

UDC 577.112:616

## Регуляція експресії генів гексокіназ і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази за умов норми і патології

Р. Ю. Маруніч

ІНЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
Вул. Володимирська, 64/13, Київ, Україна, 01601

nautilus999@gmail.com

*Посилення гліколізу у пухлинах за аеробних умов відоме як феномен Варбурга, при цьому значно активізується пентозофосфатний шунт. Пентозофосфатний шунт і гліколіз, особливо їхні перші ланки та регуляторний фермент 6-фосфофрукто-2-кіназа/фруктозо-2,6-бісфосфатаза піддаються впливу сигнальних систем клітини, таких як циркадальний годинник, гіпоксія-індукуючий фактор і стрес ендоплазматичного ретикулуму. Це дозволяє онкотрансформованим клітинам адаптуватися до стресових чинників, серед яких гіпоксія, ішемія і дія низькомолекулярних агентів. Зроблено аналіз впливу сигнальних систем на експресію генів ключових ферментів гліколізу і пентозофосфатного шунту за нормальних умов та за умов онкологічної патології. Досліджено значення цього впливу для виживання онкотрансформованих клітин за стресових умов.*

*Ключові слова: гексокінази, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, експресія генів, стрес.*

**Будова та експресія генів гексокіназ та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.** Гліколіз і пентозофосфатний шунт відіграють важливу роль як за норми, так і патології. Відомо, що ці процеси є життєво необхідними і зміни, що відбуваються під час онкотрансформації клітин, призводять до значної активації зазначених метаболічних шляхів, щоб забезпечити потреби клітин у відновних еквівалентах, енергії та рибозі для синтезу нуклеїнових кислот. Серед різних патологій, пов'язаних з метаболізмом глюкози, найпоширенішими є діабет і онкологічні захворювання, а з-поміж різних типів онкологічних хвороб найнебезпечнішими для життя є пухлини головного мозку, зокрема, гліоми та гліобластоми. Явище посилення гліколізу в онкотрансформованих клітинах за аеробних умов відоме як феномен Варбурга. Суттєве значення для утилізації клітиною зовнішньої глюкози мають гексокінази і глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа.

Ферменти родини гексокіназ у хребетних кодується чотирма незалежними генами, розташованими на різних хромосомах [1]. На відміну від щура, для людини притаманна наявність псевдогену другої гексокінази-2, локалізованого на X-хромосомі у локусі q21.1. Ген першого ізоферменту, відомого як мозкова гексокіназа, розміщений на 10-й хромосомі в локусі q22 у людини та на 20-й хромосомі у щура в локусі q11. У людини ген гексокінази-1 загальною довжиною приблизно 131 тис. п. н. містить 25 екзонів, серед яких сім альтернативних: один еритроїдний і шість яєчкових [2]. Продуктам цього гена властивий альтернативний сплайсинг, що призводить до утворення п'яти сплайс-ізоформ з різними унікальними регуляторними N-кінцевими ділянками [3]. Експресія сплайс-ізоформ частково є тканинспецифічною. Альтернативні нетрансльовані екзони, наприклад AltT2, важливі для функціонування білка у нервовій системі, у разі мутації в таких екзонах є ризик появи нейропатії. Особливість гена – відсутність ТАТА-боксу і наявність інвертованої по-

слідовності GATA і еритроїдного промотору за 5'-кінцем. Послідовність від -275 до -229 містить консенсусні мотиви для транскрипційних факторів SP-1 і GATA, CCAAT- і GGAA-мотиви, необхідні для експресії в еритроїдних клітинах. Внаслідок альтернативної транскрипції з подальшим альтернативним сплайсингом, за якого до послідовності залучається додатковий екзон, утворюється мРНК у клітинах еритроїдного ряду, яка кодує НК-R-специфічну еритроїдну сплайс-ізоформу гексокінази-1, присутню в еритроїдних клітинах разом з НК1 [4]. Мутації промоторної ділянки за сайтом фактора AP-1 призводять до дефіциту цього ферменту в еритроїдних клітинах. Експресія зазначеного гена залежить від HIF-1 $\alpha$  [5]. Також виявлено мотив CTGTC, характерний для промотору піруваткінази. Можливо, елемент PKR-RE1 активує і ген *HK1* [6]. У досліді експресія цього гена у нормальних і діабетичних щурів індукувалася рослинним регулятором росту 28-гомобрасиностероїдом [7].

Ген м'язової ізоформи гексокінази-2 розташований на другій хромосомі у локусі p13 у людини та в четвертій хромосомі у локусі q34 щура. Ген містить 18 екзонів, причому показано, що мутації по четвертому і 17-му екзонах здатні спричинити розвиток інсулін-незалежного цукрового діабету [8]. Дана ізоформа НК1 дістала назву м'язової, проте вона експресується в багатьох тканинах, у тому числі у жировій, а також у серцевому м'язі [8], посилення її експресії характерне для пухлинних клітин, зокрема, для пухлин, які швидко ростуть [9]. Пригнічення експресії НК1 робить клітини чутливими до проапоптичних факторів [10]. Промотор містить два елементи для зв'язування p53, причому експресія цього гена активується також за дії HIF та інсуліну [11]. Оскільки у складі промотору є стерол-регуляторний елемент (SRE) у позиції від -369 до -270, який розпізнається білком SREBP-1c, то ген активується інсуліном [12]. Характерною особливістю печінкових пухлин є кореляція між експресією *HK2* і *VEGF*, з одного боку, та *HIF-1 $\alpha$*  – з іншого [13]. Гіпоксія посилює проліферацію клітин пухлин печінки за рахунок активації експресії НК2 [14]. Проте відомо, що гіперекспресія генів білків, які пригнічують ангиогенез (*TROP* і *ASTAT*), також призводить до активації низки гліколітичних генів,

серед яких і такі, що кодують НК2 і НК1 [15]. Інший активатор генів гліколітичних ферментів – інтерлейкін 6. Він діє опосередковано через трансдуктор сигналу і активатор транскрипції 3 (STAT3), який активує експресію *HK2* і 6-фосфофрукто-2-кінази/фруктозо-2,6-бісфосфатази-3 (*PFKFB3*) у фібробластих миші і клітинних лініях людини [16].

Гексокіназа 3, або лімфоцитарна форма гексокінази, кодується геном, розташованим на п'ятій хромосомі в локусі q35.2 у людини та на 17-й хромосомі в локусі q12 у щура [17]. Хоча ця ізоформа має назву лімфоцитарної, її експресія характерна також для печінки і легень, а амінокислотна послідовність на 87 % гомологічна у щура і людини [18]. Цю ізоформу виявлено в нирках, мозку і селезінці, причому у щурів експресія *HK1* і *HK3* залежить від віку та змінюється протягом розвитку [19]. За іншими даними, експресія згаданого ферменту і VEGF, HIF-1 $\alpha$  та НК2 корелює з поглинанням пухлинами молочної залози глюкози, міченої фтором-18 [20]. Вдалося пов'язати патерни експресії гексокіназ, у тому числі і гексокінази-3, та високоафінних транспортерів глюкози для аденокарциноми стравоходу [21]. Мутації гена гексокінази-3 характерні у разі пухлин ректального походження і пухлин молочної залози [22].

