

低氧诱导因子-1在脑损伤中的双向调节作用

李永金 杨开勇 张 谊 陈月芳 黄晓佳*

(江苏大学医学院, 镇江 212013)

摘要 低氧诱导因子-1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)作为目前发现的具有高度特异性感受细胞氧分压的调节因子,在脑损伤发生、发展过程中发挥着重要的双向调节作用。HIF-1在轻度 and 中度脑损伤过程中可以增加神经细胞耐受,促进存活;在重度损伤时,参与细胞凋亡途径,促进神经细胞死亡,在脑损伤中发挥重要作用。对HIF-1及其信号通路的深入研究可为脑损伤的治疗提供药物作用靶点,有重要的理论研究和实用价值。现就HIF-1的结构、功能及在脑损伤中的调节作用进行综述,为临床治疗脑损伤提供参考。

关键词 HIF-1; 脑损伤; 双向调节

Hypoxia-inducible Factor-1 Plays a Dual Role in Brain Injury

Li Yongjin, Yang Kaiyong, Zhang Yi, Chen Yuefang, Huang Xiaojia*

(School of Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) was found as a regulator factor of high specificity, which was able to perceive oxygen partial pressure of cells and played an important two-way adjustment role in brain injury and its developing process. HIF-1 could increase nerve cell tolerance and facilitate survival in the process of mild and moderate brain injury; when severe injury occurred, it could involve in cell apoptosis and facilitate neuronal cell's death, so it played an important role in brain injury. In-depth study of the HIF-1 and its signaling pathway can provide drug targets in treatment of brain injury and have important theoretical and practical value. Now reviewing on HIF-1 structure, function and regulation of the brain injury is to provide reference for clinical treatment of brain injury.

Keywords HIF-1; brain injury; two-way adjustment

大脑组织由于代谢快,因而高度依赖氧和营养的供给,脑损伤后,由于氧气和葡萄糖的供应不足而使细胞能量耗竭,引起一连串的神细胞损伤,比如兴奋性神经毒性损伤、氧自由基损伤、神经炎症损伤,进而导致脑卒中、癫痫及脊髓损伤等脑部疾病。在上述疾病发生过程中有多种因子的参与,其中低氧诱导因子-1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)具有重要的调节作用。HIF-1是广泛表达于人体和其他哺乳动物的一种调节因子,最早于1992年对缺氧处

理后Hep3B和HepG2细胞的核提取物进行分析时发现的一种核蛋白,为目前发现的具有高度特异性感受细胞氧分压的蛋白质,参与细胞在不同氧分压下的生化反应^[1]。现就HIF-1在脑损伤中的调节作用进行综述。

1 HIF-1分子结构及生物学功能

1.1 HIF-1的基本结构

HIF-1以异源二聚体的形式存在,由分子量为

收稿日期: 2015-02-08 接受日期: 2015-03-23

国家自然科学基金(批准号: 81300059)和江苏大学高级人才基金(批准号: 08JDG005、11JDG092)资助的课题

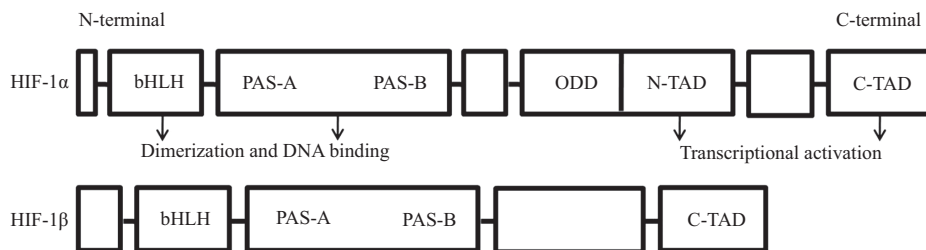
*通讯作者。Tel: 0511-88791201, E-mail: harold1980@163.com

Received: February 8, 2015 Accepted: March 23, 2015

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81300059) and Senior Talent Foundation of Jiangsu University (Grant No.08JDG005, 11JDG092)

