

BAÚL DE LA CIENCIA

La búsqueda del sensor celular del oxígeno, un camino al Nobel

María del Carmen Marín Vieira

Laboratorio de Diferenciación Celular y Diseño de Modelos Celulares, Instituto de Biomedicina (IBIOMED), Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales, Universidad de León, León, España

Resumen

El premio Nobel de Medicina y Fisiología ha sido otorgado este año a los investigadores William Kaelin Jr., Sir Peter Ratcliffe y Gregg Semenza por descubrir los mecanismos moleculares mediante los cuales las células detectan los cambios en los niveles de oxígeno y se adaptan a ellos. Las células de un organismo requieren oxígeno para oxidar los nutrientes y generar energía. Sin embargo, los tejidos pueden verse temporalmente privados de oxígeno (hipoxia). Por ello, durante la evolución las células han adquirido mecanismos que les permiten detectar cambios en los niveles de oxígeno y responder a ellos adaptando el metabolismo celular. Estos procesos adaptativos son fundamentales durante el desarrollo embrionario y el mantenimiento de la homeostasis en adultos. Además, su desregulación juega un papel fundamental en el desarrollo de enfermedades como la diabetes, el ictus o el cáncer. En este artículo me centraré en el trabajo que realizó uno de los galardonados, William Kaelin, el cual fue mi jefe y mentor en mi etapa posdoctoral. El Dr. Kaelin descubrió los mecanismos subyacentes a la respuesta a hipoxia estudiando una enfermedad rara que se caracteriza por la aparición de tumores altamente vascularizados, el síndrome de Von Hippel-Lindau. En la actualidad, centra sus esfuerzos en el diseño de terapias dirigidas contra dianas múltiples que, usadas en combinación, permitan en un futuro curar enfermedades complejas como el cáncer.

Palabras clave: Hipoxia, oxígeno, Von Hippel-Lindau (VHL), HIF, hidroxilación, proteasoma, degradación proteica.

Los primeros años del científico

Aunque el Premio Nobel le ha sido concedido por su aportación al conocimiento del mecanismo celular de la respuesta adaptativa al oxígeno, denominada en inglés “oxygen sensing” (detección del oxígeno), un investigador de su nivel no se hace en unos pocos años y sería injusto no mencionar las demás aportaciones de William Kaelin al campo de la biología tumoral. Es profesor de medicina de la Universidad de Harvard e investigador en el Instituto Dana Farber, perteneciente a la Facultad de Medicina de la misma universidad. Desde el 1997 es

Forma de mencionar este artículo: Marín, M.C. 2019, La búsqueda del sensor celular del oxígeno, un camino al Nobel. *AmbioCiencias*, 17, 57-71. ISBN: 1998-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa). Depósito legal: LE-903-07.

investigador del Instituto Howard Hughes, en el 2007 fue elegido miembro de la Academia Nacional Americana de Medicina y en el 2010 miembro de la Academia Nacional de las Ciencias. A lo largo de su carrera le han otorgado premios tan prestigiosos como el Premio Lasker a la Investigación Médica, el premio de la Asociación Americana de Oncología Clínica y el Premio Princesa Takamatsu de la Asociación Americana para la Investigación del Cáncer. Pero para entender su forma de pensar hay que conocer su trayectoria científica. Es graduado en matemáticas y química por la Universidad de Duke, donde posteriormente se graduó en medicina. Tras realizar sus años de residencia en la Universidad de Johns Hopkins pasó a especializarse en oncología en el Instituto Dana Farber. Fue entonces cuando, pensando en dedicarse a la investigación, decidió formarse en el laboratorio de Dr. David Livingston especializándose en el estudio de genes supresores tumorales. Durante esta etapa su trabajo descifró uno de los nodos centrales de la regulación del ciclo celular: la interacción funcional entre la proteína retinoblastoma y el factor de transcripción E2F, (Chittenden *et al.*, 1991; Flemington *et al.*, 1993; Kaelin *et al.*, 1990; Kaelin *et al.*, 1992; Kaelin *et al.*, 1991).

El gen retinoblastoma (*RB1*) que codifica la proteína retinoblastoma (pRB) fue el primer gen supresor tumoral identificado. La inactivación de ambas copias de *RB1* es un evento necesario en la patogénesis del Retinoblastoma humano, un tumor maligno de células de la retina que puede ser hereditario, y un evento casi universal en la progresión de ciertos cánceres, como por el ejemplo el carcinoma de pulmón de células pequeñas, osteosarcomas o glioblastomas (Kaelin Jr, 1997). La proteína pRB es la responsable de mantener las células en quiescencia o reposo. Para que estas células puedan entrar en ciclo y dividirse se requiere la presencia de agentes pro-mitogénicos durante las fases iniciales hasta que se supera el llamado punto de restricción (R), tras el cual, las células estarán “obligadas” a entrar en fase S y duplicar su ADN (**Fig. 1 a**). Aunque la función de pRB se conocía, no así el mecanismo molecular por el que la llevaba a cabo. Los trabajos del Dr. Kaelin revelaron que la proteína pRB (hipofosforilada) mantenía a las células en quiescencia mediante su unión y represión al factor de transcripción E2F (**Fig. 1 b**). E2F, generalmente sobreexpresado en tumores, es necesario para inducir la expresión de los genes que codifican las proteínas que inducen la progresión del ciclo celular, las ciclinas A, E y B (Kaelin, 2003). La unión de factores mitogénicos a sus receptores celulares desencadena la activación de cascadas de señalización que desembocan en la expresión de la ciclina de la fase G1 (ciclina D). El complejo formado por la ciclina D unida a la kinasa dependientes de ciclina 4 (ciclina D-cdk4), fosforilarán a pRB, impidiendo esta modificación su unión y represión a E2F (**Fig. 1 c**). Una vez libre, E2F junto a su

cofactor DP serán capaces de transactivar múltiples genes diana, entre ellos los que codifican proteínas necesarias para la progresión del ciclo a la fase S, como por ejemplo los genes que codifican las ciclinas E y A. Además, E2F también es capaz de activar su propio promotor, generando un bucle de retroalimentación positiva que permitirá que, a partir del ese punto en la que se han alcanzado niveles suficientes de E2F, las células progresen a la fase S de duplicación del ADN, incluso en ausencia de señales externas de proliferación, pasándose así el punto de restricción R (Fig. 1 b, c). Este punto de control está frecuentemente alterado en células tumorales, expresando estas células altos niveles de E2F.

