



УДК 576.32.36 + 616 – 006.6 + 577.17

НОВІ МЕХАНІЗМИ У ДІЇ ЕКСТРЕМАЛЬНИХ ЧИННИКІВ: РОЛЬ ТРАНСФОРМУЮЧОГО ФАКТОРА РОСТУ БЕТА-ТИПУ

Р. С. Стойка

*Інститут біології клітини НАН України
вул. Драгоманова, 14-16, Львів 79005, Україна
e-mail: stoika@cellbiol.lviv.ua*

У статті наведено результати, отримані протягом останніх років співробітниками відділу, керованого автором, а також узагальнено дані літератури щодо ролі трансформуючого фактора росту бета-типу в механізмах дії на організм тварин і людини екстремальних чинників різної природи – хімічних, фізичних, механічних, патобіологічних. Показано, що такі чинники стимулюють клітини ссавців до продукції цього цитокіна, який слугує інгібітором росту й індуктором апоптозу клітин епітеліального походження і більшості імунокомпетентних клітин. Продемонстровано, у який спосіб клітини пухлин здатні набувати резистентності до дії даного цитокіна, уникаючи його пригнічувального впливу.

Ключові слова: екстремальні чинники, трансформуючий фактор росту бета-типу, пухлинні клітини, імунокомпетентні клітини, механізми, резистентність.

NOVEL MECHANISMS FOR ACTION OF EXTREMAL AGENTS: THE ROLE OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR TYPE BETA

R. S. Stoika

*Institute of Cell Biology, NAS of Ukraine
14-16, Drahomanov St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: stoika@cellbiol.lviv.ua*

The article summarizes the results obtained during the last years at the Department headed by the article author, as well as literature data, on the role of transforming growth factor type beta in the action towards animal and human organisms of extremal agents of different nature – chemical, physical, mechanical, pathobiological.

It is demonstrated that those agents can stimulate the mammalian cells to production of that cytokine which acts as growth inhibitor and apoptosis inducer for cells of epithelial origin and for most immunocompetent cells. The mechanisms used by tumor cells to achieve their resistance to the effect of this cytokine, that can help them to escape of its inhibitory action, are described.

Key words: extremal agents, transforming growth factor type beta, tumor cells, immunocompetent cells, mechanisms, resistance.

ВСТУП

Стрес – це сума біологічних реакцій організму на дію певних екстремальних чинників – фізичних, хімічних, психічних чи емоційних, зовнішніх чи внутрішніх, – що спрямовані на порушення гомеостазу в організмі [1]. Якщо компенсаторні реакції, які протидіють стресу, є недостатніми чи невідповідними, – це може призвести до суттєвих розладів в організмі. Механізми дії екстремальних (стресових) чинників, які тривалий час досліджувалися переважно на рівні організму, в останні десятиліття вивчаються також на клітинно-молекулярному рівні. Встановлено, що різні за природою екстремальні чинники можуть використовувати універсальні механізми для реалізації своєї дії на клітинному рівні, а також для забезпечення гомеостазу в тканині або органі, що порушується при дії того чи іншого чинника.

Якщо раніше при дослідженні дії стресових чинників головну увагу звертали на нейрогуморальні механізми, які функціонують за умов цілісного організму, то в останні десятиліття все більше уваги приділяють ролі цитокінів – поліпептидних біорегуляторів, які забезпечують збереження клітинного гомеостазу в тканинах і органах [2]. Саме цитокіни швидко утворюються клітинами у відповідь на різні стимули і здатні впливати на клітини, використовуючи при цьому паракринні та/чи аутокринні механізми дії. Відомо, що деякі цитокіни діють на організм системно, оскільки вони можуть продукуватися багатьма типами клітин, і їхніми мішенями слугують клітини більшості тканин і органів. До таких цитокінів можна зарахувати трансформуючий фактор росту бета-типу (ТФР- β), який утворюється практично усіма клітинами організму і до якого усі ці клітини мають специфічні рецептори [3]. Щоб уникнути „несанкціонованої” організмом дії ТФР- β , даний біорегулятор переважно існує у латентному стані, у комплексі зі спеціальними „маскувальними” білками [4]. Фізіологічні механізми вивільнення ТФР- β з таких біологічно неактивних комплексів до кінця не з'ясовані, хоча відомо, що умови дуже низького чи високого значення рН мікросередовища, а також деякі протеази суттєво прискорюють вивільнення активної форми даного цитокіна.

В оглядовій статті наведено дані, які свідчать на користь важливої ролі ТФР- β у механізмах дії в організмі тварин і людини екстремальних чинників різної природи – хімічних, фізичних, механічних, патобіологічних. Коротко охарактеризовано фізико-хімічні та біологічні властивості ТФР- β , які можуть сприяти виконанню цим цитокіном ролі посередника в дії різноманітних стресових чинників. Зокрема, продемонстровано здійснення ТФР- β такої ролі під час оксидативного, гіпоксичного та механічного стресів. У статті також пояснено, яким чином клітини злоякісних пухлин здатні уникати пригнічувальної дії ТФР- β , тоді як для переважної

більшості клітин епітеліального походження, а також для клітин імунної системи, ТФР- β слугує інгібітором росту та/чи індуктором апоптозу [3, 4]. У заключній частині статті проаналізовано перспективи практичного застосування результатів досліджень із цієї проблематики.

1. Роль апоптозу у механізмах дії екстремальних чинників на клітини ссавців

Згідно зі сучасними уявленнями, відмирання є генетично запрограмованою подією в існуванні клітин тканин і органів тварин та людини. Доведено, що клітини гинуть не лише за дії патологічних чинників, але й за фізіологічних умов, наприклад, у період морфогенезу в ембріоні та в тканинах і органах дорослого організму, зокрема під час їхньої атрофії після втрати ними спеціалізованих функцій, наприклад, у репродуктивних органах ссавців, а також під час виникнення та функціонування імунокомпетентних клітин [5]. Розрізняють два основні типи загибелі клітин – апоптоз і некроз. Якщо у першому випадку клітина бере активну участь у процесах самознищення, то у другому ці процеси більшою мірою залежать від дії зовнішньоклітинних патологічних чинників.

Характерними цитоморфологічними ознаками апоптозу є агрегація хроматину, конденсація ядра і цитоплазми, фрагментація клітини на оточені плазматичною мембраною везикули, що містять частини апоптичної клітини. Такі апоптичні тільця швидко фагоцитуються макрофагами чи сусідніми епітеліальними клітинами і тому усунення з організму клітин шляхом апоптозу відбувається без характерних ознак запального процесу. На відміну від апоптозу, некроз супроводжується набряком клітини, руйнуванням цілісності її плазматичної мембрани та витіканням цитоплазми з клітин у позаклітинне середовище, що індукує розвиток запального процесу та подальші патологічні зміни у тканинах, в яких містяться некротичні клітини [5].

Процес апоптозу можна умовно розділити на три послідовні етапи:

- 1) сприйняття клітинами сигналів до апоптозу;
- 2) передача цих сигналів та їхніх посередників до внутрішньоклітинних регуляторних систем і взаємодія між елементами цих систем, що дає клітині змогу „вирішити” – жити чи гинути;
- 3) деструкція життєво важливих молекул і структур в апоптичних клітинах спеціальними ефекторними системами апоптозу, насамперед руйнування деяких внутрішньоклітинних білків протеолітичними ензимами – каспазами, а також міжнуклеосомна фрагментація геномної ДНК за допомогою ендонуклеаз вибіркової дії [5].

Першим етапом у розвитку апоптозу є рецепція клітиною потенційно летальних стимулів, які можуть бути як патологічними (деякі віруси, радіаційне випромінювання, отруйні хімічні речовини), так і фізіологічними (старіння клітини). На поверхні клітин деяких типів виявлено так звані „рецептори смерті” (наприклад, Fas-рецептор), які взаємодіють зі специфічними лігандами (Fas-ліганд). Подібно функціонують рецептори фактора некрозу пухлин (ФНП). Активація цих рецепторів їхніми специфічними лігандами веде до олігомеризації внутрішньоклітинних доменів рецепторів, які, у свою чергу, активують внутрішньоклітинні субстрати, що безпосередньо чи опосередковано індукують апоптоз. Крім того, апоптоз може

індукуватися під впливом певних клітин імунної системи, в також внаслідок порушення міжклітинних контактів [5].