*Corresponding author. Tel: +86-511-88791201, E-mail: harold1980@163.com

网络出版时间: 2015-06-01 16:09 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150601.1609.010.html>

图1 HIF-1 α 和HIF-1 β 的蛋白质结构Fig.1 The protein structure of HIF-1 α and HIF-1 β

120 kDa的HIF-1 α 和分子量为91~94 kDa的HIF-1 β 或称芳香烃受体核转位蛋白(aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator, ARNT)两种亚基组成。人的HIF-1 α 编码基因位于第14号染色体q21-24区, HIF-1 α 受缺氧信号的调控, 是特异性氧调节亚单位, 决定了HIF-1的活性; HIF-1 β 的编码基因位于人的1号染色体q21区, 在细胞内起结构性作用。HIF-1 α 蛋白由四个功能结构域组成: 碱性的螺旋-环-螺旋(basic-helix-loop-helix, bHLH)结构域、参与二聚体形成及与DNA结合(per-aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-sim, PER-ARNT-SIM或简称为PAS)结构域, 氧依赖降解(oxygen-dependent degradation, ODD)结构域, 以及两个转录活化所需的反式激活结构域(transactivation domains, N-TAD和C-TAD)。HIF-1 β 包含bHLH、PAS及转录活化结构域^[2](图1)。

1.2 HIF-1的调节与生物学功能

1.2.1 HIF-1的调节

HIF-1是在生理和病理条件下维持氧稳态的关键调节因子, 其生理学功能由HIF-1 α 决定, 而HIF-1 α 激活的调节受到多种因素的调控, 如蛋白质水平、mRNA水平、核转位水平、异二聚化水平及转录激活水平等。其中, 蛋白水平是HIF-1 α 调控的主要因素, HIF-1 α 存在氧依赖和非氧依赖两种调节机制。

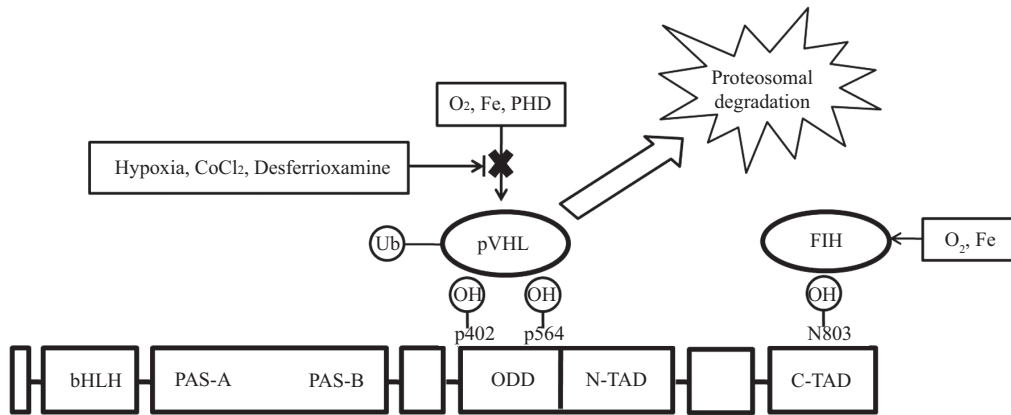
(1)HIF-1 α 的氧依赖调节: HIF-1 α 蛋白表达量和转录活性受细胞内氧浓度的严密调节, 其中脯氨酸羟化酶(prolyl hydroxylases, PHD)和天冬氨酸羟化酶(factor-inhibiting HIF, FIH)具有关键作用。如图2所示, 常氧下, HIF-1 α 的半衰期极短, 一方面, HIF-1 α 合成后经PHD羟基化, 通过希佩尔-林道肿瘤抑制蛋白(protein von Hippel-Lindau, pVHL)迅速被泛素化蛋白酶降解, 该过程以HIF-1 α 的ODD结构域为基础; 在低氧条件下, ODD结构域脯氨酸的羟基化被抑制, 阻止HIF-1 α 的泛素化降解, HIF-1 α 在胞质内积聚^[3-4]。另一方面, FIH(又称HIF-1抑制因子)对于不经蛋白