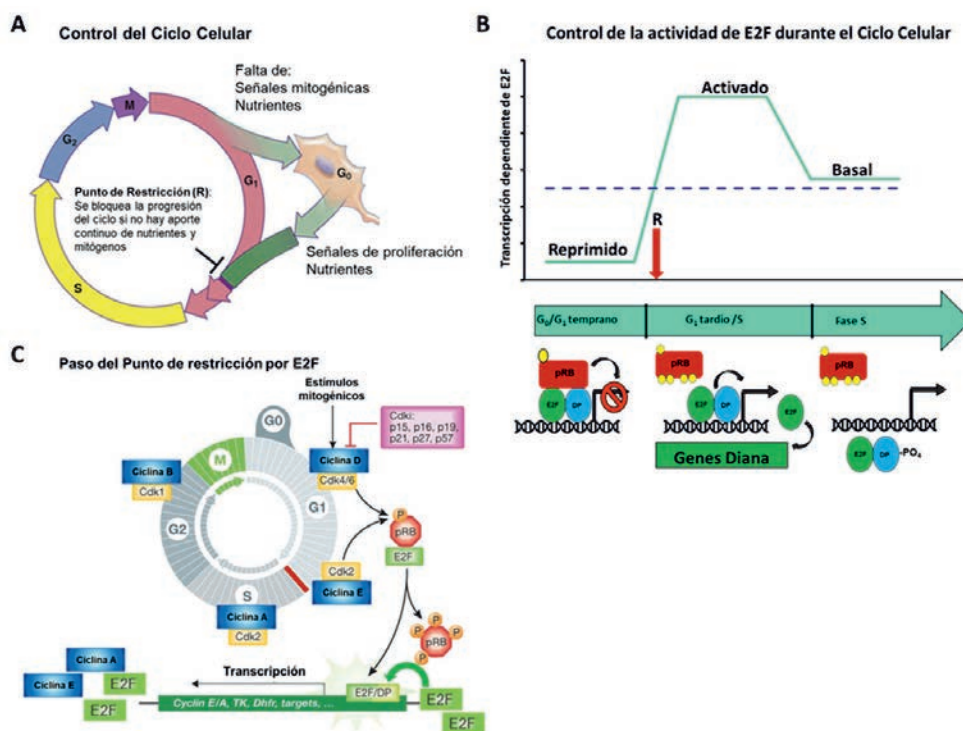


Figura 1. Control del ciclo celular por E2F y paso del punto de restricción (R).

Un laboratorio dedicado al estudio de genes supresores tumorales

Posteriormente, ya con su propio grupo de investigación, el Dr. Kaelin centró el trabajo de su laboratorio en el estudio de distintos genes supresores tumorales (GSTs). Los GST son genes involucrados en cáncer en los que es necesaria la inactivación de sus dos copias genómicas para que se manifieste un fenotipo tumoral. Como en el caso de *RB1*, los GST generalmente, pero no siempre, codifican proteínas que actúan como frenos del ciclo celular. Parte del laboratorio del Dr. Kaelin continuó estudiando los mecanismos que regulan a *RB1* y, sobre todo, la función de la sobreexpresión de E2F en tumores. Esto le llevo a otro des-

cubrimiento seminal, el hecho de que la sobreexpresión de E2F por encima de determinados niveles podía inducir muerte celular o apoptosis (Adams y Kaelin, 1996; Qin *et al.*, 1994). La relevancia de este descubrimiento estriba en que estas señales pro-apoptóticas, derivadas de la sobreexpresión de E2F, podrían sensibilizar a las células tumorales frente a quimioterapias convencionales. Surge así la idea de incorporar estrategias de modulación de E2F, junto con terapias anticancerígenas convencionales, utilizando pequeñas moléculas diseñadas para bloquear la interacción entre pRB y E2F. Esta idea de intentar paliar una enfermedad compleja, como es el cáncer, combinando múltiples terapias dirigidas frente a distintos reguladores de la progresión tumoral, no abandonó nunca al Dr. Kaelin y, como se verá más adelante, continúa siendo su objetivo a largo plazo.

