



РОМАНЮК

Світлана Іванівна —
кандидат біологічних наук,
старший науковий
співробітник Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України



КОМИСАРЕНКО

Сергій Васильович —
академік НАН України,
директор Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України

МЕХАНІЗМИ АДАПТАЦІЇ КЛІТИН ДО ГІПОКСІЇ, АБО ЯК «ПЕРЕКРИТИ КИСЕНЬ» ЗЛОЯКІСНІЙ ПУХЛИНИ

**Нобелівська премія
з фізіології та медицини 2019 року**

Нобелівську премію з фізіології та медицини у 2019 р. присуджено двом американським ученим — Вільяму Дж. Келіну-молодшому (William G. Kaelin, Jr.) з Гарвардського університету та Грегу Л. Семензі (Gregg L. Semenza) з Університету Джонса Хопкінса, а також британському досліднику Пітеру Дж. Реткліффу (Sir Peter J. Ratcliffe) з Оксфордського університету за «відкриття того, як клітини відчувають і пристосовуються до наявності кисню». Роботи цьогогорічних нобелівських лауреатів заклали основу для розуміння того, як рівень кисню впливає на клітинний метаболізм та фізіологічні функції. Їх дослідження відкривають шлях до розроблення нових стратегій у боротьбі з анемією, раком та багатьма іншими хворобами.

118-й Нобелівський тиждень у Стокгольмі розпочався 7 жовтня 2019 р. з оголошення Нобелівським комітетом при Каролінському медичному інституті імен лауреатів Нобелівської премії з фізіології та медицини.

Напередодні компанія Clarivate Analytics вже традиційно оприлюднила список учених, які за аналізом кількості цитувань є найбільш імовірними претендентами на цю найпрестижнішу наукову нагороду [1]. По-перше, це Ганс Клеверс (Hans Clevers), професор Утрехтського університету (Нідерланди), який дослідив роль сигнального шляху Wnt у стовбурових і ракових клітинах, а також розробив метод вирощування зі стовбурових клітин органів людини (кишечника, печінки, підшлункової залози), які використовуються для тестування ліків. По-друге, ймовірними кандидатами на премію назвали Джона У. Кешлера (John W. Kessler) і Філіппу Маррак (Philippa Marrack), професорів Національного єврейського центру здоров'я у Денвері (США), зважаючи на їхнє відкриття механізмів формування Т-клітинної толерантності до клітин власного організму, що сприяло глибшому розумінню причин виникнення аутоімунних захворювань, таких як ревматоїдний артрит, вовчак і



Професор Вільям Джордж Келін-молодший (William George Kaelin Jr.)
 Фото: Dana-Farber Cancer Institute

синдром Гієна–Барре. По-третє, претендувати на Нобелівську премію могли б Ернст Бамберг (Ernst Bamberg), почесний директор Інституту біофізики імені Макса Планка у Франкфурті-на-Майні (Німеччина), Карл Дейссерот (Karl Deisseroth), професор Стенфордського університету (Каліфорнія, США) та Геро Мізенбек (Gero Miesenböck), професор Оксфордського університету (Велика Британія) за винахід та розвиток оптогенетики, а саме, за розроблення методу використання світла для спостереження та контролю за нервовою активністю, який розширив наші знання про хворобу Паркінсона, механізми відновлення зору, формування залежності та порушення настрою.

Однак лауреатами 110-ї Нобелівської премії з фізіології та медицини (217–219-ми за ліком) стали троє дослідників: американець Вільям Дж. Келін (William G. Kaelin Jr.), британець Пітер Дж. Реткліфф (Sir Peter J. Ratcliffe) та американець Грег Л. Семенза (Gregg L. Semenza).

Секретар Нобелівського комітету з фізіології та медицини Томас Перлманн (Thomas Perlmann) оголосив мотивування рішення про нагородження: вчених було удостоєно цієї престижної нагороди за «відкриття того, як клітини відчувають і пристосовуються до наявності кисню». Згідно з офіційним прес-релізом, лауреати «визначили молекулярний механізм, який регулює активність генів у відповідь на

різний рівень кисню. Відкриття цього річного нобелівських лауреатів розкрили механізм одного з найважливіших адаптаційних процесів у житті, створили основу для нашого розуміння того, як рівень кисню впливає на клітинний обмін та фізіологічні функції. Їх відкриття також проклали шлях для перспективних нових стратегій боротьби з анемією, раком та багатьма іншими захворюваннями» [2].

За традицією церемонія нагородження лауреатів відбулася 10 грудня у Стокгольмі в день смерті Альфреда Нобеля. Розмір грошової винагороди в 2019 р. становив 9 млн крон (\$935 000 доларів).

Познайомимося ближче з нобелівськими лауреатами з фізіології та медицини 2019 р.

61-річний професор медицини **Вільям Джордж Келін** працює в США у Гарвардському університеті (Harvard University) в Кембріджі, а також в Інституті раку Дана-Фарбер (Dana-Farber Cancer Institute) у Бостоні (штат Массачусетс).

Вільям Келін народився 23 листопада 1957 р. у центральному густонаселеному районі Джеймса найбільшого боро Нью-Йорка — Квінз на острові Лонг-Айленд в сім'ї податкового адвоката Вільяма Келіна-старшого та Ненсі Келін (Хорн). У сім'ї було п'ятеро дітей: чотири хлопчики та одна дівчинка. Батько свого часу навчався в Університеті Дюка, чого бажав

і всім своїм дітям. Тому відправив їх на навчання до Вищої школи Роджера Людлова у Ферфілді при Університеті Дюка, а потім до інших шкіл (юридичної, медичної) у структурі цього ж університету. Вільям вступив до Медичної школи Університету Дюка, де здобув ступінь бакалавра з математики та хімії, а в 1982 р закінчив докторантуру, отримавши ступінь доктора медицини. Він пройшов стажування з внутрішньої медицини в Університеті Джона Хопкінса (Johns Hopkins University) в Балтиморі (штат Меріленд) та отримав стипендію в Інституті раку Дана-Фарбер (ІРДФ).

У студентські роки Вільям був впевнений, що у нього немає здібностей до наукової роботи, однак він досяг значних успіхів у дослідженні ретинобластоми в лабораторії Девіда Лівінгстона в ІРДФ, де почав працювати з 1987 р. У 1992 р. В. Келін створив в ІРДФ власну лабораторію (поверхом нижче лабораторії Лівінгстона), в якій досліджував спадкові форми раку, такі як хвороба фон Гіппеля–Ліндау. В 2002 р. Вільям Келін став професором Гарвардської медичної школи, в 2008 р. — заступником директора з фундаментальних наук у Раковому центрі Дана-Фарбер/Гарвард (Dana-Farber/Harvard Cancer Center) при ІРДФ.

Науково-дослідні роботи Вільяма Келіна фінансувалися Національним інститутом здоров'я, Американським протираковим товариством, Благодійним фондом Дорис Дюк тощо. Він є членом ради директорів фармацевтичної компанії Eli Lilly та науково-дорадчого комітету благодійної протиракової програми Фонду індустрії розваг Stand Up To Cancer, а також членом редколегії наукового журналу Molecular and Cellular Biology, дослідником Медичного інституту ім. Говарда Х'юза (1998), членом Національної академії медицини США (2007), Національної академії наук США (2010), Американського товариства клінічних досліджень (2014) і Академії американської асоціації ракових досліджень (2014).

Вільяма Келіна відзначено численними науковими нагородами: премією лікаря-вченого (Physician-Scientist Award) Національного інституту здоров'я США (1990); премією Пау-

ля Маркса (Paul Marks Prize) за дослідження раку (2001); премією Фонду Річарда та Хінди Розенталь (Richard and Hinda Rosenthal Foundation Award) (2006); премією Дорис Дюк визначному клінічному досліднику (Doris Duke Distinguished Clinical Investigator Award) (2006); премією Медичної школи Університету Дюка визначному випускнику (Duke University School of Medicine Distinguished Alumni Award) (2007); міжнародною премією Канадського фонду Гарднера (Canada Gairdner International Award) в галузі наук про життя (2010); премією Альфреда Кнудсона (Alfred Knudson Award) з генетики раку Національного інституту раку (2011); премією Стенлі Дж. Корсмееера (Stanley J. Korsmeyer Award) Американського товариства клінічних досліджень (2012); гран-прі Наукового фонду Лефулон-Делаланде (The Scientific Grand Prize of the Lefoulon-Delalande Foundation) Інституту Франції (2012); премією Стівена К. Бірінга (Steven C. Beering Award) Медичної школи Індіанського університету (2014); премією Вайлі (Wiley Prize) в галузі біомедичних наук (2014); премією Science of Oncology Американського товариства клінічної онкології (2016); премією принцеси Такамацу (Princess Takamatsu Award) Американської асоціації ракових досліджень (2016); премією Альберта Ласкера (Albert Lasker Award) за фундаментальні медичні дослідження (2016); премією Мессрі (Massry Prize) (2018) [3].

