

# HIF $\alpha$ как объект воздействия различных онкобелков при канцерогенезе

В.А. Кобляков

НИИ канцерогенеза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

**Контакты:** Валерий Александрович Кобляков [kobliakov@rambler.ru](mailto:kobliakov@rambler.ru)

Основные свойства злокачественности — инвазия и метастазирование — реализуются благодаря разрушению межклеточного матрикса. В этом процессе принимают участие металлопротеазы, активация которых вызвана подкислением межклеточного пространства, обусловленного переходом опухолевых клеток с тканевого дыхания на гликолиз. Переключение на гликолиз в опухолевых клетках происходит не только в условиях гипоксии, что наблюдается и в нормальной ткани, но и при оксигенации (эффект Варбурга). Считается, что в процессе канцерогенеза происходит активация онкогенов и/или дезактивация генов-супрессоров, вызывающие в конечном итоге развитие опухоли. Трансформация и последующая пролиферация клеток опосредована функциональным действием целого ряда онкобелков, являющихся компонентами различных регуляторных сигнальных цепей. Можно предположить, что онкобелки не всегда конечные факторы, вызывающие развитие опухолевого процесса, а конечным звеном является некий общий для всех канцерогенных воздействий элемент, активируемый различными онкогенами.

В данном обзоре обсуждается возможность того, что при функционировании многих онкогенных факторов таким звеном является транскрипционный фактор HIF $\alpha$  (hypoxia-inducible factor  $\alpha$ ), и рассматриваются механизмы его активации при действии онкогенов, участвующих в регуляции различных сигнальных систем.

**Ключевые слова:** канцерогенез, гипоксия, эффект Варбурга, транскрипционный фактор HIF $\alpha$ , воспаление, *ras*, *src*

**Для цитирования:** Кобляков В.А. HIF $\alpha$  как объект воздействия различных онкобелков при канцерогенезе. Успехи молекулярной онкологии 2018;5(4):64–71.

DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-4-64-71

## HIF $\alpha$ as a target for different oncoproteins during carcinogenesis

V.A. Kobliakov

Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia;  
24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

The basic characteristics of tumours are ability for invasiveness and metastasis. These properties are realized due to destruction of intercellular matrix caused with acidification of intercellular area stimulated with transition from tissue respiration to glycolysis. The transition to glycolysis in tumor cells is observed not only during hypoxic state how is realized in normal cells but also during oxygenation (Warburg effect). It is accepted that by any carcinogenic action the activation of oncogenes or inactivation of genes — suppressors occurs. As a result it is permanent expression of oncoproteins and stimulation of tumour development. Different oncoproteins operate in different regulation systems at that they cause the same effect — tumour development. It is assumed that oncoproteins are not the ultimate factor in tumour development but there are existed some common element which is activated by different oncoproteins.

In this review it is assumed that common element is HIF $\alpha$  (hypoxia-inducible factor  $\alpha$ ) transcription factor and it is discussed the mechanisms its activation by oncoproteins takes place in different signal systems.

**Key words:** carcinogenesis, hypoxia, Warburg effect, HIF $\alpha$ , inflammation, *ras*, *src*

**For citation:** Kobliakov V.A. HIF $\alpha$  as a target for different oncoproteins during carcinogenesis. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2018;5(4):64–71.

### Введение

Процесс развития опухоли может быть вызван различными воздействиями: химическими веществами, отличающимися по структуре и механизму действия, облучением, биологическими факторами (бактериальной и вирусной инфекцией), а также случайными спонтанными мутациями. По современным представлениям, независимо от канцерогенного воздействия,

в клетках происходит активация протоонкогенов и/или дезактивация генов-супрессоров. Образующиеся нерегулируемые онкобелки вызывают появление общих свойств у опухолевых клеток, характеризующих злокачественность: нерегулируемую пролиферацию, инвазию и метастазирование. Инвазия — разрушение клеточного матрикса с последующим прорастанием опухоли в окружающую ткань и метастазированием —

нарушением межклеточных связей, приводящим к отрыву опухолевых клеток от основной массы опухоли, способностью этих клеток выживать в жидкой среде, избегая аноксии, и размножаться в отдаленном чужеродном органе. Эти процессы идут рука об руку и определяют злокачественность опухоли. Можно заключить, что хотя бы на начальном этапе инвазия и метастазирование реализуются по общему механизму, в котором задействованы одни и те же гены и ассоциированные с ними сигнальные пути.

Следует отметить, что в зависимости от канцерогенного воздействия активируются различные онкогены, функционирующие в разных сигнальных цепях. Для реализации опухолевого процесса необходима экспрессия многих генов, которые в нормальных клетках взрослого организма, как правило, не активированы: кодирующие теломеразу, антиапоптотические белки семейства *bcl2*, белки гликолиза, антидифференцировочные факторы, металлопротеазы и др. Все эти и другие гены экспрессируются с помощью факторов транскрипции. Однако многие протоонкогены не являются транскрипционными факторами. Так, продукты генов *src*, *raf* и ряда других являются фосфокиназами, продукты генов *ras* — малыми ГТФазными белками. Гипотетически можно предположить, что активированные онкогены, видимо, не являются непосредственными факторами, вызывающими опухолевый процесс, а в конечном счете активируют общий для всех них клеточный элемент, транскрипционный фактор, реализующий опухолевый потенциал онкогенов. По нашему мнению, основной точкой «схождения» всех путей злокачественной трансформации клетки может быть транскрипционный фактор HIF1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ ).

Показано, что инвазия происходит из зон опухоли с пониженным уровнем рН, а в зонах опухоли с нормальным уровнем рН инвазия не наблюдается [1]. Введение животным с опухолью слабощелочного буфера (карбонатного или ТРИС) уменьшает метастазирование и рост опухоли [2–4]. Уровень рН в нормальной и опухолевой ткани различен. Среднее значение уровня рН внутри клетки нормальной ткани имеет нейтральное значение, а в межклеточном пространстве — слабощелочное (7,35–7,45). В опухолевой клетке картина противоположная: внутри клетки уровень рН имеет щелочное значение (7,12–7,90), вне клетки — кислое (6,2–6,9) [5].

