

Регуляция неоангиогенеза	392
Опухолевый ангиогенез	393
Другие диагностически значимые факторы роста	399

## сокращения раздела:

**EGF** – эпидермальный фактор роста  
**FGF** – фактор роста фибробластов  
**HGF** – фактор роста гепатоцитов  
**IGF** – инсулиноподобные факторы роста

**MMPS** – матриксные металлопротеиназы  
**PDGF** – тромбоцитарный фактор роста  
**PLGF** – плацентарный фактор роста  
**TGF** – трансформирующие факторы роста

**TIMP** – ингибиторы MMP  
**SCF** – фактор стволовых клеток  
**VEGF** – васкулоэндотелиальный фактор роста

**Ф**акторы роста – полипептиды с молекулярной массой 5-50 кДа, объединенные в группу трофических регуляторных субстанций. Подобно гормонам, эти факторы обладают широким спектром биологического действия на многие клетки – стимулируют или ингибируют митогенез, хемотаксис, дифференцировку. В отличие от гормонов, факторы роста, как правило, продуцируются неспециализированными клетками, находящимися во всех тканях, и обладают эндокринным, паракринным и аутокринным действием. Эндокринные факторы вырабатываются и транспортируются к удаленным клеткам-мишеням через кровоток. Достигая своей «цели», они взаимодействуют со специализированными высокоаффинными рецепторами клеток-мишеней. Паракринные факторы отличаются тем, что распространяются путем диффузии. Рецепторы клеток-мишеней обычно расположены вблизи клеток-продуцентов. Аутокринные факторы оказывают воздействие на клетки, являющиеся непосредственным источником этих факторов. Большинство полипептидных факторов роста действует по паракринному или аутокринному типу. Однако отдельные факторы, такие как инсулиноподобный фактор роста (IGF) способны оказывать эндокринное действие.

## Регуляция неоангиогенеза

Нормальное функционирование тканей зависит от регулярной доставки кислорода кровеносными сосудами. На понимании того, как формируются кровеносные сосуды, сфокусирована большая часть исследовательских усилий в последнее десятилетие. Васкулогенез у эмбрионов – это процесс, в результате которого кровеносные сосуды образуются *de novo* из предшественников эндотелиальных клеток. Ангиогенез – это процесс образования новых кровеносных сосудов из уже существующей сосудистой системы. Он играет важную роль в развитии, нормальном рос-

те ткани, заживлении ран, репродуктивном цикле у женщин (развитие плаценты и желтого тела, овуляция) и также играет основную роль в различных заболеваниях. Особый интерес сфокусирован на росте опухолей. Именно формирование новой системы кровоснабжения позволяет опухоли расти. Этот процесс, описанный как опухолевый ангиогенез, также является неотъемлемой частью при распространении опухолевых клеток и росте метастазов. Процесс неоангиогенеза является необходимым для длительной адаптации тканей в условиях повреждения. При этом происходит частичное поступление факторов роста в кровь, что имеет диагностическое значение.

Выделяют следующие стадии неангиогенеза:

1. увеличение проницаемости эндотелия и разрушение базальной мембраны;
2. миграция эндотелиальных клеток;
3. пролиферация эндотелиальных клеток;
4. «созревание» эндотелиальных клеток и ремоделирование сосудов.

Главным механизмом регуляции процессов неангиогенеза является высвобождение ангиогенных факторов, источниками которых могут быть эндотелиальные и тучные клетки, макрофаги и др. Под действием ангиогенных факторов происходит активация эндотелиоцитов (преимущественно в посткапиллярных венулах) и миграция их за пределы базальной мембраны с формированием ответвлений основных сосудов. Предполагается, что в механизме миграции эндотелиоцитов большое значение играет активация экспрессии эндотелиальных молекул адгезии, например, E-селектина. В стабильном состоянии эндотелиоциты не пролиферируют и лишь изредка (1 раз в 7-10 лет) делятся. Под действием ангиогенных факторов роста и цитокинов происходит активация пролиферации эндотелиоцитов, которая завершается ремоделированием сосуда, после чего вновь сформированный сосуд приобретает стабильное состояние.

Рост новых сосудов детерминирован балансом между его стимуляторами и ингибиторами. При низком значении соотношения стимуляторов к ингибиторам образования сосудов неангиогенез блокируется или малоинтенсивен, напротив, при высоких значениях соотношения происходит активный запуск неангиогенеза.

**Стимуляторы неангиогенеза:** васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор роста фибробластов (FGF), ангиогенин, эпидермальный фактор роста (EGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), трансформирующие факторы роста  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ) и  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1), NO, интерлейкин-8 и неспецифические факторы, такие, как матриксные металлопротеиназы (MMPs).

**Ингибиторы неангиогенеза:** эндостатин, растворимые рецепторы VEGF (sVEGFR), тромбоспондин, ангиостатин (фрагмент плазминогена), вазостатин, рестин, ингибиторы MMP (TIMP-1, TIMP-2).