З 1988 р. Вільям Келін був одружений з Керолін Келін (Scerbo) — відомим хірургом з раку молочної залози, яка працювала в ІРДФ, заснувала Центр здоров'я грудей у Брігхемі та жіночу лікарню в Бостоні. У 2001 р. вона увійшла до списку 15 жінок нового століття за версією журналу Newsweek. Діагностувавши у себе рак молочної залози у 2003 р., Керолін перенесла багато операцій, внаслідок яких втратила чутливість пальців і була змушена припинити хірургічну кар'єру. У 2010 р. у неї виявили рак головного мозку, від якого вона після 5 років боротьби із захворюванням померла у віці 54 років, залишивши Вільяму двох дітей: старшу дочку Кетрін Грейс і сина



Професор Пітер
Джон Реткліфф
(Sir Peter John
Ratcliffe)

Фото: Oxford University
via Associated Press

Вільяма (Тріппа), які на той момент були студентами Єльського університету. Зараз Керрін працює на юридичному факультеті Оксфордського університету у Великій Британії (її робота пов'язана зі сприйняттям мистецтва у кримінальному середовищі), Тріпп є аспірантом Гарвардського університету і займається комп'ютерним дизайном [4].

65-річний професор **Пітер Джон Реткліфф** є директором Інституту відкриття «мішеней» (Target Discovery Institute) при Наффілдській кафедрі медицини Оксфордського університету (Велика Британія), практикуючим клініцистом у Лікарні Джона Реткліффа в Оксфорді та директором з клінічних досліджень Інституту Френсиса Кріка (Francis Crick Institute) у Лондоні.

Пітер Реткліфф народився 14 травня 1954 р. у Моркамі (графство Ланкашир, Велика Британія) в родині Фредеріка Вільяма та Еліс Маргарет Реткліффів. Батько Пітера був бібліотекарем у Кембриджському університеті, мав титул командора ордена Британської імперії та науковий ступінь доктора філософії. Дитинство Пітера пройшло у північному Ланкаширі, де він з 1965 р. навчався у Королівській гімназії Ланкастера. Вивчати медицину він почав у 1972 р. в одному з найстаріших і найзаможніших коледжів Кембриджського університету — Коледжі Гонвіля і Кеюса (Gonville and

Caius College). Клінічну підготовку пройшов у найстарішій лікарні Лондона — Госпіталі Святого Варфоломія.

У 1978 р. Пітер Реткліфф здобув ступінь бакалавра з медицини за спеціальністю «хірургія», працював у Лондонських аспірантських лікарнях (London postgraduate hospitals), потім переїхав до Оксфорда, де вивчав нефрологію і молекулярну біологію, а в 1990 р., отримавши стипендію від фонду Wellcome Trust, заснував при Інституті молекулярної медицини Везеролла (MRC Weatherall Institute of Molecular Medicine) в Оксфорді лабораторію біології гіпоксії, яку очолював понад 20 років. У 1987 р. Пітер Реткліфф здобув ступінь доктора медицини в Кембриджському університеті, у 1996 р. став професором, а з 2004 по 2016 р. очолював Наффілдську кафедру медицини в Оксфордському університеті. З 2016 р. він є директором Інституту відкриття «мішеней» в Оксфорді, а також директором з клінічних досліджень Інституту Френсиса Кріка.

Пітер Реткліфф є членом Лондонського наукового товариства (2002), Академії медичних наук Великої Британії (2002), Європейської організації молекулярної біології — ЕМВО (2006), іноземним почесним членом Американської академії мистецтв і наук (2007), Інституту Людвіга з досліджень раку (Ludwig Institute for Cancer Research) (2013), нагоро-

джений титулом лицаря-бакалавра за послуги клінічній медицині (2014).

Наукову діяльність Пітера Реткліффа відзначено багатьма нагородами: премією фонду Мільне-Муерке (Milne-Muerke Foundation Award) (1991); премією Греяма Булла (Graham Bull Prize) (1998); премією Міжнародного товариства з очищення крові (International Society for Blood Purification Award) (2002); Круніанською медаллю та лекцією Лондонського королівського товариства (2006); премією Луїса Жентета (Louis-Jeantet Prize) з медицини (2009); міжнародною премією Канадського фонду Гарднера (Canada Gairdner International Award) в галузі наук про життя (2010); медаллю Бейлі (Baly Medal) Королівської колегії лікарів Лондона (2011); премією фонду Роберта і Клер Пасаров (Pasarow Award) за визначний внесок у дослідження серцево-судинної системи (2012); гран-прі Наукового фонду Лефулон-Делаланде (Scientific Grand Prize of the Lefoulon-Delalande Foundation) Інституту Франції (2012); премією Якоба Херза (Jakob-Herz-Preis) німецького Університету Ерлангена-Нюрнберга (2013); премією Вайлі (Wiley Prize) (2014); премією Альберта Ласкера (Albert Lasker Award) за фундаментальні медичні дослідження (2016); медаллю Баченен (Buchanan Medal) Лондонського королівського товариства (2017); премією Мессрі (Massry Prize) (2018) та ін.

Пітер Реткліфф з 1983 р. одружений з Фіоною Мері Макдугал (Fiona Mary MacDougall), має двох синів [5].

63-річний професор педіатрії, променевої онкології, біологічної хімії, медицини та онкології **Грег Леонард Семенза** працює в Медичній школі університету Джона Хопкінса (Johns Hopkins University School of Medicine) в Балтиморі (штат Меріленд, США).

Грег Семенза народився 1 липня 1956 р. у мікрорайоні Флашинг боро Квінз у Нью-Йорку. Він був першою дитиною в родині, згодом з'явилися на світ його троє братів і сестра. Дитинство Грега пройшло в окрузі Вестчестер штату Нью-Йорк. У 1974 р. Грег Семенза закінчив Вищу школу селища Сонна Лощина

біля містечка Маунт-Плезант та вступив до Гарвардського університету. Поштовхом до його захоплення педіатричною генетикою стало народження у друга сім'ї дитини з синдромом Дауна. Дисертаційну роботу, яку Г. Семенза виконував у Пенсильванському університеті у Філадельфії, було присвячено секвенуванню генів, пов'язаних з рецесивним генетичним розладом — бета-таласемією. Здобувши докторський ступінь, Грег Семенза пройшов педіатричне стажування в Медичному центрі Університету Дюка (Duke University Medical Center) в Дюремі (штат Північна Кароліна). У 1990 р. перейшов до Університету Джона Хопкінса задля докторантури з медичної генетики, де став засновником судинної програми Інституту клітинної інженерії (Institute for Cell Engineering). Тут він познайомився зі своєю майбутньою дружиною — Лаурою Каш-Семензою (Laura Kasch-Semenza), яка працює в Інституті генетичної медицини МакКусіка-Натанса при Медичній школі Університету Джона Хопкінса і займається генотипуванням. Подружжя має трьох дітей.

Грег Семенза є автором понад 400 дослідницьких робіт та розділів у книгах, які було процитовано понад 130 000 разів. Він член редакційних колегій кількох наукових видань, зокрема журналів *Molecular and Cellular Biology* та *Cancer Research*, а також заступник головного редактора *Journal of Clinical Investigation* та головний редактор *Journal of Molecular Medicine*.

Грег Семенза — член Американського товариства клінічних досліджень (1995), Американського товариства педіатричних досліджень, Національної академії наук США, Асоціації американських лікарів (2008), Національної академії медицини США (2012), професор-дослідник Американського онкологічного товариства (2012–2016). Його дослідження неодноразово підтримувалися грантами Американської кардіологічної асоціації.

Наукові здобутки Грега Семензи відзначено численними нагородами: премією Люсіль П. Маркі науковому співробітнику в галузі біомедицини фонду Markey Trust (1989); премією



Професор Грег Леонард Семенза (Gregg Leonard Semenza)

Фото: Will Kirk / Johns Hopkins University

Жана і Ніколаса Леоне (Jean and Nicholas Leone Award) Фонду дитячих пухлин головного мозку (1999); премією Е. Міда Джонсона (E. Mead Johnson Award) за дослідження в педіатрії Товариства педіатричних досліджень (2000); канадською міжнародною премією Фонду Гарднера (Gairdner Foundation International Award) (2010); гран-прі Наукового фонду Лефулон-Делаланде (Scientific Grand Prize of the Lefoulon-Delalande Foundation) Інституту Франції; премією Стенлі Дж. Корсмеєра (Stanley J. Korsmeyer Award) Американського товариства клінічних досліджень (2012); премією Вайлі (Wiley Prize) в галузі біомедичних наук (2014); премією Альберта Ласкера (Albert Lasker Award) за фундаментальні медичні дослідження (2016); премією Мессрі (Massry Prize) (2018) [6].