На другому етапі апоптозу відбувається подальша внутрішньоклітинна передача апоптичних сигналів через спеціальні посередники до інших регуляторних білків клітин-мішеней. Такими посередниками апоптозу можуть виступати як білкові продукти певних генів, так і деякі продукти клітинного метаболізму, наприклад, керамід, сфінгозин-1-фосфат, активні сполуки кисню [5]. Серед сигнальних білків апоптозу одними із найбільш важливих вважаються протеолітичні ензими каспази (**caspase**, скорочено від **cysteine aspartate-specific proteinase**), зокрема каспаза 8, а також транскрипційні фактори с-Мус та р53, специфічні протеїнкінази (фосфоінозитол-3'-кіназа (PI3K), та активована стресом протеїнкіназа (SAPK)).

Важливу роль у реалізації апоптичної програми відіграє ядерний білок р53, який ще називають „охоронцем геному” завдяки притаманним йому функціям транскрипційного фактора, задіяного у негативній регуляції клітинного циклу [5]. Білок р53 постійно синтезується в клітині, але оскільки півперіод його існування є дуже коротким (менше 5 хв), то він не здатний виконувати свої функції. Коли ж під дією певних зовнішньоклітинних чи внутрішньоклітинних екстремальних чинників відбувається пошкодження геномної ДНК, то утворюється стабільна форма білка р53, здатна зупиняти процеси клітинного циклу. Така зупинка дає клітині додатковий час, необхідний для відновлення пошкодженої ДНК. Коли зміни у структурі ДНК є незначними і клітина може відновити їх за допомогою своїх репараційних систем, р53 індукує експресію генів, білкові продукти яких беруть участь у репарації ДНК. Однак якщо зміни в структурі ДНК є значними і не підлягають репарації, то білок р53 індукує експресію генів, продукти яких сприяють апоптичній загибелі клітини. Прикладом таких білків може слугувати Вах, про значення якого під час апоптозу буде сказано далі. Мутаційно змінений білок р53 втрачає здатність викликати апоптоз. Про важливість р53 як охоронця геному свідчить ще й той факт, що його мутовані форми виявлено у більш ніж 50% ракових пухлин людини [5].

Відомо, що цитокіни здатні стимулювати або пригнічувати ріст клітин, регулювати їх диференціювання, індукувати клітинний хемотаксис і впливати на інші процеси у житті клітин, у тому числі й на апоптоз [3,5]. На відміну від гормонів, цитокіни утворюються майже всіма типами клітин тканин і органів ссавців. Вплив цитокінів на апоптоз є неоднозначним, і деколи той самий цитокін, залежно від умов його дії та типу клітин-мішеней, може виступати як індуктор, або як супресор апоптозу. Зазвичай такі цитокіни, як епідермальний фактор росту (ЕФР), інсуліноподібний фактор росту типу I (ІФР-I), фактор росту нервових клітин (ФРН), фактор росту із тромбоцитів (ФРТ) та деякі інтерлейкіни (ІЛ) пригнічують процеси апоптозу. У той же час дефіцит цих цитокінів в організмі, а також дія деяких інших цитокінів, – як, наприклад, трансформуючого фактора росту типу β (ТФР-β) та фактора некрозу пухлин (ФНП), – сприяє розвитку апоптозу.

Другий етап апоптозу також охоплює процеси, які переважно відбуваються у мітохондріях. Тут на підставі взаємодії апоптичних сигналів, отриманих клітиною, значною мірою вирішується її доля – жити чи гинути. Така доленосна для клітини функція покладена на білки родини Bcl-2, які локалізовані у мітохондріальній мембрані. Білки цієї родини поділяють на антиапоптичні (підродина Bcl-2) та проапоптичні (підродина Вах та ВН3). Якщо на клітину подіяти проапоптичними

чинниками, то за участю білка p53 у ядрі ініціюється транскрипція мРНК проапоптотичних білків. Унаслідок цього в клітині з'являється більше проапоптотичних білків родини Bcl-2, ніж антиапоптотичних.

Відомо, що під час індукції апоптозу у мітохондріальній мембрані утворюються гетеродимери різних проапоптотичних білків або гомодимери, що складаються із двох однакових проапоптотичних білків [5]. Названі димери пронизують мітохондріальну мембрану, а оскільки білки у цих димерах нещільно прилягають один до одного, то між ними утворюється канал, який забезпечує можливість проникнення низькомолекулярних молекул крізь цю мембрану. Такі події активують необоротний механізм, за допомогою якого клітина сама себе знищує. В основі цього механізму лежить утворення каналу в мітохондріальній мембрані, що веде до зрівноваження концентрації іонів усередині та ззовні мітохондрій, тобто до втрати трансмембранного мітохондріального потенціалу (ψ). Таке падіння трансмембранного потенціалу викликає утворення в клітині високореакційних пероксидних і радикальних сполук кисню, які ще більше пошкоджують мітохондрії. Крім того, специфічна взаємодія гомодимерів із проапоптотичних білків родини Bcl-2 (зокрема Bax) сприяє виходу із мітохондрій двох важливих білків – цитохрому C, який зазвичай локалізований у внутрішній мембрані мітохондрій, та білка Araf-1, який за нормальних умов пронизує мітохондріальну мембрану, перебуваючи у складному гетеродимерному комплексі разом із антиапоптотичними білками родини Bcl-2. Коли білок Araf-1 потрапляє в цитоплазму, він димеризується і зв'язується з двома молекулами АТФ та двома молекулами прокаспаси 9. Для активації цього комплексу, який ще називають апоптосоמוю, та перетворення прокаспаси 9 в її активну форму необхідне приєднання молекули цитохрому C до білка Araf-1. Встановлено, що саме цитохром C необхідний для активації каспази 9, причому цей механізм є еволюційно дуже консервативним, оскільки структурно-функціональні гомологи Araf-1, Bcl-2 та каспаз знайдені не лише у ссавців, але й у черв'я і дріжджів. Виходячи з цих даних, можна зробити висновок, що цитохром C необхідний не лише для здійснення таких фундаментальних процесів життєдіяльності, як енергозабезпечення функціонування клітини (синтез АТФ), але й для здійснення біологічних процесів, які викликають загибель клітини (через механізм активації прокаспаси 9).

Третій, деструктивний етап апоптозу розпочинається активацією прокаспаси 9, яка набуває здатності активувати інші внутрішньоклітинні субстрати, зокрема прокаспазу 3, ініціюючи так званий каспазний каскад. Необхідно зазначити, що під час цього етапу активуються не лише клітинні протеази, але й окремі дезоксирибонуклеази, результатом чого є розщеплення ДНК до олігонуклеосомних фрагментів, які при електрофорезі у гелі агарози утворюють характерну картину „драбини ДНК” [5]. Зрозуміло, що при цьому порушується структура і функціонування генів багатьох важливих клітинних білків, у тому числі генів супресорів апоптозу, що врешті-решт веде до розгортання програми апоптозу.

Усі екстремальні чинники, що здатні індукувати апоптоз у тих чи інших клітинах-мішенях, можна умовно розділити на дві групи:

- 1) ті, які опосередковують свою дію на клітини через певні клітинні рецептори;
- 2) ті, які діють на клітини-мішені, не використовуючи для цього специфічні клітинні рецептори.

До індукторів рецептор-опосередкованого апоптозу зараховують [5]: 1) Fas-ліганд; 2) ФНП; 3) деякі інші ліганди, які належать до родини ФНП, наприклад, Аро2L/TRAIL; 4) глюкокортикоїди, які викликають апоптоз, взаємодіючи із цитоплазматичними рецепторами клітин-мішеней; 5) ТФР- β , інтерферон-гамма та деякі інші цитокіни; 6) неактивний стан специфічних рецепторів окремих цитокінів, які забезпечують виживання клітин (наприклад, ІФР-1, лужного ФРФ, ФРТ, ІЛ-2 та ін.); 7) порушення рецептор-опосередкованих контактів між клітинами та між клітинами і позаклітинним матриксом, де задіяні інтегрини – специфічні мембранні білки, які можуть активувати внутрішньоклітинні механізми апоптозу; 8) цитотоксичні речовини, проапоптична дія яких опосередковується поверхневими рецепторами клітин-мішеней (наприклад, цитотоксичні лектини, бета-амілоїдний пептид та ін.); 9) комплемент, активація якого під час імунної реакції може ініціювати проапоптичний каспазний каскад; 10) деякі віруси (наприклад, *Sindbis*, *Vaculo*).