### Опухолевый ангиогенез

В отличие от обычной, нормальной сосудистой сети, которая быстро созревает и стабилизируется, кровеносные сосуды опухоли имеют структурные и функциональные аномалии. В них нет перicyтов – клеток, функционально связанных с сосудистым эндотелием и крайне важных для стабилизации и созревания сосудистых структур. Кроме того, сосудис-

тая сеть опухоли имеет хаотическую организацию, с извитостью и повышенной проницаемостью сосудов, а ее выживание и пролиферация зависят от ростовых факторов. Эти сосудистые аномалии, которые в большей степени обусловлены избыточной продукцией ростовых факторов, формируют условия, благоприятные для роста опухоли.

Для раковых клеток характерно увеличение уровня стимуляторов неангиогенеза. В отсутствие кровоснабжения опухоли получают кислород и питательные вещества путем диффузии и обычно не вырастают более 1-2 мм в диаметре. Начало ангиогенеза ведет к формированию нового кровоснабжения и облегчает быстрый рост и метастазирование опухоли, ставшей благодаря этому активной. Хотя в опухолевом ангиогенезе участвуют много ростовых факторов, установлено, что VEGF является самым мощным и доминирующим из них. Нарушение кровоснабжения опухоли может подавить ее последующий рост. Предполагается, что блокирование опухолевого роста возможно путем подавления образования и активности ростовых факторов ангиогенеза или непосредственным воздействием на вновь образованные, незрелые кровеносные сосуды. Такой способ воздействия на опухоль не вызывает ее эррадикации, а всего лишь ограничивает ее рост, переводя заболевание в вяло текущий хронический процесс. Анти-VEGF терапия подавляет рост новых опухолевых сосудов и вызывает обратное развитие недавно сформировавшегося сосудистого русла.

### Васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF, VEGF A)

**NEW** VEGF – гетеродимерный гликопротеиновый ростовой фактор, продуцируемый различными типами клеток. Идентифицированы, по крайней мере, 5 вариантов VEGF-A: VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>165</sub>, VEGF<sub>183</sub>, VEGF<sub>189</sub>, VEGF<sub>206</sub>. Другие варианты VEGF обозначаются как VEGF-B, -C, -D. VEGF<sub>165</sub> является преобладающей формой для большинства тканей. Саркома Капоши экспрессирует VEGF<sub>121</sub> и VEGF<sub>165</sub>. VEGF<sub>121</sub> и VEGF<sub>165</sub> являются растворимыми формами, тогда как VEGF<sub>189</sub> и VEGF<sub>206</sub> находятся в связанной форме с гепарин-содержащими протеогликанами мембраны. В отличие от других митогенов эндотелиальных клеток, таких как bFGF (основная форма) и PDGF, VEGF синтезируется как предшественник, содержащий 226 аминокислот.

VEGF – потенциальный митоген для эпителиальных клеток сосудов. Он оказывает сильное влияние на проницаемость сосудов, является мощным ангиогенным белком в различных экспериментальных системах, принимает участие в процессах неоваску-

ляризации в патологических ситуациях. Наблюдается синергизм действия между VEGF и bFGF на индукцию ангиогенеза. Из способности VEGF воздействовать на проницаемость сосудов следует возможность вовлечения этого ростового фактора в изменение функций гематоэнцефалического барьера в субнормальных и патологических условиях. VEGF-A также является причиной вазодилатации через NO-синтезный путь в эндотелиальных клетках и может активировать миграцию моноцитов.

VEGF-A может определяться в плазме и сыворотке пациентов, но его уровень в сыворотке значительно выше. Чрезвычайно высокие уровни можно обнаружить в содержимом кист, образующихся у пациентов с опухолями головного мозга или в асцитной жидкости. Тромбоциты высвобождают VEGF-A при агрегации и могут быть другим основным источником его для опухолевых клеток. Различные исследования показали, что ассоциация высокого уровня VEGF-A в сыворотке с плохим прогнозом у пациентов со злокачественными опухолями может коррелировать с повышенным содержанием тромбоцитов. Опухоли могут секретировать цитокины и факторы роста, которые стимулируют продукцию мегакариоцитов в костном мозге и повышают содержание тромбоцитов. Это, в свою очередь, может приводить к другому, непрямому усилению доставки VEGF-A к опухоли. Более того, VEGF-A вовлечен во множество других патологических процессов, ассоциированных с усилением ангиогенеза или увеличением проницаемости сосудов. Примерами, где VEGF-A играет важную роль, могут служить псориаз и ревматоидный артрит, а также синдром гиперстимуляции яичников. Диабетическая ретинопатия также ассоциирована с высокими внутриглазными уровнями VEGF-A, а ингибирование функции VEGF-A может привести к бесплодию из-за блокировки функции желтого тела. Важность VEGF-A для роста опухоли была наглядно продемонстрирована с помощью VEGF рецепторов для блокировки пролиферации *in vivo*, а также блокирующих антител к VEGF или к одному из VEGF рецепторов. Вследствие этого интерференция с функцией VEGF-A стала основным интересом для разработки лекарственных препаратов, направленных на блокаду ангиогенеза и метастазирования. В настоящий момент более 110 фармацевтических компаний во всем мире вовлечены в разработку таких антагонистов. Их подходы включают антагонисты VEGF-A или его рецепторов, селективные ингибиторы тирозинкиназ. Адресность передачи сигналов VEGF может иметь очень важное терапевтическое значение для многих заболеваний и служить основой для разработки будущих (анти-)ангиогенных методов лечения.