Що ж саме відкрили цьогорічні лауреати Нобелівської премії з фізіології та медицини?

Їхнє відкриття стосується одного з ключових процесів, що робить життя можливим, — процесу дихання. В основі дихання лежить процес окиснення (за допомогою кисню повітря) органічних речовин (їжі) з вивільненням енергії, яка запасється у формі аденозинтрифосфату (АТФ) і використовується в інших процесах життєдіяльності організму. На клітинному рів-

ні процес дихання відбувається у мітохондріях і являє собою складний багатоетапний процес, в якому бере участь значна кількість ферментів. У результаті окиснення однієї молекули глюкози утворюється 38 молекул АТФ. При гідролізі АТФ перетворюється на аденозиндифосфат (АДФ) і ортофосфат або на аденозинмонофосфат (АМФ) і пірофосфат з виділенням великої кількості енергії. Ця енергія може бути використана в інших біохімічних реакціях, які забезпечують процеси росту, руху, відтворення тощо.

Люди здавна знали, що без повітря життя неможливе. І лише наприкінці XVIII ст. (у 1774–1777 рр.) завдяки експериментам шведа Карла Вільгельма Шеєле, англійців Генрі Кавендиша та Джозефа Прістлі, француза Антуана Лорана Лавуазьє було встановлено, що підтримувати життя і горіння здатен газ («вогневе, знезаражене чи безфлогістонне повітря»), який займає приблизно чверть у складі повітря. Цей газ, який ми зараз називаємо киснем, у 1774 р. було відкрито під час нагрівання оксиду ртуті Джозефом Прістлі, який також відкрив вуглекислий газ і фотосинтез. У чистому вигляді кисень (кисноген) у 1777 р. виділив Антуан Лавуазьє, який завдяки побудованій ним конструкції з величезними лінзами (до 1,3 м) дослідив

окиснення за високих температур багатьох речовин, зокрема перетворення алмазів на графіт. На жаль, Лавуазьє було гільйотиновано у 1794 р. під час Французької революції за звинуваченням у «змові з ворогами Франції з метою викрадення у нації величезних сум», хоча й через два роки реабілітовано посмертно.

Майже 100 років потому, в 1858 р., видатний французький учений Луї Пастер встановив, що кисень негативно впливає на процес бродіння (так званий ефект Пастера). Згодом він довів, що бактерії, які спричиняють бродіння (наприклад, маслянокислі бактерії), можуть розвиватися тільки в безкисневому середовищі, тобто вони є анаеробними організмами, здатними до життя без дихання. Досліджуючи бактерії, здатні як до бродіння, так і до дихання, Пастер уперше показав, що клітини можуть пристосуватися до різного вмісту кисню в середовищі та використовувати різні метаболічні шляхи для одержання енергії. Крім того, він довів, що анаеробне життя є менш ефективним порівняно з аеробним.

У наступному столітті (1920–1940 рр.) дослідження, пов'язані з вивченням процесу дихання та різних метаболічних шляхів отримання енергії, було відзначено кількома Нобелівськими преміями з фізіології та медицини. Так, у 1922 р. премією було нагороджено британського дослідника Арчібальда Гілла (Archibald Vivian Hill) за відкриття в галузі теплоутворення у м'язі та німецького вченого Отто Меєргофа (Otto Fritz Meyerhof) за відкриття тісного взаємозв'язку між процесом поглинання кисню та метаболізмом молочної кислоти у м'язі; у 1931 р. нобелівським лауреатом став німецький біохімік Отто Варбург (Otto Heinrich Warburg) за відкриття природи та механізму дії дихального ферменту (цитохром с-оксидази), який міститься у внутрішній мембрані мітохондрій, а у 1938 р. нагороду було присуджено бельгійському фізіологу Корнею Геймансу (Cornille Jean François Heumans) за відкриття ролі синусного й аортального механізмів у регуляції дихання [7].

Значною подією в історії біохімії стало відкриття АТФ у 1929 р. німецькими вченими

Отто Меєргофом і Карлом Ломаном (Karl Lohmann). Спочатку вважали, що АТФ синтезується в процесі гліколізу та необхідна лише для м'язового скорочення. Значним кроком на шляху до з'ясування молекулярного механізму дихання було встановлення у 1939–1941 рр. центральної ролі АТФ в обміні енергії в біологічних системах, а також зв'язку фосфорилування АДФ з диханням і аеробним добування енергії з поживних речовин. Важливу роль у встановленні цих фактів відіграли роботи американських дослідників: німця за походженням Фріца Ліпмана (Fritz Albert Lipmann) (1941) і данця Германа Калькара (Herman Moritz Kalckar) (1939), а також радянського біохіміка Володимира Беліцера (1939), який першим у світі визначив, що під час окиснювального фосфорилування синтезуються три молекули АТФ у перерахунку на одну молекулу поглиненого кисню [8].

До речі, Володимир Олександрович Беліцер упродовж 44 років працював в Інституті біохімії в Києві (у 1944 р. на запрошення академіка О.В. Палладіна він переїхав до Києва з Москви, де проводив дослідження у Всесоюзному інституті експериментальної медицини ім. О.М. Горького). В Інституті біохімії АН УРСР (нині – Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України) він створив лабораторію з вивчення властивостей протеїнів, яка на початку 1960-х років перетворилася на відділ структури та функції білка. У 1957 р. В.О. Беліцера було обрано академіком АН УРСР, а з 1969 по 1972 р. він очолював Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна. Цікаво, що Герман Калькар, якимось приїхавши до Радянського Союзу, сказав, що в Києві його цікавлять два об'єкти: Києво-Печерська лавра і Володимир Беліцер, з яким і було тоді організовано його зустріч.

У 1945 р. стало зрозуміло, як АТФ вивільняє клітинну енергію: Ф. Ліпман виділив з печінки голуба кофермент А – посередник, здатний переносити та приєднувати кислотні залишки за допомогою енергії АТФ. За відкриття коферменту А та його значення для проміжних стадій метаболізму в 1953 р. Фріца Ліпмана

було відзначено Нобелівською премією з фізіології та медицини разом з Гансом Кребсом (Hans Adolf Krebs), який відкрив цикл лимонної кислоти (цикл трикарбонових кислот, або цикл Кребса).

Після того, як було з'ясовано механізм клітинного дихання, вчені зосередили увагу на дослідженні механізмів адаптації організму до низького рівня кисню в середовищі (при перебуванні на значній висоті, фізичних навантаженнях тощо). Цьому сприяло одержання американцями Євгеном Голдвассером (Eugene Goldwasser) і Чарльзом Кунгом (Charles K.-H. Kung) у 1977 р. гормону еритропоетину [9] — глікопротеїну, який виділяється переважно клітинами нирок (в меншій кількості — клітинами печінки і мозку) та стимулює формування еритроцитів. У 1986–1987 рр. було показано, що продукція еритропоетину різко зростає у відповідь на дефіцит кисню [10], а факт збільшення кількості еритроцитів під час перебування на значній висоті ще у 1882 р. описав французький фізіолог Пауль Берт (Paul Bert).

Однак тривалий час залишалося незрозумілим, як саме клітини визначають кількість кисню та які механізми лежать в основі клітинної відповіді на гіпоксію. Саме відповідь на це питання ми й отримали завдяки відкриттям цьогорічних лауреатів Нобелівської премії з фізіології та медицини.

До початку 1990-х років Вільям Келін, Пітер Реткліфф і Грег Семенза працювали кожний у своїй галузі, але з різних причин всі вони зацікавилися дослідженням молекулярних і клітинних механізмів адаптації організму до гіпоксії. Вільям Келін займався дослідженням синдрому Гіппеля–Ліндау з аутосомно-домінантним типом успадкування, що виражається у підвищеному ризику виникнення раку (найчастіше утворюються пухлини головного або спинного мозку, сітківки, нирок). У 1988 р. було встановлено, що причиною захворювання є мутації в гені VHL (від англ. von Hippel–Lindau disease). Згодом з'ясувалося, що протеїн VHL має безпосередній стосунок до відповіді клітин на зміни концентрації кисню в середовищі. Пітер Реткліфф вивчав хвороби нирок,

зокрема їх ішемічну патологію. Оскільки нирки виробляють еритропоетин у відповідь на гіпоксію, Пітер Реткліфф вирішив розібратися в механізмах регуляції експресії гена еритропоетину в лабораторії біології гіпоксії, яку заснував в Оксфорді у 1990 р. Грег Семенза тоді досліджував захворювання, зумовлені порушеннями еритропоезу, зокрема таласемію. Тематика його досліджень змінилася після відкриття ним ключового фактора, що регулює експресію еритропоетину.