Подкисление межклеточного пространства стимулирует активность металло- и других протеаз, что вызывает разрушение межклеточного матрикса и межклеточного взаимодействия. Основным фактором подкисления межклеточного пространства в ткани опухоли является процесс гликолиза. Методом позитронно-эмиссионной томографии с использованием меченой радиоактивным фтором аналога глюкозы-2-дезоксиглюкозы продемонстрировано, что инвазия происходит из зон опухоли с повышенным

потреблением глюкозы [6, 7], что характеризует гликолиз. Гликолиз — естественный процесс, который реализуется в нормальной ткани при гипоксии. При нормоксии конечным продуктом превращения глюкозы в цитоплазме является пируват, который транспортируется в митохондрии и под действием фермента пируватдегидрогеназы образует ацетилкоэнзим А, являющийся компонентом трикарбонового цикла. При гипоксии конечным продуктом превращения глюкозы является лактат, образующийся из пирувата. Лактат, являющийся кислотой с рК 3,9, вместе с протоном транспортируется из клетки мембранным монокарбоксилат транспортером, что и вызывает подкисление межклеточного пространства.

При злокачественном росте гликолиз также наблюдается и в зонах опухоли с достаточной оксигенацией. Впервые способность опухолевых клеток переключаться с тканевого дыхания на гликолиз при достаточном количестве кислорода в клетке описан О. Warburg и соавт. в середине прошлого века [8], и поэтому аэробный гликолиз называют эффектом Варбурга. Регулятором перехода клеток на гликолиз, стимулирующим экспрессию генов гликолиза при гипоксии и блокирующим поступление пирувата — продукта превращения глюкозы, участвующего в трикарбоновом цикле, — в митохондрии является транскрипционный комплекс HIF $\alpha$ -ARNT. Регуляторное звено этого комплекса — белок HIF $\alpha$ , поскольку уровень белка ARNT в клетке постоянен. Одним из объяснений того, что независимо от канцерогенного воздействия происходят однотипные изменения в функционировании образующихся опухолевых клеток, является активация HIF $\alpha$ , вызванная различными онкобелками.

Для подтверждения этого предположения в данном обзоре будут рассмотрены механизмы активации HIF $\alpha$  в присутствии кислорода в клетке при действии некоторых онкобелков, участвующих в различных регуляторных цепях.

### **HIF $\alpha$ как возможный общий регулятор опухолевого процесса**

Известны 3 изоформы белка HIF $\alpha$  — HIF1 $\alpha$ , HIF2 $\alpha$  и HIF3 $\alpha$ . Функционально HIF1 $\alpha$  и HIF2 $\alpha$  близки между собой, а роль HIF3 $\alpha$  в функционировании клетки в настоящий момент недостаточно изучена. Белки HIF $\alpha$  принадлежат к классу транскрипционных факторов, называемых *helix-loop-helix* (спираль-петля-спираль).

Помимо переключения функционирования клеток с тканевого дыхания на гликолиз и усиления синтеза всех ферментов гликолиза, в том числе глюкозотранспортера [9, 10], HIF $\alpha$  вызывает экспрессию и других генов, кодирующих белки, участвующие в развитии опухолевого процесса (рис. 1). Так, при активации HIF $\alpha$  экспрессируется теломераза, стимулирующая иммортализацию [11, 12], происходят стимуляция роста сосудов [13–15], ингибирование апоптоза [16, 17],

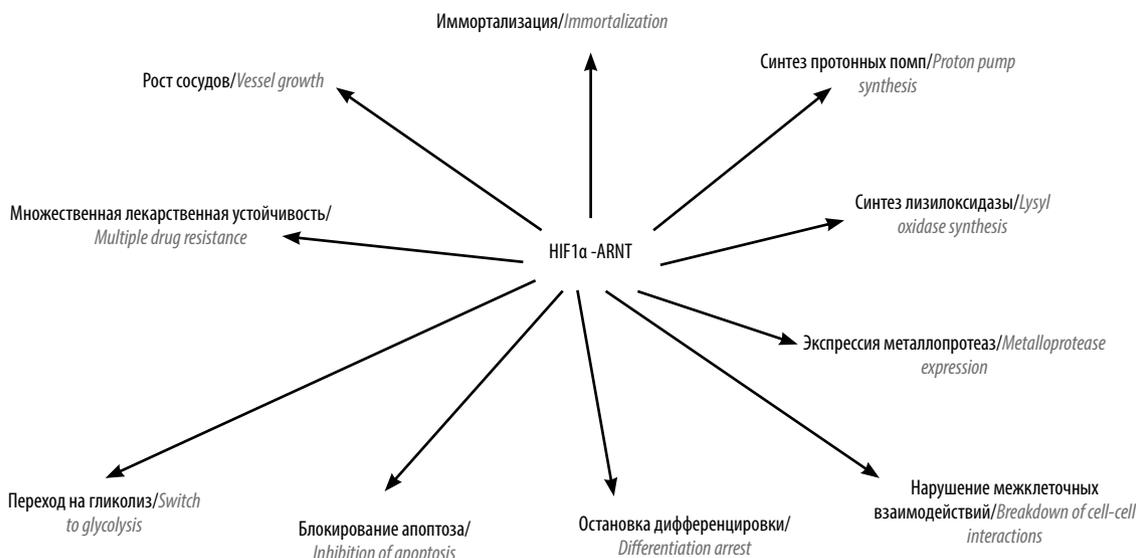


Рис. 1. Физиологические процессы, активируемые транскрипционным комплексом  $HIF1\alpha$ -ARNT

Fig. 1. Physiological processes activated by  $HIF1\alpha$ -ARNT transcription complex

остановка дифференцировки и активация генов дедифференцировки [18–20], синтез металлопротеаз матрикса [21], активация генов множественной лекарственной устойчивости [22], синтез лизилоксидазы [23] – фермента, участвующего в образовании метастатических ниш. Происходит синтез различных протонных помп [24], транспортирующих протоны в межклеточное пространство.

### $HIF\alpha$ и гипоксия

Регуляция активности  $HIF\alpha$  происходит на уровне белка. При нормоксии  $HIF\alpha$  окисляется ферментом пролилоксидазой по пролинам в положениях 402 и 405

[25–27]. Окисленный  $HIF\alpha$  взаимодействует с убиквитинлигазным комплексом VHL, убиквитинируется и направляется в протеасомы, где разрушается. Известны 3 изоформы пролилоксидазы. Наиболее эффективной в отношении  $HIF\alpha$  является изоформа пролилоксидаза-2 [28]. Окисление  $HIF\alpha$  сопровождается одновременным соокислением 2-оксоглутарата до сукцината. Образующийся сукцинат является ингибитором пролилоксидазы [29].