### Васкулоэндотелиальный фактор роста C (VEGF-C)

NEW

VEGF-C принадлежит семейству VEGF. Показано, что он обладает ангиогенными и лимфангиогенными свойствами. Семейство VEGF и их рецепторов участвует в развитии и росте эндотелия сосудов. Два белка этого семейства, VEGF-C и -D, оказывают регуляторное влияние на эндотелиальные клетки лимфатических сосудов через рецептор VEGFR3, действуя как митогены.

Экспрессия VEGF-C ассоциирована с онкогенетическими заболеваниями. Экспрессия VEGF-C совместно со рецепторами способствует выживаемости и пролиферации опухолевых клеток. Повышенная экспрессия VEGF-C показана при злокачественных опухолях ЖКТ, где она коррелирует с инвазией, метастазами в лимфоузлы и снижением выживаемости.

### Васкулоэндотелиальный фактор роста D (VEGF-D)

NEW

VEGF-D (также известен как *c-fos*-индуцируемый фактор, или FIGF) очень близок к VEGF-C. Он обладает структурной гомологией и рецепторной специфичностью сходной с VEGF-C, поэтому считается, что VEGF-D и VEGF-C можно выделить в подсемейство VEGF. VEGF-D изначально синтезируется в виде белка-предшественника, содержащего уникальные N- и C-терминальные пропептиды в дополнение к центральному рецептор-связывающему VEGF гомологичному домену (VHD). N- и C-терминальные пропептиды не были обнаружены у других членов семейства VEGF. Эти пропептиды протеолитически расщепляются во время биосинтеза, что приводит к формированию зрелой, секретлируемой формы, состоящей из моновалентных димеров VHD.

Подобно VEGF-C, VEGF-D связывается на поверхности клеток с тирозинкиназным VEGF рецептором 2 (VEGF R2/Flk-1/KDR) и VEGFR3. Эти рецепторы локализованы на васкулярных и лимфатических эндотелиальных клетках и отвечают за ангио- и лимфогенез. Зрелая форма VEGF-D связывается с этими рецепторами с большей аффинностью, чем изначальная проформа VEGF-D. Показана экспрессия гена VEGF-D у развивающихся эмбрионов, особенно в легочной мезенхиме. VEGF-D также локализован в опухолевых клетках. В тканях взрослых людей мРНК VEGF-D экспрессируется в сердце, легких, скелетной мускулатуре и тонком кишечнике.

### Рецепторы VEGF (sVEGFR-1, sVEGFR-2)

NEW

Многие рецепторы цитокинов существуют в растворимой форме, возникающей после их протеолитического расщепления и отде-

ления от клеточной поверхности. Эти растворимые рецепторы способны связывать и нейтрализовывать цитокины в циркуляции. Существуют три рецептора для VEGF-A: VEGFR-1 (Flt-1), -2 (KDR) и -3 (Flt-4). Все они содержат семь Ig-подобных повторов во внеклеточных доменах. VEGFR1-3 в основном экспрессируются в пролиферирующей эндотелии выстилки сосудов и/или проникающих солидных опухолях. VEGFR2, однако, более широко представлен по сравнению с VEGFR1 и экспрессируется во всех эндотелиальных клетках сосудистого происхождения. VEGFR2 также присутствует в эндотелиальных и периваскулярных клетках капилляров в тонкой пластине семенных канальцев, клетках Лейдига и клетках Сертоли. VEGFR2 связывает VEGF-A, -C и -D. В отличие от VEGFR1, который связывает как PlGF, так и VEGF, с высокой афинностью, VEGFR2 связывает с высокой афинностью только VEGF, но не PlGF.

Эти рецепторы играют важную роль в ангиогенезе. sVEGFR-1 является ингибитором этого процесса. Связываясь с VEGF, он препятствует взаимодействию VEGF с клетками-мишенями. Функциональная инактивация VEGFR2 антителами может нарушить процесс ангиогенеза и предотвратить инвазию опухолевых клеток. В эндотелиальных клетках сосудов ангиогенез, индуцированный белком HIV-1 Tat, опосредован VEGFR2. Tat специфически связывает и активирует VEGFR2. Tat-индуцированный ангиогенез ингибируется агентами, способными блокировать VEGFR2.

### Фактор роста фибробластов (FGF)

В настоящее время семейство FGF включает 19 различных белков. Первоначально были охарактеризованы две формы: кислая (aFGF) и основная (bFGF).

а и bFGF являются продуктами различных генов и имеют до 53% гомологии. Молекула aFGF представлена простой полипептидной цепью с м.м. 16,8 кДа. М.м. различных форм bFGF колеблется от 16,8 до 25 кДа. Функциональных различий между формами bFGF не найдено.

Биологическая активность FGF разнообразна. Они являются митогенами для различных клеток нейроэктодермального и мезенхимального происхождения, потенциальными митогенами и стимуляторами ангиогенеза, поддерживают и стимулируют дифференцировку клеток различных нейрональных типов *in vivo* и *in vitro*. Помимо а и bFGF, семейство включает онкобелки int-2 (FGF-3) и hst (FGF-4), FGF-5, фактор роста кератиноцитов и фактор роста эндотелия сосудов. FGF-3 и -4 тесно взаимосвязаны с bFGF, который сам, вероятно, может быть потенциальным онкогеном. Клинические данные подтверждают роль bFGF в опухолевом неоангиогенезе. Так, повышение уровня этого фактора коррелирует со степенью агрессивности процесса

при многих солидных опухолях, лейкозах, лимфомах у детей и у взрослых и может служить прогностическим фактором агрессивности опухолевого процесса. bFGF необходим для развития и поддержания сосудистой системы в течении эмбриогенеза, он также является основным ангиогенным фактором при раннем восстановлении, сердечно-сосудистых заболеваниях.