Індукторами рецептор-незалежного апоптозу є [5]: 1) дефіцит таких трофічних факторів, як глюкоза, амінокислоти, деякі йони тощо (механізми індукції апоптозу тут вивчені недостатньо); 2) чинники фізичного впливу (радіаційне й ультрафіолетове випромінювання можуть викликати безпосереднє пошкодження структури ДНК, тоді як у випадку теплового шоку клітинний сенсор, який ініціює апоптоз, невідомий, хоча досліджено роль таких молекулярних посередників, як активовані стресом протеїнази та білки теплового шоку); 3) утворення каналів у плазматичній мембрані клітин-мішеней (наприклад, гранули, які секретуються активованими цитолітичними Т-лімфоцитами та природними клітинами-кілерами, містять каналоформуючий білок перфорин, за допомогою якого проапоптичні протеїнази гранулами проникають у клітини-мішені); 4) такі речовини загальнотоксичної дії, як деякі хіміотерапевтичні препарати, інгібітори синтезу білка та РНК, перекисні та радикальні сполуки, азиди, глутамат (останній є токсичним для деяких клітин нервової системи); 5) оксид азоту (у деяких випадках ця речовина може мати антиапоптичну дію); 6) церамід (цитотоксичний ліпід); 7) одночасний вплив на клітини стимулів із дією, протилежно скерованою на клітинний ріст (наприклад, індукція експресії протоонкогена *c-myc*, що сприяє ростові, за умов дефіциту деяких цитокінів, що гальмує ріст); 8) різні чинники, здатні регулювати експресію проапоптичних білків (наприклад, p53) чи антиапоптичних білків (наприклад, Bcl-2).

Незалежно від того, чи опосередковується дія певних проапоптичних чинників специфічними рецепторами клітин-мішеней, чи ні, деструктивний етап апоптозу в них відбувається за подібним сценарієм. Він включає в себе руйнування окремих клітинних білків протеїназами каспазного каскаду, а також вибіркоче розщеплення ядерної ДНК специфічними ендонуклеазами [5].

2. Трансформуючий фактор росту β як інгібітор росту клітин та індуктор апоптозу

ТФР- β 1 отримав свою назву завдяки здатності змінювати (трансформувати) фенотип деяких типів клітин (наприклад, фібробласти) ссавців, викликаючи появу у них ознак, характерних для злоякісних клітин, наприклад, розвиток здатності клітин рости, незалежно від їхнього прикріплення до субстрату-підкладки [6]. Дослідження, проведені після відкриття цього цитокіна, дали змогу виявити досить

велику групу білків із подібною до ТФР- β 1 структурою, які були об'єднані у білкову надродину ТФР- β 1. Представників цієї надродини знайшли не лише у ссавців, зокрема у людини (28 членів надродини), але й у комах, черв'їв і амфібій [7, 8]. Гомодимеризація вважається важливою особливістю усіх ТФР- β 1-подібних лігандів (ТФР- β 1 складається із 2-х ідентичних субодиниць, сполучених дисульфідним зв'язком), необхідною для здійснення їх сигнальних функцій у клітинах-мішенях [8].

ТФР- β 1 продукується клітинами у вигляді нековалентного комплексу зі спеціальними „маскувальними” білками, які забезпечують його існування у неактивній формі. Вважають, що активація латентного ТФР- β 1 *in vivo* відбувається шляхом протеолітичного розщеплення згаданого комплексу плазміном чи фурином, або шляхом його взаємодії з іншими білками, наприклад, тромбоспондинами чи інтегрином α V β 6. В обох цих випадках ТФР- β 1 вивільняється із латентного комплексу у вигляді біологічно активного димера. Існують також інші білки, здатні модулювати активність ТФР- β 1 у позаклітинному середовищі, наприклад, біглікан, фолістатин, альфа-2-макроглобулін [4, 8–10].

Поліпептиди, які належать до родини ТФР- β 1, слугують лігандами специфічних рецепторів, що мають активність серин/треонінової протеїнкінази. Така активність рецепторів ТФР- β 1 дає змогу виокремити їх в особливу групу рецепторів, беручи до уваги, що інші рецептори переважно мають тирозин-кіназну активність [8–12]. На поверхні клітин-мішеней ідентифіковано різні типи рецепторів ТФР- β 1, проте лише для трьох із них досліджено їхню роль у внутрішньоклітинних сигнальних шляхах цього цитокіна. Це – рецептори типу I, типу II і типу III (останній ще називають бетагліканом та ендогліном) [8–10]. Якщо рецептори типу I і типу II безпосередньо задіяні у передачі регуляторних сигналів, то рецептори типу III вважають допоміжними.

Активованій ТФР- β 1-рецепторний комплекс передає регуляторні сигнали до специфічних білків Smad, які вважаються головними посередниками у передачі регуляторних сигналів ТФР- β 1 [4, 8–12]. Білки Smad ділять на 3 групи, залежно від їхньої ролі у сигнальному шляху ТФР- β 1. До 1-ї групи належать білки Smad-2 і -3, які безпосередньо активуються рецептор-залежним фосфорилуванням. Після активації цих білків включається в дію білок Smad-4, який є спільним для усіх рецептор-регульованих білків Smad. Складний гетеромерний комплекс рецептор-регульованих білків Smad, разом із білком Smad-4, транслокується в ядро клітини. Тут білки Smad регулюють транскрипцію генів, експресія яких залежить від ТФР- β 1. До 3-ї групи білків Smad зараховують Smad-6 і Smad-7, які, незважаючи на структурну гомологію з іншими білками Smad, гальмують сигнальний шлях ТФР- β 1. Тому вони отримали назву інгібіторних білків Smad.

Описано також залучення деяких інших регуляторних шляхів до сигнальних механізмів ТФР- β 1. Ці шляхи включають у себе, наприклад, білки Erk, p38 та JNK-кінази і не залежать від функціонування білків Smad [4, 8–12]. Значення цих альтернативних регуляторних шляхів суттєво залежить від типу клітин-мішеней та від умов біотестування активності ТФР- β 1.

Незважаючи на незаперечну роль ТФР- β 1 у регуляції процесів, які відбуваються під час канцерогенезу, роль цього цитокіна тут остаточно не з'ясована. Така невизначеність, головним чином, обумовлена дуалізмом, виявленим у дії ТФР- β 1 під час регуляції проліферації та апоптозу нормальних і трансформованих клітин. У багатьох ракових клітин зафіксовано втрату їхньої чутливості до інгібіторної дії

ТФР- β 1, і це може бути одним із важливих механізмів неконтрольованого росту злоякісних клітин. Вважають, що приблизно 80% усіх пухлин людини виникають шляхом трансформації клітин епітеліального походження, для яких ТФР- β 1 є потужним природним інгібітором росту (цит. за [3]). Тому ТФР- β 1, а також білки, задіяні у його сигнальному шляху (специфічні рецептори ТФР- β 1 і білки Smad), за функціональними ознаками можна вважати пухлинними супресорами.

Що стосується молекулярних механізмів порушень, які мають місце у пухлинах і ведуть до втрати у них сигнальних функцій ТФР- β 1, то це може бути структурна чи функціональна делеція гена ТФР- β 1, його специфічних рецепторів ТФР- β 1, або білків Smad. Усі ці порушення сприяють канцерогенезу. Встановлено, що ТФР- β 1-дефіцитні кератиноцити швидко утворюють лускувато-клітинні злоякісні карциноми [13]. Крім того, пошкодження сигнального шляху ТФР- β у клітинах раку молочної залози шляхом введення їм гена домінантно-негативної форми рецептора типу II ТФР- β 1 призводить до зростання їх злоякісності й інвазивності [14].

Пухлина – це не просто сукупність клітин із високою проліферативною активністю, але й складна тканинна система, де відбувається інтенсивна взаємодія між злоякісними клітинами та нормальними клітинами, які їх оточують [15]. Крім неконтрольованої проліферації, злоякісним клітинам властива невизначена тривалість їхнього життя, порушення виникнення сигналів до апоптозу, здатність до утворення строми, кровоносних судин, а також здатність уникати контролю з боку імункомпетентних клітин [16]. Залежна від ТФР- β 1 індукція ангиогенезу, стимуляція ним утворення строми й інгібування імунної та запальної реакцій також вносять значний вклад у роль ТФР- β 1 як промотора канцерогенезу [17]. Підвищений рівень ТФР- β 1 у плазмі крові ракових хворих може свідчити про системну імносупресію, яка сприяє злоякісному процесові [18]. На це вказують інгібіторні ефекти ТФР- β 1 на клітини природних кілерів [18], В-клітини [17], Т-лімфоцити [19] та макрофаги [20]. Підвищений рівень експресії ТФР- β 1 пухлинними клітинами може призводити до імносупресії як усередині пухлини, так і в навколопухлинному просторі. ТФР- β 1 може також безпосередньо знижувати рівень експресії основного комплексу гістосумісності класу II на пухлинних клітинах, що, таким чином, робить їх „невидимими” для імунних клітин [21].