«Классический» путь активации  $HIF\alpha$  при гипоксии обусловлен образованием активных форм кислорода (АФК) в дыхательной цепи митохондрий (рис. 2). При гипоксии АФК в форме супероксида образуются

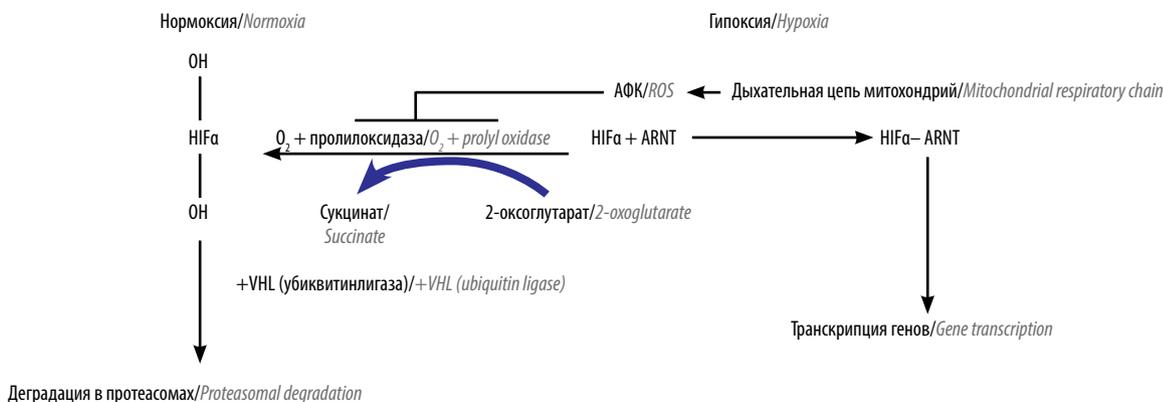


Рис. 2. Регуляция активности  $HIF\alpha$  в клетке. При нормоксии  $HIF\alpha$  окисляется пролилоксидазой по пролинам. Окисленный  $HIF\alpha$  взаимодействует с убиквитинлигазой VHL (von Hippel–Lindau) и направляется в протеасомы на деградацию. Окисление  $HIF\alpha$  сопровождается соокислением 2-оксоглутарата до сукцината. При гипоксии образующиеся в дыхательной цепи митохондрий активные формы кислорода (АФК) окисляют пролилоксидазу по SH-группам, делая ее неактивной. Происходит накопление  $HIF\alpha$ , связывание его с другим компонентом транскрипционного комплекса – белком ARNT с последующей экспрессией генов

Fig. 2. Regulation of  $HIF\alpha$  activity in the cells. In normoxia,  $HIF\alpha$ 's prolines are oxidized by prolyl oxidase. Oxidized  $HIF\alpha$  interacts with ubiquitin ligase VHL (von Hippel–Lindau) and is directed in proteasomes for degradation.  $HIF\alpha$  oxidation is accompanied by co-oxidation of 2-oxoglutarate to succinate. In hypoxia reactive oxygen species (ROS) formed in the mitochondrial respiratory chain oxidize prolyl oxidase's SH-groups rendering it inactive.  $HIF\alpha$  is accumulated, binds to another component of the transcription complex, ARNT protein, with subsequent gene expression

комплексами I и III дыхательной цепи митохондрий. Благодаря структурным особенностям комплекса I образовавшийся АФК направляется в митохондриальный матрикс, а образовавшийся в комплексе III — к митохондриальной мембране [30]. Под действием митохондриальной супероксиддисмутазы супероксид превращается в перекись водорода, которая свободно проходит через митохондриальную мембрану в цитоплазму. В цитоплазме перекись водорода окисляет SH-группы пролилксидазы с образованием -S-S-групп и димеризацией фермента [31], что дезактивирует фермент и ведет к накоплению HIF $\alpha$  [26, 27]. Подтверждением сказанного является то, что в клетках с отсутствием митохондриальной ДНК, которая кодирует компоненты дыхательной цепи, при гипоксии не происходит активация HIF $\alpha$  [32]. В клетках с нокаутированным геном цитохрома C, в которых не образуется АФК, также не наблюдалась активация HIF $\alpha$  в условиях гипоксии [33]. Предотвратить активацию HIF $\alpha$  при гипоксии может только антиоксидант, проникающий в митохондрии, Mito-Q, а не «классические» антиоксиданты типа ацетилцистеина, функционирующие в цитоплазме [34, 35].

О том, что повышенная постоянная экспрессия HIF $\alpha$  является канцерогенным фактором, свидетельствуют эпидемиологические данные. Известны случаи наследственных раков в семьях с герминальной инактивирующей мутацией в гене убиквитинлигазы *VHL*, ответственного за деградацию белка HIF $\alpha$  [36, 37].

Переход клеток на гликолиз увеличивает активность HIF $\alpha$  благодаря положительной обратной связи. Так, фермент пируваткиназа, экспрессия которого регулируется, как и всех генов гликолиза HIF $\alpha$ , катализирует протекание реакции образования пирувата из фосфоенолпирувата и одновременно увеличивает связывание HIF $\alpha$  с узнающим участком ДНК, усиливая способность экспрессировать соответствующие гены [38]. Лактат, являющийся конечным продуктом превращения глюкозы при гликолизе, стабилизирует HIF $\alpha$  и увеличивает его активность [39, 40].

### Воспаление

Общеизвестно, что хроническое воспаление является фактором, способствующим развитию опухолевого процесса [41]. При воспалении происходят образование АФК, активация различных провоспалительных цитокинов. Исследования более раннего времени связывали опасность развития опухоли при хроническом воспалении преимущественно с мутагенным действием АФК [41, 42]. В настоящий момент взгляд на механизм канцерогенного действия хронического воспаления изменился, и образующиеся АФК рассматриваются не только как потенциальные мутагены, но и как факторы, стимулирующие аэробный гликолиз. При воспалении основным производителем АФК является лейкоцитарный мембраноассоциированный ферментный комплекс семейства NADPH-оксидазы

(NOX). NOX синтезирует АФК в форме супероксида. Образование супероксида происходит в результате переноса электрона с NADPH на флавин NOX, находящийся в комплексе с цитохромом b, который осуществляет одноэлектронный перенос на кислород с образованием АФК [43]. В неактивном состоянии компоненты «разобраны», а при необходимости происходит их сборка в единый функциональный комплекс. Образовавшийся супероксид превращается в перекись водорода или под воздействием супероксиддисмутазы, или спонтанно. АФК направляются как в межклеточное, так и внутриклеточное пространство. В настоящее время показано наличие 7 изоформ NOX (NOX1–5, DUOX1, DUOX2) в мембранах различных как иммунных, так и неиммунных клеток. Одним из механизмов активации NOX является образование комплекса с малыми ГТФазными белками семейства *gac* [44]. Показано, что при воспалении происходит активация HIF $\alpha$  [45].