Однак цьому відкриттю передувала кропітка робота з пошуку регуляторних ділянок гена еритропоетину. В 1989–1991 рр. Грег Семенза опублікував кілька робіт з результатами експериментів на трансгенних мишах, що експресували еритропоетин людини, в яких показав, що експресія гена еритропоетину регулюється кількома тканино-специфічними регуляторними факторами, та виявив ділянку на 3'-кінці гена еритропоетину, яка відповідала за підвищення експресії еритропоетину в умовах гіпоксії [11]. Одночасно Пітер Реткліфф та Джейм Каро (Jaime Caro) в експериментах на клітинах гепатоми, що містили ген еритропоетину людини з певними делеціями, визначили розташування енхансеру (підсилювача) в цій ділянці [12].

Зрештою Грег Семенза виявив декілька транскрипційних факторів, що зв'язуються з енхансером гена еритропоетину, та у 1992 р. відкрив головний фактор, який активує експресію гена еритропоетину в умовах гіпоксії, — HIF (від англ. hypoxia inducible factor — фактор, індукований гіпоксією) [13]. Пітер Реткліфф і Грег Семенза встановили, що HIF функціонує не лише в клітинах, що продукують еритропоетин, а й в інших клітинах організму і, ймовірно, є частиною універсальної клітинної системи реагування на зміни рівня кисню [14, 15]. Згодом Грег Семенза виділив HIF, встановив його амінокислотну послідовність і показав, що фактор складається з двох субодиниць: HIF-1 α і HIF-1 β [16]. Виявилось, що компонент HIF-1 β синтезувався в клітинах постійно, незалежно від рівня кисню, міг утворювати гетеродимери з іншими факторами і раніше вже був описаний

як ARNT (Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator). Компонент HIF-1 α експресувався лише за умов гіпоксії і саме він відповідав за транскрипційну відповідь клітини на зниження рівня кисню [17].

У 1997 р. чотири різні групи вчених одночасно відкрили споріднений з HIF-1 α протеїн з аналогічними властивостями — HIF-2 α , або EPAS1 (Endothelial PAS domain protein 1) [18–21]. Виявилось, що різні ізоформи HIF відповідають за різні гіпоксичні реакції, наприклад, за еритропоєз відповідає переважно EPAS1 [22].

Пітер Реткліфф та інші дослідники встановили, що при гіпоксії кількість HIF-1 α зростає не завдяки збільшенню його експресії, а внаслідок зменшення його деградації. Крім того, було відкрито спільний для HIF-1 α і EPAS1 домен ODD, що відповідає за убіквітин-протеасомну деградацію, залежну від рівня кисню [23–25].

На наступному етапі значною мірою завдяки зусиллям Вільяма Келіна було виявлено зв'язок між деградацією HIF-1 α і супресором пухлин VHL. У 1995 р. В. Келін опублікував послідовність гена VHL [26], згодом у співпраці з Марком Голдбергом (Mark Goldberg) він показав, що низка генів-«мішеней» HIF експресувалися на високому рівні в клітинах з мутантним VHL [27]. Крім того, групи Вільяма Келіна і Річарда Клауснера (Richard Klausner) одночасно ідентифікували елонгіни В і С — транскрипційні фактори елонгації, які взаємодіють з VHL [28, 29], а через два роки Клауснер виявив, а Келін підтвердив, що VHL зв'язується ще й з куліном-2 (Cul-2), який бере участь в убіквітинванні [30, 31].

Однак залишалось незрозумілим, як інгібуються деградація HIF-1 α і EPAS1 при гіпоксії. У 1999 р. Пітер Редкліфф зробив важливе відкриття: він показав, що комплекс VHL з елонгінами В і С та Cul-2 виконує функцію розпізнавання убіквітин-лігази E3 і в такий спосіб спричиняє деградацію HIF-1 α [32].

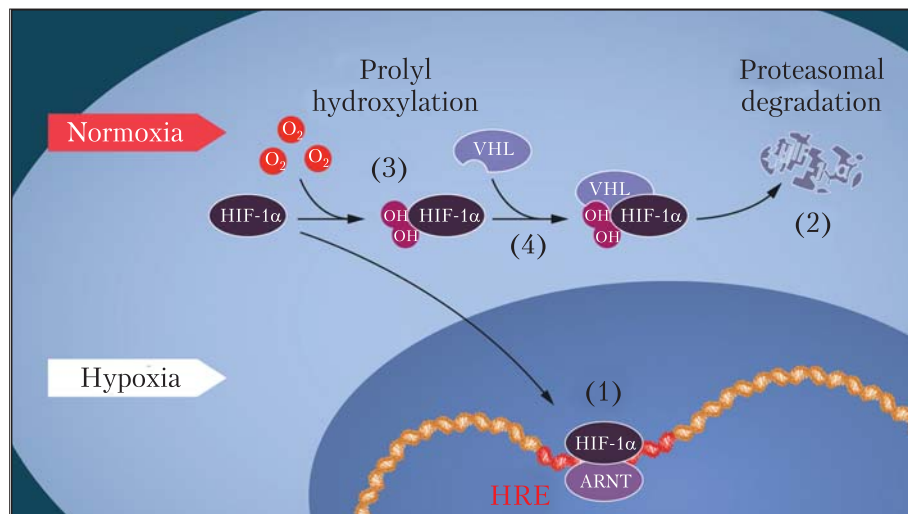
Яким же чином процес залежить від наявності кисню? У 2001 р. лабораторії Реткліффа і Келіна одночасно довели, що залежне від кисню 4-гідроксилювання двох залишків проліну в домені ODD протеїну HIF-1 α збільшує

афінність зв'язування комплексу VHL з транскрипційним фактором HIF [33, 34]. За відсутності кисню гідроксилювання HIF-1 α не відбувається, тому VHL не розпізнає HIF-1 α , в свою чергу HIF-1 α не убіквітинується, що запобігає його деградації в протеасомі та запускає програму експресії генів, які індукуються гіпоксією.

Групи Пітера Реткліффа, Стівена Маккнайта (Steven L. McKnight) у 2001 р. і Вільяма Келіна в 2002 р. незалежно одна від одної ідентифікували гени пролілгідроксилаз (PHD) [35–37], що здійснюють гідроксилювання HIF-1 α та EPAS1 за безпосередньої участі кисню у присутності іонів заліза та аскорбінової кислоти. Ця подія відкрила перспективу створення специфічних інгібіторів пролілгідроксилаз для підвищення активності HIF і підвищення рівня еритропоєтину у пацієнтів з анемією.

У 2001 р. було відкрито інший залежний від кисню механізм, пов'язаний не з деградацією HIF-1 α , а з інгібуванням його активності як транскрипційного фактора. Грег Семенза та його група були першими, хто виявив протеїн FHN-1 (від англ. factor inhibiting HIF — фактор, що інгібує HIF-1 α) [38]. З'ясувалося, що цей фактор також є залежною від кисню гідроксилазою, яка гідроксилює залишок аспарагіну на N-кінцевому активаційному домені (NTAD) протеїнів HIF-1 α і EPAS1, що перешкоджає взаємодії цих протеїнів з транскрипційними коактиваторами (CBP або p300) та знижує рівень активації транскрипції генів-«мішеней» [39].