Otra de las aportaciones excepcionales del Dr. Kaelin al campo de los GSTs, fue el ser pionero en la identificación y descripción del primer gen homólogo de *TP53*, el gen *TP73*. Identificado en 1970, el GST *TP53*, codifica el factor de transcripción p53 y es el gen más estudiado en la historia de la ciencia (Dolgin, 2017). Esto se debe a su función central en el mantenimiento de la estabilidad genómica, por lo que se le ha denominado el Guardián del Genoma (Lane, 1992). *TP53* se encuentra mutado en más del 50% de los cánceres humanos, pero incluso en aquellos en los que el gen no está mutado, la función de p53 suele estar inhibida (Kaelin, 1998). La función de p53 es fundamental en la respuesta a quimioterapia y mientras que los tumores con p53 mutado, responden peor a quimioterapia, la reintroducción de p53 funcional en células con p53-mutante induce la muerte celular, incrementado la sensibilidad a estos fármacos. Por ello, durante mucho tiempo se buscaron genes homólogos a *TP53* que pudiesen restaurar la función de p53 en células mutadas, pero los esfuerzos fueron infructuosos y se llegó a pensar que el gen *TP53* era único. Sin embargo, de manera totalmente fortuita, el Dr. Daniel Kaput encontró una secuencia génica con una gran homología con *TP53* y lo denominaron, *TP73* (Kaghad *et al.*, 1997). Sin embargo, a pesar de la homología estructural no existían datos que demostrasen que este gen codificaba una proteína expresada de forma natural en las células o si dicha proteína, de existir, era capaz de ejercer funciones semejantes las de p53. Estos experimentos, cruciales para el reconocimiento del nuevo gen como homólogo funcional de *TP53*, se llevaron a cabo en el grupo del Dr. Kaelin y fue en los que yo participé (Irwin *et al.*, 2000; Jost *et al.*, 1997; Marin *et al.*, 1998). Tal vez, lo más relevante fue la demostración de que parte de la ganancia de función de los mutantes de p53 se debe a su unión e inactivación de la proteína p73, siendo esta interacción

crucial y determinante para la sensibilidad a quimioterapia en tumores humanos (Irwin *et al.*, 2003; Marin *et al.*, 2000). En su conjunto, los trabajos del grupo del Dr. Kaelin en este nuevo gen sentaron las bases de lo que sería un nuevo campo: el del estudio de la familia de p53.

La enfermedad de Von Hippel-Lindau

Como oncólogo, al Dr. Kaelin le interesó la identificación de un gen supresor tumoral asociado con el desarrollo del carcinoma renal, uno de los 10 cánceres más frecuentes. Según sus palabras, “para avanzar en el conocimiento de la progresión tumoral hay que estudiar los cánceres más complejos y agresivos, como son los cánceres epiteliales”. Así decidió que el resto del laboratorio se centrara en estudiar un GST frecuentemente mutado en pacientes con un síndrome raro llamado de Von Hippel-Lindau (VHL). Esta enfermedad es un síndrome hereditario en el que los individuos afectados presentan una predisposición a desarrollar neoplasias benignas derivadas de los vasos sanguíneos denominadas hemangioblastomas (HB) en retina y en sistema nervioso central, así como feocromocitomas y carcinoma renal de células claras (CRCC). También es frecuente la aparición de quistes en diversos órganos como el páncreas o los riñones (Varshney *et al.*, 2017). El gen responsable de esta enfermedad es el GST *VHL*, el cual está localizado en el cromosoma 3p25 (Kaelin, 2007). Al igual que ocurre en otros cánceres hereditarios, como el retinoblastoma familiar, en las familias afectadas se detecta la transmisión germinal de un alelo mutado del GST y, para que se desarrolle la enfermedad, es necesaria la posterior inactivación somática del alelo restante. De manera semejante, la pérdida bialélica de *VHL*, por mutación somática o silenciamiento epigenético, es frecuente en el CRCC esporádico (80% de casos), el cáncer renal más frecuente (Kim y Kaelin, 2004; Shen y Kaelin, 2013).

Los GST clásicos, como *RB1*, *BRCA1*, suelen codificar proteínas que regulan el control del ciclo celular y suprimen el crecimiento de células tumorales en cultivo, o regulan los procesos de reparación genómica manteniendo la integridad genética, siendo denominados según su función en *Gatekeepers* (guardianes) o *Caretakers* (mantenedores), respectivamente (Ashworth *et al.*, 2011). Sin embargo, los primeros resultados obtenidos en el grupo sugerían que *VHL* no se acomodaba a estas definiciones. Cuando se reexpresaba *VHL* silvestre en células de CRCC carentes de él, no se afectaba su proliferación en cultivo, sin embargo, estas células no eran capaces de formar tumores en ratones inmunocomprometidos (Iliopoulos *et al.*, 1995). Estos datos iniciales sugerían que la función de *VHL* afectaba de alguna manera a las condiciones que se generaban durante la formación del tumor *in vivo* (Ohh *et al.*, 1998). Gracias a estos trabajos hoy

sabemos que el VHL corresponde a los GST denominados *Landscaper genes* o genes paisajistas, los cuales codifican proteínas cuya función reside en el mantenimiento de la homeostasis del microambiente, y su eliminación conduce a un microambiente transformante que afecta la proliferación celular en el tumor (Ashworth *et al.*, 2011).

Uno de los descubrimientos fundamentales para comprender la función de este gen, fue la observación de que los tumores asociados a la pérdida de VHL están altamente vascularizados, sugiriendo que la proteína codificada por este GST reprimía, de alguna manera, el proceso de la formación de vasos que irrigan al tumor, o angiogénesis tumoral (Gnarra *et al.*, 1996; Iliopoulos *et al.*, 1996; Siemeister *et al.*, 1996). El gen *VHL* codifica la proteína multifuncional pVHL (Kaelin, 2007). La estructura cristalizada de pVHL reveló que esta proteína consta de dos dominios independientes: el dominio- β de mayor tamaño y el dominio- α (**Fig. 2A**) (Stebbins *et al.*, 1999). El hecho de que las mutaciones inactivantes que se detectan en tumores afecten a ambos dominios, sugiere que ambos son necesarios para su función de supresión tumoral (**Fig. 2B**) (Bérout *et al.*, 1998; Stebbins *et al.*, 1999).