酶体降解途径的HIF-1 α 起二级负向调控作用。HIF-1 α 的TAD与组蛋白乙酰转移酶/帽结合蛋白/cAMP结合蛋白(camp response element-binding protein, p300/CBP)相结合后才能发挥转录激活的作用。常氧下, FIH通过环境中的氧分子和二甲铁离子发挥活性将HIF-1 α 的第803位天冬氨酸残基羟化, 从而阻止C-TAD与转录因子的反应, 进而抑制HIF-1 α 的转录活性。而在低氧或铁离子螯合剂存在时, FIH的活性受到抑制, HIF-1的转录活性增加^[5]。

(2)HIF-1 α 的非氧依赖调节: 各种生长因子[如IGF-2(insulin-like growth factor-2)、EGF(epidermal growth factor)、IL-1 β (interleukin-1 β)等]、细胞因子和其他信号分子与相应的受体结合, 激活酪氨酸蛋白激酶, 进而激活磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol-3 kinase, PI3K)或丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)通路, 最终促进HIF-1 α 表达^[6]。

1.2.2 HIF-1的生物学功能

低氧时, HIF-1 α 在很多组织细胞中都有表达, 尤其是脑。但目前关于HIF-1 α 在中枢神经系统中的功能争论不一。有的报道认为, HIF-1 α 在脑损伤中被激活后, 可增强神经细胞的损伤预适应从而调节相关促存活因子发挥抗凋亡的作用^[7]; 也有报道认为, HIF-1 α 的激活可调节相关促损伤因子发挥促凋亡的作用^[8]。因此, 研究不同病理生理条件下HIF-1 α 的激活及功能有助于我们了解神经系统损伤性疾病发生的机制和为临床治疗提供理论依据。如图3所示, 随着氧分压的降低, 当HIF-1 α 蛋白合成速度超过降解速度时, 未降解的HIF-1 α 移位入核, 与HIF-1 β 构成有功能的HIF-1复合物; 细胞核内的HIF-1通过募集转录活化因子如p300/CBP与HIF-1下游靶基因启动子区的低氧反应元件(hypoxia response element, HRE)结合, 调控相关基因, 引起细胞对缺氧的一系列应激反应^[2], 如: HIF-1通过调控EPO(erythropoietin)和VEGF(vascular endothelial

图2 HIF-1 α 蛋白稳定性的调控途径Fig.2 Regulatory pathways of HIF-1 α protein stability

growth factor)促进红细胞生成及血管形成,增加神经细胞耐受,促进存活;但在严重缺氧时HIF-1可调控细胞色素C(cytochrome C)、Bcl-2(B cell lymphoma/leukemia-2)、Bax(Bcl-2 associated X protein)及p53等的细胞凋亡途径,促进神经细胞死亡。

2 HIF-1调节神经细胞的损伤

2.1 HIF-1在缺血性脑损伤中的作用

目前,许多文献已经证实,在缺血性脑卒中HIF-1 α 扮演重要的角色。HIF-1 α 主要表达在缺血皮层区的神经元细胞,而不是小胶质细胞和星形胶质细胞^[9]。在大脑动脉局灶性缺血模型中,发现HIF-1在梗死边缘和扣带区皮质表达,其靶基因蛋白也在此区域表达,包括葡萄糖转运体蛋白-1、乳酸脱氢酶、磷酸果糖激酶等;梗死区外凡有血流量下降的区域均出现HIF-1表达^[10],这些结果表明,脑缺血后HIF-1 α 的表达可加重脑组织的损伤。在全脑性缺血动物模型中,使用HIF-1 α 的抑制剂(2-methoxyestradiol, 2ME2)后,发现新生大鼠脑梗死体积缩小,脑水肿减轻^[11];另一份研究也认为,在大鼠局灶性缺血性脑损伤模型中,抑制HIF-1 α 的早期表达具有神经保护作用^[12]。上述结果都表明,在缺血性动物模型中,HIF-1 α 的激活可能加重脑损伤。此外,最近的研究发现,某种HIF多态性者更易出现卒中^[13]。在缺血性卒中模型中,HIF-1 α 缺失的成年小鼠的神经元损害降低,同时,一些促凋亡的基因表达明显下调,使用HIF-1 α 抑制剂及North-1激酶抑制剂能够增强皮质细胞对缺血性应激的耐受,且联合使用North-1及HIF-1 α 抑制剂后,坏死的神经元细胞更明显减少,表明HIF-1 α 及North-1可能协同促进神经元的坏死^[14]。由此可见,