Є багато способів стримування надмірного розвитку клітинної відповіді на тривалу гіпоксію. Наприклад, серед генів, що активуються HIF, є гени гідроксилаз, які сприяють деградації самого протеїну HIF. Супресор пухлин p53 може конкурувати з HIF α за зв'язування з коактиваторними протеїнами CBP і p300, а також зв'язуватися з HIF α і в комплексі з протеїном Mdm2 призводить до його убіквітинування та протеасомної деградації [40]. VHL також здатний блокувати функціонування HIF α , залучаючи до нього протеїни-репресори, що перешкоджають активації транскрипції генів-«мішеней» [41]. Існування подібних запобіж-



Транскрипційний фактор-1, що регулюється гіпоксією (HIF-1), складається з двох субодиниць — HIF-1 α та HIF-1 β (або ARNT). Коли при гіпоксії рівень кисню низький, HIF-1 α є захищеним від деградації. Він накопичується в ядрі клітини, де разом з ARNT зв'язується зі специфічними послідовностями ДНК (HRE) в промоторах генів, що регулюються гіпоксією, та стимулює експресію цих генів (1). За нормального рівня кисню (нормоксії) HIF-1 α швидко деградується протеасомами (2), тому що кисень активує гідроксилювання пролінів HIF-1 α ензимом HIF-проліл-гідроксилазою (3), після чого HIF-1 α утворює комплекс з протеїном VHL (4) і деградується залежно від концентрації кисню (2). З сайту www.nobelprize.org

ників і тонка регуляція активності HIF-1 α свідчать про великі можливості системи адаптації клітин до зміни рівня кисню в навколишньому середовищі та надзвичайну її важливість для організму.

HIF впливає на експресію великої кількості генів (понад трьох сотень) і регулює різні процеси, спрямовані на підтримання регулярного забезпечення клітин киснем, захист клітин від шкідливого впливу гіпоксії та стимулювання процесів відновлення у разі, якщо пошкодження все ж відбулося [42]. Тому при гіпоксії відбувається стимулювання еритропоезу (шляхом підвищення синтезу еритропоєтину), ангіогенезу (шляхом підвищення синтезу фактора росту ендотелію судин — VEGF), аутофагії (перетравлення клітиною старих або пошкоджених компонентів), міграції клітин, що відновлюють пошкодження, наприклад міграції нейробластів у місце ішемічного пошкодження мозку під впливом еритропоєтину, який виділяється астроцитами [43], а також відбувається оптимізація системи енергозабезпечення клі-

тини: перехід на альтернативний спосіб продукування АТФ шляхом стимулювання реакцій гліколізу (розщеплення глюкози до молочної кислоти), пригнічення надмірно енерговитратних процесів тощо.

Оскільки кисень є критично важливим для підтримання всіх життєвих процесів в організмі, не дивно, що низка захворювань і патологічних станів пов'язані з порушеннями постачання тканин киснем і відповіддю організму на гіпоксію. Пов'язані з гіпоксією патологічні стани можуть виникати не тільки при тривалому перебуванні високо у горах чи зануренні на значну глибину. Гіпоксія тканин і органів (ішемія) виникає при порушеннях дихання, атеросклерозі судин, гіпертонії та анемії. Гіпоксичні умови виникають також в осередку запалення, що розвивається при загоєнні ран, відторгненні трансплантатів, боротьбі з проникненням інфекційних агентів.

За таких станів є доцільним стимулювати відповідь організму на гіпоксію та активувати HIF. З цією метою розробляються препарати,

що є інгібіторами гідроксилаз PHD і VHL. Всі вони внесені до списку заборонених для спортсменів допінг-препаратів. Roxadustat (розроблений FibroGen у співпраці з Astellas та AstraZeneca) було схвалено в Китаї наприкінці 2018 р. і в Японії у 2019 р. для лікування анемії у пацієнтів на діалізі з хронічними захворюваннями нирок. А в 2019 р. у Китаї цей препарат одержав схвалення і для лікування незалежних від діалізу пацієнтів, незважаючи на те, що він може викликати легенеvu гіпертензію та сприяти збільшенню кількості протеїну VEGF, який активує ріст пухлин. Інші інгібітори гідроксилаз (Desidustat, Daprodustat, Molidustat, Vadadustat) перебувають на III стадії клінічних випробувань [44]. Перспективним видається розроблений у 2016 р. інгібітор VHL, який запобігає взаємодії VHL з HIF-1 α , — VH298, що активує відповідь на гіпоксію, але не має значних сторонніх ефектів [45].

Однак слід з обережністю застосовувати препарати, які стимулюють відповідь на гіпоксію, оскільки гіперекспресія HIF-1 α може мати низку негативних наслідків. HIF-1 α бере участь у процесах росту, диференціювання, контролю апоптозу. Тому він є критично важливим, наприклад, для розвитку ембріона або ж для утворення та росту пухлин. Підвищена активність HIF-1 α в пухлинних клітинах може бути пов'язана з мутаціями в генах протеїну HIF α або його регуляторів чи зумовлена недостатнім доступом кисню внаслідок дуже швидкого росту пухлини. Тому розробляється й інший клас препаратів, що пригнічують клітинну відповідь на гіпоксію, перешкоджають інтенсивному росту судин у пухлині та уповільнюють її ріст. Пригнічення функції HIF може виявитися доцільним при лікуванні не тільки онкологічних захворювань, а й інсультів, серцевих нападів та легеневої гіпертензії, коли рівень HIF є підвищеним.

Здатність до пригнічення HIF виявлено у серцевого глікозиду дигоксину з наперстянки (*Digitalis lanata*) та його аналогів (дигитоксину, убаїну) [46], але застосування цих сполук проти пухлин було обмежено високою токсичністю терапевтичних доз [47]. Зараз про-

ходять доклінічні випробування синтетичні (менш токсичні) аналоги серцевих глікозидів, в тому числі у складі зовнішньоклітинних імунокон'югатів (EDC) виробництва Centrose (США), які не підлягають інтерналізації та деградації і вбивають ракові клітини за механізмом, що нагадує некроз [48].

Відкриття протеїнів VHL та HIF-1 α дозволило використати їх для створення нового покоління PROTAC (від англ. proteolysis targeting chimera) — гетерофункціональних молекул, що викликають вибірково внутрішньоклітинний протеоліз певного цільового протеїну. PROTAC складається з двох малих молекул, з'єднаних лінкером, причому одна молекула специфічно зв'язується з убіквітин-лігазою E3, а інша — з протеїном-«мішенню». Це призводить до убіквітинування цільового протеїну та його деградації протеасомою. Низькомолекулярні ліганди VHL або пептиди HIF-1 α — LAP(OH)YI або ALAP(OH)YIP, що здатні взаємодіяти з VHL, було введено до складу PROTAC як компоненти для зв'язування з убіквітин-лігазою E3. Більшість PROTAC спрямовані проти епігенетичних «мішеней», кіназ або рецепторів ядерних гормонів [49]. У 2019 р. розпочалися клінічні випробування препарату для лікування раку передміхурової залози PROTAC ARV-110, що спричиняє деградацію андрогенних рецепторів (Arvinas, США) [50]. Розроблено навіть PROTAC, що являє собою гомодимер лігандів VHL і призводить до руйнування убіквітин-лігазним комплексом VHL самого себе [51]. Останнім часом значний інтерес викликають PROTAC для знешкодження бромодому Brd4, який розпізнає ацетиловані залишки лізину на хроматині і регулює експресію багатьох онкогенів [52]. Розробляються також бромодомени та екстратермінальні інгібітори (BETi), що виявляють протипухлинний ефект за рахунок епігенетичного пригнічення регульованих гіпоксією генів, наприклад генів вуглекислої ангідрази 9 (CA9) та фактора росту ендотелію судин А (VEGF-A) [53].

Перевагами ліків на основі малих молекул PROTAC порівняно з рекомбінантними протеїнами чи моноклональними антитілами є їх

висока проникність, низька ціна (\$700 на пацієнта в рік проти \$15000 відповідно) та збереження ефективності при появі мутацій чи підвищенні експресії протеїну-«мішені» [54]. У 2019 р. компанія Arvinas (створена у 2013 р. при Єльському університеті, США) уклала контракт на \$685 млн з компанією Bayer (Німеччина) щодо відкриття спільного підприємства OerthBio з розроблення PROTAC для лікування раку, серцево-судинних та гінекологічних захворювань, а також для боротьби зі шкідниками та бур'янами [55].

Дослідження останніх років показали, що механізми адаптації до гіпоксії тісно пов'язані з багатьма регуляторними системами організму, зокрема епігенетичними механізмами регулювання експресії генів, що реалізуються переважно шляхом метилювання гістонів, ДНК та ацетилювання гістонів. За гіпоксії відбувається ремоделювання структури хроматину та модифікація гістонів, що полегшує транскрипцію HIF-залежних генів. Так, в умовах гіпоксії індуюються кілька гістонових лізинових деметилаз (KDM), що залежать від 2-оксоглутарату, а отже, залежать від кисню і можуть діяти як датчики молекулярного кисню в клітині, які посилюють експресію генів відповіді на гіпоксію, взаємодіють з гіпоксичними протеїнами і сприяють росту пухлин [56].