El trabajo de William Kaelin: La función de la proteína pVHL

Precisamente, ha sido la elucidación del mecanismo molecular mediante el cual pVHL regula la respuesta celular al oxígeno por lo que se le ha otorgado a William Kaelin el Premio Nobel. Para identificar la función de la proteína pVHL comenzaron por la identificación de las proteínas a las que se unía. Varios grupos simultáneamente demostraron que pVHL, a través del su dominio- α , se une a las elonguinas B y C (Duan *et al.*, 1995; Kibel *et al.*, 1995) (Figura 2a). Las elonguinas B y C forman parte, junto a la elonguina A, de un complejo de elongación transcripcional (Elonguina-SIII) encargado de facilitar la transcripción génica. Por ello, inicialmente se propuso que VHL podía competir en la formación de este complejo y ejercer su función de supresión tumoral mediante la inhibición de la transcripción de algún factor en particular.

Los primeros descubrimientos fundamentales para la identificación de los genes diana de pVHL y de su función real, salieron a la luz unos pocos años después de mi incorporación en el laboratorio. En aquella época varios grupos, incluido el nuestro, publicaron que los tumores carentes de VHL no solo estaban hiper vascularizados, pero además secretaban factores pro-angiogénicos, como el factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF), y, en algunos casos, presentaban altos niveles de eritropoyetina (EPO) (Berse *et al.*, 1992; Iliopoulos *et al.*, 1996; Witzmann-Voos *et al.*, 1995). Como veremos más adelante, tanto el

VEGF como la EPO son factores que se secretan en respuesta a bajos niveles de oxígeno o hipoxia. Un dato fundamental vino de la mano de Othon Iliopoulos, quien demostró que las células carentes de *VHL* producían altos niveles de mRNAs correspondientes a genes de respuesta a hipoxia, independientemente de los niveles de oxígeno en el cultivo (Iliopoulos *et al.*, 1996). Esta fue la primera vez que se hizo la conexión entre la función de pVHL y regulación de la respuesta a hipoxia, proponiéndose que pVHL llevaba a cabo una función necesaria en la respuesta a los niveles de oxígeno. De manera sorprendente, se constató que tanto la localización mayoritariamente citoplásmica de pVHL, como el hecho de que el efecto de pVHL sobre los mRNAs de genes de respuesta a hipoxia parecía ser postranscripcional, apoyaban un nuevo modelo en el que pVHL regulaba la estabilidad de estos mRNAs en vez de su transcripción (Kaelin, 1998). Esta teoría se vio apoyada por la demostración de que VHL forma parte de un complejo E3-ubiquitin ligasa formado por las elonguinas B y C, cullina 2 y la proteína “Ring-box” (Rbx1) (Kamura *et al.*, 1999; Lonergan *et al.*, 1998; Stebbins *et al.*, 1999) (**Fig. 2A**).

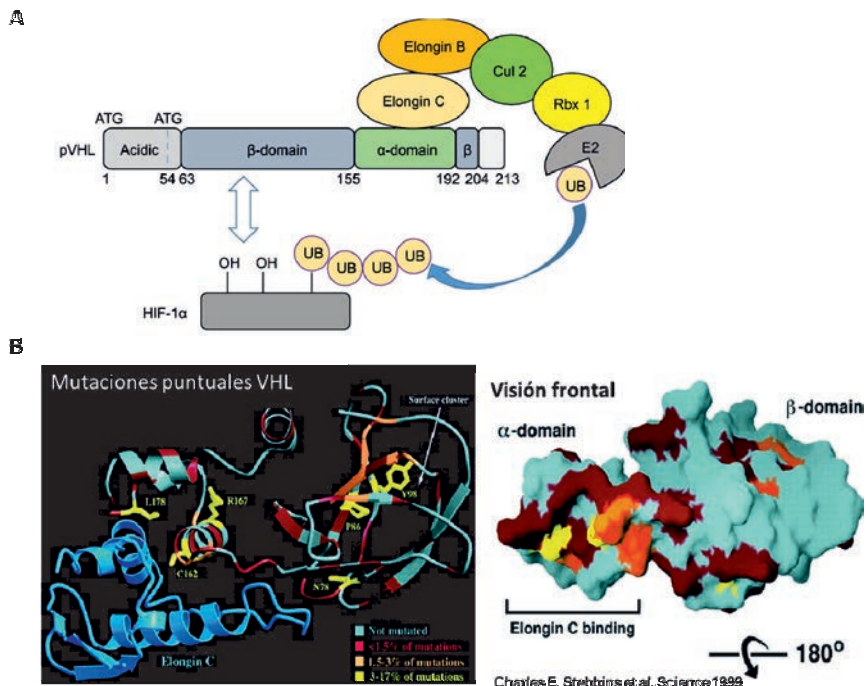


Figura 2. Proteína pVHL y las alteraciones frecuentes que aparecen en tumores. **A)** adaptado de Aki *et al.*, 2019, **B)** modificado de Stebbins *et al.*, 1999.

Faltaba entonces por identificar cuál era la diana regulada por este complejo y cuya desregulación resultaba en una predisposición a oncogénesis y progresión tumoral.