Отже, біологічна роль ТФР- β 1 в організмі ссавців є дуалістичною: на ранніх стадіях канцерогенезу він діє як пухлинний супресор, тоді як на його пізніх стадіях він сприяє канцерогенезові. Така функціональна зміна в дії ТФР- β 1 позитивно корелює із набуттям злоякісними клітинами резистентності до ТФР- β 1, а також зі зростанням злоякісності пухлини та появою її метастатичних ознак [4, 22].

3. Роль трансформуючого фактора росту типу бета у дії екстремальних чинників на нормальні та пухлинні клітини тварин і людини

На рис. 1 узагальнено результати наших досліджень, а також дані інших авторів, щодо здатності екстремальних чинників різної природи індукувати клітини тварин і людини до продукування ними інгібітора росту й індуктора апоптозу – ТФР- β 1. Аналізуючи ці дані, можна зробити припущення, що зростання рівня продукції клітинами ТФР- β 1 є універсальною реакцією клітин на дію екстремальних чинників. Виникає питання – для чого клітинам необхідно продукувати цей інгібіторний цитокін? Ймовірною відповіддю на це питання може бути потреба у

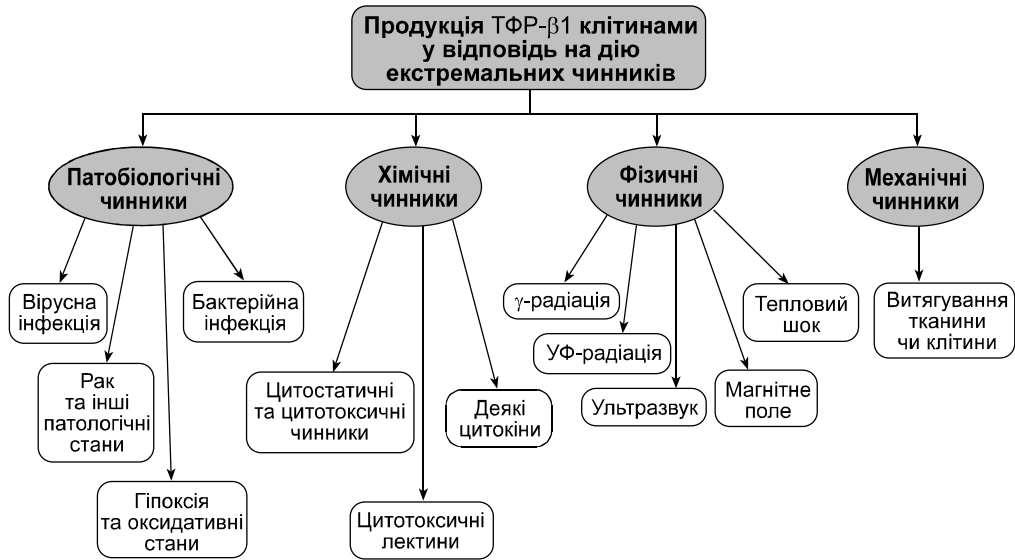


Рис. 1. Продукція ТФР-β1 клітинами тварин і людини у відповідь на дію екстремальних чинників різної природи

Fig. 1. TGF β1 production by animal and human cells in response to extremal agents of different origin

зупинці (на час дії екстремального чинника) таких процесів, як ріст і проліферація клітин. У стані активного росту клітини звичайно є більш чутливими до патологічних структурно-функціональних порушень порівняно з клітинами, які перебувають у стані спокою. У першу чергу, вразливим є генетичний апарат клітини, зміни у структурі якого є дуже небезпечними, оскільки вони можуть призводити до появи злоякісних клітин. До речі, механізм швидкої зупинки більшості клітинних процесів за дії екстремальних чинників різної природи використовують так звані білки теплового шоку [23]. Після усунення екстремального чинника дія цих білків припиняється, і клітини повертаються до свого нормального стану.

Слід зазначити, що ТФР-β1 негативно діє на ріст і функціонування різноманітних клітин імунної системи [24]. Можна припустити, що саме за участю ТФР-β1 реалізується імуносупресивна дія різноманітних екстремальних чинників, здатних індукувати зростання продукції цього природного імуносупресора. Очевидно, в такій складній біологічній системі, як організм тварин і людини, повинен існувати виважений баланс між інгібіторним впливом ТФР-β1 на процеси росту та проліферації клітин тканин і органів, з одного боку, та його інгібіторним впливом на ріст і функціонування клітин імунної системи, з другого боку. Порушення цього балансу в будь-який бік може призводити до таких серйозних патологічних станів, як аутоімунні розлади чи канцерогенез. На рис. 2–4 (цит. за [25–27]) наведено характерні приклади дисбалансу в продукції та біологічній дії ТФР-β1, що може забезпечувати виникнення деяких патологічних станів. Аналіз даних, наведених на цих рисунках, свідчить про те, що дія різних негативних чинників (хімічних і фізичних) не лише впливає на продукцію клітинами ТФР-β1, але й призводить до розвитку патологічних станів, характерних для певних захворювань у людини. На рис. 5 (цит. за [28]) узагальнено можливі молекулярні механізми дії екстремальних

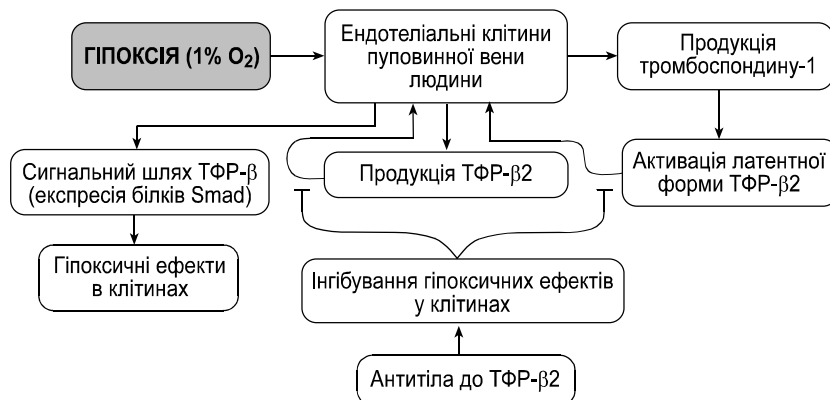
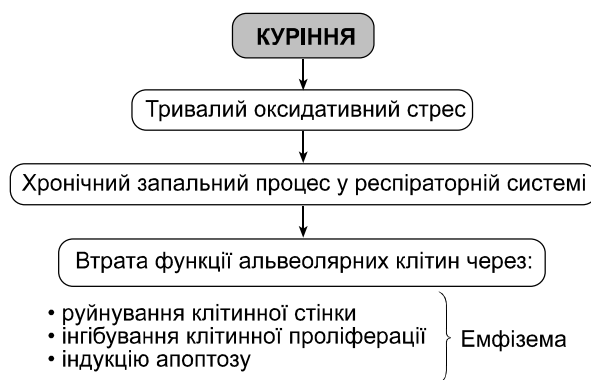


Рис. 2. Роль ТФР-β під час гіпоксичного стресу ендотеліальних клітин людини [25]

Fig. 2. Role of TGF β at the hypoxic stressing of human endothelial cells [25]

A



Б

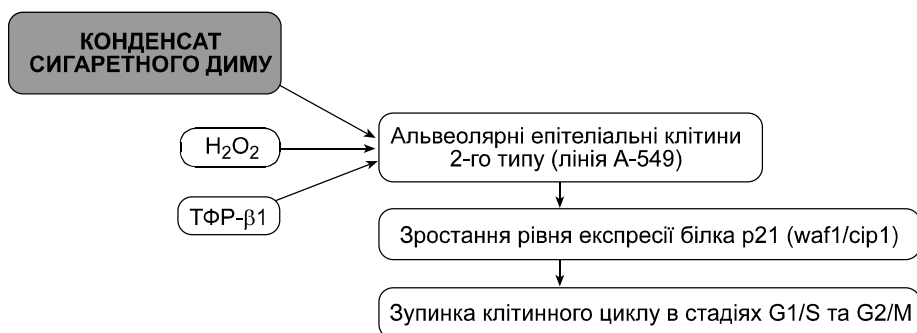


Рис. 3. Роль ТФР-β під час оксидативного стресу в альвеолярних ендотеліальних клітинах, викликаного курінням людини [26]:

A – фізіологічні зміни у респіраторній системі;

Б – роль ТФР-β1 у механізмах негативної дії конденсату сигаретного диму на альвеолярні клітини людини

Fig. 3. Role of TGF β at the oxydative stressing of alveolar endothelial cells induced by human smoking [26]:

A – physiological changes in the respiratory system;

Б – role of TGF β1 in the mechanisms of negative action of cigarette smoke condensate towards human alveolar cells

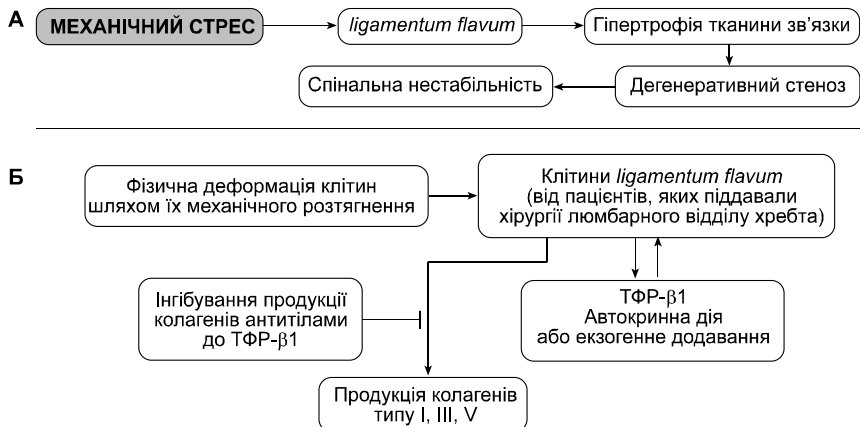


Рис. 4. Роль ТФР-β під час механічного стресу – розтягнення міжхребцевої зв'язки (*ligamentum flavum*) [27]:

А – фізіологічні зміни під час надмірного механічного витягування зв'язки;
Б – роль ТФР-β у механізмах негативної дії цього механічного стресу

Fig. 4. Role TGF β at the mechanical stressing – stretching of intervertebrate joint (*ligamentum flavum*) [27]:
A – physiological changes at excess mechanical stretching of the joint;
B – role TGF β in the mechanisms of negative action of this mechanical stressing

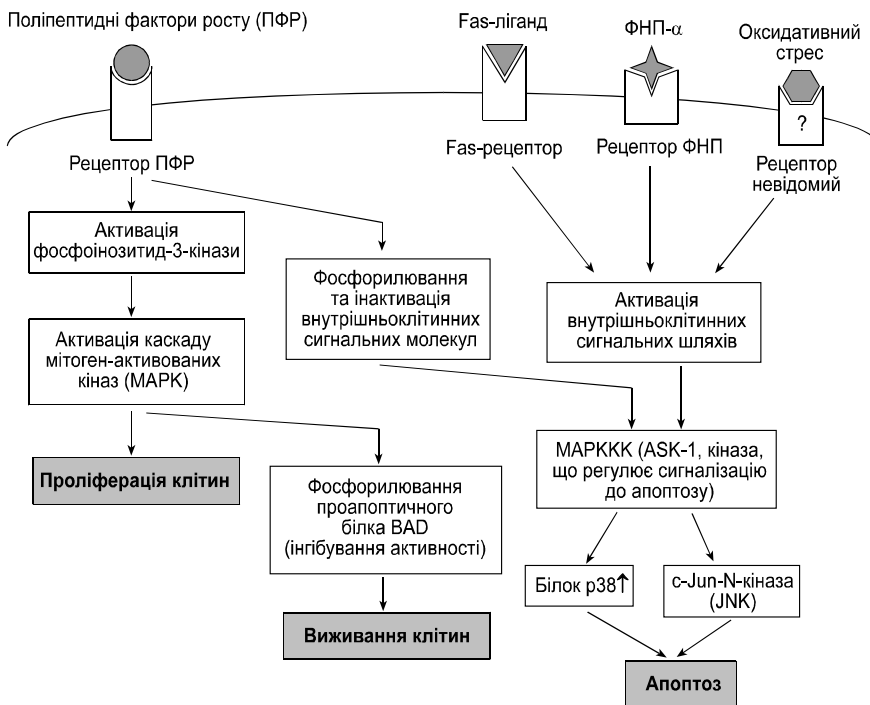


Рис. 5. Внутрішньоклітинні молекулярні механізми реалізації дії стресових чинників (роль специфічних протеїнкіназ) [28]

Fig. 5. Intracellular molecular mechanisms of action of stressing agents (role of specific protein kinases) [28]

чинників на клітини-мішені. Зокрема, показано здатність цих чинників індукувати апоптоз, протидіючи при цьому факторам росту (у даному випадку показано дію інсуліноподібного фактора росту 1), які, навпаки, сприяють виживанню клітин та їхньому росту.

Певну залежність між рівнем ТФР- β 1 в організмі пацієнтів і маніфестацією у них патологічних ознак продемонстровано також за умов клінічного спостереження. Раніше ми виявили підвищений рівень активності ТФР- β у сироватці крові хворих на СНІД, гепатит С та саркому Капоші [29]. Успішне лікування хворих на саркому Капоші інтерфероном альфа-2в супроводжувалося суттєвим зниженням рівня цього цитокіна у крові пацієнтів. У той же час успішне лікування хворих на карциному молочної залози, навпаки, у більшості випадків (але не завжди) супроводжувалося зростанням рівня активності ТФР- β у сироватці крові [30]. У зв'язку з цим необхідно зазначити, що ТФР- β є стимулятором росту для клітин саркомних пухлин та інгібітором росту для клітин більшості карциномних пухлин [3, 31].

ТФР- β є одним із найбільш поширених у людському організмі природних інгібіторів проліферації та індукторів апоптозу клітин епітеліального походження, які, як відомо, дають початок виникненню більшості пухлин людини [3, 4, 31, 32]. Тому з'ясування ролі ТФР- β 1 як потенційного прогностичного молекулярного маркера у хворих на рак такої етіології є актуальною проблемою.

У серії робіт, виконаних раніше, ми показали, що ряд цитотоксичних чинників, зокрема протипухлинні препарати [33, 34] і токсичні лектини [35], а також рентгенівське випромінювання [36] і гіпертермія [37], індукують зростання рівня продукції ТФР- β злоякісними клітинами різного тканинного генезу. Виявлено також вищу чутливість клітин лінії MCF-7, порівняно з клітинами лінії T47D карциноми молочної залози людини, до ріст-інгібувальної дії ТФР- β 1 [38]. Крім того, показано, що клітини лінії MCF-7 є значно чутливішими, ніж клітини лінії T47D, до ріст-інгібувальної дії цисплатину. Ці результати щодо перехресної резистентності карциномних клітин лінії T47D до ТФР- β 1 і цисплатину добре узгоджуються з нашими даними, отриманими раніше під час дослідження із використанням мишачих лейкоцитних клітин лінії L1210 [34].

На підставі отриманих нами даних можна зробити припущення, що зростання злоякісності пухлинних клітин, яке пов'язане із втратою ними чутливості до негативного впливу окремих хіміотерапевтичних препаратів, наприклад, цисплатину, може супроводжуватися одночасною втратою цими клітинами чутливості до супресивного впливу ТФР- β 1. Отже, незважаючи на здатність цитотоксичних хіміотерапевтичних препаратів індукувати продукцію ТФР- β 1 раковими клітинами, інгібувальна дія даного цитокіна не проявляється через резистентність до нього цих клітин (рис. 6). Така адаптивна реакція ракових клітин до дії деяких екстремальних чинників дозволяє цим клітинами переживати несприятливі для них умови і продовжувати розвиватися в організмі пухлиноносія.

Увага дослідників до визначення рівня цитокінів в онкології та інших галузях клінічної медицини базується на їх потенційному використанні із діагностичною метою, або як прогностичного показника, зокрема для оцінки ефективності лікування. Найбільше робіт тут присвячено ТФР- α , ТФР- β , ендотеліальному факторові росту та деяким іншим цитокінам. Непрогнозована, тобто не пов'язана із процесами регенерації в організмі, поява ТФР- α чи ендотеліального фактора росту вважається одним із головних індикаторів злоякісного росту [3]. У той же час

зміни у вмісті активної форми ТФР-β або порушення механізмів внутрішньоклітинної передачі його регуляторних сигналів оцінюють неоднозначно.