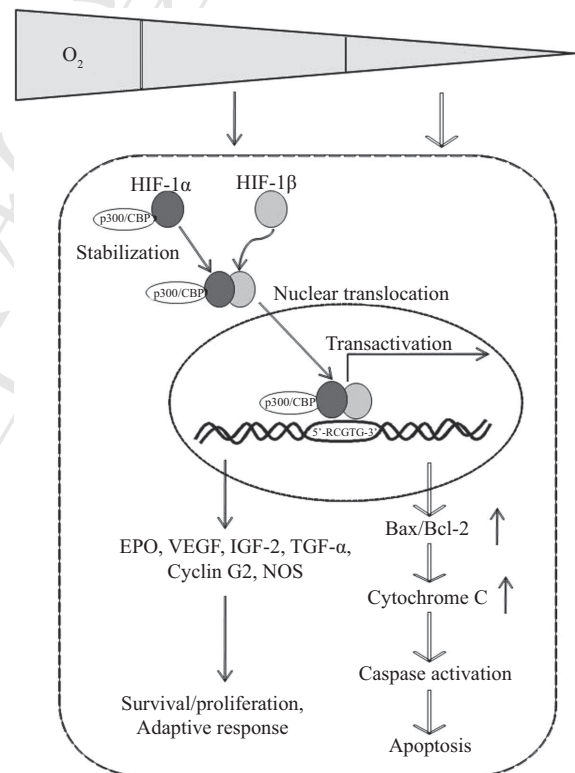


图3 不同氧分压下HIF-1的作用

Fig.3 The role of HIF-1 under different oxygen partial pressures

HIF-1在缺血性卒中过程中扮演着负向调节因子的作用。

脑缺血后的继发性脑损伤会导致炎症反应,HIF-1参与炎症的调节作用^[15]。在缺血再灌注脑损伤模型中,HIF-1 α 通过诱导产生BNip3(BCL2/adenovirus E1B 19 kDa protein-interacting protein 3)、Nix(BNIP3a)、IL-20等细胞因子,导致神经细胞死亡,表明HIF-1 α 在缺血后会导致损伤的加重^[16]。HIF-1是单核细胞、粒细胞、巨噬细胞等固有免疫细胞介导

炎症反应的必需因子, 直接调控微环境中炎症反应下细胞的存活^[17]。在HIF-1 α 基因敲除的巨噬细胞中, 白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-6(IL-6)的产生明显下降, 表明HIF-1 α 参与了巨噬细胞中IL-1和IL-6的表达^[18]。此外, HIF-1 α 还能够直接诱导下游靶基因单核细胞趋化因子-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)和单核细胞趋化因子-5(MCP-5)在人星形胶质细胞及大鼠星形胶质细胞中的上调^[19]。以上的结果都表明, HIF-1 α 参与相关炎症因子的调控介导炎症反应。

2.2 HIF-1在癫痫中的作用

癫痫是一种慢性反复发作性短暂脑功能失调综合征, 以脑神经元异常放电引起反复痫性发作为特征。目前癫痫的发病机制尚不清楚, 但随着分子生物学的深入, 越来越多的研究开始关注癫痫发病过程的分子机制, 其中包括HIF-1 α 信号通路。在癫痫患者手术切除脑组织中HIF-1 α 的表达明显升高^[20]; 大鼠颞叶癫痫耐药模型中, HIF-1 α 在海马和颞叶皮质中呈高表达^[21]。这些结果提示, 在癫痫发病过程中, HIF-1 α 参与该过程的损伤。