El mecanismo de respuesta al oxígeno: EPO, HIF y VHL

El oxígeno es esencial para la vida animal ya que es usado en la mitocondria para la producción de energía a través del metabolismo aeróbico. Este proceso enzimático fue descrito por Otto Warburg por lo que recibió el Nobel de Medicina en 1931. El oxígeno es transportado a los distintos órganos en la sangre donde está unido a la hemoglobina de manera reversible. Cada órgano tiene un consumo de oxígeno distinto que es proporcional a su índice metabólico (Patinha *et al.*, 2017). A pesar de ser esencial para la vida, los niveles de oxígeno deben ser regulados, ya que tanto su deficiencia (hipoxia) como su exceso (hiperoxia) son dañinos para el organismo. De hecho, patologías como el cáncer, la diabetes, la hipertensión, la enfermedad renal crónica o el infarto presentan niveles deficientes de oxigenación de los tejidos (Patinha *et al.*, 2017). Por ello, durante la evolución se han seleccionado mecanismos que aseguren el adecuado suministro de oxígeno a los distintos órganos. Ya en 1938 se otorgó el Nobel a Corneille Heymans por descubrir cómo el cuerpo carotídeo detecta los niveles de oxígeno en sangre y controla el ritmo respiratorio mediante una señalización directa al cerebro.

Cuando se alcanzan niveles críticos de oxígeno, cualquier incremento en el consumo o disminución en la entrega de oxígeno, lleva a condiciones hipóxicas en el tejido. La hipoxia representa una reducción parcial de oxígeno y desoxigenación del tejido que dispara una serie de respuestas fisiológicas para recuperar los niveles. Además del control adaptativo regulado por el cuerpo carotídeo otros mecanismos moleculares son activados durante la respuesta a hipoxia. En adultos el mecanismo fundamental de esta respuesta adaptativa es el incremento de los niveles de la hormona EPO secretados en adultos por fibroblastos intersticiales de los riñones, y en menor medida por los hepatocitos (Wang y Semenza, 1996). La EPO va al torrente sanguíneo e induce la producción de nuevos glóbulos rojos (eritropoyesis) en la médula ósea encargados de restablecer los niveles de oxígeno en los tejidos (Fig. 3A).

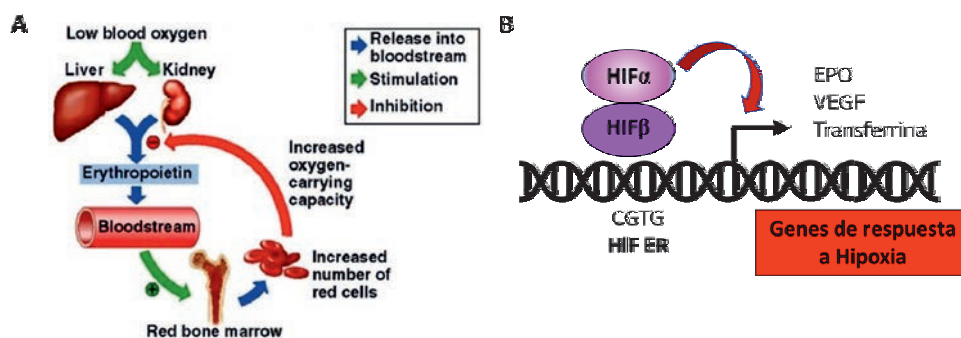


Figura 3. Componentes de la respuesta celular a hipoxia: eritropoyetina y HIF.

En los años 90 los estudios de Gregg Semenza y Sir Peter Ratcliffe elucidaron el mecanismo molecular de la regulación del gen de la EPO en respuesta al oxígeno. Estos trabajos identificaron una región *enhancer* en el promotor de este gen a la que se unía, en respuesta a hipoxia, un factor de transcripción el cual denominó factor de transcripción inducible por hipoxia o HIF1 (Firth *et al.*, 1995; Jiang *et al.*, 1996; Wang y Semenza, 1993). HIF1 es el factor de transcripción encargado de activar los genes de respuesta a hipoxia. Como se muestra en la **Fig. 3B**, HIF1 es un heterodímero constituido por subunidades alfa (HIF1 α o HIF2 α) y beta (HIF1 β) que se unen a secuencias específicas (elementos de respuesta de HIF, HIF-ER) en los promotores de sus genes diana. Se sabía que mientras que las subunidades beta eran estables, las subunidades alfa eran degradadas rápidamente en presencia de oxígeno, pero se desconocía el mecanismo de esta degradación.

La clave final está en el oxígeno

Es en este punto cuando se cruzan estas investigaciones y la pieza de unión del puzzle la encontró Michel Ohh en el laboratorio de William Kaelin, quien a la vez que el grupo del Dr. Ratcliffe, demostró que pVHL, a través de su dominio- β , se unía directamente a HIF1 α induciendo su ubiquitinación y así marcándolo para su degradación por el sistema del Proteasoma celular (**Fig. 2A**) (Cockman *et al.*, 2000; Ohh *et al.*, 2000). Sin embargo, aún se desconocía la señal que regulaba el reconocimiento y degradación de HIF1 α , ¿Cuál era el sensor del oxígeno? ¿Por qué pVHL degrada a HIF1 α en condiciones de normoxia, pero no en hipoxia?

Unos años después Mirsha Ivan, en el laboratorio de William Kaelin y simultáneamente el grupo del Dr. Ratcliffe, descubrieron que la clave estaba en el oxígeno. Estos investigadores identificaron dos residuos de prolina, altamente conservados en HIF1 α , que eran modificados químicamente por una hidroxilación únicamente en presencia de oxígeno (normoxia) (Ivan *et al.*, 2001; Jaakkola *et al.*, 2001; Masson *et al.*, 2001; Yu *et al.*, 2001). Mirsha identificó la enzima que lleva a cabo esta modificación y que funcionaba únicamente en presencia de oxígeno: la 2-oxoglutarato (2OG)-dependiente dioxygenasa denominada EGLN o PDH (*Prolyl Hydroxylase Domain-Containing Protein*) (Ivan *et al.*, 2002). Los residuos de prolina hidroxilados en HIF1 α generan sitios de unión de alta afinidad para el complejo VHL-E3 ubiquitin ligasa/EL-B/EL-C/Cul2, que ubiquitará HIF1 α marcándola para su degradación (**Fig. 4**).