На відміну від зазначених вище трьох гексокіназ, які мають молекулярну масу майже 100 кДа, четверта гексокіназа, або глюкокіназа, – найменша, її молекулярна маса становить приблизно 50 кДа. У людини глюкокіназа кодується геном, розташованим на сьомій хромосомі в локусі p15.3-p15.1, а у щура – на 14-й хромосомі в локусі q21. Ген складається з 12 екзонів, які варіюють за розмірами від 96 до 977 п. н., має ТАТА-бокс і сайт зв'язування транскрипційного фактора Sp1. Припускають, що гени перших трьох гексокіназ утворилися внаслідок дуплікації і злиття гена глюкокінази [23].

Виявлено три тканиноспецифічні сплайс-ізоформи цього ферменту – дві в печінці і одна в панкреатичних  $\beta$ -клітинах. Панкреатична сплайс-ізоформа відрізняється за першим екзоном, який є унікальним і має видозмінений 5'-UTR, що впливає на N-кінець білка. Утворений білок має модифікований N-кінець. Сплайс-ізоформа-2 є домінуючою сплайс-ізоформою печінки, має видозмінений N-кі-

нець, їй характерна також наявність специфічного першого екзону ізоформи печінки і відсутність третього екзону, притаманного мінорній сплайс-ізоформі 3 печінки.

Збільшення рівня глюкози не впливає на експресію глюкокінази у  $\beta$ -клітинах підшлункової залози. У цих клітинах наявний відносно незалежний рівень експресії гена глюкокінази від гормонів та діяльності ферментів метаболізму [24]. Це дозволяє їй виконувати функцію сенсора щодо наявності глюкози. Однак у гепатоцитах ситуація значно складніша – глюкокіназа в них є чутливою до інсуліну (посилює експресію) та глюкагону, що діє через цАМФ, призводячи до інактивації глюкокінази протеїнакіназою А [25].

Дія інсуліну зумовлена зв'язуванням транскрипційного фактора HNF-4 з промоторним елементом HBEs, проте вона інгібується дією фактора FOXO1 [26]. Промоторна ділянка гена глюкокінази в гепатоцитах також містить SRE-послідовність і SP-сайт, що взаємодіє з білками SREBP-1 $\alpha$  і SP1, активуючи, таким чином, експресію цього гена в печінці у відповідь на інсулін [27, 28]. У регуляторній ділянці гена розташовані сайти зв'язування факторів ERR $\alpha$  і PGC-1 $\alpha$ , які активують його експресію [29]. Взагалі регуляція експресії гена глюкокінази в гепатоцитах багаторівнева, регуляції підлягають як транскрипція, так і власне мРНК цього гена [30]. Фруктозо-2,6-бісфосфат є потужним активатором експресії гена глюкокінази печінки, оскільки має здатність підтримувати її за відсутності інсуліну [30], що зумовлено унікальною тканиноспецифічною будовою промоторної ділянки цього гена [31].

Відомо багато мутацій гена глюкокінази, які часто пов'язані з різними патологіями, зокрема, такими як діабет [32]. Так, поліморфізм промоторної ділянки -30 може бути пов'язаний з ожирінням [33]. Мутації поділяють на активувальні (T65I, W99R, V455M, A456V) та інактивувальні (N161) або нейтральні (R397L) [34]. Більшість з них відбуваються не в активному центрі ферменту, а в центрі алостеричної регуляції для низькомолекулярних сполук, який знаходиться навпроти активного центра [35]. Особливістю тут є те, що частота мутацій, які впливають на кінетику, вища для малого домену, ніж для великого (хоча він є регуляторним) [36]. Пока-

зано, що активаційні мутації призводять здебільшого до гіпоглікемії, у той час як інактиваційні – до гіперглікемії, оскільки порушується функція «сенсора» на глюкозу у  $\beta$ -клітинах. Також існують мутації, що заважають комплексоутворенню з регуляторним білком глюкокінази (GCKRP) та інактивації ферменту з переходом у ядро (мутація R308W) [37]. Мутація V182M посилює комплексоутворення з GCKRP.

На відміну від розглянутих родин генів НК, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа кодується одним геном, який заходиться на X-хромосомі у локусі q28 людини [38]. Охарактеризовано дві сплайс-ізоформи: а – велика, що складається з 545 амінокислотних залишків [39] і є каталітично неактивною, оскільки має вставку, однак вона може піддаватися процесингу і перетворюватися на меншу сплайс-ізоформу – б (515 а. з.) з коротшим N-кінцем, мРНК якої має унікальний 5'-UTR [40]. Остання сплайс-ізоформа каталітично активна. Промотор має ТАТА-бокс [41] і сім GC-боксів, з яких для активації промотору необхідні як мінімум два. З цими двома боксами зв'язуються SP-1- і AP-2-подібні білки [42]. Відомо багато патологій, пов'язаних з дефіцитними станами за цим ферментом та з різного роду мутаціями в ньому, серед яких жовтуха новонароджених [43], пошкодження  $\beta$ -клітин за умови високого вмісту глюкози при цукровому діабеті [44], хронічний гемоліз і гемолітична несфероцитарна анемія [45], полікістозний яєчниковий синдром [46] тощо. Більшість мутацій – це заміни одного чи декількох нуклеотидів у регуляторних ділянках або в екзонах, а природні популяції насичені багатьма алелями [47].

Промоторна ділянка гена містить елементи, які забезпечують посилення експресії у відповідь на інсулін, причому для цього необхідна активність кіназ PI3 і S6 [48]. До того ж виявлено відповідь на пальмітат і олеат, що може бути спричинене одним або кількома факторами, які взаємодіють з промотором цього гена: печінковий ядерний фактор (NF)-4 $\alpha$ , білок CAAT/ $\beta$ , який зв'язує енхансер, PPAR $\alpha$ , активатор курячого овальбумінового промотору (COUP-TF), зв'язувальний білок цАМФ-регуляторного елемента, NF-kB [49]. Експресія цього гена посилюється у разі сумісної дії інсуліну і трийодти-

роніну, проте не має адренергічної регуляції [50]. Слабке посилення експресії, можливо, опосередковане дією HIF і виявляється у відповідь на гіпоксію, але воно знімається впливом антиоксидантів: глутатіону і N-ацетилцистеїну [51]. Регуляцію експресії за рахунок процесингу мРНК G6PDH визначено у відповідь на годування або голодування тварин, причому перегодовування призводило до значного зростання рівня і накопичення мРНК, яка пройшла сплайсинг [52].

Таким чином, гени, що кодують ферменти перших ланок метаболізму вуглеводів, регулюються координовано на рівні організму за посередництвом гормонів, переважно інсуліну і глюкагону, у той час як на клітинному рівні експресія визначається транскрипційними факторами, серед яких переважно (у разі генів гліколітичного шляху) присутній HIF. Гени родин *HK* і *G6PDH* розташовані на різних хромосомах, мають типову для еукаріотів екзонно-інтронну будову і регулюються власними *cis*-регуляторними елементами. Експресія генів у більшості випадків спричиняє утворення сплайс-ізоформ, окремі з них є відносно тканинспецифічними.

**Вплив сигнальних систем клітини на експресію генів гексокіназ та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.** Деякі гени метаболізму глюкози мають циркадіальну осциляцію експресії, яка так чи інакше контролюється клітинним годинником [53]. Під клітинним годинником, відомим як біологічний годинник, розуміють сукупність генів та їхніх продуктів, що утворюють молекулярний внутрішньоклітинний осцилятор, який регулюється петлями негативного зворотного зв'язку на рівні транскрипції і трансляції. Цей механізм забезпечує існування організму в середовищі, яке циклічно змінюється.