Виявлено нові свідчення того, що гіпоксія регулює експресію різних класів некодуючих РНК (що становлять 98% транскриптому людини), які, в свою чергу, впливають на експресію та стабільність HIF, модулюючи ріст клітин, метаболізм, ангиогенез тощо. При гіпоксії HIF або інші фактори, такі як Oct-4, знижують рівень miRNA за допомогою пригнічення шляху її біогенезу, що викликає збільшення рівня HIF внаслідок безпосереднього впливу на експресію HIF або опосередкованого впливу на експресію регуляторних протеїнів (VHL або PHD). Крім того, HIF за допомогою епігенетичної модуляції регулює експресію довгих некодуючих РНК (lncRNA) довжиною понад 200 нуклеотидів, які також можуть прямо чи опосередковано регулювати рівень або стабілізувати HIF. Процеси за участю некодуючих

РНК відіграють важливу роль у патогенезі онкологічних захворювань, оскільки вони здатні впливати на метаболізм, ріст пухлини та утворення метастазів в умовах гіпоксії. Нещодавно виявлено нові класи гіпоксичних некодуючих РНК (snRNAs, piwiRNAs, tRNAs та циркулярні РНК), вплив яких на метаболізм клітини ще слід з'ясувати [57].

Механізми адаптації до гіпоксії тісно пов'язані також із системою міжклітинної взаємодії за допомогою везикул (екзосом і мікровезикул). HIF регулює експресію багатьох мембранних рецепторів, у тому числі транспортера глюкози (GLUT-1), рецептора трансферину та рецептора епідермального фактора росту (EGFR), і вважається, що посилена експресія рецепторів викликає їх активацію та інтерналізацію, а отже, індукує ендцитоз і сприяє вивільненню екзосом. Вміст екзосом, що індуються за гіпоксії, може бути різним залежно від походження клітин і може включати сигнальні перетворювачі, фактори транскрипції, ферменти, ліпіди, мРНК та некодуючі РНК, які впливають на гомеостаз глюкози, мітохондріальне дихання, регуляцію генів глікогенезу та окисного стресу [58]. Клітинні везикули, що секретуються при гіпоксії в мікросередовищі пухлини, беруть участь в утворенні внутрішньопухлинної гетерогенності, пригніченні імунних реакцій, індукванні пов'язаних з раком фібробластів, метаболічному перепрограмуванні та сприянні ангиогенезу та метастазам [59]. Наприклад, гіпоксія індукує секрецію клітинами раку молочної залози екзосом, які експресують імуносупресивні цитокіни, такі як TGF- β та IL-10 [60]. Крім того, пухлинні клітини за гіпоксії виділяють мікровезикули, що пригнічують функцію природних кілерів (NK) і знижують протипухлинну імунну відповідь через зниження експресії NKG2D під впливом фактору росту пухлини TGF- β 1 [61].

Виявилось, що механізми адаптації до гіпоксії також тісно пов'язані з циркадними ритмами, оскільки біологічний «годинник» здатний регулювати процеси адаптації до періодичного надходження в організм поживних речовин і кисню. Недарма було помічено,

що порушення в роботі біологічного «годинника» негативно впливають на здоров'я людини та призводять до розвитку онкологічних захворювань [62]. Вплив гіпоксії на циркадні ритми значною мірою опосередкований HIF-1 α , який взаємодіє з циркадними протеїнами PER1 [63], BMAL1/MOP3 та CLOCK [64], а також регулює експресію багатьох циркадних генів (як і HIF-2 α) [65].

Відомо, що циркадні гени PER2 та CRY1 інгібують активність промотору VEGF, який активується гіпоксією. Тому експресія гена VEGF виявляє циркадні коливання за гіпоксії [66]. Дослідження показали, що при інфаркті біологічний «годинник» захищає серце від гіпоксії, спричиненої загибеллю клітин [67]. Ймовірно, що компоненти біологічного «годинника» можуть використовуватися для лікування захворювань, пов'язаних з гіпоксією.

З'ясування ролі епігенетики, некодуючих РНК, циркадних ритмів та позаклітинних везикул при гіпоксії сприятиме глибшому розумінню механізмів адаптації клітин до низького вмісту кисню і дозволить розробити низку нових терапевтичних засобів, націлених на конкретні молекулярні «мішені». Про перспективність цього наукового напрямку свідчить хоча б той факт, що цієї весни компанію Peloton Therapeutics, в якій Вільям Келін працював науковим радником, придбав фармацевтичний гігант Merck за \$1,05 млрд (з обіцянкою виплати ще \$1,15 млрд у разі успішного впровадження) завдяки їх розробці — малим молекулам, націленим на HIF (зокрема PT2977 — інгібітору HIF-2 α), що дають обнадійливі результати при лікуванні певних онкологічних захворювань [68].

Тематика цьогорічної Нобелівської премії з фізіології та медицини не лише видається надзвичайно важливою широкому загалу, а й змінює погляди деяких провідних учених. Так, статтю Пітера Реткліффа про генетичну відповідь на гіпоксію свого часу було відхилено рецензентом відомого наукового журналу Nature як «недостатньо просунуто в розумінні меха-

нізмів генетичної реакції на гіпоксію». Зараз журнал, звичайно, визнав свою помилку. Слід віддати належне вченим, які, незважаючи на подібні перепони, наполегливо продовжують свою роботу і відстоюють власні переконання. Завдяки результатам, отриманим цьогорічними нобелівськими лауреатами, вдалося відкрити не просто основи механізму пристосування клітин до низького рівня кисню, а й універсальну для всіх тварин, еволюційно консервативну, а отже, вкрай важливу для виживання, систему регулювання основних життєвих процесів на рівні клітин, тканин і організму в цілому, яка тісно пов'язана з іншими регуляторними системами. Детальне вивчення цих зв'язків відкриває широкі можливості для розроблення нових препаратів для лікування багатьох захворювань людини, зокрема раку, анемії, хвороб серця, макулярної дегенерації тощо.

Слід також зазначити, що не варто недооцінювати фундаментальні дослідження, які просуваються лише завдяки цікавості вчених. Їх результати часто отримують несподіване практичне застосування. Можливо, найяскравішим прикладом зв'язку між фундаментальними дослідженнями та їх практичними наслідками є відкриття мазерів (та лазерів) Ч. Таунсом, М.Г. Басовим і О.М. Прохоровим. Лазерів, які зараз повсюди у нашому житті — від указок, зчитувачів CD та штрих-кодів до медицини, ракет і астрономічних вимірювальних приладів. Цікаво, що навіть такі видатні фізики, як Нільс Бор і ще один нобелівський лауреат Ісидор Рабі, переконували Ч. Таунса в тому, що його дослідження мазерів не мають жодних перспектив і на них не варто витрачати час! Тому не дарма Вільям Келін у своїй лекції, яку він прочитав після оголошення Нобелівським комітетом імен лауреатів, влучно зауважив: «Вчені не завжди можуть передбачити, куди поведе їх дорога, і не завжди можуть передбачити, якими будуть плоди їхньої праці. Але ми абсолютно переконані, що саме так і відбувається справжній прогрес».

REFERENCES

[СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ]