Активация HIF $\alpha$  обусловлена образующимися при воспалении АФК. В пользу этого говорит то, что ингибитор различных изоформ NOX — дифенилен-иодоний хлорид (*diphenyleneiodonium chloride*) — или воздействие siРНК препятствует активации HIF $\alpha$  [46]. Ксенографт опухолевых клеток кишечника HT-29, нокаутированных по NOX1, демонстрирует замедленный рост сосудов, что, как авторы считают, связано с падением уровня HIF $\alpha$  [47]. Постоянная экспрессия NOX5 в клетках различных опухолей человека вызывает экспрессию HIF $\alpha$  в оксигенированных клетках. Нокаут NOX5 в этих клетках приводит к падению в них уровня HIF $\alpha$  и уменьшению злокачественности [48]. Таким образом, образующиеся при воспалении АФК увеличивают в клетках уровень HIF $\alpha$ . Высокий уровень экспрессии различных изоформ NOX обнаружен во многих опухолях человека [43, 49, 50].

Другой механизм увеличения уровня HIF $\alpha$  при воспалении связан с активацией транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B. Последний представляет собой димер, связанный с ингибирующим участком, называемый ингибиторным белком (*inhibitory protein, I-kb*) [51, 52]. При воспалении различные участники воспалительного процесса активируют киназы семейства IKK, которые фосфорилируют участок I-kb, что приводит к его деградации, а освободившаяся часть белкового комплекса транспортируется в ядро, где функционирует как транскрипционный фактор, вызывая экспрессию различных генов, в том числе HIF $\alpha$  [53].

### Эффекты онкогенных белков семейства RAS

Наиболее часто встречающимися мутациями в онкогенах опухолей человека являются мутации в генах семейства *RAS*. Известны 3 основных представителя семейства *RAS*: *N-RAS*, *K-RAS*, *H-RAS*. Белки семейства *RAS* принадлежат к большой группе белков, носящих общее название «малые ГТФазы». При активации белки этого семейства взаимодействуют с ГТФ,

образуя функционально активный комплекс, взаимодействующий с белками-мишенями, активируя их. Для прекращения их активности и прерывания сигнала необходимо взаимодействие с соответствующими ГТФазами, которые дефосфорилируют ГТФ, превращая его в ГДФ. Комплекс RAS-ГДФ неактивен, и для последующей активации RAS необходимо вытеснение ГДФ специальным регуляторным белком (GDF-exchange factor), что делает возможным взаимодействие RAS с ГТФ и его активацией.

Показано, что в большинстве опухолей легкого, желудка, кишечника, поджелудочной железы наблюдаются мутации генов *RAS* [54]. Распространенными онкомутациями в генах белков RAS являются мутации в кодонах 12, 13 и 61, не позволяющие ГТФазе взаимодействовать с белком RAS, что приводит к постоянной активности последнего [55, 56]. Постоянно активный белок RAS вызывает экспрессию ферментов гликолиза, блокируя активность митохондрий [57, 58]. При исследовании механизма канцерогенного действия *RAS* с мутацией в кодоне 12 показано, что его трансформирующее действие связано с образованием АФК [59, 60] и аккумуляцией HIF $\alpha$  [31]. Аккумуляция HIF $\alpha$  происходила в условиях оксигенации, т.е. реализуется эффект Варбурга. Подтверждением того, что аккумуляция HIF $\alpha$  происходит в результате образования АФК, являются эксперименты с введением антиоксиданта N-ацетилцистеина, который препятствовал трансформирующему действию мутированного *RAS* и накоплению HIF $\alpha$ . Образование АФК происходит в результате активации NOX1 белком RAS, поскольку ингибитор NOX дифенилен иодоний (diphenylene iodonium) препятствовал образованию АФК [59].

Активация NOX при действии мутированного белка RAS определяется 2 факторами. Во-первых, мутированный RAS активирует ГТФазу Rac [61–63], которая, как говорилось выше, является активатором NOX. Делеция гена *rac* у мышей предотвращала развитие опухоли кожи, поджелудочной железы, легкого при введении животным мутантного *K-ras* [64]. У мышей инактивирующая мутация в гене *Tiam1*, кодирующий белок-активатор *rac*, предотвращает кожный канцерогенез, вызванный *ras* [65]. Помимо активации *rac* одновременно при действии онкогенного белка H-ras наблюдается повышение экспрессии NOX1 через активацию транскрипционного фактора GATA-6 [50, 66, 67]. Активация происходит в результате фосфорилирования GATA-6 серин-треониновой киназой ERK, активируемой постоянным функционированием H-ras в регуляторной цепи RAS-RAF-МЕК-ERK [50]. Подтверждением роли GATA-6 в активации NOX1 является то, что инактивирующая мутация в гене *GATA-6* препятствовала накоплению NOX1 при действии мутированного *H-ras* [66]. Для белка K-RAS показано, что помимо активации белка *rac* он способен активировать образование АФК не только через активацию

NOX, но и благодаря способности взаимодействовать с мембраной митохондрий, изменяя функционирование дыхательной цепи митохондрий.

Показано также, что K-ras взаимодействует с митохондриальной мембраной, что вызывает падение примерно на 50 % митохондриального потенциала, уменьшение потребления кислорода, ингибирование комплекса I дыхательной цепи, но при этом происходит значительное увеличение образования АФК, видимо в комплексе III дыхательной цепи [58, 68, 69]. Ras вызывает также уменьшение уровня антиоксидантных ферментов каталазы и супероксиддисмутазы-2 [68], что способствует накоплению АФК в клетке. Подтверждением важности функционирования митохондрий в канцерогенезе, вызванном K-ras, является то, что нарушение функций митохондрий различными воздействиями препятствует злокачественной трансформации клеток. Так, нарушение функционирования фактора транскрипции в митохондриях (mitochondrial transcription factor A) препятствует канцерогенезу, вызванному *K-ras* [69]. При ингибировании функционирования дыхательной цепи митохондрий ротеноном уменьшается субстрат-независимый рост опухолевых клеток в культуре и перевитых подкожно клетках опухоли кишечника мыши CT26 с мутированным геном *K-ras* [70].