De esta manera, con niveles críticos de oxígeno, PDH no es activa por lo que pVHL no se unirá a HIF1 α , el cual se podrá acumular y unirse a HIF1 β , para

transactivar genes diana de respuesta a hipoxia. En consecuencia, se desencadenará la expresión de EPO y la consecuente eritropoyesis, la expresión de factores pro-angiogénicos generándose nuevos vasos sanguíneos y se activará el metabolismo celular (Fig. 4).

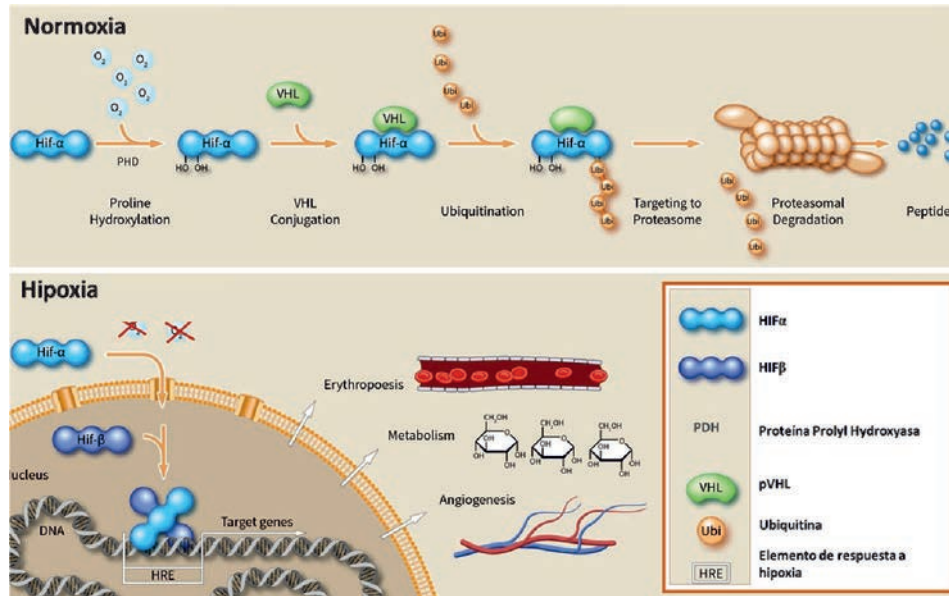


Figura 4. Mecanismo de detección de oxígeno y respuesta celular.

En su conjunto, el trabajo de los tres galardonados ha permitido entender el mecanismo de detección de los niveles de oxígeno y la respuesta adaptativa implicado en múltiples procesos fisiológicos como la regulación del metabolismo, el ejercicio, el desarrollo embrionario o la adaptación a la altura y sienta las bases para entender la desregulación de la detección de oxígeno asociada a diversas patologías (como la anemia, el cáncer, el ictus o el infarto).

Una celebración y la misión futura

Para el Dr. Kaelin estos estudios son la demostración de que, para que los avances científicos se puedan trasladar a los pacientes es fundamental que los investigadores hagan ciencia básica de calidad, lo cual permitirá comprender en profundidad los mecanismos que gobiernan la fisiología, y por ende la patología, de los procesos que queremos intervenir, en vez de enfocarse en cuestiones “vendibles” o “patentables”. En sus palabras: *“Rather than focusing on timelines, deliverables, and impact, as engineers would, we need to let the scientists be scientists and the engineers be engineers.”*

Fiel a su forma de hacer ciencia, al preguntarle: ¿cuál es tu nuevo objetivo después de este premio? Contesta que se centrará en demostrar que la combinación de múltiples terapias dirigidas puede curar una enfermedad compleja como

el cáncer. Se dedicará a la identificación de fármacos que puedan manipular los mecanismos de respuesta a oxígeno para restaurar la función de pVHL en su ausencia y ser usados en el tratamiento contra esta enfermedad en combinación con otras terapias.

Hace dos años todos los postdoctorales de Bill nos juntamos para celebrar su 60 cumpleaños y los 25 años de su laboratorio. La reunión la llamamos *The Kaelin Legacy*, y pocos nos imaginamos, incluido el Dr. Livingston su antiguo mentor, que ese legado iba a ser el premio Nobel de Medicina (**Fig. 5A**). Hace dos semanas nos hemos vuelto a juntar para celebrar este premio (**Fig. 5B**), que, aunque haya sido dado por los descubrimientos en la detección de oxígeno, realmente refleja una trayectoria científica de un largo y fructífero camino hacia el Nobel.



Figura 5. El legado de William Kaelin: Bill Kaelin, David Livingston, parte de su grupo de investigación y la autora.

Bigliografía

- Adams, P.D. y Kaelin, W.G. 1996. The Cellular Effects of E2F Overexpression. In *Transcriptional Control of Cell Growth: The E2F Gene Family*, P.J. Farnham, ed. (Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg), 79-93
- Ashworth, A., Lord, Christopher, J. y Reis-Filho, JorgeS. 2011. Genetic Interactions in Cancer Progression and Treatment. *Cell* 145:30-38
- Bérourd, C., Joly, D., Gallou, C., Staroz, F., Orfanelli, M.T. y Junien, C. 1998. Software and database for the analysis of mutations in the VHL gene. *Nucleic Acids Research* 26:256-258
- Berse, B., Brown, L.F., Van de Water, L., Dvorak, H.F. y Senger, D.R. 1992. Vascular