### Эпидермальный фактор роста (EGF)

EGF – глобулярный белок с м.м. 6,4 кДа, состоящий из 53 аминокислотных остатков, который действует как сильный митоген на различные клетки эндодермального, эктодермального и мезодермального происхождения. EGF найден в крови, цереброспинальной жидкости, молоке, слюне, желудочном и панкреатическом соках. Фактор роста в моче, известный как урогастрон, также идентичен EGF. Основным местом синтеза EGF являются слюнные железы. EGF контролирует и стимулирует пролиферацию эпидермальных и эпителиальных клеток, включая фибробласты, почечный эпителий, глиальные клетки, клетки гранулы яичников и тиреоидные клетки *in vitro*. EGF также стимулирует пролиферацию эмбриональных клеток и увеличение высвобождения кальция из костной ткани. Он способствует резорбции кости и является сильным хемоаттрактантом для фибробластов и эпителиальных клеток. EGF сам и в комбинации с другими цитокинами является важнейшим фактором, опосредующим процессы заживления ран и ангиогенеза. Он также действует как ингибитор секреции кислоты желудочного сока. В некоторых биологических жидкостях, таких как слюна, моча, желудочный сок, семенная жидкость и молоко, присутствуют высокие уровни EGF.

EGF играет важную роль в канцерогенезе. В определенных условиях он может вызывать малигнизацию клеток. EGF индуцирует протоонкогены c-fos и c-myc. Биологические эффекты иммунореактивного EGF близки к таковым у TGF- $\alpha$ . Важно отметить, что оба фактора связываются с одними и теми же рецепторами. Однако эффективность действия EGF на 50% выше, чем TGF- $\alpha$ .

### Трансформирующий фактор роста $\alpha$ (TGF- $\alpha$ )

Основным источником TGF- $\alpha$  являются карциномы. Макрофаги и кератиноциты (возможно, другие эпителиальные клетки) также секретируют TGF- $\alpha$ . TGF- $\alpha$  стимулирует фибробласты, развитие эндотелия. Является ангиогенным фактором. Как и EGF, TGF- $\alpha$  участвует в регуляции пролиферации клеток, а также в регуляции роста опухолевых клеток.

### Трансформирующий фактор роста $\beta$ (TGF- $\beta$ )

Семейство TGF- $\beta$  включает группу гомологичных гетеродимерных белков TGF $\beta$ -1, -2, -3 и -4. Основной изоформой, секретируемой клетками иммунной системы, является TGF- $\beta$ 1. Все TGF- $\beta$  состоят из 112 аминокислотных остатков. Структура TGF- $\beta$ 2 имеет 50% гомологию с TGF- $\beta$ 1 на протяжении первых 20 аминокислотных остатков и 85% – для фрагмента 21-36. Различий в функциональной активности между TGF- $\beta$ 1 и - $\beta$ 2 не обнаружено. TGF- $\beta$  продуцируется многими типами клеток и тканей: активированными Т-лимфоцитами и макрофагами, тромбоцитами, почками, плацентой.

Фактор продуцируется в неактивной форме, содержащей наряду с основным димером фрагменты дополнительных цепей молекулы-предшественницы. Активация происходит в форме отщепления этих фрагментов с помощью протеиназ (плазмина, катепсина и др.). Мишенями TGF- $\beta$  служат также разнообразные клетки, поскольку экспрессия его высокоаффинного рецептора широко распространена. При действии TGF $\beta$  на иммунную систему преобладают ингибирующие эффекты. Фактор подавляет гемопоэз, синтез воспалительных цитокинов, ответ лимфоцитов на IL-2, -4 и -7, формирование цитотоксических NK- и Т-клеток. В то же время он усиливает синтез белков межклеточного матрикса, способствует заживлению ран, оказывает анаболическое действие.

В отношении полиморфоядерных лейкоцитов TGF- $\beta$  выступает как антагонист воспалительных цитокинов. Выключение гена TGF- $\beta$  приводит к развитию фатальной генерализованной воспалительной патологии, в основе которой лежит аутоиммунный процесс. Таким образом, он является элементом обратной регуляции иммунного ответа и, прежде всего, воспалительной реакции. В то же время TGF- $\beta$  важен и для развития гуморального ответа: он переключает биосинтез иммуноглобулинов на IgA-изотип. Стимулирует ангиогенез. Уровень TGF- $\beta$  в плазме крови положительно коррелирует с васкуляризацией опухоли.

### Тромбоцитарный фактор роста (PDGF)

PDGF – один из потенциальных митогенных полипептидов, содержащихся в крови человека. Состоит из двух цепей: А и В, связанных в AA-, BB- и AB-изоформы. Эти три изоформы отличаются как по функциональным свойствам, так и по способу секреции. Если AA- и AB-формы быстро секретируются из клетки продуцента, то BB-форма остается в основном ассоциированной с продуцирующей клеткой. Только димерные формы PDGF могут связываться с рецепторами. Выделены два различных типа рецепторов.