Молекулярні компоненти клітинного годинника поділяються на позитивні й негативні елементи [54]. Позитивні елементи утворюють гетеродимери – транскрипційні фактори і активують транскрипцію генів негативних елементів. У ссавців до них належать CLOCK і BMAL1 [55]. Ці транскрипційні фактори містять структурні домени PAS (PER-Arnt-Sim) і базальний HLH (basic helix-loop-helix – спіраль–петля–спіраль) [56]. Мономери формують гетеродимери (CLOCK:BMAL1) і активують транскрипцію генів циркадіального годинника. До нега-

тивних елементів у ссавців належать PER1-3 і CRY1 та 2 (від англ. cryptochrome – криптохром) [57]. Негативні елементи пригнічують транскрипційну активність позитивних, зменшуючи вихід їхніх білкових продуктів. Позитивні елементи мають загальну гомологію у структурі доменів, тоді як негативні – ні. Продукти як позитивних, так і негативних елементів характеризуються осциляцією протягом доби. Причому рівень продуктів негативних елементів зазнає більших флуктуацій. Функціонування клітинного годинника також регулюється протеїніназами, кінази CK1ε і MAP фосфорилують BMAL1 *in vitro* [58, 59].

Виявлено, що рівень експресії мРНК циркадіальних факторів BMAL1, CLOCK і PER1 у головному мозку, серці, сім'яниках і легенях щурів протягом доби змінюється неоднаково і ці зміни є тканинспецифічними та узгоджуються з різним функціональним значенням таких тканин у метаболізмі тварин і можливого впливу на поведінку [60].

Встановлено, що казеїнкіназа-1ε зв'язується з PER1, PER2 і PER3 та фосфорилує їх. Це суттєво змінює функціонування генів [61,62], які контролюють цикл поділу клітин (Cyclin D1, Cyclin A, MDM-2, c-MYC і GADD45alpha) та онкогенів, а також генів, що пригнічують ріст пухлин [63]. Згадана протеїніназа фосфорилує BMAL1 і криптохроми [64], бере участь у дестабілізації катенін-деградувального комплексу, у функціонуванні сигнального каскаду TGF-β [65], в інактивації білка від через його розщеплення каспазою 8 [66], фосфорилує P53 – білок, що пригнічує ріст пухлин [67], негативно регулює фосфо-Akt через гомолог фосфатази і тензину PTEN [68].

Крім того, існує окисно-відновний контроль формування гетеродимеру CLOCK:BMAL1 [69]. Є дані, що субклітинна локалізація білка CLOCK у супрахіазматичному ядрі також регулюється залежно від часу, а BMAL1 може відігравати важливу роль у цьому процесі [70, 71]. До регуляції причетні ядерні орфанові рецептори ретиноевої кислоти Rev-erbα і Rorα (супресують експресію CLOCK і BMAL1 [72]). Транскрипційні фактори DEC1 і DEC2, які містять домен bHLH, регулюються циркадіальним годинником, пригнічуючи транскрипцію, індуковану комплексом CLOCK:BMAL1 [73].

Гени, які регулюються CLOCK:BMAL1, повинні мати регуляторну послідовність E-box у своєму складі. А регульовані Rev-erb $\alpha$  і Ror $\alpha$  – RORE. У ссавців відомі гени *PER1*, *PER2* і *PER3*, всі білки Per містять домени PAS. Гени *PER* і *CRY* мають стійкі циркадальні осциляції рівня мРНК і білка. Їхній пік припадає на середину світлового періоду доби [74].

Визначено позитивну і негативну кореляцію між рівнем мРНК майже 5000 генів жирової тканини і мРНК *PER1*. Експресія генів знижувалася у період з ранку до вечора. Серед зв'язаних з циркадальною системою генів багато генів жирового обміну, синтезу холестеролу, факторів росту і метаболізму вуглеводів. Серед них виявлено PFKFB та її індукцибельну ізоформу (PFKFB-3) [75]. Рівень її мРНК позитивно корелює з рівнем мРНК *PER1*.

*PER* і *CRY* здатні також інгібувати транскрипцію власних генів, впливаючи через гетеродимер CLOCK:BMAL1. Оскільки існує окисно-відновний контроль формування гетеродимеру CLOCK:BMAL1 [76], ймовірним є зворотний опосередкований вплив вуглеводного метаболізму, зокрема, гліколітичного та пентозофосфатного шляхів на клітинний годинник через окисно-відновний стан цитоплазми. Відомо, що окисно-відновний стан цитоплазми змінюється при канцерогенезі. Однак напевно чи він є єдиним чинником, який викликає зміни у функціонуванні клітинного годинника у пухлинах [77].

Показано, що існує зворотний зв'язок між клітинним годинником периферійних тканин і рівнем глюкози, оскільки зростання вмісту глюкози опосередковано знижує рівень мРНК *PER1* і *PER2*. Проте доведено, що такий контроль не пов'язаний зі зміною окисно-відновного стану цитоплазми та стабілізацією димеру CLOCK:BMAL1 (який здатний активувати гени, що містять E-box), а здійснюється іншим шляхом [78].

Ще один елемент системи клітинного годинника – ядерний рецептор Rev-erb $\alpha$  – контролює експресію низки генів жирової тканини і печінки. Показано, що Rev-erb $\alpha$  репресує синтез аполіпропротеїну СІІІ і глюкозо-6-фосфатази, пригнічуючи тим самим глюконеогенез у печінці. Непрямий вплив на глюконеогенез і гліколіз криптохрому-1 блокує опо-

середковане глюкагоном зростання рівня цАМФ, що послаблює активацію цАМФ-залежної протеїнкінази А, яка фосфорилує значну кількість ферментів обміну вуглеводів – гексокіназ, PFKFB і G6PDH [79]. За відомими даними, CLOCK безпосередньо активує експресію глікогенсинтетази-2, що має виражені циркадальні осциляції та два E-бокси у складі промотору [80]. Пряму регуляцію глюкокортикоїдами стероїдних контрінсулінових гормонів, що регулюють багато ланок обміну вуглеводів, виявлено також для циркадального гена *PER2*, промотор якого містить ділянки GRE (чутливі до глюкокортикоїдів елементи). Таким чином, здійснюється модуляція метаболізму глюкози гормонами через дію на клітинний годинник, який у свою чергу впливає на лептин, що регулює гексокіназу-3 і багато інших ферментів [80].

Велика кількість ферментів антиоксидантної системи мають у складі промоторної ділянки генів E-бокси, що свідчить про можливість регуляції димером CLOCK:BMAL1 [81].

Отже, обмін глюкози на клітинному рівні зазнає регуляторного впливу з боку системи клітинного годинника. Цей вплив може бути як прямий, пов'язаний з активацією транскрипції генів метаболізму глюкози, так і опосередкований – внаслідок дії клітинного годинника на систему кіназ – фосфатаз. До того ж існує зворотний зв'язок, згідно з яким функціонування клітинного годинника в периферійних тканинах модулюється гормонами і регуляторами вуглеводного обміну, окисно-відновним станом цитоплазми та рівнем глюкози.