- permeability factor (vascular endothelial growth factor) gene is expressed differentially in normal tissues, macrophages, and tumors. *Molecular Biology of the Cell* 3:211-220
- Chittenden, T., Livingston, D.M. y Kaelin, W.G. 1991. The T/E1A-binding domain of the retinoblastoma product can interact selectively with a sequence-specific DNA-binding protein. *Cell* 65:1073-1082
- Cockman, M.E., Masson, N., Mole, D.R., Jaakkola, P., Chang, G.-W., Clifford, S.C., Maher, E.R., Pugh, C.W., Ratcliffe, P.J. y Maxwell, P.H. 2000. Hypoxia Inducible Factor- α Binding and Ubiquitylation by the von Hippel-Lindau Tumor Suppressor Protein. *Journal of Biological Chemistry* 275:25733-25741
- Dolgin, E. 2017. DNA's secret weapon against knots and tangles. *Nature* 544: 284-286
- Duan, D.R., Pause, A., Burgess, W.H., Aso, T., Chen, D.Y., Garrett, K.P., Conaway, R.C., Conaway, J.W., Linehan, W.M. y Klausner, R.D. 1995. Inhibition of transcription elongation by the VHL tumor suppressor protein. *Science* 269:1402
- Firth, J.D., Ebert, B.L. y Ratcliffe, P.J. 1995. Hypoxic Regulation of Lactate Dehydrogenase A: INTERACTION BETWEEN HYPOXIA-INDUCIBLE FACTOR 1 AND cAMP RESPONSE ELEMENTS. *Journal of Biological Chemistry* 270:21021-21027
- Flemington, E.K., Speck, S.H. y Kaelin, W.G. 1993. E2F-1-mediated transactivation is inhibited by complex formation with the retinoblastoma susceptibility gene product. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90:6914
- Gnarra, J.R., Zhou, S., Merrill, M.J., Wagner, J.R., Krumm, A., Papavassiliou, E., Oldfield, E.H., Klausner, R.D. y Linehan, W.M. 1996. Post-transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor mRNA by the product of the VHL tumor suppressor gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 93:10589-10594
- Iliopoulos, O., Kibel, A., Gray, S. y Kaelin, W.G. 1995. Tumour suppression by the human von Hippel-Lindau gene product. *Nature Medicine* 1:822-826
- Iliopoulos, O., Levy, A.P., Jiang, C., Kaelin, W.G., Jr. y Goldberg, M.A. 1996. Negative regulation of hypoxia-inducible genes by the von Hippel-Lindau protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 93:10595-10599
- Irwin, M., Marin, M.C., Phillips, A.C., Seelan, R.S., Smith, D.I., Liu, W., Flores, E.R., Tsai, K.Y., Jacks, T., Vousden, K.H., *et al.* 2000. Role for the p53 homologue p73 in E2F-1-induced apoptosis. *Nature* 407:645-648
- Irwin, M.S., Kondo, K., Marin, M.C., Cheng, L.S., Hahn, W.C., y Kaelin, W.G. 2003. Chemosensitivity linked to p73 function. *Cancer Cell* 3:403-410
- Ivan, M., Haberberger, T., Gervasi, D.C., Michelson, K.S., Günzler, V., Kondo, K., Yang, H., Sorokina, I., Conaway, R.C., Conaway, J.W., *et al.* 2002. Biochemical purification and pharmacological inhibition of a mammalian prolyl hydroxylase acting on hypoxia-inducible factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 99:13459-13464

- Ivan, M., Kondo, K., Yang, H., Kim, W., Valiando, J., Ohh, M., Salic, A., Asara, J.M., Lane, W.S. y Kaelin Jr, W.G. 2001. HIF α Targeted for VHL-Mediated Destruction by Proline Hydroxylation: Implications for O₂ Sensing. *Science* 292,464
- Jaakkola, P., Mole, D.R., Tian, Y.-M., Wilson, M.I., Gielbert, J., Gaskell, S.J., Kriegsheim, A.v., Hebestreit, H.F., Mukherji, M., Schofield, C.J., *et al.* 2001. Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau Ubiquitylation Complex by O₂-Regulated Prolyl Hydroxylation. *Science* 292,468
- iang, B.-H., Rue, E., Wang, G.L., Roe, R., y Semenza, G.L. 1996. Dimerization, DNA Binding, and Transactivation Properties of Hypoxia-inducible Factor 1. *Journal of Biological Chemistry* 271:17771-17778
- Jost, C.A., Marin, M.C. y Jr, W.G.K. 1997. p73 is a human p53-related protein that can induce apoptosis. *Nature* 389:191-194
- Kaelin Jr, W.G. 1997. Alterations in G1/S Cell-Cycle Control Contributing to Carcinogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 833:29-33
- Kaelin, J.W.G. 2003. E2F1 as a Target: Promoter-Driven Suicide and Small Molecule Modulators. *Cancer Biology & Therapy* 2:47-53
- Kaelin, W.G. 1998. Another p53 Doppelgänger? *Science* 281:57
- Kaelin, W.G. 2007. von Hippel-Lindau Disease. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* 2:145-173
- Kaelin, W.G., Ewen, M.E. y Livingston, D.M. 1990. Definition of the minimal simian virus 40 large T antigen- and adenovirus E1A-binding domain in the retinoblastoma gene product. *Molecular and Cellular Biology* 10:3761
- Kaelin, W.G., Krek, W., Sellers, W.R., DeCaprio, J.A., Ajchenbaum, F., Fuchs, C.S., Chittenden, T., Li, Y., Farnham, P.J., Blanas, M.A., *et al.* 1992. Expression cloning of a cDNA encoding a retinoblastoma-binding protein with E2F-like properties. *Cell* 70:351-364
- Kaelin, W.G., Pallas, D.C., DeCaprio, J.A., Kaye, F.J. y Livingston, D.M. 1991. Identification of cellular proteins that can interact specifically with the T/ElA-binding region of the retinoblastoma gene product. *Cell* 64:521-532
- Kaghad, M., Bonnet, H., Yang, A., Creancier, L., Biscan, J.-C., Valent, A., Minty, A., Chalon, P., Lelias, J.-M., Dumont, X., *et al.* 1997. Monoallelically Expressed Gene Related to p53 at 1p36, a Region Frequently Deleted in Neuroblastoma and Other Human Cancers. *Cell* 90:809-819
- Kamura, T., Koepp, D.M., Conrad, M.N., Skowyra, D., Moreland, R.J., Iliopoulos, O., Lane, W.S., Kaelin, W.G., Elledge, S.J., Conaway, R.C., *et al.* 1999. Rbx1, a Component of the VHL Tumor Suppressor Complex and SCF Ubiquitin Ligase. *Science* 284:657
- Kibel, A., Iliopoulos, O., DeCaprio, J.A. y Kaelin, W.G. 1995. Binding of the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein to Elongin B and C. *Science* 269:1444
- Kim, W.Y. y Kaelin, W.G. 2004. Role of VHL Gene Mutation in Human Cancer. *Journal of Clinical Oncology* 22:4991-5004