#### Онкогенные белки семейства SRC

Повышенная активность семейства нерецепторных тирозинкиназ SRC наблюдается во многих опухолях человека, таких как опухоли молочной железы, кишечника, предстательной железы [71], гематологические новообразования [72].

Тот факт, что белок SRC способен активировать аэробный гликолиз, впервые продемонстрирован еще в 1978 г. Показано, что введение клеткам цыпленка термозависимого гена *v-src* переводило клетки на гликолиз при перmissive температуре, а при выключении *v-src* при запрещающей температуре отменяло гликолиз и клетки переходили на тканевое дыхание [73]. Наиболее вероятной казалась возможность прямого фосфорилирования пролилоксидазы белком *src* с инактивацией ее активности. Однако результаты специально проведенного исследования показали, что белок *src* не фосфорилирует пролилоксидазу [74]. Активированный *src* видимо может увеличивать уровень HIF $\alpha$  по нескольким различным механизмам. Одним из механизмов действия белка *src*, связанным с переводом клетки на аэробный гликолиз, является то, что он фосфорилирует по положению 289 тирозин в ферменте пируватдегидрогеназы, делая его неактивным. В результате в цитоплазме накапливается пируват, отключается митохондриальное дыхание, уменьшается потребление кислорода и клетка вынуждена переключиться на гликолиз, независимо от уровня кислорода в ней [75]. Другой путь переключения клеток на гликолиз связан с тем, что *src* фосфорилирует белок

VHL по тирозину 185, после чего он направляется в протеасому на деградацию [76]. Поскольку белок VHL является убиквитинлигазой для белка HIF $\alpha$ , последний накапливается в клетке. По-видимому, некоторые клеточные факторы реализуют свою способность накапливать в клетке HIF $\alpha$ , активируя SRC. Примером может служить активация аэробного гликолиза при действии глюкокортикостероидов. Глюкокортикостероиды активируют *c-src*, что в конечном итоге приводит к накоплению в клетке HIF $\alpha$  по механизму, как считают авторы, связанному с разрушением белка VHL, благодаря его фосфорилированию тирозинкиназой *src* [77].

### Заключение

Важнейшим элементом опухолевого роста является изменение метаболизма глюкозы в клетке. При нормальном уровне кислорода в клетке основной путь энергообеспечения связан с функционированием дыхательной цепи митохондрий, в которой образующийся из глюкозы пируват включается в трикарбонный цикл. В опухолевых клетках происходят физиологические перестройки в метаболизме. Переход на гликолиз обусловлен двумя факторами. С одной

стороны, быстрое увеличение количества опухолевых клеток, характеризующих опухолевый рост, и неспособность существующей кровеносной системы обеспечить достаточное поступление кислорода вызывают гипоксию и переход клеток на гликолиз. С другой стороны, в опухолевой ткани наблюдается аэробный гликолиз (эффект Варбурга), что во многом определяет развитие опухолевого процесса. В обоих случаях основным элементом, переводящим клетки на гликолиз, является транскрипционный фактор HIF $\alpha$ . Как показано в данном обзоре на примере белков RAS и SRC, эти постоянно функционирующие онкобелки активируют HIF $\alpha$ . Экспрессия HIF $\alpha$  влечет за собой экспрессию многих генов, необходимых для реализации злокачественного роста. О важности HIF $\alpha$  в развитии опухолевого процесса говорит то, что повышенный уровень экспрессии HIF $\alpha$  в различных типах опухолей является плохим прогностическим фактором [45, 78, 79]. Поэтому создание ингибиторов функционирования HIF $\alpha$  может иметь важное клиническое значение. Создаются препараты, ингибирующие функционирование HIF $\alpha$ , и они позиционируются в качестве веществ, обладающих противоопухолевой активностью [80, 81].

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Estrella V., Chen T., Lloyd M. et al. Acidity generated by the tumor microenvironment drives local invasion. *Cancer Res* 2013;73(3):1524–35. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2796. PMID: 23288510.
- McCarty M.F., Whitaker J. Manipulating tumor acidification as a cancer treatment strategy *Altern Med Rev* 2010;15(3): 264–72. PMID: 21155627.
- Martin N.K., Robey I.F., Gaffney E.A. et al. Predicting the safety and efficacy of buffer therapy to raise tumour pH: an integrative modelling study. *Br J Cancer* 2012;106(7):1280–7. DOI: 10.1038/bjc.2012.58. PMID: 22382688.
- Fais S., Venturi G., Gatenby B. Microenvironmental acidosis in carcinogenesis and metastases: new strategies in prevention and therapy. *Cancer Metastasis Rev* 2014;33(4):1095–108. DOI: 10.1007/s10555-014-9534-0. PMID: 25430903.
- Harguindey S., Arranz J.L., Polo Orozco J.D. et al. Cariporide and other new and powerful NHE1 inhibitors as potentially selective anticancer drugs-an integral molecular/biochemical/metabolic/clinical approach after one hundred years of cancer research. *Transl Med* 2013;11:282. DOI: 10.1186/1479-5876-11-282. PMID: 24195657.
- Guan Z.W., Xu B.X., Wang R.M. et al. Hyperaccumulation of (18)F-FDG in order to differentiate solid pseudopapillary tumors from adenocarcinomas and from neuroendocrine pancreatic tumors and review of the literature. *Hell J Nucl Med* 2013;16(2):97–102. DOI: 10.1967/s002449910084. PMID: 23687644.
- Schlaepfer I.R., Glodé L.M., Hitz C.A. et al. Inhibition of lipid oxidation increases glucose metabolism and enhances 2-deoxy-2-[(18)F]fluoro-D-glucose uptake in prostate cancer mouse xenografts. *Mol Imaging Biol* 2015;17(4):529–38. DOI: 10.1007/s11307-014-0814-4. PMID: 25561013.
- Warburg O., Posener K., Negelein E. Über den Stoffwechsel der Karzinomzellen. *Biochemische Zeitschrift* 1924;152: 309–44.
- Lu H., Forbes R.A., Verma A. Hypoxia-inducible factor 1 activation by aerobic glycolysis implicates the Warburg effect in carcinogenesis *J Biol Chem* 2002;277(26):23111–5. DOI: 10.1074/jbc.M202487200. PMID: 11943784.
- Marín-Hernández A., Gallardo-Pérez J.C., Ralph S.J. et al. HIF-1 $\alpha$  modulates energy metabolism in cancer cells by inducing over-expression of specific glycolytic isoforms. *Mini Rev Med Chem* 2009;9(9):1084–101. PMID: 19689405.
- Lou F., Chen X., Jalink M. et al. The opposing effect of hypoxia-inducible factor-2 $\alpha$  on expression of telomerase reverse transcriptase. *Mol Cancer Res* 2007;5(8):793–800. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-07-0065. PMID: 17699105.
- Yatabe N., Kyo S., Maida Y. et al. HIF-1-mediated activation of telomerase in cervical cancer cells. *Oncogene* 2004;23(20):3708–15. DOI: 10.1038/sj.onc.1207460. PMID: 15048086.
- Wang M., Kirk J.S., Venkataraman S. et al. Manganese superoxide dismutase suppresses hypoxic induction of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and vascular endothelial growth factor. *Oncogene* 2005;24(55):8154–66. DOI: 10.1038/sj.onc.1208986. PMID: 16170370.
- Jeon H., Kim H., Choi D. et al. Quercetin activates an angiogenic pathway HIF-1-VEGF by inhibiting HIF-prolyl hydroxylase: a structural analysis of quercetin for inhibiting HIF-prolyl hydroxylase. *Mol Pharmacol* 2007;71(6):1676–84. DOI: 10.1124/mol.107.034041. PMID: 17377063.
- Khromova N.V., Kopnin P.B., Stepanova E.V. et al. p53 hot-spot mutants increase tumor vascularization via ROS-mediated activation of the HIF1/VEGF-A pathway. *Cancer Lett* 2009;276(2):143–51. DOI: 10.1016/j.canlet.2008.10.049. PMID: 19091459.
- Peng X.H., Karna P., Cao Z. et al. Crosstalk between epidermal growth factor receptor and hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  signal pathways increases resistance