$\alpha$ -рецептор связывает или А- или В-полипептид, тогда как  $\beta$ -рецептор связывает только В-полипептид. Весь спектр биологических эффектов обусловлен этими тремя молекулами PDGF и двумя рецепторами, их различной экспрессией и сложными внутриклеточными механизмами регуляции их активности. Источником PDGF в сыворотке крови являются  $\alpha$ -гранулы тромбоцитов, хотя макрофаги и клетки эндотелия также могут продуцировать этот фактор. На определенных стадиях клетки плаценты и клетки гладких мышц аорты новорожденного тоже служат источником PDGF.

Изоформа AA предпочтительно секретируется фибробластами, гладкомышечными клетками сосудов, остеобластами, астроцитами, клетками линий COLO (карциномы толстой кишки) и WLM (опухоль Вилма Wilm's tumor). Синтез BB ассоциирован с макрофагами, клетками островков Лангерганса, не ангиогенным эпителием и SW (тироидная карцинома) клеточной линией. Среди клеток, продуцирующих обе цепи (А и В) известны нейроны, мезангиальные клетки почки, клеточные линии глиомы и мезотелиомы и тромбоциты. Начальные данные предполагали, что в тромбоцитах человека содержится примерно 70% PDGF-AB и 30% -BB. Однако в более поздних исследованиях было показано, что возможно содержание до 70% PDGF-AA, а полученные ранее данные являются артефактом. Тип секретируемого(ых) PDGF димера(ов) зависит от продуцируемой мРНК, а также на него могут влиять эффективность трансляции, секреция и внутриклеточная деградация.

Структурная идентичность В-цепи и протоонкогена *c-sis* свидетельствует о том, что PDGF может играть определенную роль в вирусиндуцированной злокачественной трансформации инфицированных клеток. PDGF участвует в регуляции процессов острого воспаления, заживления ран и образования рубца. PDGF, выделяющийся из альвеолярных макрофагов, участвует в развитии легочного фиброза. Установлено также, что с PDGF связано развитие атеросклероза, гломерулонефрита, миелофиброза и образование келоида. Как и EGF, PDGF индуцирует экспрессию протоонкогенов, таких как *fos*, *myc* и *jun*. PDGF также повсеместно присутствует в нейронах ЦНС, где, как предполагают, он играет важную роль в выживании и регенерации клеток, в опосредовании пролиферации и дифференцировки глиальных клеток

### Плацентарный фактор роста (PlGF)



PlGF – гликопротеин с м.м. 46-50 кДа, относящийся к семейству VEGF (42% гомологии с VEGF). PlGF также гомологичен, хотя и более отдаленно, семейству факторов роста PDGF. Существуют две изоформы PlGF: -1 и -2, различающиеся

наличием у P/IGF-2 гепаринсвязывающегося домена. P/IGF обеспечивает пролиферацию вневорсинчатого трофобласта. Как ясно из названия, P/IGF был впервые идентифицирован при нормальных условиях в человеческой плаценте. Он экспрессируется и в других тканях, таких как капилляры и эндотелий пупочной вены, костный мозг, матка, NK-клетки и кератиноциты. P/IGF также повышается при различных патологических состояниях, включая заживление ран и образование опухоли. По сравнению с VEGF, роль P/IGF в образовании новых сосудов менее понятна. Он может увеличивать продолжительность жизни, рост и миграцию эндотелиальных клеток *in vitro*, и содействовать образованию сосудов на некоторых моделях *in vivo*. Активность P/IGF может проявляться при прямом взаимодействии фактора с VEGFR1. Было сделано предположение, что VEGFR1 действует как резервуар для VEGF, и что P/IGF, связываясь с рецептором, замещает VEGF, высвобождая его для активации VEGFR2. P/IGF может синергично усиливать VEGF-индуцированный ангиогенез и проницаемость сосудов. Концентрация P/IGF возрастает в 4 раза от конца первого к концу второго триместра физиологически протекающей беременности.

### Фактор роста гепатоцитов (HGF)

HGF, также называемый рассеивающим фактором (SF), состоит из двух субъединиц, связанных дисульфидной связью:  $\alpha$  (69 кДа) и  $\beta$  (34 кДа). HGF – мультифункциональный цитокин, действующий как митоген, что связано с его функцией в органогенезе и тканевой репарации. Он обладает способностью стимулировать формирование сосудов крови и клеточную пролиферацию, что предполагает его вовлеченность в злокачественный рост и метастазирование в легких, груди, поджелудочной железе, аденокарциномы, множественной миеломы и гепатоцеллюлярной карциномы. В опухолевых клетках рака груди HGF сильно индуцирует экспрессию bcl-x и, таким образом, ингибирует апоптоз. HGF постоянно продуцируется стромальными клетками костного мозга и стимулирует гемопоэз.