Підвищений рівень ТФР-β1 виявлено у плазмі крові хворих на рак молочної залози [39], легені [40, 41] і простати [42], а також у хворих із гепатоцелюлярними карциномами [43]. Крім того, в цілому ряді експериментальних тваринних моделей раку молочної залози і простати продемонстровано взаємозв'язок між рівнем експресії ТФР-β1, з одного боку, і туморогенністю пухлини, її підвищеною інвазивністю і резистентністю до лікарських препаратів, з іншого боку [44]. Подібну закономірність виявлено також у пацієнтів із пухлинами товстої кишки, шлунка, ендометрію, яєчника, шийного відділу, а також у хворих із гліомами і меланомами [44]. Підвищений рівень продукції ТФР-β1 мав місце й у безтимусних мишей, яким було прищеплено різні види пухлин людини [44].

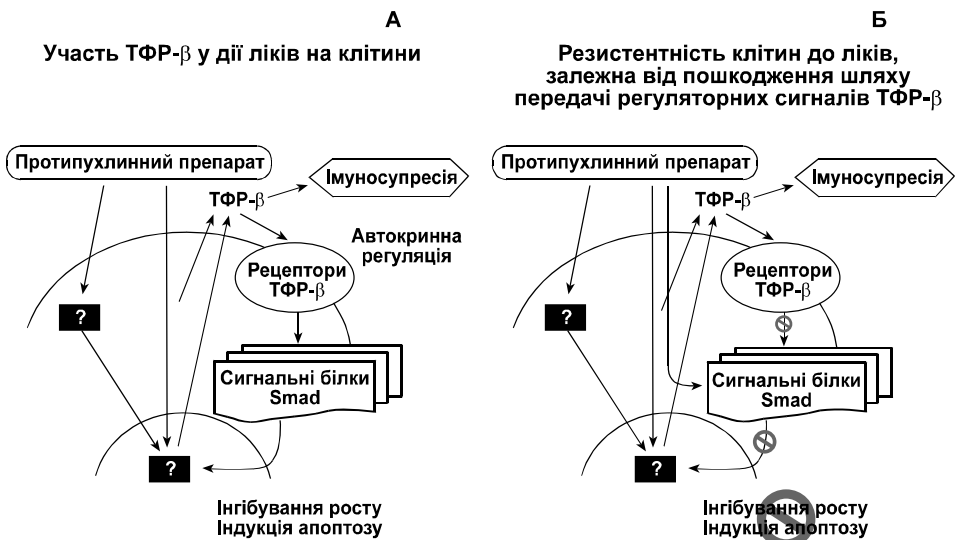


Рис. 6. Роль ТФР-β у механізмах дії лікарських препаратів на патологічні клітини за умов інтактного (А) та порушеного (Б) шляху передачі регуляторних сигналів ТФР-β (⊗ – зупинка процесу; ? – механізм індукції експресії ТФР-β лікарським препаратом невідомий)

Fig. 6. Role TGF β in the mechanisms of drug action towards pathological cells at the intact (A) and impaired (B) pathways of transduction of TGF β regulatory signals (⊗ – process block; ? – mechanisms of induction of TGF β expression under drug action are unknown)

Разом з тим у літературі зустрічаються, хоч і в значно меншій кількості, дані, які свідчать про знижений рівень ТФР-β1 у плазмі крові онкологічних пацієнтів, наприклад, у хворих на хронічну лімфоцитарну лейкемію [45]. Оскільки в одних дослідженнях було показано, що підвищений рівень цього цитокіна у хворих на рак легені позитивно корелює із кращим прогнозом [46, 47], а в інших дослідженнях таких хворих – із гіршим прогнозом [40], питання щодо ролі продукції цього цитокіна в онкологічних хворих вимагає подальшого уточнення. Ми вважаємо, що одним із пояснень причин існування такого стану речей є розвиток резистентності злоякісних клітин до ріст-інгібувальної дії ТФР-β1. Адже незважаючи на те, що клітини дрібноклітинного раку легені дуже активно продукують ТФР-β1 [48], вони у той самий час є нечувливими до його дії як інгібітора росту [49].

Узагальнюючи наведені нами результати, а також результати наших попередніх досліджень і дані інших вчених, можна вважати, що у тому випадку, коли злоякісні клітини є чутливими до інгібіторної дії ТФР- β 1, тоді індукція протипухлинним препаратом (екстремальний чинник) продукції цього цитокіна може призводити до посилення інгібувальної дії на ріст клітин протипухлинного препарату через включення додаткової негативної дії ТФР- β на клітини-мішені в автокринній регуляторній петлі (рис. 6). Якщо ж протипухлинний препарат (екстремальний чинник) діє на злоякісні клітини, резистентні до інгібіторної дії ТФР- β , то вплив автокринного ТФР- β , індукованого цим препаратом, буде відсутній, хоча при цьому збережеться паракринна імуносупресивна дія ТФР- β щодо імунокомпетентних клітин (рис. 6). Тому можна припустити, що відновлення чутливості цих злоякісних клітин до ріст-інгібувальної дії ТФР- β дасть також змогу підвищити їх чутливість до окремих протипухлинних препаратів.

4. Механізми набуття клітинами пухлин стійкості до дії трансформуючого фактора росту бета і стійкості до протипухлинних препаратів

У численних дослідженнях встановлено, що різноманітні порушення нормальної експресії генів рецепторів ТФР- β 1 та білків Smad супроводжуються набуттям резистентності клітин до ТФР- β 1 і, як наслідок, втратою ТФР- β 1-залежного контролю за клітинною проліферацією й апоптозом. Оскільки інактивацію сигнального шляху ТФР- β 1 виявлено у більшості пухлин людини, то припускається, що його інтактність є важливою перешкодою на шляху розвитку канцерогенезу [4, 22, 34, 50].

Найчастіше зміни у сигнальному шляху ТФР- β 1 зачіпають рецептори типу II цього цитокіна [22, 51–53]. При раку товстої кишки та шлунково-кишкового тракту виявлено зміщення рамки зчитування гена даного рецептора, при гліомах мають місце його точкові мутації, при раку підшлункової залози, яєчника, шийки матки, шлунково-кишкового тракту та при лімфомах – делеції чи інсерції, при раку легені, простати, ротової порожнини, горла, щитоподібної залози, сечового міхура та при лімфомі Беркіта – втрата нормальної експресії гена, а при різних формах раку молочної залози, легені і товстої кишки – функціональна інактивація гена рецептора типу II ТФР- β 1.

Зміни у нормальному функціонуванні рецептора типу I ТФР- β 1 мають місце при раку яєчника і молочної залози (точкові мутації), раку підшлункової залози та Т-клітинній лімфомі (делеції), раку шлунково-кишкового тракту, сечового міхура та простати (інгібування експресії гена) [22, 54–60].

Поширеними є також зміни у функціонуванні білка Smad 4 при різних формах раку у людини. Так, делеції його гена мають місце при раку підшлункової залози й товстої кишки, зміщення рамки зчитування – при семіномах, вкорочення гена – при ювенільному поліпозі, точкові мутації – при раку стравоходу, головного та шийного відділів, яєчника, підшлункової залози, легені, молочної залози і жовчних проток [61–66]. Кількісно оцінити роль білків Smad у канцерогенезі можна на підставі даних про частоту мутацій у відповідних генах. Зокрема, делеції гена білка Smad 4 виявлено в 40–90% усіх досліджених випадків раку підшлункової залози [61], а також у понад 60% випадків раку товстої кишки [62], причому втрата експресії Smad 4 при різних формах колоректального раку позитивно корелює із віддаленими метастазами [63].

У той же час роль мутацій генів інших білків Smad у канцерогенезі досліджено менше. Зокрема, точкові мутації у генах Smad 2 і Smad 3 виявлено при раку товстої кишки, легені, молочної залози, головного та шийного відділів і стравоходу, а функціональна інактивація гена Smad 3 спостерігається при меланомах шкіри та лейкоміях. При раку підшлункової залози може мати місце підвищена експресія інгібіторних білків Smad 6 і Smad 7 [22, 67].

Незважаючи на те, що рецепторам типу III – бетаглікану й ендогліну – відводять лише допоміжну роль у сигнальних шляхах ТФР- β 1, тим не менше, зміни цих рецепторів також виявлені у деяких пухлинах, наприклад, у нейробластомі людини [68]. Показано, що високий рівень посттрансляційної модифікації бетаглікану сприяє зростанню агресивності клітин пухлини товстої кишки [69], тоді як надекспресія бетаглікану у клітинах лінії MDA-MB-231 раку молочної залози людини суттєво пригнічувала їх здатність утворювати пухлини [70].