- to apoptosis by up-regulating survivin gene expression. *J Biol Chem* 2006;281(36):25903–14. DOI: 10.1074/jbc.M603414200. PMID: 16847054.
17. Liu X.H., Yu E.Z., Li Y.Y., Kagan E. HIF-1 $\alpha$  has an anti-apoptotic effect in human airway epithelium that is mediated via Mcl-1 gene expression. *J Cell Biochem* 2006;97(4):755–6. DOI: 10.1002/jcb.20683. PMID: 16229017.
  18. Rankin E.B., Giaccia A.J. The role of hypoxia-inducible factors in tumorigenesis. *Cell Death Differ* 2008;15(4):678–85. DOI: 10.1038/cdd.2008.21. PMID: 18259193.
  19. Axelson H., Fredlund E., Ovenberger M. et al. Hypoxia-induced dedifferentiation of tumor cells – a mechanism behind heterogeneity and aggressiveness of solid tumors. *Semin Cell Dev Biol* 2005; 16(4–5):554–63. DOI: 10.1016/j.semcdb.2005.03.007. PMID: 16144692.
  20. Helczynska K., Kronblad A., Jögi A. et al. Hypoxia promotes a dedifferentiated phenotype in ductal breast carcinoma in situ. *Cancer Res* 2003;63(7):1441–4. PMID: 12670886.
  21. Shin D.H., Dier U., Melendez J.A., Hempel N. Regulation of MMP-1 expression in response to hypoxia is dependent on the intracellular redox status of metastatic bladder cancer cells. *Biochim Biophys Acta* 2015;1852(12):2593–602. DOI: 10.1016/j.bbadis.2015.09.001. PMID: 26343184.
  22. Lv Y., Zhao S., Han J. et al. Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  induces multidrug resistance protein in colon cancer. *Oncotargets Ther* 2015;8:1941–8. DOI: 10.2147/OTT.S82835. PMID: 26251616.
  23. Erler J.T., Giaccia A.J. Lysyl oxidase mediates hypoxic control of metastasis. *Cancer Res* 2006;66(21):10238–41. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3197. PMID: 17079439.
  24. Kobliakov V.A. Role of proton pumps in tumorigenesis. *Biochemistry (Moscow)* 2017;82(4):401–12. DOI: 10.1134/S0006297917040010. PMID: 28371597.
  25. Lee K.A., Roth R.A., LaPres J.J. Hypoxia, drug therapy and toxicity. *Pharmacol. Ther* 2007;13(2):229–63. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2006.08.001. PMID: 17046066.
  26. Cash T.P., Pan Y., Simon M.C. Reactive oxygen species and cellular oxygen sensing. *Free Radic Biol Med* 2007;43(9):1219–25. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.07.001. PMID: 17893032.
  27. Place T.L., Domann F.E. Prolyl-hydroxylase 3: evolving roles for an ancient signaling protein. *Hypoxia* 2013;13(1):13–27. DOI: 10.2147/HP.S50091. PMID: 24672806.
  28. Berra E., Benizri E., Ginouves A. et al. HIF prolyl-hydroxylase 2 is the key oxygen sensor setting low steady-state levels of HIF-1 $\alpha$  in normoxia. *Embo J* 2003;22(16):4082–90. DOI: 10.1093/emboj/cdg392. PMID: 12912907.
  29. Selak M.A., Armour S.M., MacKenzie E.D. et al. Succinate links TCA cycle dysfunction to oncogenesis by inhibiting HIF-1 $\alpha$  prolyl hydroxylase. *Cancer Cell* 2005;7(1):77–85. DOI: 10.1016/j.ccr.2004.11.022. PMID: 15652751.
  30. Chandel N.S., McClintock D.S., Feliciano C.E. et al. Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  during hypoxia: a mechanism of O<sub>2</sub> sensing. *J Biol Chem* 2000;275(33):25130–8. DOI: 10.1074/jbc.M001914200. PMID: 10833514.
  31. Lee G., Won H.S., Lee Y.M. et al. Oxidative dimerization of PHD2 is responsible for its inactivation and contributes to metabolic reprogramming via HIF-1 $\alpha$  activation. *Sci Rep* 2016;6:18928. DOI: 10.1038/srep18928. PMID: 26740011.
  32. Chandel N.S., Maltepe E., Goldwasser E. et al. Mitochondrial reactive oxygen species trigger hypoxia-induced transcription. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(20):11715–20. PMID: 9751731.
  33. Mansfield K.D., Guzy R.D., Pan Y. et al. Mitochondrial dysfunction resulting from loss of cytochrome c impairs cellular oxygen sensing and hypoxic HIF-1 $\alpha$  activation. *Cell Metab* 2005;1(6):393–9. DOI: 10.1016/j.cmet.2005.05.003. PMID: 16054088.