2.3 HIF-1在脊髓损伤中的作用

HIF-1 α 是脊髓损伤机制中的重要调节因子, 可破坏血-脊髓屏障(blood spinal cord barrier, BSCB)的完整性, 使其通透性增加, 毒性物质以及炎症因子渗入, 导致神经元和神经轴突损伤^[22-23]。在大鼠脊髓损伤模型中, HIF-1 α 表达明显增加, 结果显示, HIF-1 α 在脊髓损伤后介导了细胞色素C诱导的细胞凋亡过程^[24]。在缺血缺氧条件下, HIF-1 α 在脊髓中央管周围区域、前角、后角和白质神经细胞核中表达明显上调^[25]。此外, HIF-1 α 可诱导下游靶基因VEGF的表达, 使VEGF特异性结合VEGF-R2/Flk-1提高血管通透性、破坏BSCB, 致使神经毒物质进入中枢神经系统引起继发性脊髓损伤^[26]。以上结果都提示, HIF-1 α 的高表达可导致脊髓损伤的加重。

2.4 HIF-1在创伤性脑损伤中的作用

创伤性颅脑损伤后可诱导大量神经元凋亡, HIF-1 α 在参与神经元凋亡中具有重要的调节作用^[27]。在大鼠颅脑损伤模型中, 垂体前叶组织损伤后HIF-1 α 表达升高, 结果显示, HIF-1 α 蛋白的表达增加通过调节Bax/Bcl-2的比值而诱发细胞凋亡, 是颅脑损伤后垂体前叶功能紊乱的重要原因^[28]。另一研究也证实, 在大鼠颅脑外伤后, 脑组织中HIF-1 α 呈高表达^[29]。此外,

在大鼠脑创伤模型中, 大脑皮质、海马和半暗影区有HIF-1 α 的表达, 在HIF-1 α 高表达区, 细胞凋亡数也增多^[30]。以上表明, 颅脑创伤后继发性脑组织缺血缺氧可引起细胞凋亡, HIF-1 α 对细胞凋亡有促进作用。因此, 我们认为在创伤性颅脑损伤后, HIF-1 α 能够促进神经元凋亡。

3 HIF-1调节神经细胞的损伤预适应

在神经细胞损伤过程中, 有多种细胞因子参与损伤的调控, 其中HIF-1具有核心调控的作用。研究表明, 在轻度脑损伤过程中, 稳定HIF-1 α 可调控相关靶基因表达, 适应细胞的损伤。在缺血性脑卒中模型中, 给与脯氨酸羟化酶抑制剂, 通过减少HIF-1 α 的降解, 来稳定HIF-1 α 的浓度, 诱导VEGF及EPO的表达, 能明显减少缺血卒中后脑水肿、血管渗漏^[31]。在局灶性脑缺血模型中, 缺血区HIF-1 α 表达上调, 且梗死灶周围VEGF过表达, 同时微血管总数和新增微血管数显著增多, 促进了缺血后损伤神经的恢复^[32]。上述结果提示, HIF-1 α 可能是通过诱导EPO和VEGF的表达促进红细胞增殖及新生血管生成和血管扩张增加组织氧的供应, 进而增加神经细胞损伤修复及耐受, 促进存活。此外, HIF-1通过增加葡萄糖转运蛋白-1(glucose transporter-1, GLUT-1)、磷酸果糖激酶-1(phosphofructokinase-1, PFK-1)、磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)等糖酵解酶类的表达降低氧消耗, 增加缺氧时ATP的产生率, 以增强细胞对缺氧的适应能力, 减轻缺氧缺血性损伤, 即Warburg效应^[33]。

4 总结与展望

HIF-1作为细胞适应低氧环境的关键性调节因子, 在缺血缺氧相关性脑损伤的发生、发展过程中发挥着重要的双向调节作用。一方面, 通过介导细胞凋亡及炎症反应等过程促进多种神经系统损伤性疾病的发生、发展; 另一方面, 通过调控相关保护性靶基因的表达, 发挥神经保护作用。因此, 对HIF-1及其信号通路的深入研究, 可为脑损伤的治疗提供药物作用靶点, 具有重要的理论研究和实用价值。

参考文献 (References)