Разом узяті ці дослідження щодо ролі рецепторів ТФР- β 1 та сигнальних білків Smad у канцерогенезі свідчать про те, що їх інактивація (незалежно від механізмів, які її забезпечують) є частим явищем у пухлинах людини. Генно-інженерна реінтродукція рецепторів ТФР- β 1 у пухлинні клітини, які втратили їх, відновлює чутливість цих клітин до ріст-інгібувальної й апоптоз-індукуючої дії ТФР- β 1.

Підсумовуючи, необхідно визнати, що порушення нормального функціонування білків Smad є дуже важливим під час канцерогенезу. Зазвичай мутації в генах окремих білків Smad частіше трапляються у певних пухлинах людини, наприклад, у клітинах раку підшлункової залози та товстої кишки. Крім мутаційного пошкодження генів білків Smad, спостерігається також функціональна інактивація цих білків. В обох випадках виникає порушення нормального сигнального шляху ТФР- β 1. Дослідження механізмів регуляції активності ТФР- β 1, функціонування його рецепторів і пост-рецепторних сигнальних білків Smad може допомогти виявити нові молекулярні мішені у лікуванні онкологічних захворювань, а також з'ясувати невідомі до цього часу механізми дії екстремальних чинників різної природи.

1. **Англо-Український ілюстрований медичний словник Дорланда:** У 2-х т. Львів: Наутілус, 2002. Т. 2. С. 2213.
2. **Кусень С.И., Стойка Р.С. Молекулярные механизмы в действии полипептидных факторов роста.** Москва: Наука, 1985. 234 с.
3. **Фильченков А.А., Стойка Р.С., Быкорез А.И. Трансформирующие факторы роста.** Киев: Наукова думка, 1994. 290 с.
4. **Souchelnyskyi S. Transforming growth factor- β signaling and its role in cancer. *Експ. онкол*, 2002; 24(1): 3–12.**
5. **Фильченков А.А., Стойка Р.С. Апоптоз і рак: від теорії до практики.** Тернопіль: Укрмедкнига, 2006. 524 с.
6. **De Larco J.E., Todaro G.J. Growth factors from murine sarcoma virus-transformed cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1978; 75(8): 4001–4005.**
7. **Cui W., Akhurst R. Transforming growth factor β s: Biochemistry and biological activities *in vitro* and *in vivo*. *Growth factors and cytokines in health and disease*. N.Y.: JAI Press, 1996. P.309–356.**
8. **Massague J. TGF- β signal transduction. *Annu. Rev. Biochem*, 1998; 67: 753–791.**
9. **Derynck R., Zhang Y., Feng X.-H. Smads: transcriptional activators of TGF- β responses. *Cell*, 1998; 95(4): 737–740.**
10. **Miyazono K., ten Dijke P., Heldin C.-H. TGF-beta signaling by Smad proteins. *Adv. Immunol*, 2000; 75: 115–157.**

11. Itoh S., Itoh F., Goumans M.J., ten Dijke P. Signaling of transforming growth factor-beta family members through Smad proteins. **Eur. J. Biochem**, 2000; 267(24): 6954–6967.
12. Mulder K.M. Role of Ras and Maps in TGFbeta signaling. **Cytokine and Growth Factor Review**, 2000; 11(1–2): P.23–35.
13. Glick A.B., Lee M.M., Darwiche N. e.a. Targeted deletion of the TGF-beta 1 gene causes rapid progression to squamous cell carcinoma. **Genes Dev**, 1994; 8(20): 2429–2440.
14. Yin J.J., Selander K., Chirgwin J.M. et al. TGF- β signaling blockade inhibits PHrP secretion by breast cancer cells and bone metastases development. **J. Clin. Invest**, 1999; 103(2): 197–206.
15. Hanahan D., Weinberg R. The hallmarks of cancer. **Cell**, 2000; 100(1): 57–70.
16. Torre-Amione G., Beauchamp R.D., Koepfen H. e a. A highly immunogenic tumor transfected with a murine transforming growth factor type β 1 cDNA escapes immune surveillance. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA**, 1990; 87(4): 1486–1490.
17. Kehrl J.H., Roberts A.B., Wakefield L.M. et al. Transforming growth factor beta is an important immunomodulatory protein for human B lymphocytes. **J. Immunol**, 1986; 137(12): 3855–3860.
18. Arteaga C.L., Hurd S.D., Winnier A.R. e a. Anti-transforming growth factor (TGF)- β antibodies inhibit breast cancer cell tumorigenicity and increase mouse spleen natural killer cell activity. Implication for a possible role of tumor cell/host TGF- β interactions in human breast cancer progression. **J. Clin. Invest**, 1993; 92(6): 2569–2576.
19. Wrann M., Bodmer S., de Martin R. et al. T cell suppressor factor from human glioblastoma cells is a 12.5-kD protein closely related to transforming growth factor-beta. **EMBO J**, 1987; 6(6): 1633–1636.
20. Tsunawaki S., Sporn M., Ding A., Nathan C. Deactivation of macrophages by transforming growth factor-beta. **Nature**, 1988; 334(6179): 260–262.
21. Geiser A.G., Letterio J.J., Kulkarni A.B. et al. Transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) controls expression of major histocompatibility genes in the postnatal mouse: aberrant histocompatibility antigen expression in the pathogenesis of the TGF- β 1 null mouse phenotype. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA**, 1993; 90(21): 9944–9948.
22. Oft M., Heider K.H., Beug H. TGFbeta signaling is necessary for carcinoma cell invasiveness and metastasis. **Curr. Biol**, 1998; 8(23): 1243–1252.
23. Schesinger M.J. Heat shock proteins. **J. Biol. Chem**, 1990; 265(21): 12111–12114.
24. Letterio J.J., Roberts A.B. Regulation of immune responses by TGF- β . **Annu. Rev. Immunol**, 1998; 10: 137–161.
25. Zhang Y.W., Akman H.O., Smith E.L. et al. Cellular response to hypoxia involves signaling via Smad proteins. **Blood**, 2003; 101(6): 2253–2260.
26. Marwick J.A., Kirkham P., Gilmour P.S. et al. Cigarette smoke-induced oxidative stress and TGF-beta1 increase of p21Waf1/cip1 expression in alveolar epithelial cells. **Ann.N.Y. Acad. Sci**, 2002; 973: 278–283.
27. Nakatani T., Marui T., Hitora T. et al. Mechanical stretching force promotes collagen synthesis by cultured cells from human ligamentum flavum via transforming growth factor-beta 1. **J. Orthoped. Res**, 2002; 20(6): 1380–1386.
28. Galvan V., Loginova A., Sperandio S. et al. Type 1 insulin-like growth factor receptor (IGF-IR) signaling inhibits apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK 1). **J. Biol. Chem**, 2003; 278(15): 13325–13332.
29. Stoika R.S., Yakymovych I.A., Antonenko S.V. et al. Transforming activity of growth factors in blood serum of AIDS and Kaposhi sarcoma patients. **Эксп. онкол**, 1995; 17(1): 3–9.
30. Жильчук В.Є., Воронцова А.Л., Ключівська О.Ю. та ін. Прогностичне значення рівня ТФР-бета в сироватці крові хворих на рак молочної залози в умовах інтерферонотерапії. **Онкологія**, 2008.
31. Стойка P.C., Кусень С.И. Трансформирующий фактор роста β – новый тип ингибитора пролиферации нормальных и опухолевых клеток. **Мол. биол**, 1990; 24(4): 73–76.