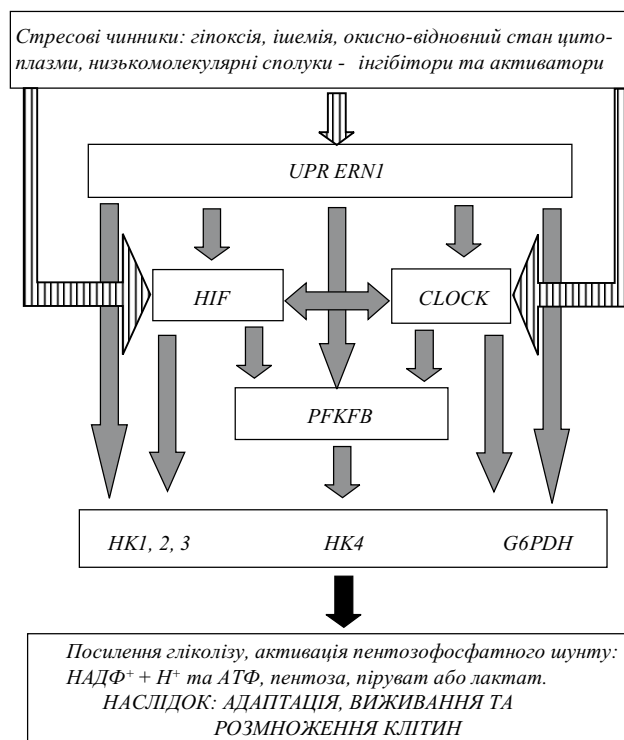
Однак не лише цитоплазматичні і ядерні фактори впливають на експресію генів перших ланок метаболізму глюкози. Ендоплазматична мережа є однією з ключових органел у клітинній відповіді на ішемію, гіпоксію, а також деякі хімічні речовини, які активують складний набір сигнальних шляхів, що реагують у відповідь на невірно згорнутий білок. Така адаптивна реакція активується за умов накопичення неправильно упакованих білків в ендоплазматичному ретикулумі і опосередкована трьома резидентними ЕІР-сенсорами, PERK (PRK-подібною ER кіназою), IRE1/ERN1 (inositol-requiring1/endoribonuclease 1) і ATF6 (активувальний транскрипційний фактор 6), але ERN1 є основним сенсором [82, 83].

Активация відповіді на невірно згорнутий білок (UPR) обмежує вхід нових білків до ендоплазматичної мережі і полегшує як згортання білка в ендоплазматичному ретикулумі, так і деградацію, що важливо для адаптації клітин або, навпаки, індукує програми клітинної загибелі через механізми, пов'язані з ендоплазматичною мережею [82, 84]. UPR як такий бере участь на початку клітинної відповіді на накопичення неправильно згорнутих білків у просвіті ендоплазматичного ретикулуму, що відбувається як за фізіологічних, так і патологічних умов.

Два різних каталітичних домени біфункціонального сигнального ферменту ERN1 виявлено як серин/треонінову кінразу і ендорибонуклеазу, залучені до ERN1-сигналінгу. Кінраза ERN1 аутофосфорилує цей фермент, що призводить до його димеризації, активації ендорибонуклеазного домену і сплайсингу мРНК ХВР1 (Х-Вох-зв'язувальний білок 1) [83]. Зрілі сплайс-варіанти мРНК ХВР1 кодують транскрипційний фактор, який має змінену С-кінцеву амінокислотну послідовність і стимулює експресію сотень специфічних генів, що формують відповідь на незгорнуті або неправильно згорнуті білки [82, 83].

Більш того, пухлина у процесі росту потребує функціонування сигнальної системи стресу ендоплазматичного ретикулуму, а також гіпоксії та ішемії для неоваскуляризації і росту. Тому повна блокада шляху передачі сигналу ERN1 має протипухлинний ефект [84, 85]. Сигнальний шлях ендоплазматичного ретикулуму, що активується у відповідь на стрес-реакцію, обумовлений процесом неоваскуляризації, пухлинного росту і диференціювання, а також загибеллю клітин [85].

Інша система регуляції експресії генів, у тому числі й гліколітичного шляху, пов'язана з HIF (hypoxia-inducible factor). За гіпоксії ініціюються процеси утворення нової сітки капілярів, спостерігається активація процесів метаболізму і, зокрема, гліколізу [87], спрямованих на адаптацію клітин до умов гіпоксії, що значною мірою опосередковано активацією транскрипційного фактора HIF [88]. Виявлено, що гіпоксичні ефекти більшою мірою залежать від функціонального стану системи сигнального ферменту ERN1. Показано, що рівень експресії гексокінази-2 за гіпоксії та ішемії обумовлений функцією сигнального ферменту ERN1 (рисунок) [86, 88].



Регуляторний вплив на експресію генів гексокінази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази сигнальних систем клітини. Позначення: UPR ERN1 – система стресу ендоплазматичного ретикулуму; HIF – hypoxia-inducible factor; CLOCK – система циркадального годинника; PFKFB – 6-фосфофрукто-2-кіназа/фруктозо-2,6-бісфосфатаза; HK1, 2, 3, HK4 – гексокінази; G6PDH – глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа

Відомо, що рівень мРНК НК1 у клітинах гліоми зростає при гіпоксії та вирощуванні клітин у середовищі без глюкози. Крім того, рівень мРНК НК1 у цих клітинах у разі вирощування їх у середовищі без глютаміну суттєво модифікується. Інактивація гена ERN1 істотно не змінює рівня мРНК гексокінази-1, але знімає залежність експресії цього гена від гіпоксії і знижує ефект дефіциту глюкози в середовищі вирощування клітин на рівень його експресії.

У той же час за умов гіпоксії рівень експресії гена НК2 у клітинах гліоми збільшується у шість разів порівняно з геном НК1, а в середовищі без глюкози – удвічі більше. Крім того, рівень експресії гена НК2 зростає через вирощування клітин гліоми в середовищі без глютаміну. Виключення гена ERN1 посилює експресію гена НК2 та знімає залежність експресії останнього від дефіциту глюкози і глютаміну в середовищі вирощування клітин, а також знижує ефект впливу гіпоксії на рівень експресії. Екс-

пресія гена глюкозо-6-фосфатдегідрогенази у клітинах гліоми посилюється у разі виключення гена *ERN1*, істотно активується при гіпоксії і дефіциті глютаміну. Таким чином, рівень експресії генів *HK1* і *HK2* у клітинах гліоми істотно змінюється за гіпоксії та ішемії і залежить від функції гена сигнального ферменту *ERN1* [86, 89].

Рівень експресії мРНК глюкозо-6-фосфатдегідрогенази не порушується в клітинах гліоми з пригніченою функцією ферменту *ERN1*, проте гіпоксія суттєво знижує експресію *G6PDH*, але лише в клітинах з інгібованою функцією *ERN1*, тоді як за умов дефіциту глютаміну і глюкози спостерігається підвищення рівня експресії мРНК *G6PDH* в обох типах клітин гліоми. Цей ефект є вираженішим у контрольних клітинах гліоми за умов дефіциту глютаміну і в клітинах з пригніченою функцією *ERN1* при дефіциті глюкози [86, 89].

Таким чином, сигнальна система стресу ендоплазматичного ретикулуму, система *HIF* і система циркадіального годинника чинять регуляторний вплив на перебіг гліколізу і пентозофосфатного шунту через регуляцію експресії мРНК низки ключових ферментів гліколізу. Тому вивчення експресії генів, що контролюють метаболізм глюкози, є надзвичайно актуальним напрямком біохімічних досліджень, оскільки дозволить з'ясувати молекулярні механізми регуляції експресії цих генів і взаємодії різних генів, причетних до канцерогенезу, між собою, а також для розробки нових підходів до створення антипухлинних препаратів.

