. et al. The effect of 2-methoxyestradiol, a HIF-1 α inhibitor, in global cerebral ischemia in rats. Neurol Res .2008. 30:268–271

РОЛЬ HIF-1A В РАЗВИТИЕ ПАТОГЕНЕЗА ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Вохидова Д.А., Усманова Д.Д.,
Ходжиметов Д.Н., Вохидов А.М.

- 1 - Ташкентский педиатрический медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Ташкент
- 2 - Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр нейрохирургии
- 3 - Самаркандский государственный медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Самарканд

Аннотация. Нарушение равновесия между снабжением и потреблением кислорода в головном мозге инициирует сложный биохимический цикл и молекулярные изменения, приводящие к гибели нейронов. Чтобы пережить такую неблагоприятную ситуацию, нервная ткань должна включить некоторые клеточные механизмы, такие как индукция различных факторов транскрипции -индуцируемый гипоксией фактор (HIF). Это транскрипционный регулятор кислородного гомеостаза и ключевой фактор генерации адаптивных ответов через активацию различных генов-мишеней, участвующих в эритропоэзе, ангиогенезе, а также метаболизме и транспорте глюкозы. С другой стороны, некоторые исследования утверждают, что HIF также играет пагубную роль в ишемическом реперфузионном (ИР) повреждении путем индукции проапоптотических молекул, которые вызывают митохондриальную дисфункцию, ведущую к гибели клеток.

Ключевые слова: индуцируемый гипоксией фактор, ишемическое реперфузионное повреждение, нейропротекция, гипоксия, апоптоз.