1. Citation Laureates 2019. https://clarivate.com/webofsciencegroup/wp-content/uploads/sites/2/dlm_uploads/2019/09/Citation_Laureates_2019.pdf
2. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2019. Press release. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2019/press-release/>
3. William Kaelin Jr. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/William_Kaelin_Jr.
4. Carolyn Kaelin. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Carolyn_Kaelin
5. Peter J. Ratcliffe. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Peter_J._Ratcliffe
6. Gregg L. Semenza. Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Gregg_L._Semenza
7. Johnson R.S. Scientific Background. How cells sense and adapt to oxygen availability. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2019/advanced-information/>
8. Belitser V.A., Tsybakova E.T. On the mechanism of phosphorylation associated with respiration. *Biochemistry*. 1939. **4**(5): 516.
[Белицер В.А., Цыбакова Е.Т. О механизме фосфорилирования сопряжённого с дыханием. *Биохимия*. 1939. Т. 4, № 5. С. 516–535.]
9. Miyake T., Kung C.K., Goldwasser E. Purification of human erythropoietin. *J. Biol. Chem.* 1977. **252**(15): 5558.
10. Bondurant M.C., Koury M.J. Anemia induces accumulation of erythropoietin mRNA in the kidney and liver. *Mol. Cell Biol.* 1986. **6**(7): 2731. DOI: <https://doi.org/10.1128/MCB.6.7.2731>
11. Semenza G.L., Nejfelt M.K., Chi S.M., Antonarakis S.E. Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3' to the human erythropoietin gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1991. **88**(13): 5680. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.88.13.5680>
12. Beck I., Ramirez S., Weinmann R., Caro J. Enhancer element at the 3'-flanking region controls transcriptional response to hypoxia in the human erythropoietin gene. *J. Biol. Chem.* 1991. **266**(24): 15563.
13. Semenza G.L., Wang G.L. 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. DOI: <https://doi.org/10.1128/mcb.12.12.5447>
14. Maxwell P.H., Pugh C.W., Ratcliffe P.J. Inducible operation of the erythropoietin 3' enhancer in multiple cell lines: evidence for a widespread oxygen-sensing mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1993. **90**(6): 2423. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.90.6.2423>
15. Wang G.L., Semenza G.L. General involvement of hypoxia-inducible factor 1 in transcriptional response to hypoxia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1993. **90**(9): 4304. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.90.9.4304>
16. Wang G.L., Semenza G.L. Purification and characterization of hypoxia-inducible factor 1. *J. Biol. Chem.* 1995. **270**(3): 1230. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.270.3.1230>
17. Wang G.L., Jiang B.H., Rue E.A., Semenza G.L. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1995. **92**(12): 5510. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.92.12.5510>
18. Ema M., Taya S., Yokotani N., Sogawa K., Matsuda Y., Fujii-Kuriyama Y. A novel bHLH-PAS factor with close sequence similarity to hypoxia-inducible factor 1 α regulates the VEGF expression and is potentially involved in lung and vascular development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. **94**(9): 4273. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.94.9.4273>
19. Flamme I., Frohlich T., von Reutern M., Kappel A., Damert A., Risau W. HRF, a putative basic helix-loop-helix-PAS-domain transcription factor is closely related to hypoxia-inducible factor-1 α and developmentally expressed in blood vessels. *Mech. Dev.* 1997. **63**(1): 51. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0925-4773\(97\)00674-6](https://doi.org/10.1016/s0925-4773(97)00674-6)
20. Hogenesch J.B., Chan W.K., Jackiw V.H., Brown R.C., Gu Y.Z., Pray-Grant M., Perdew G.H., Bradfield C.A. Characterization of a subset of the basic-helix-loop-helix-PAS superfamily that interacts with components of the dioxin signaling pathway. *J. Biol. Chem.* 1997. **272**(13): 8581. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0925-4773\(97\)00674-6](https://doi.org/10.1016/s0925-4773(97)00674-6)
21. Tian H., McKnight S.L., Russell D.W. Endothelial PAS domain protein 1 (EPAS1), a transcription factor selectively expressed in endothelial cells. *Genes Dev.* 1997. **11**(1): 72. DOI: <https://doi.org/10.1101/gad.11.1.72>
22. Fandrey J. Oxygen-dependent and tissue-specific regulation of erythropoietin gene expression. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2004. **286**(6), R977. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00577.2003>
23. Pugh C.W., O'Rourke J.F., Nagao M., Gleadle J.M., Ratcliffe P.J. Activation of hypoxia-inducible factor-1; definition of regulatory domains within the α subunit. *J. Biol. Chem.* 1997. **272**(17): 11205. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.272.17.11205>

24. Salceda S., Caro J. Hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF-1alpha) protein is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions. Its stabilization by hypoxia depends on redox-induced changes. *J. Biol. Chem.* 1997. **272**(36): 22642. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.272.36.22642>
25. Huang L.E., Gu J., Schau M., Bunn H.F. Regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha is mediated by an O₂-dependent degradation domain via the ubiquitin-proteasome pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. **95**(14): 7987. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.95.14.7987>
26. Iliopoulos O., Kibel A., Gray S., Kaelin W.G. Jr. Tumour suppression by the human von Hippel-Lindau gene product. *Nat. Med.* 1995. **1**(8): 822. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm0895-822>
27. Iliopoulos O., Levy A.P., Jiang C., Kaelin W.G. Jr., Goldberg M.A. Negative regulation of hypoxia inducible genes by the von Hippel-Lindau protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. **93**(20): 10595. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.93.20.10595>
28. Duan D.R., Pause A., Burgess W.H., Aso T., Chen D.Y., Garrett K.P., Conaway R.C., Conaway J.W., Linehan W.M., Klausner R.D. Inhibition of transcription elongation by the VHL tumor suppressor protein. *Science.* 1995. **269**(5229): 1402. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.7660122>
29. Kibel A., Iliopoulos O., DeCaprio J.A., Kaelin W.G. Jr. Binding of the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein to Elongin B and C. *Science.* 1995. **269**(5229): 1444. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.7660130>
30. Pause A., Lee S., Worrell R.A., Chen D.Y., Burgess W.H., Linehan W.M., Klausner R.D. The von Hippel-Lindau tumor-suppressor gene product forms a stable complex with human CUL-2, a member of the Cdc53 family of proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997. **94**(6): 2156. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.94.6.2156>
31. Lonergan K.M., Iliopoulos O., Ohh M., Kamura T., Conaway R.C., Conaway J.W., Kaelin W.G. Jr. Regulation of hypoxia-inducible mRNAs by the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein requires binding to complexes containing elongins B/C and Cul2. *Mol. Cell. Biol.* 1998. **18**(2): 732. DOI: <https://doi.org/10.1128/mcb.18.2.732>
32. Maxwell P.H., Wiesener M.S., Chang G.W., Clifford S.C., Vaux E.C., Cockman M.E., Wykoff C.C., Pugh C.W., Maher E.R., Ratcliffe P.J. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature.* 1999. **399**(6733): 271. DOI: <https://doi.org/10.1038/20459>
33. Ivan M., Kondo K., Yang H., Kim W., Valiando J., Ohh M., Salic A., Asara J.M., Lane W.S., Kaelin W.G. Jr. HIF1alpha targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O₂ sensing. *Science.* 2001. **292**(5516): 464. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1059817>
34. Jaakkola P., Mole D.R., Tian Y.M., Wilson M.I., Gielbert J., Gaskell S.J., Kriegsheim A., Hestreit H.F., Mukherji M., Schofield C.J., Maxwell P.H., Pugh C.W., Ratcliffe P.J. Targeting of HIF-1alpha to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation. *Science.* 2001. **292**(5516): 468. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1059796>
35. Bruick R.K., McKnight S.L. A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF. *Science.* 2001. **294**(5545): 1337. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1066373>
36. Epstein A.C., Gleadle J.M., McNeill L.A., Hewitson K.S., O'Rourke J., Mole D.R., Mukherji M., Metzen E., Wilson M.I., Dhanda A., Tian Y.M., Masson N., Hamilton D.L., Jaakkola P., Barstead R., Hodgkin J., Maxwell P.H., Pugh C.W., Schofield C.J., Ratcliffe P.J. C. elegans EGL-9 and mammalian homologs define a family of dioxygenases that regulate HIF by prolyl hydroxylation. *Cell.* 2001. **107**(1): 43. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00507-4](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00507-4)
37. Ivan M., Haberberger T., Gervasi D.C., Michelson K.S., Gunzler V., Kondo K., Yang H., Sorokina I., Conaway R.C., Conaway J.W., Kaelin W.G. Jr. Biochemical purification and pharmacological inhibition of a mammalian prolyl hydroxylase acting on hypoxia-inducible factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. **99**(21): 13459. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.192342099>
38. Mahon P.C., Hirota K., Semenza G.L. FIH-1: a novel protein that interacts with HIF-1alpha and VHL to mediate repression of HIF-1 transcriptional activity. *Genes Dev.* 2001. **15**(20): 2675. DOI: <https://doi.org/10.1101/gad.924501>
39. Lando D., Peet D.J., Whelan D.A., Gorman J.J., Whitelaw M.L. Asparagine hydroxylation of the HIF transactivation domain a hypoxic switch. *Science.* 2002. **295**(5556): 858. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1068592>
40. Ruas J.L., Berchner-Pfannschmidt U., Malik S., Gradin K., Fandrey J., Roeder R.G., Pereira T., Poellinger L. Complex regulation of the transactivation function of hypoxia-inducible factor-1 alpha by direct interaction with two distinct domains of the CREB-binding protein/p300. *J. Biol. Chem.* 2010. **285**(4): 2601. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.021824>
41. Li Z., Wang D., Na X., Schoen S.R., Messing E.M., Wu G. The VHL protein recruits a novel KRAB-A domain protein to repress HIF-1alpha transcriptional activity. *EMBO J.* 2003. **22**(8): 1857. DOI: <https://doi.org/10.1093/emboj/cdg173>