R. Yu. Marunych

Regulation of hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase genes expression at norm and pathology

ESC «Institute of Biology», Taras Shevchenko National University of Kyiv

64/13, Volodymyrska Str., Kyiv, Ukraine, 01601

Summary

*The increasing of glycolysis in tumors under aerobic conditions is known as Warburg phenomenon; the activity of the pentose phosphate pathway increases also significantly. The pentose phosphate pathway and glycolysis, especially their first steps, and the regulatory enzyme 6-phosphofruktu-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase are influenced by cell signaling systems such as the system of circadian clock, the system of hypoxia-inducible factor and unfolded protein response system, that allow malignant cells to adapt to stress factors such as hypoxia, ischemia and influence of low molecular agents. The review enlightens*

*the impact of signaling systems on the key enzymes of glycolysis and the pentose phosphate pathway gene expression in normal cells and in malignant cells, and their importance for survival of malignant cells under stress conditions.*

*Keywords: hexokinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, gene expression, stress.*

P. Ю. Марунич

Регуляція експресії генів гексокиназ і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в умовах норми і при патології

Резюме

*Усиление гликолиза в опухолях при аэробных условиях известно как феномен Варбурга, при этом также значительно возрастает активность пентозофосфатного шунта. Пентозофосфатный шунт и гликолиз, особенно их первые звенья и регуляторный фермент 6-фосфофрукто-2-киназа/фруктозо-2,6-бисфосфатаза подвергаются влиянию сигнальных систем клетки, таких как циркадиальные часы, гипоксия-индуцирующий фактор и стресс эндоплазматического ретикулума, что позволяет онкотрансформированным клеткам адаптироваться к стрессовым факторам, в частности, ишемии и действию низкомолекулярных агентов. Проведен анализ влияния сигнальных систем на экспрессию генов ключевых ферментов гликолиза и пентозофосфатного шунта при нормальных условиях и при патологии. Исследовано значение этого влияния для выживания онкотрансформированных клеток в стрессовых условиях.*

*Ключевые слова: гексокиназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, экспрессия генов, стресс.*

REFERENCES

1. Irwin D. M., Tan H. Molecular evolution of the vertebrate hexokinase gene family: identification of a conserved fifth vertebrate hexokinase gene // *Comp. Biochem. Physiol. Part. D. Genomics Proteomics.*—2008.—3, N 1.—P. 96–107.
2. Murakami K., Kanno H., Tancabelic J., Fujii H. Gene expression and biological significance of hexokinase in erythroid cells // *Acta Haematol.*—2002.—108, N 4.—P. 204–209.
3. Murakami K., Kanno H., Miwa S., Piomelli S. Human HKR isozyme: organization of the hexokinase I gene, the erythroid-specific promoter, and transcription initiation site // *Mol. Genet. Metab.*—1999.—67, N 2.—P. 118–130.
4. Hantke J., Chandler D., King R., Wanders R. J., Angelicheva D., Tournev I., McNamara E., Kwa M., Guerguelcheva V., Kaneva R., Baas F., Kalaydjieva L. A mutation in an alternative untranslated exon of hexokinase 1 associated with hereditary motor and sensory neuropathy – Russe (HMSNR) // *Eur. J. Hum. Genet.*—2009.—17, N 12.—P. 1606–1614.
5. Marin-Hernandez A., Gallardo-Perez J. C., Ralph S. J., Rodriguez-Enriquez S., Moreno-Sanchez R. HIF-1 $\alpha$  modulates energy metabolism in cancer cells by inducing over-expression of specific glycolytic isoforms // *Mini Rev. Med. Chem.*—2009.—9, N 9.—P. 1084–1101.
6. de Vooght K. M., van Solinge W. W., van Wesel A. C., Kersting S., van Wijk R. First mutation in the red blood cell-specific promoter of hexokinase combined with a novel missense mutation causes hexokinase deficiency and mild chronic hemolysis // *Haematologica.*—2009.—94, N 9.—P. 1203–1210.