### Ангиогенин (ANG)

**NEW** ANG – это одноцепочечный негликозилированный полипептид с м.м. 14 кДа, который принадлежит семейству рибонуклеаз RIBBASE (рибонуклеазы со специальными биологическими функциями). Молекулы этого семейства проявляют не только рибонуклеазную активность, но и оказывают специальные биологические воздействия. Последовательность ANG на 35% идентична с панкреатической рибонуклеазой. Показано, что на аминокислотном уровне ангиогенин человека на 75% иден-

тичен ANG мыши и «работает» в мышечных системах. ANG экспрессируется эндотелиальными, гладкомышечными клетками, фибробластами, цилиндрическим эпителием кишечника, лимфоцитами, клетками первичной аденокарциномы, некоторыми линиями опухолевых клеток. Рецептор ангиогенина неизвестен. Предполагают, что актин, в качестве рецептора или связывающей молекулы, необходим для проявления действий ангиогенина.

Функционально, ANG чаще всего связан с процессом ангиогенеза. Считается, что первоначально он связывается с актином, а затем происходит диссоциация комплекса актин-ANG с последующей активацией тканевого активатора плазминогена. В результате образуется плазмин, способствующий деградации компонентов базальной мембраны, таких как ламинин и фибронектин. Деструкция базальной мембраны является необходимым предварительным условием для миграции эндотелиальных клеток в процессе неоваскуляризации. Хотя представляется, что ANG действует преимущественно вне сосудов или периваскулярно, циркулирующий ANG был выявлен в нормальной сыворотке в концентрациях порядка нг/мл. При патологических процессах повышенные уровни ANG выявлены у больных, страдающих раком поджелудочной железы и окклюзией артерии.

До настоящего времени доступными методами исследований ANG были капиллярный рост *in vivo* на хорионаллантоисной оболочке куриного эмбриона или роговице кролика. Эти методы требовали около двух недель и не позволяли дифференцировать различные ангиогенные факторы. Предлагаемый метод количественного определения ANG в плазме крови или супернатанте культуры клеток занимает 2,5 часа.

### Ангиопоэтины-1 и -2 (Ang)

**NEW** Ang-1 и -2 – гликопротеины, относящиеся к семейству факторов роста, регулируют развитие сосудистой ткани. Ang-1 состоит из 498 аминокислотных остатков, Ang-2 – из 467. АК последовательности Ang-1 и -2 на 60% идентичны. Оба Ang взаимодействуют с рецептором тирозинкиназы-2 (Tie-2), который представлен преимущественно на эндотелиальных клетках. Однако существует, как минимум, три варианта альтернативного сплайсинга Ang-1, причем две альтернативные формы не способны активировать Tie-2. Таким образом, они выступают в качестве эндогенных супрессоров основной активной формы Ang-1. Кроме того, Ang-1 и -2 выступают как конкуренты по взаимодействию с рецептором Tie-2, поэтому Ang-2 в зависимости от типа клеток выступает либо супрессором, либо активатором Tie-2 рецептора.

Ang-1 и -2 активно экспрессируются у эмбриона, при быстром развитии сосудистой ткани. Делеция гена Ang-1 приводит к летальным последствиям у эмбриона из-за серьезных пороков в развитии сердца и сосудов. Хотя Ang-2 не играет столь значительную роль, как Ang-1, в формировании сосудистой системы эмбриона, но в его отсутствие тоже нарушается васкуляризация, что становится причиной ранней смерти. У взрослого организма Ang-1 синтезируется преимущественно эндотелиальными клетками, мегакариоцитами и тромбоцитами, а Ang-2 экспрессируется локально: яичниками, маткой, плацентой. Ang-1 регулирует развитие и ремоделирование кровеносных сосудов, повышает выживаемость эндотелиальных клеток. Выживаемость эндотелиальных клеток при взаимодействии Ang-1 с Tie-2 включает PI3K/AKT-механизм, а миграция клеток при том же взаимодействии (лиганд/рецептор) происходит при участии нескольких киназ (PI3K, PAK, FAK). Напротив, Ang-2, действуя в одиночку, инициирует гибель эндотелиальных клеток и регрессию сосуда, хотя синергично с VEGF он может способствовать формированию новых сосудов. Если Ang-1 действует синергично VEGF, его гиперпродукция приводит к повышенной васкуляризации тканей. Таким образом, Ang-1 и -2, как правило, выступают в качестве антагонистов, совместно регулирующих рост сосудов.

Действие ангиопоэтинов не ограничено сосудистым эндотелием кровеносного русла – они могут принимать участие в формировании сосудов лимфоидной системы. Ang-1 обладает другими биологическими эффектами, например, усиливает адгезию и миграцию нейтрофилов и эозинофилов, регулирует проницаемость сосудистой стенки. Также Ang-1 может вызывать рост и выживаемость нервных клеток, регулирует организацию дендритных клеток. Повышенные уровни Ang-1 и -2 усиливают ангиогенез злокачественных образований. Высокие концентрации циркулирующего Ang-1 ассоциированы с гипертензией и онкологическими патологиями.