- 1 Semenza GL, Wang GL. 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 1992; 12(12): 5447-54.
- 2 Hu Y, Liu J, Huang H. Recent agents targeting HIF-1 α for cancer therapy. *J Cell Biochem* 2013; 114(3): 498-509.
 - 3 Li L, Madu CO, Lu A, Lu Y. HIF-1 α promotes A hypoxia-independent cell migration. *Open Biol J* 2010; 3: 8-14.
 - 4 Semenza GL. Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics. *Oncogene* 2010; 29(5): 625-34.
 - 5 Lando D, Peet DJ, Gorman JJ, Whelan DA, Whitelaw ML, Bruick RK. FIH-1 is an asparaginyl hydroxylase enzyme that regulates the transcriptional activity of hypoxia-inducible factor. *Genes Dev* 2002; 16(12): 1466-71.
 - 6 Sutton KM, Hayat S, Chau NM, Cook S, Pouyssegur J, Ahmed A, *et al.* Selective inhibition of MEK1/2 reveals a differential requirement for ERK1/2 signalling in the regulation of HIF-1 in response to hypoxia and IGF-1. *Oncogene* 2007; 26(27): 3920-9.
 - 7 Fan X, Heijnen CJ, van der Kooij MA, Groenendaal F, van Bel F. The role and regulation of hypoxia-inducible factor-1 α expression in brain development and neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Brain Res Rev* 2009; 62(1): 99-108.
 - 8 Greijer AE, van der Wall E. The role of hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) in hypoxia induced apoptosis. *J Clin Pathol* 2004; 57(10): 1009-14.
 - 9 Mu D, Jiang X, Sheldon RA, Fox CK, Hamrick SE, Vexler ZS, *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(3): 524-34.
 - 10 van Hoecke M, Prigent-Tessier AS, Garnier PE, Bertrand NM, Filomenko R, Bettaieb A, *et al.* Evidence of HIF-1 functional binding activity to caspase-3 promoter after photothrombotic cerebral ischemia. *Mol Cell Neurosci* 2007; 34(1): 40-7.
 - 11 Chen W, Jadhav V, Tang J, Zhang JH. HIF-1 α inhibition ameliorates neonatal brain injury in a rat pup hypoxic-ischemic model. *Neurobiol Dis* 2008; 31(3): 433-41.
 - 12 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): 249-62.
 - 13 Tupitsyna TV, Slominskiĭ PA, Shadrina MI, Shetova IM, Skvortsova VI, Limborskaia SA. Association of the IVS9-675C> A polymorphism of the HIF-1 α gene with acute ischemic stroke in the Moscow population. *Genetika* 2006; 42(6): 858-61.
 - 14 Cheng YL, Park JS, Manzanero S, Choi Y, Baik SH, Okun E, *et al.* Evidence that collaboration between HIF-1 α and Notch-1 promotes neuronal cell death in ischemic stroke. *Neurobiol Dis* 2014; 62: 286-95.
 - 15 Hwang KY, Oh YT, Yoon H, Lee J, Kim H, Choe W, *et al.* Baicalein suppresses hypoxia-induced HIF-1 α protein accumulation and activation through inhibition of reactive oxygen species and PI 3-kinase/Akt pathway in BV2 murine microglial cells. *Neurosci Lett* 2008; 444(3): 264-9.
 - 16 Singh N, Sharma G, Mishra V. Hypoxia inducible factor-1: Its potential role in cerebral ischemia. *Cell Mol Neurobiol* 2012; 32(4): 491-507.
 - 17 Cramer T, Yamanishi Y, Clausen BE, Förster I, Pawlinski R, Mackman N, *et al.* HIF-1 α is essential for myeloid cell-mediated inflammation. *Cell* 2003; 112(5): 645-57.
 - 18 Fujisaka S, Usui I, Ikutani M, Aminuddin A, Takikawa A, Tsuneyama K, *et al.* Adipose tissue hypoxia induces inflammatory M1 polarity of macrophages in an HIF-1 α -dependent and HIF-1 α -independent manner in obese mice. *Diabetologia* 2013; 56(6): 1403-12.