7. *de Vooght K. M., van Wijk R., van Oirschot B. A., Rijksen G., van Solinge W. W.* Pyruvate kinase regulatory element 1 (PKR-RE1) mediates hexokinase gene expression in K562 cells // *Blood Cells Mol. Dis.*—2005.—**34**, N 2.—P. 186–190.
8. *Heikkinen S., Suppola S., Malkki M., Deeb S. S., Janne J., Laakso M.* Mouse hexokinase II gene: structure, cDNA, promoter analysis, and expression pattern // *Mamm. Genome.*—2000.—**11**, N 2.—P. 91–96.
9. *Qiu M. Z., Han B., Luo H. Y., Zhou Z. W., Wang Z. Q., Wang F. H., Li Y. H., Xu R. H.* Expressions of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and hexokinase-II in gastric adenocarcinoma: the impact on prognosis and correlation to clinicopathologic features // *Tumour Biol.*—2011.—**32**, N 1.—P. 159–166.
10. *Peng Q., Zhou J., Zhou Q., Pan F., Zhong D., Liang H.* Silencing hexokinase II gene sensitizes human colon cancer cells to 5-fluorouracil // *Hepatogastroenterology.*—2009.—**56**, N 90.—P. 355–360.
11. *Kim J. W., Gao P., Liu Y. C., Semenza G. L., Dang C. V.* Hypoxia-inducible factor 1 and dysregulated c-Myc cooperatively induce vascular endothelial growth factor and metabolic switches hexokinase 2 and pyruvate dehydrogenase kinase 1 // *Mol. Cell Biol.*—2007.—**27**, N 21.—P. 7381–7393.
12. *Gosmain Y., Lefai E., Rysler S., Roques M., Vidal H.* Sterol regulatory element-binding protein-1 mediates the effect of insulin on hexokinase II gene expression in human muscle cells // *Diabetes.*—2004.—**53**, N 2.—P. 321–329.
13. *Yasuda S., Arii S., Mori A., Isobe N., Yang W., Oe H., Fujimoto A., Yonenaga Y., Sakashita H., Imamura M.* Hexokinase II and VEGF expression in liver tumors: correlation with hypoxia-inducible factor 1 alpha and its significance // *J. Hepatol.*—2004.—**40**, N 1.—P. 117–123.
14. *Gwak G. Y., Yoon J. H., Kim K. M., Lee H. S., Chung J. W., Gores G. J.* Hypoxia stimulates proliferation of human hepatoma cells through the induction of hexokinase II expression // *J. Hepatol.*—2005.—**42**, N 3.—P. 358–364.
15. *Haberkorn U., Hoffend J., Schmidt K., Altmann A., Bonaterra G. A., Dimitrakopoulou-Strauss A., Strauss L. G., Eisenhut M., Kinscherf R.* Changes in glucose metabolism and gene expression after transfer of anti-angiogenic genes in rat hepatoma // *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.*—2007.—**34**, N 12.—P. 2011–2023.
16. *Ando M., Uehara I., Kogure K., Asano Y., Nakajima W., Abe Y., Kawachi K., Tanaka N.* Interleukin 6 enhances glycolysis through expression of the glycolytic enzymes hexokinase 2 and 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase-3 // *J. Nippon Med. Sch.*—2010.—**77**, N 2.—P. 97–105.
17. *Colosimo A., Calabrese G., Gennarelli M., Ruzzo A. M., Sangiulio F., Magnani M., Palka G., Novelli G., Dallapiccola B.* Assignment of the hexokinase type 3 gene (HK3) to human chromosome band 5q35.3 by somatic cell hybrids and *in situ* hybridization // *Cytogenet. Cell. Genet.*—1996.—**74**, N 3.—P. 187–188.
18. *Furuta H., Nishi S., Le Beau M. M., Fernald A. A., Yano H., Bell G. I.* Sequence of human hexokinase III cDNA and assignment of the human hexokinase III gene (HK3) to chromosome band 5q35.2 by fluorescence *in situ* hybridization // *Genomics.*—1996.—**36**, N 1.—P. 206–209.
19. *Coerver K. A., Gray S. M., Barnes J. E., Armstrong D. L., McCabe E. R.* Developmental expression of hexokinase 1 and 3 in rats // *Histochem. Cell. Biol.*—1998.—**109**, N 1.—P. 75–86.
20. *Bos R., van Der Hoeven J. J., van Der Wall E., van Der Groep P., van Diest P. J., Comans E. F., Joshi U., Semenza G. L., Hoekstra O. S., Lammertsma A. A., Molthoff C. F.* Biologic correlates of (18) fluorodeoxyglucose uptake in human breast cancer measured by positron emission tomography // *J. Clin. Oncol.*—2002.—**20**, N 2.—P. 379–387.
21. *Fonteyne P., Casneuf V., Pauwels P., Van Damme N., Peeters M., Dierckx R., Van de Wiele C.* Expression of hexokinases and glucose transporters in treated and untreated oesophageal adenocarcinoma // *Histol. Histopathol.*—2009.—**24**, N 8.—P. 971–977.
22. *Sjoblom T., Jones S., Wood L. D., Parsons D. W., Lin J., Barber T. D., Mandelker D., Leary R. J., Ptak J., Silliman N., Szabo S., Buckhaults P., Farrell C., Meeh P., Markowitz S. D., Willis J., Dawson D., Willson J. K., Gazdar A. F., Hartigan J., Wu L., Liu C., Parmigiani G., Park B. H., Bachman K. E., Papadopoulos N., Vogelstein B., Kinzler K. W., Velculescu V. E.* The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers // *Science.*—2006.—**314**, N. 5797.—P. 268–274.
23. *Cardenas M. L., Cornish-Bowden A., Ureta T.* Evolution and regulatory role of the hexokinases // *Biochim. Biophys. Acta.*—1998.—**1401**, N 3.—P. 242–264.
24. *Tiedge M., Steffek H., Elsner M., Lenzen S.* Metabolic regulation, activity state, and intracellular binding of glucokinase in insulin-secreting cells // *Diabetes.*—1999.—**48**, N 3.—P. 514–523.
25. *Massa L., Baltrusch S., Okar D. A., Lange A. J., Lenzen S., Tiedge M.* Interaction of 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase (PFK-2/FBPase-2) with glucokinase activates glucose phosphorylation and glucose metabolism in insulin-producing cells // *Diabetes.*—2004.—**53**, N 4.—P. 1020–1029.
26. *Hirota K., Sakamaki J., Ishida J., Shimamoto Y., Nishihara S., Kodama N., Ohta K., Yamamoto M., Tanimoto K., Fukamizu A.* A combination of HNF-4 and Foxo1 is required for reciprocal transcriptional regulation of glucokinase and glucose-6-phosphatase genes in response to fasting and feeding // *J. Biol. Chem.*—2008.—**283**, N 47.—P. 32432–32441.
27. *Egea M., Meton I., Cordoba M., Fernandez F., Baanante I. V.* Role of Sp1 and SREBP-1a in the insulin-mediated regulation of glucokinase transcription in the liver of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) // *Gen. Comp. Endocrinol.*—2008.—**155**, N 2.—P. 359–367.
28. *Gasperikova D., Tribble N. D., Stanik J., Huckova M., Misovicova N., van de Bunt M., Valentinova L., Barrow B. A., Barak L., Dobransky R., Bereczkova E., Michalek J., Wicks K., Colclough K., Knight J. C., Ellard S., Klimes I., Gloyn A. L.* Identification of a novel beta-cell glucokinase (GCK) promoter mutation (-71 G > C) that modulates GCK gene expression through loss of allele-specific Sp1 binding causing mild fasting hyperglycemia in humans // *Diabetes.*—2009.—**58**, N 8.—P. 1929–1935.
29. *Zhu L. L., Liu Y., Cui A. F., Shao D., Liang J. C., Liu X. J., Chen Y., Gupta N., Fang F. D., Chang Y. S.* PGC-1 $\alpha$  coactivates estrogen-related receptor- $\alpha$  to induce the expression of glucokinase // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*—2010.—**298**, N 6.—E1210–1218.
30. *Wu C., Okar D. A., Newgard C. B., Lange A. J.* Overexpression of 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase in mouse liver lowers blood glucose by suppressing hepatic glucose production // *J. Clin. Invest.*—2001.—**107**, N 1.—P. 91–98.
31. *Magnuson M. A., Niswender K. D., Pettepher C. C.* Glucokinase gene expression and regulation // *Molecular Biology of Diabetes.*—Totowa: Yumana press, 1994.—Chapt. 7.—P. 155–174.
32. *Estalella I., Rica I., Perez de Nanclares G., Bilbao J. R., Vazquez J. A., San Pedro J. I., Busturia M. A., Castano L., Spanish MODY Group.* Mutations in GCK and HNF-1 $\alpha$  explain the majority of cases with clinical diagnosis of MODY in Spain // *Clin. Endocrinol. (Oxf).*—2007.—**67**, N 4.—P. 538–546.
33. *Gomez-Zumaquero J. M., Rojo-Martinez G., Garcia-Escobar E., Martin-Nunez G. M., Haro J., Esteva I., Ruiz de Adana M., Cuesta A. L., Oliveira G., Morcillo S., Soriguer F.* The -30 G > A poly-