  34. Bell E.L., Klimova T.A., Eisenbart J. et al. The Qo site of the mitochondrial complex III is required for the transduction of hypoxic signaling via reactive oxygen species production. *J Cell Biol* 2007;177(6):1029–36. DOI: 10.1083/jcb.200609074. PMID: 17562787.
  35. Guzy R.D., Schumacker P.T. Oxygen sensing by mitochondria at complex III: the paradox of increased reactive oxygen species during hypoxia. *Exp Physiol* 2006;91(5):807–19. DOI: 10.1113/expphysiol.2006.033506. PMID: 16857720.
  36. Henegan J.C. Jr, Gomez C.R. Heritable cancer syndromes related to the hypoxia pathway. *Front Oncol* 2016;6:68. DOI: 10.3389/fonc.2016.00068. PMID: 27047799.
  37. Yang H., Kaelin W.G. Jr. Molecular pathogenesis of the von Hippel–Lindau hereditary cancer syndrome: implications for oxygen sensing. *Cell Growth Differ* 2001;12(9):447–55. PMID: 11571227.
  38. Luo W., Hu H., Chang R. et al. Pyruvate kinase M2 is a PHD3-stimulated coactivator for hypoxia-inducible factor 1. *Cell* 2011;145(5):732–44. DOI: 10.1016/j.cell.2011.03.054. PMID: 21620138.
  39. Colegio O.R. Lactic acid polarizes macrophages to a tumor-promoting state. *Oncoimmunology* 2015;5(3):e1014774. DOI: 10.1080/2162402X.2015.1014774. PMID: 27141329.
  40. Colegio O.R., Chu N.Q., Szabo A.L. et al. Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid. *Nature* 2014;513(7519):559–63. DOI: 10.1038/nature13490. PMID: 25043024.
  41. Ohshima H., Tatemichi M., Sawa T. Chemical basis of inflammation-induced carcinogenesis. *Arch Biochem Biophys* 2003;417(1):3–11. PMID: 12921773.
  42. Schwartsburd P.M. Chronic inflammation as inductor of pro-cancer microenvironment: pathogenesis of dysregulated feedback control. *Cancer Metastasis Rev* 2003;22(1):95–102. PMID: 12716041.
  43. Morry J., Ngamcherdtrakul W., Yantasee W. Oxidative stress in cancer and fibrosis: opportunity for therapeutic intervention with antioxidant compounds, enzymes, and nanoparticles. *Redox Biol* 2017;11:240–53. DOI: 10.1016/j.redox.2016.12.011. PMID: 28012439.
  44. Bokoch G.M., Knaus U.G. NADPH oxidases: not just for leukocytes anymore! *Trends Biochem Sci* 2003;28(9):502–8. DOI: 10.1016/S0968-0004(03)00194-4. PMID: 13678962.
  45. Balamurugan K. HIF-1 at the crossroads of hypoxia, inflammation, and cancer. *Int J Cancer* 2016;138(5):1058–66. DOI: 10.1002/ijc.29519. PMID: 25784597.
  46. Block K., Gorin Y., Hoover P. et al. NAD(P)H oxidases regulate HIF-2 $\alpha$  protein expression. *J Biol Chem* 2007;282(11):8019–26. DOI: 10.1074/jbc.M611569200. PMID: 17200123.
  47. Juhasz A., Markel S., Gaur S. et al. NADPH oxidase 1 supports proliferation of colon cancer cells by modulating reactive oxygen species-dependent signal transduction. *J Biol Chem* 2017;292(19):7866–87. DOI: 10.1074/jbc.M116.768283. PMID: 28330872.
  48. Antony S., Jiang G., Wu Y. et al. NADPH oxidase 5 (NOX5)-induced reactive oxygen signaling modulates normoxic HIF-1 $\alpha$  and p27Kip1 expression in malignant melanoma and other human tumors. *Mol Cancer* 2017;56(12):2643–62. DOI: 10.1002/mc.22708. PMID: 28762556.
  49. Lambeth J.D. Nox enzymes, ROS, and chronic disease: an example of antagonistic pleiotropy. *Free Radic Biol Med* 2007;43(3):332–47. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.027. PMID: 17602948.
  50. Skonieczna M., Hejmo T., Poterala-Hejmo A. et al. NADPH oxidases: insights into selected functions and mechanisms of action in cancer and stem cells. *Oxid Med Cell Longev* 2017;2017:9420539. DOI: 10.1155/2017/9420539. PMID: 28626501.
  51. Baeuerle P.A., Baltimore D. NF- $\kappa$ B: ten years after. *Cell* 1996;87(1):13–20. PMID: 8858144.
  52. D’Ignazio L., Bandarra D., Rocha S. NF- $\kappa$ B and HIF crosstalk in immune responses. *FEBS J* 2016;283(3):413–24. DOI: 10.1111/febs.13578. PMID: 26513405.