 - 19 Mojsilovic-Petrovic J, Callaghan D, Cui H, Dean C, Stanimirovic DB, Zhang W. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) is involved in the regulation of hypoxia-stimulated expression of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1/CCL2) and MCP-5 (Ccl12) in astrocytes. *J Neuroinflammation* 2007; 4: 12.
 - 20 Jiang G, Zhou R, He X, Shi Z, Huang M, Yu J, *et al.* Expression levels of microRNA-199 and hypoxia-inducible factor-1 alpha in brain tissue of patients with intractable epilepsy. *Int J Neurosci* 2014; 24: 1-29.
 - 21 Li Y, Chen J, Zeng T, Lei D, Chen L, Zhou D. Expression of HIF-1 α and MDR1/P-glycoprotein in refractory mesial temporal lobe epilepsy patients and pharmacoresistant temporal lobe epilepsy rat model kindled by coriaria lactone. *Neurol Sci* 2014; 35(8): 1203-8.
 - 22 Widenfalk J, Lipson A, Jubran M, Hofstetter C, Ebendal T, Cao Y, *et al.* Vascular endothelial growth factor improves functional outcome and decreases secondary degeneration in experimental spinal cord contusion injury. *Neuroscience* 2003; 120(4): 951-60.
 - 23 Benton RL, Whittemore SR. VEGF165 therapy exacerbates secondary damage following spinal cord injury. *Neurochem Res* 2003; 28(11): 1693-703.
 - 24 Xiaowei H, Ninghui Z, Wei X, Yiping T, Linfeng X. The experimental study of hypoxia-inducible factor-1 α and its target genes in spinal cord injury. *Spinal Cord* 2006; 44(1): 35-43.
 - 25 Lee M, Lee ES, Kim YS, Choi BH, Park SR, Park HS, *et al.* Ischemic injury-specific gene expression in the rat spinal cord injury model using hypoxia-inducible system. *Spine* 2005; 30(24): 2729-34.
 - 26 Beck KD, Nguyen HX, Galvan MD, Salazar DL, Woodruff TM, Anderson AJ. Quantitative analysis of cellular inflammation after traumatic spinal cord injury: Evidence for a multiphasic inflammatory response in the acute to chronic environment. *Brain* 2010; 133(2): 433-47.
 - 27 Li A, Sun X, Ni Y, Chen X, Guo A. HIF-1 α involves in neuronal apoptosis after traumatic brain injury in adult rats. *J Mol Neurosci* 2013; 51(3): 1052-62.
 - 28 Shenaq M, Kassem H, Peng C, Schafer S, Ding JY, Fredrickson V, *et al.* Neuronal damage and functional deficits are ameliorated by inhibition of aquaporin and HIF1 α after traumatic brain injury (TBI). *J Neuro Sci* 2012; 323(1/2): 134-40.
 - 29 Schaible EV, Windschügl J, Bobkiewicz W, Kaburov Y, Dangel L, Krämer T, *et al.* 2-methoxyestradiol confers neuroprotection and inhibits a maladaptive HIF-1 α response after traumatic brain injury in mice. *J Neurochem* 2014; 129(6): 940-54.
 - 30 Kurland D, Hong C, Aarabi B, Gerzanich V, Simard JM. Hemorrhagic progression of a contusion after traumatic brain injury: A review. *J Neurotrauma* 2012; 29(1): 19-31.
 - 31 Reischl S, Li L, Walkinshaw G, Flippin LA, Marti HH, Kunze R. Inhibition of HIF prolyl-4-hydroxylases by FG-4497 reduces brain tissue injury and edema formation during ischemic stroke. *PLoS One* 2014; 9(1): e84767.
 - 32 Shen F, Fan Y, Su H, Zhu Y, Chen Y, Liu W, *et al.* Adeno-associated viral vector-mediated hypoxia-regulated VEGF gene transfer promotes angiogenesis following focal cerebral ischemia in mice. *Gene Ther* 2008; 15(1): 30-9.
 - 33 Upadhyay M, Samal J, Kandpal M, Singh OV, Vivekanandan P. The Warburg effect: Insights from the past decade. *Pharmacol Ther* 2013; 137(3): 318-30.