- morphism of the glucokinase gene promoter is associated with obesity in a population from southern Spain // *Obesity* (Silver Spring).—2008.—**16**, N 8.—P. 1973–1975.
34. Garcia-Herrero C. M., Galan M., Vincent O., Flandez B., Garrallo M., Delgado-Alvarez E., Blazquez E., Navas M. A. Functional analysis of human glucokinase gene mutations causing MODY 2: exploring the regulatory mechanisms of glucokinase activity // *Diabetologia*.—2007.—**50**, N 2.—P. 325–333.
  35. Gloyn A. L., Noordam K., Willemsen M. A., Ellard S., Lam W. W., Campbell I. W., Midgley P., Shiota C., Buettger C., Magnuson M. A., Matschinsky F. M., Hattersley A. T. Insights into the biochemical and genetic basis of glucokinase activation from naturally occurring hypoglycemia mutations // *Diabetes*.—2003.—**52**, N 9.—P. 2433–2440.
  36. Tinto N., Zagari A., Capuano M., De Simone A., Capobianco V., Daniele G., Giugliano M., Spadaro R., Franzese A., Sacchetti L. Glucokinase gene mutations: structural and genotype-phenotype analyses in MODY children from south Italy // *PLoS ONE*.—2008.—**3**, N 4.—e1870.
  37. Bosco D., Meda P., Iynedjian P. B. Glucokinase and glucokinase regulatory protein: mutual dependence for nuclear localization // *Biochem. J.*—2000.—**348**, Pt 1.—P. 215–222.
  38. Chen X., Yue L., Li C. Li C. A novel G473A mutation in the glucose-6-phosphate dehydrogenase gene // *Pediatr. Blood Cancer*.—2010.—**55**, N 2.—P. 383–385.
  39. Al-Allawi N., Eissa A. A., Jubrael J. M., Jamal S. A., Hamamy H. Prevalence and molecular characterization of Glucose-6-Phosphate dehydrogenase deficient variants among the Kurdish population of Northern Iraq // *BMC Blood Disord*.—2010.—**10**—P. 6.
  40. Nourai M., Reading N. S., Campbell A., Minniti C. P., Rana S. R., Luchtman-Jones L., Kato G. J., Gladwin M. T., Castro O. L., Prchal J. T., Gordeuk V. R. Association of G6PD with lower haemoglobin concentration but not increased haemolysis in patients with sickle cell anaemia // *Br. J. Haematol*.—2010.—**150**, N 2.—P. 218–225.
  41. Rank K. B., Harris P. K., Ginsberg L. C., Stapleton S. R. Isolation and sequence of a rat glucose-6-phosphate dehydrogenase promoter // *Biochim. Biophys. Acta*—1994.—**1217**, N 1.—P. 90–92.
  42. Philippe M., Larondelle Y., Lemaigre F., Mariame B., Delhez H., Mason P., Luzzatto L., Rousseau G. G. Promoter function of the human glucose-6-phosphate dehydrogenase gene depends on two GC boxes that are cell specifically controlled // *Eur. J. Biochem*.—1994.—**226**, N 2.—P. 377–384.
  43. Zhong D. N., Gao Z. Y., Liu Y. N., Liu Y., Wei L. M. Relationship between glucose-6-phosphate dehydrogenase gene mutations and neonatal jaundice in Nanning, Guangxi // *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*.—2009.—**11**, N 12.—P. 970–972.
  44. Zhang Z., Liew C. W., Handy D. E., Zhang Y., Leopold J. A., Hu J., Guo L., Kulkarni R. N., Loscalzo J., Stanton R. C. High glucose inhibits glucose-6-phosphate dehydrogenase, leading to increased oxidative stress and  $\beta$ -cell apoptosis // *FASEB J.*—2010.—**24**, N 5.—P. 1497–1505.
  45. Manco L., Goncalves P., Macedo-Ribeiro S., Seabra C., Melo P., Ribeiro M. L. Two new glucose-6-phosphate dehydrogenase mutations causing chronic hemolysis // *Haematologica*.—2005.—**90**, N 8.—P. 1135–1136.
  46. San Millan J. L., Botella-Carretero J. I., Alvarez-Blasco F., Luque-Ramirez M., Sancho J., Moghetti P., Escobar-Morreale H. F. A study of the hexose-6-phosphate dehydrogenase gene *R453Q* and *11beta*-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 gene *83557insA* polymorphisms in the polycystic ovary syndrome // *J. Clin. Endocrinol. Metab*.—2005.—**90**, N 7.—P. 4157–4162.
  47. Hellani A., Al-Akoum S., Abu-Amero K. K. G6PD Mediterranean S188F codon mutation is common among Saudi sickle cell patients and increases the risk of stroke // *Genet. Test Mol. Biomarkers*.—2009.—**13**, N 4.—P. 449–452.
  48. Wagle A., Jivraj S., Garlock G. L., Stapleton S. R. Insulin regulation of glucose-6-phosphate dehydrogenase gene expression is rapamycin-sensitive and requires phosphatidylinositol 3-kinase // *J. Biol. Chem*.—1998.—**273**, N 24.—P. 14968–14974.
  49. Xu C., Chakravarty K., Kong X., Tuy T. T., Arinze I. J., Bone F., Massillon D. Several transcription factors are recruited to the glucose-6-phosphatase gene promoter in response to palmitate in rat hepatocytes and H4IIE cells // *J. Nutr*.—2007.—**137**, N 3.—P. 554–559.
  50. Valverde A. M., Benito M., Lorenzo M. Hormonal regulation of malic enzyme and glucose-6-phosphate-dehydrogenase expression in fetal brown-adipocyte primary cultures under non-proliferative conditions // *Eur. J. Biochem*.—1992.—**203**, N 1–2.—P. 313–319.
  51. Gao L., Mejias R., Echevarria M., Lopez-Barneo J. Induction of the glucose-6-phosphate dehydrogenase gene expression by chronic hypoxia in PC12 cells // *FEBS Lett*.—2004.—**569**, N 1–3.—P. 256–260.
  52. Amir-Ahmady B., Salati L. M. Regulation of the processing of glucose-6-phosphate dehydrogenase mRNA by nutritional status // *J. Biol. Chem*.—2001.—**276**, N 13.—P. 10514–10523.
  53. Doherty C. J., Kay S. A. Circadian control of global gene expression patterns // *Annu. Rev. Genet*.—2010.—**44**—P. 419–444.
  54. Siepka S. M., Yoo S. H., Park J., Lee C., Takahashi J. S. Genetics and neurobiology of circadian clocks in mammals // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol*.—2007.—**72**—P. 251–259.
  55. Panda S., Hogenesch J. B., Kay S. A. Circadian rhythms from flies to human // *Nature*.—2002.—**417**, N 6886.—P. 329–335.
  56. Hogenesch J. B., Gu Y. Z., Jain S., Bradfield C. A. The basic-helix-loop-helix-PAS orphan MOP3 forms transcriptionally active complexes with circadian and hypoxia factors // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*.—1998.—**95**, N 10.—P. 5474–5479.
  57. King D. P., Zhao Y., Sangoram A. M., Wilsbacher L. D., Tanaka M., Antoch M. P., Steeves T. D., Vitaterna M. H., Kornhauser J. M., Lowrey P. L., Turek F. W., Takahashi J. S. Positional cloning of the mouse circadian CLOCK gene // *Cell*.—1997.—**89**, N 4.—P. 641–653.
  58. Eide E. J., Vielhaber E. L., Hinz W. A., Virshup D. M. The circadian regulatory proteins BMAL1 and cryptochromes are substrates of casein kinase I epsilon // *J. Biol. Chem*.—2002.—**277**, N 19.—P. 17248–17254.
  59. Sanada K., Okano T., Fukada Y. Mitogen-activated protein kinase phosphorylates and negatively regulates basic helix-loop-helix-PAS transcription factor BMAL1 // *J. Biol. Chem*.—2002.—**277**, N 1.—P. 267–271.
  60. Marunych R., Minchenko D., Kuznetsova A., Minchenko O. Quotidian dynamics of *Clock*, *Bmal1* and *Per2* circadian genes expression in different rat tissues // *Bull. of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series Biology*.—2011.—**58**—P. 18–22.
  61. Semenza G. L. Oxygen-dependent regulation of mitochondrial respiration by hypoxia-inducible factor 1 // *Biochem. J.*—2007.—**405**, N 1.—P. 1–9.
  62. Teboul M., Barrat-Petit M. A., Li X. M., Claustrat B., Formento J. L., Delaunay F., Levi F., Milano G. Atypical patterns of circadian *CLOCK* gene expression in human peripheral blood mononuclear cells // *J. Mol. Med*.—2005.—**83**, N 9.—P. 693–699.
  63. Eide E. J., Woolf M. F., Kang H., Woolf P., Hurst W., Camacho F., Vielhaber E. L., Giovanni A., Virshup D. M. Control of mammalian circadian rhythm by CKI-epsilon-regulated proteasome-mediated PER2 degradation // *Mol. Cell. Biol*.—2005.—**25**, N 7.—P. 2795–2807.
  64. Okamura A., Iwata N., Tamekane A., Yakushijin K., Nishikawa S., Hamaguchi M., Fukui C., Yamamoto K., Matsui T. Casein kinase I $\epsilon$  down-regulates phospho-Akt via PTEN, following ge-