32. *Pasche B.* Role of transforming growth factor beta in cancer. **J. Cell. Physiol**, 2001; 186(2): 153–168.
33. *Філяк Є.З., Філяк О.С., Стойка Р.С.* Вплив протипухлинних препаратів на експресію компонентів сигнального шляху трансформуючого фактора росту бета у клітинах лінії A549 карциноми легені людини. **Вісник Львівського університету. Серія біол**, 2004; 35: 60–65.
34. *Stoika R., Yakymovych M., Yakymovych I., Souchelnitskiy S.* Transforming growth factor β 1 in tumor cell drug resistance. **Acta Biochimica Polonica**, 2003; 50(2): 497–508.
35. *Yakymovych M.Ya., Yakymovych I.A., Antonyuk V.O. et al.* Lectins' cytotoxicity for L1210 murine leukemia cells with different sensitivity to anticancer drug cisplatin. **Експ. і клін. фізіол. і біохім**, 1999; 2: 39–45.
36. *Chorna I.V., Datsyuk L.O., Stoika R.S.* Expression of Bax, Bad and Bcl-2 proteins under X-radiation effect towards human breast carcinoma MCF-7 cells and their doxorubicine-resistant derivatives. **Експ. онкол**, 2005; 27(3): 192–197.
37. *Stoika R.S., Korchinsky A.G., Kusen S.I.* The effect of heat shock on the autocrine functions in tumour and normal cells. **Експ. онкол**, 1994; 16(4–6): 83–89.
38. *Стойка Р.С., Якимович І.А., Кашчак Н.І. та ін.* Вплив протипухлинних препаратів на продукцію трансформуючого фактора росту β та експресію білків p53 і Bcl-2 клітинами ліній MCF-7 і T47D карциноми молочної залози людини. **Експ. онкол**, 2008; 30(1): 35–41.
39. *Shyr-Ming Sheen-Chen, Han-Shiang Chen, Chih-Wei Sheen et al.* Serum levels of transforming growth factor β 1 in patients with breast cancer. **Arch. Surg**, 2001; 136(8): 937–940.
40. *Takanami I., Imamura T., Hashizume T., et al.* Transforming growth factor beta 1 as a prognostic factor in pulmonary adenocarcinoma. **J. Clin. Pathol**, 1994; 47: 1098–1100.
41. *Barthelemy-Brichant N., David J.L., Bosquie L. et al.* Increased TGF β 1 plasma level in patients with lung cancer: potential mechanisms. **Eur. J. Clin. Invest**, 2002; 32 (3): 193–198.
42. *Wolff J.M., Fandel T., Borchers H. et al.* Transforming growth factor- β 1 serum concentration in patients with prostatic cancer and benign prostatic hyperplasia. **Br. J. Urol**, 1998; 81: 403–405.
43. *Ford J., Smith S., Luo J.C. et al.* Serum growth factors and oncoproteins in firefighters. **Occup. Med. (Lond)**, 1992; 42: 39–42.
44. *Teicher B.A.* Malignant cells, directors of the malignant process: role of transforming growth factor-beta. **Cancer Metastasis Rev**, 2001; 20: 133–143.
45. *Fridenberg W.R., Salzman S.A., Phan S.M., Burmester J.K.* Transforming growth factor-beta and multidrug resistance in chronic lymphocytic leukemia. **Med. Oncol**, 1999; 16(2): 110–118.
46. *Bennett W.P., Deiry W.S., Rush W.L. et al.* p21waf1/cip1 and transforming growth factor beta 1 protein expression correlate with survival in non-small cell lung cancer. **Clin. Cancer Res**, 1998; 4: 1499–1506.
47. *Boldrini L., Calcinai A., Samaritani E. et al.* Tumour necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta are significantly associated with better prognosis in non-small cell lung carcinoma, putative relation with BCL-2-mediated neovascularization. **Brit. J. Cancer**, 2000; 83: 480–486.
48. *Fisher J.R., Darjes H., Lahm H. et al.* Constitutive secretion of bioactive transforming growth factor beta 1 by small cell lung cancer cell lines. **Eur. J. Cancer**, 1994; 30A: 2125–2129.
49. *Lagadec P.F., Saraya K.A., Balkwill F.R.* Human small-cell lung-cancer cells are cytokine-resistant but NK/LAK-sensitive. **Int. J. Cancer**, 1991; 48: 311–317.
50. *Tang B., de Castro K., Barnes H.E. et al.* Loss of responsiveness to transforming growth factor beta induces malignant transformation of non-tumorigenic rat prostate epithelial cells. **Cancer Res**, 1999; 59(19): 4834–4842.
51. *Bottinger E.P., Jakubczak J.L., Haines D.C. et al.* Transgenic mice overexpressing a dominant-negative mutant type II transforming growth factor beta receptor show enhances

- tumorigenesis in the mammary gland and lung in response to the carcinogen 7,12-dimethylnebz-[α]-anthracene. **Cancer Res**, 1997; 57(24): 5564–5570.
52. Kanzler S., Meyer E., Lohse A.W. et al. Hepatocellular expression of a dominant-negative mutant TGF-beta type II receptor accelerates chemically induced hepatocarcinogenesis. **Oncogene**, 2001; 20(36) 5015–5024.
 53. Engel J.D., Kundu S.D., Yang T. et al. Transforming growth factor-beta type II receptor confers tumor suppressor activity in murine renal carcinoma (Renca) cells. **Urology**, 1999; 54(1): 164–170.
 54. Chen T., Yan W., Wells R.G. et al. Novel inactivating mutations of transforming growth factor-beta type I receptor in head-and-neck cancer metastases. **Int. J. Cancer**, 2001; 93(5): 653–661.
 55. Chen T., Carter D., Garrigue-Antar L., Reiss M. Transforming growth factor beta type I receptor kinase mutant associated with metastatic breast cancer. **Cancer Res**, 1998; 58(21): 4805–4810.
 56. Goggins M., Shekher M., Turnacioglu K. et al. Genetic alterations of the transforming growth factor beta receptor genes in pancreatic and biliary adenocarcinomas. **Cancer Res**, 1998; 58(23): 5329–5332.
 57. Periyasamy S., Ammanamanchi S., Tillekeratne M.P., Brattain M.G. Repression of transforming growth factor-beta receptor type I promoter expression by Sp1 deficiency. **Oncogene**, 2000; 19(40) 4660–4667.
 58. Tokunaga H., Lee D.H., Kim I.Y. et al. Decreased expression of transforming growth factor beta receptor type I is associated with poor prognosis in bladder transitional cell carcinoma patients. **Clin. Cancer Res**, 1999; 5(9): 2520–2525.
 59. Kim I.Y., Ahn H.J., Zelner D.J. et al. Loss of expression of transforming growth factor beta type I and type II receptors correlates with tumor grade in human prostate cancer tissues. **Clin. Cancer Res**, 1996; 2(8): 1255–1261.
 60. Hattori K., Okamoto M., Oyasu R. Transforming growth factor beta type I receptor acts as a potent tumor suppressor in rat bladder carcinoma. **Carcinogenesis**, 1997; 18(10): 1867–1870.
 61. Hahn S.A., Schutte M., Hoque A.T. et al. DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1. **Science**, 1996; 271(5247): 350–353.
 62. Thiagalingam S., Lengauer C., Leach F.S. et al. Evaluation of candidate tumour suppressor genes on chromosome 18 in colorectal cancers. **Nature Genet**, 1996; 13(3): 343–346.
 63. Maitra A., Molberg K., Albores-Saavedra J., Lindberg G. Loss of Dpc4 expression in colonic adenocarcinomas correlates with the presence of metastatic disease. **Am. J. Pathol**, 2000; 157(4): 1105–1111.
 64. Xu X., Brodie S.G., Yang X. et al. Haploid loss of the tumor suppressor Smad4/Dpc4 initiates gastric polyposis and cancer in mice. **Oncogene**, 2000; 19(15): 1868–1874.
 65. Schwarte-Waldhoff I., Volpert O.V., Bouck N.P. et al. Smad4/DPC4-mediated tumor suppression through suppression of angiogenesis. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA**, 2000; 97(17): 9624–9629.
 66. Morun A., Itoh S., Moustakas A. et al. Functional consequences of tumorigenic missense mutations in the aminoterminal domain of Smad4. **Oncogene**, 2000; 19(38): 4396–4404.
 67. Kleeff J., Ishiwata T., Maruyama H., Friess H., Truong P., Buchler M.W., Falb D., Korc M. The TGF-beta signaling inhibitor Smad7 enhances tumorigenicity in pancreatic cancer. **Oncogene**, 1999; 18(39): 5363–5372.
 68. Iolascon A., Giordani L., Borriello A. et al. Reduced expression of transforming growth factor-beta receptor type III in high stage neuroblastomas. **Brit. J. Cancer**, 2000; 82(6): 1171–1176.
 69. Yan Z., Deng X., Friedman E. Oncogenic Ki-ras confers a more aggressive colon cancer phenotype through modification of transforming growth factor-beta receptor III. **J. Biol. Chem**, 2001; 276(2): 1555–1563.
 70. Sun L., Chen C. Expression of transforming growth factor beta type III receptor suppresses tumorigenicity of human breast cancer MDA-MB-231 cells. **J. Biol. Chem**, 1997; 272(40): 25367–25372.

Одержано: 28.12.2007