- Lane, D.P. 1992. p53, guardian of the genome. *Nature* 358:15-16
- Lonergan, K.M., Iliopoulos, O., Ohh, M., Kamura, T., Conaway, R.C., Conaway, J.W. y Kaelin, W.G. 1998. Regulation of Hypoxia-Inducible mRNAs by the von Hippel-Lindau Tumor Suppressor Protein Requires Binding to Complexes Containing Elongins B/C and Cul2. *Molecular and Cellular Biology* 18:732
- Marin, M.C., Jost, C.A., Brooks, L.A., Irwin, M.S., O'Nions, J., Tidy, J.A., James, N., McGregor, J.M., Harwood, C.A., Yulug, I.G., et al. 2000. A common polymorphism acts as an intragenic modifier of mutant p53 behaviour. *Nature Genetics* 25:47-54
- Marin, M.C., Jost, C.A., Irwin, M.S., DeCaprio, J.A., Caput, D. y Kaelin, W.G., Jr. 1998. Viral oncoproteins discriminate between p53 and the p53 homolog p73. *Molecular and cellular biology* 18:6316-6324
- Masson, N., Willam, C., Maxwell, P.H., Pugh, C.W. y Ratcliffe, P.J. 2001. Independent function of two destruction domains in hypoxia-inducible factor-alpha chains activated by prolyl hydroxylation. *EMBO Journal* 20:5197-5206
- Ohh, M., Park, C., Ivan, M., Hoffman, M., Kim, T.Y., Huang, L., Pavletich, N., Chau, V. y Kaelin, W. 2000. Ubiquitination of hypoxia-inducible factor requires direct binding to the β -domain of the von Hippel Lindau protein. *Nature cell biology* 2:423-427
- Ohh, M., Yauch, R.L., Lonergan, K.M., Whaley, J.M., Stemmer-Rachamimov, A.O., Louis, D.N., Gavin, B.J., Kley, N., Kaelin, W.G. e Iliopoulos, O. 1998. The von Hippel-Lindau Tumor Suppressor Protein Is Required for Proper Assembly of an Extracellular Fibronectin Matrix. *Molecular Cell* 1:959-968
- Patinha, D., Pijacka, W., Paton, J.F.R. y Koeners, M.P. 2017. Cooperative Oxygen Sensing by the Kidney and Carotid Body in Blood Pressure Control. *Frontiers in Physiology* 8:752
- Qin, X.Q., Livingston, D.M., Kaelin, W.G. y Adams, P.D. 1994. Deregulated transcription factor E2F-1 expression leads to S-phase entry and p53-mediated apoptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91:10918
- Shen, C. y Kaelin, W.G. 2013. The VHL/HIF axis in clear cell renal carcinoma. *Seminars in Cancer Biology* 23:18-25
- Siemeister, G., Weindel, K., Mohrs, K., Barleon, B., Martiny-Baron, G. y Marmé, D. 1996. Reversion of Deregulated Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Human Renal Carcinoma Cells by von Hippel-Lindau Tumor Suppressor Protein. *Cancer Research* 56:2299
- Stebbins, C.E., Kaelin, W.G. y Pavletich, N.P. 1999. Structure of the VHL-ElonginC-ElonginB Complex: Implications for VHL Tumor Suppressor Function. *Science* 284, 455
- Varshney, N., Kebede, A.A., Owusu-Dapaah, H., Lather, J., Kaushik, M. y Bhullar, J.S. 2017. A Review of Von Hippel-Lindau Syndrome. *Journal of Kidney Cancer VHL* 4:20-29
- Wang, G.L. y Semenza, G.L. 1993. Characterization of hypoxia-inducible factor 1 and



regulation of DNA binding activity by hypoxia. *Journal of Biological Chemistry* 268:21513-21518

Wang, G.L. y Semenza, G.L. 1996. Molecular basis of hypoxia-induced erythropoietin expression. *Current Opinion in Hematology* 3

Wizigmann-Voos, S., Breier, G., Risau, W. y Plate, K. 1995. Up-Regulation of Vascular Endothelial Growth Factor and Its Receptors in von Hippel-Lindau Disease-associated and Sporadic Hemangioblastomas. *Cancer Research* 55:1358-1364

Yu, F., White, S.B., Zhao, Q. y Lee, F.S. 2001. HIF-1 α binding to VHL is regulated by stimulus-sensitive proline hydroxylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98:9630