### Пигментный фактор эпителиального происхождения (PEDF)

NEW

PEDF (м.м. 50 кДа, принадлежит семейству серпинов) впервые был идентифицирован как фактор, секретируемый клетками эпителия сетчатки и способствующий выживаемости нейронов *in vitro* и *in vivo*. С другой стороны, было показано, что PEDF обладает свойством индуцировать апоптоз клеток эндотелия капилляров, поддерживая тем самым бессосудистую природу сетчатки. При многих офтальмологических заболеваниях, характеризующихся нарушениями регуляции иннервации и микроциркуляторного русла сетчатки, PEDF является важным регулятором при глазных

заболеваниях. Кроме того, показано, что PEDF обладает многофункциональной противоопухолевой активностью при экспериментальной нейробластоме, так как PEDF, продуцируемый шванновскими клетками, индуцирует дифференцированный, менее злокачественный фенотип в клетках нейробластомы, способствует дальнейшему росту и выживаемости шванновских клеток и ингибирует ангиогенез.

### Оксид азота (NO)

Биологическое действие NO было общепризнано после идентификации его в качестве эндотелий-зависимого релаксирующего фактора (EDRF), ответственного за мощные вазодилатирующие свойства. С тех пор NO был определен как плейотропный биологический медиатор, регулирующий различные функции: от нервной деятельности до регуляции иммунной системы. Он является свободным радикалом с коротким временем полужизни *in vivo* около нескольких секунд. В связи с этим, уровень более стабильных NO-метаболитов, нитритов (NO<sub>2</sub>-) и нитратов (NO<sub>3</sub>-) используется для непрямого определения NO в биологических жидкостях. Примеры включают измененные уровни, ассоциированные с сепсисом, репродукцией, инфекциями, гипертензией, физическими нагрузками, диабетом 2 типа, гипоксией и раком.

NO образуется при окислении L-аргинина с участием NADPH. Окисление происходит при участии одной из трех изоформ ферментов семейства NO-синтазы (NOS) с образованием цитруллина. Члены семейства NOS включают нейрональную (nNOS/NOS1), эндотелиальную (eNOS/NOS3) и индуцибельную (iNOS/NOS2) NO-синтазы. Как это следует из названия, nNOS в большом количестве экспрессируется нейронами ЦНС и ПНС, а также встречается в клетках других тканей, включая миоциты скелетной мускулатуры, эпителиальные клетки легких и мастоциты кожи; eNOS экспрессируется эндотелием, а также может быть выявлена в нейронах, фибробластах кожи, кератиноцитах, фолликулярных клетках щитовидной железы, гепатоцитах и гладкомышечных клетках. iNOS экспрессируется в различных тканях, включая хондроциты, эпителиальные клетки, гепатоциты, глиальную ткань, и в различных типах клеток иммунной системы. В целом, экспрессия eNOS и nNOS происходит постоянно и регулируется Ca<sup>2+</sup>-зависимым кальмодулином, тогда как синтез iNOS индуцируется эндотоксином и воспалительными цитокинами, и относительно нечувствителен к действию Ca<sup>2+</sup>.

Благодаря тому, что NO растворим в липидах, он не запасается, но синтезируется *de novo* и свободно диффундирует сквозь мембраны. Эффекты NO в клетках-мишенях опосредуются через различные механизмы. К примеру, NO-опосредованная активация фермента

гуанилил-циклазы (GC) катализирует формирование второго мессенджера 3',5'-циклического гуанозин монофосфата (сGMP). сGMP вовлечен в ряд биологических функций, таких как регуляция сокращения гладкой мускулатуры, время жизни клеток, пролиферация, функция аксонов, пластичность синапсов, воспаление, ангиогенез и активность циклический нуклеотид-зависимых каналов. NO является также антиопухолевым и антимикробным агентом, благодаря механизмам конверсии в пероксинитрит (ONOO-), формированию S-нитрозотиолов и уменьшению запасов аргинина. Другая предполагаемая роль NO – угнетение митохондриального дыхания через ингибирование цитохромоксидазы. NO может также модифицировать активность белка посредством посттрансляционного нитрозилирования через присоединение его через тиоловую группу остатков цистеина.

Предлагаемый ЗАО «БиоХимМак» набор Total NO/Nitrite/Nitrate Assay R&D Systems имеет 2 аналитические опции. Первая – измерение эндогенного нитрита. Вторая – превращение нитрата в нитрит с использованием нитрат-редуктазы и измерение общего нитрита. Для получения концентрации нитрата необходимо вычесть концентрацию эндогенного нитрита из значения общего нитрита.

### Матриксные металлопротеиназы (MMPs)

MMPs человека представляют собою семейство матрикс-разрушающих ферментов. MMPs обладают деградирующей способностью в отношении почти всех компонентов внеклеточного матрикса, встречающихся в соединительных тканях (коллагена, фибронектина, ламинина, протеогликанов и др.). Помимо сходства на уровне аминокислотной последовательности, все MMP образуются из неактивных предшественников, которые превращаются в активные субстрат-деградирующие протеиназы под воздействием внеклеточных факторов. Источниками образования MMPs являются фибробласты, макрофаги, гладкомышечные клетки сосудистой стенки, нейтрофилы. Любая опухоль является мощным индуктором образования MMPs в клетках стромы. Способствуя инвазии опухолевого роста и метастазированию, MMPs в то же время являются мощными стимуляторами неоангиогенеза. Эндогенные и синтетические ингибиторы MMPs используются в качестве потенциальных противоопухолевых агентов, основное назначение которых – подавление неоангиогенеза.\*

### Эндостатин

Биологически активный С-терминальный фрагмент коллагена VIII с м.м. 20 кДа. Относится к семейству коллагеноподобных белков. Для того, чтобы

избежать избыточного роста сосудов в нормальных условиях, процессы образования новых и ремоделирования исходных сосудов находятся под контролем соответствующих факторов роста. В течение опухолевого ангиогенеза наблюдается проникновение сосудов внутрь растущей опухолевой массы. Эндостатин специфически ингибирует пролиферацию эндотелиальных клеток. Соответственно ингибирует ангиогенез и рост опухоли. В настоящее время проведение терапии с помощью эндостатина проходит первую фазу клинических испытаний.