42. Schödel J., Oikonomopoulos S., Ragoussis J., Pugh C.W., Ratcliffe P.J., Mole D.R. High-resolution genome-wide mapping of HIF-binding sites by ChIP-seq. *Blood*. 2011. **117**(23): e207. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2010-10-314427>
43. Chavez J.C., Baranova O., Lin J., Pichiule P. The transcriptional activator hypoxia inducible factor 2 (HIF-2/EPAS-1) regulates the oxygen-dependent expression of erythropoietin in cortical astrocytes. *J. Neurosci.* 2006. **26**(37): 9471. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2838-06.2006>
44. Dhillon S. Roxadustat: First Global Approval. *Drugs*. 2019. **79**(5): 563. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40265-019-01077-1>
45. Frost J., Galdeano C., Soares P., Gadd M.S., Grzes K.M., Ellis L., Epemolu O., Shimamura S., Bantscheff M., Grandi P., Read K.D., Cantrell D.A., Rocha S., Ciulli A. Potent and selective chemical probe of hypoxic signalling downstream of HIF- α hydroxylation via VHL inhibition. *Nat. Commun.* 2016. **7**: 13312. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms13312>
46. Zhang H., Qian D.Z., Tan Y.S., Lee K., Gao P., Ren Y.R., Rey S., Hammers H., Chang D., Pili R., Dang C.V., Liu J.O., Semenza G.L. Digoxin and other cardiac glycosides inhibit HIF-1 α synthesis and block tumor growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2008. **105**(50): 19579. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0809763105>
47. Lopez-Lazaro M. Digoxin, HIF-1, and cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2009. **106**(9): E26. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0813047106>
48. Marshall D.J., Harried S.S., Murphy J.L., Hall C.A., Shekhani M.S., Pain C., Lyons C.A., Chillemi A., Malavasi F., Pearce H.L., Thorson J.S., Prudent J.R. Extracellular Antibody Drug Conjugates Exploiting the Proximity of Two Proteins. *Mol. Ther.* 2016. **24**(10): 1760. DOI: <https://doi.org/10.1038/mt.2016.119>
49. Scheepstra M., Hekking K.F.W., van Hijfte L., Folmer R.H.A. Bivalent Ligands for Protein Degradation in Drug Discovery. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 2019. **17**: 160. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.01.006>
50. Neklesa T., Snyder L.B., Willard R.R., Vitale N., Pizzano J., Gordon D.A., Bookbinder M., Macaluso J., Dong H., Ferraro C., Wang G., Wang J., Crews C.M., Houston J., Crew A.P., Taylor I. ARV-110: An oral androgen receptor PROTAC degrader for prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2019. **37**(7): 259. DOI: https://doi.org/10.1200/JCO.2019.37.7_suppl.259
51. Maniaci C., Hughes S.J., Testa A., Chen W., Lamont D.J., Rocha S., Alessi D.R., Romeo R., Ciulli A. Homo-PROTACs: bivalent small-molecule dimerizers of the VHL E3 ubiquitin ligase to induce self-degradation. *Nat. Commun.* 2017. **8**(1): 830. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00954-1>
52. Zengerle M., Chan K.-H., Ciulli A. Selective small molecule induced degradation of the BET bromodomain protein BRD4. *ACS Chem. Biol.* 2015. **10**(8): 1770. DOI: <https://doi.org/10.1021/acscchembio.5b00216>
53. da Motta L.L., Ledaki I., Purshouse K., Haider S., De Bastiani M.A., Baban D., Morotti M., Steers G., Wigfield S., Bridges E., Li J.L., Knapp S., Ebner D., Klamt F., Harris A.L., McIntyre A. The BET inhibitor JQ1 selectively impairs tumour response to hypoxia and downregulates CA9 and angiogenesis in triple negative breast cancer. *Oncogene*. 2017. **36**(1): 122. DOI: <https://doi.org/10.1038/onc.2016.184>
54. Pettersson M., Crews C.M. PROTeolysis TARgeting Chimeras (PROTACs) - Past, present and future. *Drug Discov. Today Technol.* 2019. **31**: 15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2019.01.002>
55. Bayer, Arvinas Partner on PROTAC Joint Venture, Treatments for Cancer, CV, Gynecological Diseases. <https://www.genengnews.com/news/bayer-arvinas-partner-on-protac-therapies-for-cancer-cv-gynecological-diseases/>
56. Dawson M.A. The cancer epigenome: concepts, challenges, and therapeutic opportunities. *Science*. 2017. **355**(6330): 1147. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aam7304>
57. Choudhry H., Harris A.L., McIntyre A. The tumour hypoxia induced non-coding transcriptome. *Mol. Aspects Med.* 2016. **47-48**: 35. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2016.01.003>
58. Choudhry H., Harris A.L. Advances in Hypoxia-Inducible Factor Biology. *Cell Metab.* 2018. **27**(2): 281. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.10.005>
59. Zhao H., Yang L., Baddour J., Achreja A., Bernard V., Moss T., Marini J.C., Tudawe T., Seviour E.G., San Lucas F.A., Alvarez H., Gupta S., Maiti S.N., Cooper L., Peehl D., Ram P.T., Maitra A., Nagrath D. Tumor microenvironment derived exosomes pleiotropically modulate cancer cell metabolism. *eLife*. 2016. **5**: e10250. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.10250>
60. Rong L., Li R., Li S., Luo R. Immunosuppression of breast cancer cells mediated by transforming growth factor- β in exosomes from cancer cells. *Oncol. Lett.* 2016. **11**(1): 500. DOI: <https://doi.org/10.3892/ol.2015.3841>
61. Berchem G., Noman M.Z., Bosseler M., Paggetti J., Bacconnais S., Le Cam E., Nanbakhsh A., Moussay E., Mami-Chouaib F., Janji B., Chouaib S. Hypoxic tumor-derived microvesicles negatively regulate NK cell function by a

- mechanism involving TGF- β and miR23a transfer. *OncoImmunology*. 2015. **5**(4): e1062968. DOI: <https://doi.org/10.1080/2162402X.2015.1062968>
62. Fu L., Kettner N.M. The circadian clock in cancer development and therapy. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2013. **119**: 221. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396971-2.00009-9>
63. Chilov D., Hofer T., Bauer C., Wenger R.H., Gassmann M. Hypoxia affects expression of circadian genes PER1 and CLOCK in mouse brain. *FASEB J.* 2001. **15**(14): 2613. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.01-0092com>
64. Ghorbel M.T., Coulson J.M., Murphy D. Cross-talk between hypoxic and circadian pathways: cooperative roles for hypoxia-inducible factor 1 α and CLOCK in transcriptional activation of the vasopressin gene. *Mol. Cell. Neurosci.* 2003. **22**(3): 396. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1044-7431\(02\)00019-2](https://doi.org/10.1016/s1044-7431(02)00019-2)
65. Yu C., Yang S.L., Fang X., Jiang J.X., Sun C.Y., Huang T. Hypoxia disrupts the expression levels of circadian rhythm genes in hepatocellular carcinoma. *Mol. Med. Rep.* 2015. **11**(5): 4002. DOI: <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.3199>
66. Koyanagi S., Kuramoto Y., Nakagawa H., Aramaki H., Ohdo S., Soeda S., Shimeno H. A molecular mechanism regulating circadian expression of vascular endothelial growth factor in tumor cells. *Cancer Res.* 2003. **63**(21): 7277.
67. Wu Y., Tang D., Liu N., Xiong W., Huang H., Li Y., Ma Z., Zhao H., Chen P., Qi X., Zhang E.E. Reciprocal regulation between the circadian clock and hypoxia signaling at the genome level in mammals. *Cell Metab.* 2017. **25**(1): 73. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.09.009>
68. Merck to Acquire Peloton Therapeutics, Bolstering Oncology Pipeline. <https://www.businesswire.com/news/home/20190521005432/en/Merck-Acquire-Peloton-Therapeutics-Bolstering-Oncology-Pipeline>

S.I. Romaniuk, S.V. Komisarenko

Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv)

MECHANISMS OF CELL ADAPTATION TO HYPOXIA,
OR HOW TO "BLOCK OXYGEN" TO A MALIGNANT TUMOR

Nobel Prize in Physiology or Medicine for 2019

The 2019 Nobel Prize in Physiology or Medicine was awarded to two American scientists — William G. Kaelin, Jr. from Harvard University and Gregg L. Semenza from Johns Hopkins University — and British researcher Sir Peter J. Ratcliffe of Oxford University “for their discoveries of how cells sense and adapt to oxygen availability.” The work of this year’s Nobel laureates laid the groundwork for understanding how oxygen levels affect cellular metabolism and physiological functions. Their research paves the way for new strategies to fight anemia, cancer and many other diseases.