- notoxic stress-induced apoptosis in hematopoietic cells // *Life Sci.*—2006.—**78**, N 14.—P. 1624–1629.
65. Waddell D. S., Liberati N. T., Guo X., Frederick J. P., Wang X. F. Casein kinase I $\epsilon$  plays a functional role in the transforming growth factor- $\beta$  signaling pathway // *J. Biol. Chem.*—2004.—**279**, N 28.—P. 29236–29246.
  66. Inoue A., Muranaka S., Fujita H., Kanno T., Tamai H., Utsumi K. Molecular mechanism of diclofenac-induced apoptosis of promyelocytic leukemia: dependency on reactive oxygen species, Akt, Bid, cytochrome and caspase pathway // *Free Radic. Biol. Med.*—2004.—**37**, N 8.—P. 1290–1299.
  67. Wang W., El-Deiry W. S. Restoration of p53 to limit tumor growth // *Curr. Opin. Oncol.*—2008.—**20**, N 1.—P. 90–96.
  68. Meric-Bernstam F., Akcakanat A., Chen H., Do K. A., Sangai T., Adkins F., Gonzalez-Angulo A. M., Rashid A., Crosby K., Dong M., Phan A. T., Wolff R. A., Gupta S., Mills G. B., Yao J. PIK3CA/PTEN mutations and Akt activation as markers of sensitivity to allosteric mTOR inhibitors // *Clin. Cancer Res.*—2012.—**18**, N 6.—P. 1777–1789.
  69. Rutter J., Reick M., Wu L. C., McKnight S. L. Regulation of clock and NPAS2 DNA binding by the redox state of NAD cofactors // *Science.*—2001.—**293**, N 5529.—P. 510–514.
  70. Kondratov R. V., Chernov M. V., Kondratova A. A., Gorbacheva V. Y., Gudkov A. V., Antoch M. P. BMAL1-dependent circadian oscillation of nuclear CLOCK: posttranslational events induced by dimerization of transcriptional activators of the mammalian clock system // *Genes Dev.*—2003.—**17**, N 15.—P. 1921–1932.
  71. Yu W., Nomura M., Ikeda M. Interactivating feedback loops within the mammalian clock: BMAL1 is negatively autoregulated and upregulated by CRY1, CRY2 PER2 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*—2002.—**290**, N 3.—P. 933–941.
  72. Preitner N., Damiola F., Lopez-Molina L., Zakany J., Duboule D., Albrecht U., Schibler U. The orphan nuclear receptor REV-ERB $\alpha$  controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator // *Cell.*—2002.—**110**, N 2.—P. 251–260.
  73. Yagita K., Tamanini F., Yasuda M., Hoeijmakers J. H., van der Horst G. T., Okamura H. Nucleocytoplasmic shuttling and mCRY-dependent inhibition of ubiquitylation of the mPER2 clock protein // *EMBO J.*—2002.—**21**, N 6.—P. 1301–1314.
  74. Bunger M. K., Wilsbacher L. D., Moran S. M., Clendenin C., Radcliffe L. A., Hogenesch J. B., Simon M. C., Takahashi J. S., Bradfield C. A. Mop3 is an essential component of the master circadian pacemaker in mammals // *Cell.*—2000.—**103**, N 7.—P. 1009–1017.
  75. Loboda A., Kraft W. K., Fine B., Joseph J., Nebozhyn M., Zhang C., He Y., Yang X., Wright C., Morris M., Chalikonda I., Ferguson M., Emilsson V., Leonardson A., Lamb J., Dai H., Schadt E., Greenberg H. E., Lum P. Y. Diurnal variation of the human adipose transcriptome and the link to metabolic disease // *BMC Med. Genomics.*—2009.—**2**.—P. 7.
  76. Hirota T., Okano T., Kokame K., Shirotani-Ikejima H., Miyata T., Fukada Y. Glucose down-regulates Per1 and Per2 mRNA levels and induces circadian gene expression in cultured Rat-1 fibroblasts // *J. Biol. Chem.*—2002.—**277**, N 46.—P. 44244–44251.
  77. Yin L., Wu N., Lazar M. A. Nuclear receptor Rev-erba: a heme receptor that coordinates circadian rhythm and metabolism // *Nucl. Recept. Signal.*—2010.—**8**.—e8.
  78. Raspe E., Duez H., Mansen A., Fontaine C., Fievet C., Fruchart J. C., Vennstrom B., Staels B. Identification of Rev-erba as a physiological repressor of apoC-III gene transcription // *J. Lipid Res.*—2002.—**43**, N 12.—P. 2172–2179.
  79. Doi R., Oishi K., Ishida N. CLOCK regulates circadian rhythms of hepatic glycogen synthesis through transcriptional activation of Gys2 // *J. Biol. Chem.*—2010.—**285**, N 29.—P. 22114–22121.
  80. So A. Y., Bernal T. U., Pillsbury M. L., Yamamoto K. R., Feldman B. J. Glucocorticoid regulation of the circadian clock modulates glucose homeostasis // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.*—2009.—**106**, N 41.—P. 17582–17587.
  81. Kondratov R. V., Vykhovanets O., Kondratova A. A., Antoch M. P. Antioxidant N-acetyl-L-cysteine ameliorates symptoms of premature aging associated with the deficiency of the circadian protein BMAL1 // *Aging (Albany NY).*—2009.—**1**, N 12.—P. 979–987.
  82. Aragon T., van Anken E., Pincus D., Serafimova I. M., Korennykh A. V., Rubio C. A., Walter P. Messenger RNA targeting to endoplasmic reticulum stress signalling sites // *Nature.*—2009.—**457**, N 7230.—P. 736–740.
  83. Romero-Ramirez L., Cao H., Nelson D., Hammond E., Lee A. H., Yoshida H., Mori K., Glimcher L. H., Denko N. C., Giaccia A. J., Le Q. T., Koong A. C. XBP1 is essential for survival under hypoxic conditions and is required for tumor growth // *Cancer Res.*—2004.—**64**, N 17.—P. 5943–5947.
  84. Auf G., Jabouille A., Guerit S., Pineau R., Delugin M., Bouche-careilh M., Magnin N., Favereaux A., Maitre M., Gaiser T., von Deimling A., Czabanka M., Vajkoczy P., Chevet E., Bikfalvi A., Moenner M. Inositol-requiring enzyme 1 $\alpha$  is a key regulator of angiogenesis and invasion in malignant glioma // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.*—2010.—**107**, N 35.—P. 15553–15558.
  85. Moenner M., Pluquet O., Bouche-careilh M., Chevet E. Integrated endoplasmic reticulum stress responses in cancer // *Cancer Res.*—2007.—**67**, N 22.—P. 10631–10634.
  86. Minchenko D. O., Marunych R. Y., Khomenko E. V., Bakalets T. V., Minchenko O. H. Expression of hexokinase and 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase genes in ERN1 knockdown glioma U87 cells: effect of hypoxia and glutamine or glucose deprivation // *Stud. Biol.*—2011.—**5**, N 3.—P. 5–18.
  87. Minchenko A., Leshchinsky I., Opentanova I., Sang N., Srinivas V., Armstead V., Caro J. Hypoxia-inducible factor-1-mediated expression of the 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase-3 (PFKFB3) gene. Its possible role in the Warburg effect // *J. Biol. Chem.*—2002.—**277**, N 8.—P. 6183–6187.
  88. Minchenko O., Opentanova I., Minchenko D., Esumi H. Hypoxia induces transcription of 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase 4 gene via hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  activation // *FEBS Lett.*—2004.—**576**, N 1–2.—P. 14–20.
  89. Marunych R. Y., Minchenko D. O., Kubaichuk K. I., Bakalets T. V., Minchenko O. H. Effect of hypoxia and ischemia on the expression of phosphofructokinase-1 and lactate dehydrogenase genes in glioma U87 cells with ERN1 knockdown // *Physics Alive.*—2011.—**19**, N 1.—P. 50–62.

Received 07.02.13