53. Remels A.H., Gosker H.R., Verhees K.J. et al. TNF- $\alpha$ -induced NF- $\kappa$ B activation stimulates skeletal muscle glycolytic metabolism through activation of HIF-1 $\alpha$ . *Endocrinology* 2015;156(5):1770–81. DOI: 10.1210/en.2014-1591. PMID: 25710281.
54. Pylayeva-Gupta Y., Grabocka E., Bar-Sagi D. RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. *Nat Rev Cancer* 2011;11(11):761–74.
55. Scheffzek K., Ahmadian M.R., Kabsch W. et al. The Ras-RasGAP complex: structural basis for GTPase activation and its loss in oncogenic Ras mutants. *Science* 1997;277(5324):333–8. PMID: 9219684.
56. Bryant K.L., Mancias J.D., Kimmelman A.C., Der C.J. KRAS: feeding pancreatic cancer proliferation. *Trends Biochem Sci* 2014;39(2):91–100. DOI: 10.1016/j.tibs.2013.12.004. PMID: 24388967.
57. Hu Y., Lu W., Chen G. et al. K-ras(G12V) transformation leads to mitochondrial dysfunction and a metabolic switch from oxidative phosphorylation to glycolysis. *Cell Res* 2012;22(2):399–412. DOI: 10.1038/cr.2011.145. PMID: 21876558.
58. Chesney J., Telang S. Regulation of glycolytic and mitochondrial metabolism by ras. *Curr Pharm Biotechnol* 2013;14(3):251–60. PMID: 22201601.
59. Irani K., Xia Y., Zweier J.L. et al. Mitogenic signaling mediated by oxidants in Ras-transformed fibroblasts. *Science* 1997;275(5306):1649–52. PMID: 9054359.
60. Mitsushita J., Lambeth J.D., Kamata T. The superoxide-generating oxidase Nox1 is functionally required for Ras oncogene transformation. *Cancer Res* 2004;64(10):3580–5. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-3909. PMID: 15150115.
61. Shin I., Kim S., Song H. et al. H-Ras-specific activation of Rac-MKK3/6-p38 pathway: its critical role in invasion and migration of breast epithelial cells. *J Biol Chem* 2005;280(15):14675–83. DOI: 10.1074/jbc.M411625200. PMID: 15677464.
62. Qiu R.G., Chen J., Kim D. et al. An essential role for Rac in Ras transformation. *Nature* 1995;374(6521):457–9. DOI: 10.1038/374457a0. PMID: 7700355.
63. Kissil J.L., Walmsley M.J., Hanlon L. et al. Requirement for Rac1 in a K-ras induced lung cancer in the mouse. *Cancer Res* 2007;67(17):8089–94. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2300. PMID: 17804720.
64. Kazanietz M.G., Caloca M.J. The Rac GTPase in cancer: from old concepts to new paradigms. *Cancer Res* 2017;77(20):5445–51. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1456. PMID: 28807941.
65. Malliri A., van Der Kammen R.A., Clark K. et al. Mice deficient in the Rac activator Tiam1 are resistant to Ras-induced skin tumours. *Nature* 2002;417(6891):867–71. DOI: 10.1038/nature00848. PMID: 12075356.
66. Adachi Y., Shibai Y., Mitsushita J. et al. Oncogenic Ras upregulates NADPH oxidase 1 gene expression through MEK-ERK-dependent phosphorylation of GATA-6. *Oncogene* 2008;27(36):4921–32. DOI: 10.1038/onc.2008.133. PMID: 18454176.
67. Wu R.F., Terada L.S. Ras and Nox: linked signaling networks? *Free Radic Biol Med* 2009;47(9):1276–81. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.037. PMID: 19501154.
68. Neuzil J., Rohlena J., Dong L.F. K-Ras and mitochondria: dangerous liaisons. *Cell Res* 2012;22(2):285–7. DOI: 10.1038/cr.2011.160. PMID: 21946499.
69. Weinberg F., Hamanaka R., Wheaton W.W. et al. Mitochondrial metabolism and ROS generation are essential for K-ras-mediated tumorigenicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107(19):8788–93. DOI: 10.1073/pnas.1003428107. PMID: 20421486.
70. Martin T.D., Cook D.R., Choi M.Y. et al. Role for mitochondrial translation in promotion of viability in K-Ras mutant cells. *Cell Rep* 2017;20(2):427–38. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.06.061. PMID: 28700943.
71. Irby R.B., Yeatman T.J. Role of Src expression and activation in human cancer. *Oncogene* 2000;19(49):5636–42. DOI: 10.1038/sj.onc.1203912. PMID: 11114744.
72. Siveen K.S., Prabhu K.S., Achkar I.W. et al. Role of non receptor tyrosine kinases in hematological malignances and its targeting by natural products. *Mol Cancer* 2018;17(1):31. DOI: 10.1186/s12943-018-0788-y. PMID: 29455667.
73. Carroll R.C., Ash J.F., Vogt P.K., Singer S.J. Reversion of transformed glycolysis to normal by inhibition of protein synthesis in rat kidney cells infected with temperature-sensitive mutant of Rous sarcoma virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978;75(10):5015–9. PMID: 217010.
74. Lee H.Y., Lee T., Lee N. et al. Src activates HIF1 $\alpha$  not through direct phosphorylation of HIF1 $\alpha$  specific prolyl-4 hydroxylase 2 but through activation of the NADPH oxidase/Rac pathway. *Carcinogenesis* 2011;32(5):703–12.
75. Jin Y., Cai Q., Shenoy A.K. et al. Src drives the Warburg effect and therapy resistance by inactivating pyruvate dehydrogenase through tyrosine-289 phosphorylation. *Oncotarget* 2016;7(18):25113–24. DOI: 10.18632/oncotarget.7159. PMID: 26848621.
76. Chou M.T., Anthony J., Bjorge J.D., Fujita D.J. The von Hippel–Lindau tumor suppressor protein is destabilized by Src: implications for tumor angiogenesis and progression. *Genes Cancer* 2010;1(3):225–38. DOI: 10.1177/1947601910366719. PMID: 21212839.
77. Vettori A., Greenald D., Wilson G.K. et al. Glucocorticoids promote von Hippel–Lindau degradation and Hif1 $\alpha$  stabilization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017;114(37):9948–53. DOI: 10.1073/pnas.1705338114. PMID: 28851829.
78. Liu Z.J., Semenza G.L., Zhang H.F. Hypoxia-inducible factor 1 and breast cancer metastasis. *J Zhejiang Univ Sci B* 2015;16(1):32–43. DOI: 10.1631/jzus.14100221. PMID: 25559953.
79. Лушникова А.А., Морозова Л.Ф., Абрамов И.С. и др. Генетические изменения в линии Рпсч1-КК светлоклеточного рака почки человека. *Успехи молекулярной онкологии* 3(3):81–5. DOI: 10.17650/2313-805X-2016-3-3-81-85. [Lushnikova A.A., Morozova L.F., Abramov I.S. et al. Genetic alterations in the human kidney clear cell carcinoma line Рпсч1-КК. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2016;3(3):81–5. (In Russ.)].
80. Park K., Lee H.E., Lee S.H. et al. Molecular and functional evaluation of a novel HIF inhibitor, benzopyranyl 1,2,3-triazole compound. *Oncotarget* 2017;8(5):7801–13. DOI: 10.18632/oncotarget.13955. PMID: 27999195.
81. Wang L.H., Jiang X.R., Yang J.Y. et al. SYP-5, a novel HIF1 inhibitor, suppresses tumor cells invasion and angiogenesis. *Eur J Pharmacol* 2016;791:560–8. DOI: 10.1016/j.ejphar.2016.09.027. PMID: 27664769.

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.  
**Conflict of interest.** The author declares no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.  
**Financing.** The study was performed without external funding.

**Статья поступила:** 19.07.2018. **Принята к публикации:** 31.10.2018.  
**Article received:** 19.07.2018. **Accepted for publication:** 31.10.2018.