### Другие диагностически значимые факторы роста\*\*

#### Фактор стволовых клеток (SCF)

Продуцентами SCF являются костномозговые стромальные клетки, фибробласты, эндотелиальные клетки, клетки Сертоли. Его основные клетки-мишени – стволовые кроветворные клетки, ранние коммитированные предшественники клеток различных кроветворных рядов и тучные клетки. SCF активирует дифференцировку мультипотентных клеток предшественников синергично с IL-3, GM-CSF и IL-7 и эритропоэтином. Он участвует в поддержании пролиферации наиболее юных форм предшественников Т-лимфоцитов в тимусе. В отношении тучных клеток он является основным фактором роста и хемотаксическим агентом.

SCF имеет важное клиническое значение, являясь индуктором дифференцировки предшественников лимфоцитов и эритроцитов. Определение SCF представляет значительный интерес при лечении миелодиспластического синдрома и после трансплантации костного мозга.

#### Фактор, ингибирующий лейкозные клетки (LIF)

LIF усиливает пролиферацию предшественников гемопоэтических клеток. Было показано, что LIF вызывает развитие синдрома кахексии у раковых больных. Компонент рецептора LIF gp130 (CD130) входит в состав рецепторов для IL-6 и -11.

#### Нейротропный фактор головного мозга (BDNF)

Вместе с этим фактором в семейство входят фактор роста нервов, нейротропины-3 и -4. BDNF стимулирует рост нервной ткани, главным образом холинергических нейронов головного мозга. Показано, что BDNF воздействует на рост, метаболизм и внутреннюю структуру этих клеток. Главное предназначение нейротропных факторов – защита нейронов от апоптоза.\*\*\*

\* См. главу «Матриксные металлопротеиназы», стр. 445

\*\* Инсулиноподобные факторы роста:

см. главы «Соматотропная функция гипофиза», стр. 143 и «Онкомаркеры», стр. 208,

Информацию об эндотелине

см. главу «Маркеры дисфункции сосудистого эндотелия», стр. 49

\*\*\* См. главу

«Маркеры повреждения нервной системы», стр. 72



**ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА**



Кат. №	Производитель	Наименование, количество/упаковка
AC-27	IDS	IGF-I, инсулиноподобный фактор роста-I, 96 (без экстракции)
449-2800	DSL	IGF-I, инсулиноподобный фактор роста-I (без экстракции), 96
449-2600	DSL	IGF-II, инсулиноподобный фактор роста-II (без экстракции), 96
KHG0021	Biosource	Фактор роста фибробластов (FGFb), основная форма, 96
KHG0111	Biosource	VEGF, 96
BMS277BL	Bender Medsystems	VEGF-A, 96
BMS297	Bender Medsystems	VEGF-C, 96
DVED00	R&D	VEGF-D, 96
BMS268	Bender Medsystems	Рецептор VEGF (sVEGFR1), 96
DVR200	R&D	Рецептор VEGF (sVEGFR2), 96
KHG0061	Biosource	Эпидермальный фактор роста (EGF), 96
DTGA00	R&D	Трансформирующий фактор роста $\alpha$ (TGF- $\alpha$ ), 96
KAC1688	Biosource	Трансформирующий фактор роста $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), 96
BMS254	Bender Medsystems	Трансформирующий фактор роста $\beta$ 2 (TGF- $\beta$ 2), 96
BMS249	Bender Medsystems	Трансформирующий фактор роста $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), 96
DHD00	R&D	Тромбоцитарный фактор роста AB (PDGF-AB), 96
DAA00	R&D	Тромбоцитарный фактор роста AA (PDGF-AA), 96
DBB00	R&D	Тромбоцитарный фактор роста BB (PDGF-BB), 96
DPG00	R&D	Плацентарный фактор роста (PIGF), 96
DAN00	R&D	Ангиогенин, 96
DNST0	R&D	Эндостатин, 96
442-0052	Biomedica	Эндотелин (1-21), 96
KAC2211	Biosource	Фактор роста гепатоцитов (HGF), 96
DCK00	R&D	Фактор стволовых клеток (SCF), 96
BMS242	Bender Medsystems	Фактор ингибирования лейкозных клеток (LIF), 96
917-010	BCM Diagnostics	Оксид азота (NO), 192 (детекция - 540 нм)
OD010C34	PALL	Пробирки с фильтрами для набора NO, 100 штук
422-1680	BCM Diagnostics	Тромбоспондин-1, 96
422-4200	BCM Diagnostics	Пигментный фактор эпителиального происхождения (PEDF), 96
DANG10	R&D	Ангиопоэтин-1, 96
DANG20	R&D	Ангиопоэтин-2, 96