

(МИ-1) и 1,4-замещенного 5-амино-1,2-дигидропиррол-3-она (Д-1) на жизнеспособность и апоптоз-индуцированную гибель эпителиоцитов проксимальных и дистальных канальцев почек. Установлено, что МИ-1 и Д-1 являются более токсичными по отношению к эпителиоцитам дистальных канальцев сравнительно с эпителиоцитами проксимальных канальцев. В механизмы цитотоксичности соединений вовлечен апоптоз-индуцированный путь клеточной гибели.

Ключевые слова: культура клеток, производные малеимида и дигидропиррола, нефротоксичность, апоптоз

Summary

Kharchuk I.V. *Evaluation of potential nephrotoxicity of compounds with anti-proliferative activity derivatives maleimide and dihydropyrrole.*

The features of the influence of a maleimide derivative 1-(4-chlorobenzyl)-3-chloro-4-(CF₃-phenylamino)-1H-pyrrole-2,5-dione (MI-1) and 1,4-substituted 5-amino-1,2-dihydropyrrolo-3-one (D-1) on the viability and apoptosis-induced death of renal proximal and distal tubular epithelial cells. It was found that MI-1 and D-1 were more toxic with respect to the epithelial cells of distal than proximal tubule cells. The apoptosis-induced cell death pathway is involved in the mechanisms of both compounds cytotoxicity.

Key words: cell culture, maleimide and dihydropyrrole derivatives, nephrotoxicity, apoptosis.

Рецензент: д.біол.н., проф. В.К. Рибальченко

УДК 577.112.7:616

ЕНДОТЕЛІАЛЬНИЙ ФАКТОР РОСТУ СУДИН: БІОЛОГІЯ ТА ТЕРАПЕВТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Є.В. Хоменко, Л.Б. Орябінська, О.Г. Мінченко

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»

Вступ

Досягнення останніх років в області молекулярної та клітинної біології, молекулярної генетики та імунології визначили основні напрямки досліджень по створенню нових протипухлинних препаратів. Проблема ангіогенезу є досить актуальною з точки зору розробки нових засобів діагностики та терапії пухлинних і серцево-судинних захворювань. Ангіогенез – це важливий фізіологічний процес утворення нових кровоносних судин з уже існуючої судинної системи. Ангіогенез відіграє важливу роль в процесі розвитку, контролює ріст тканин, загоювання ран та репродуктивний цикл у жінок [17]. Відомо, що прогресія пухлини супроводжується новоутворенням судин, які забезпечують доступ до неї поживних речовин [14]. Судини проростають у пухлину завдяки тому, що вона виділяє цілий ряд ангіогенних факторів, провідними з яких є родина ендотеліальних факторів росту судин (vascular endothelial growth factor - VEGF) [15], причому швидкістю росту пухлини та прогноз захворювання корелюють із рівнем експресії VEGF клітинами пухлини. Відомо, що застосування антитіл до VEGF та його рецепторів, а також генної терапії антисенсових послідовностей VEGF суттєво сповільнює розвиток пухлини [19]. Таким чином, детальне дослідження гена VEGF виступає важливою науково-практичною задачею, що відкриває нові можливості для встановлення ролі ангіогенезу в розвитку пухлинних захворювань.

Метою роботи є аналіз літературних даних стосовно біології та терапевтичного значення VEGF.

Ендотеліальний фактор росту судин (VEGF)

У 1983 році Senger із співавторами виділили з клітинної лінії пухлини хом'яка білок, що був названий фактором проникності судин

Екологічні аспекти сучасної біології та медичної генетики

пухлин ("tumor vascular permeability factor" – VPF). Вони припустили, що VPF може виступати медіатором високої проникності кровоносних судин у пухлині. У зв'язку з тим, що ген VPF не був ізольований і секвенований, даний фактор залишився невідомим для молекулярної біології. Але уже в 1990 році було опубліковано дані стосовно виділення та секвенування амінокислотної послідовності NH₂-кінця VPF клітин хом'яка [40].

У 1989 році Ferrara та Henzel [13] повідомили про виділення розчинного мітогена ендотелію із слизистих клітин фолікул бика, якому надали назву ендотеліального фактора росту судин ("vascular endothelial growth factor" – VEGF). Секвенування амінокислотної послідовності NH₂-кінця очищеного VEGF показало, що даний білок володіє характерними особливостями, які не зустрічалися в жодному з відомих білків [14]. Згодом Connolly зі співавторами [10] повідомив про виділення та секвенування VPF людини клітинної лінії U937. Результати клонування кДНК VPF та VEGF показали, що VPF та VEGF є однією і тією ж молекулою [16]. В цей період було також досліджено аспекти біохімії та молекулярної біології VEGF. Фактор росту судинного ендотелію став відомий також як білок, що індукується гіпоксією та виявляє властивості мітогена ендотеліоцитів й сприяє їх виживанню [13,40]. В 1993 році Ferrara [15] показав, що ігбування VEGF специфічними моноклональними антитілами призводить до супресії росту пухлин *in vivo*.

Результати цих досліджень продемонстрували, що VEGF відіграє важливу роль у регуляції росту кровоносних судин як за фізіологічних, так і патологічних станів.

Структура та функції VEGF

Фактори росту – поліпептиди з молекулярною масою 5-50 кДа, об'єднані в групу трофічних регуляторних субстанцій. Подібно гормонам, ці фактори володіють широким спектром біологічної дії на різні клітини – стимулюють або інгібують мітогенез, хемотаксис, диференціювання. На відміну від гормонів, фактори росту, як правило, продукуються неспеціалізованими клітинами, що знаходяться у всіх тканинах, володіють ендокринною, паракринною та аутокринною дією [4].

Ендотеліальний фактор росту судин – ендотелій-специфічний мітоген фізіологічного і патологічного ангиогенезу [42]. Біологічні властивості VEGF полягають в стимуляції росту й міграції клітин ендотелію, поси-

ленні проникності мікросудин *in vivo*, забезпеченні судиноутворення та індукції й диференціації стовбурових клітин ембріону в гемопоетичні попередники [14,20]. Розуміння процесу експресії різних ізоформ VEGF є важливим для аналізу механізмів регуляції ангиогенезу, новоутворення судин, а також формування тканин та злоякісних пухлин.

Довжина гена VEGFA людини становить близько 14000 пар основ, що має не менше 8 екзонів та 7 інтронів [21]. На даний час відомо декілька ізоформ цього білка, за синтез якого відповідає ген VEGFA, локалізований в області 6p21.3 [16].

Родина VEGF включає VEGF-A, -B, -C, -D, -E та фактор росту плаценти (PlGF), кожен з яких специфічно зв'язується з трьома різними тирозин-кіназними рецепторами – VEGF-R1, -2 та -3 [29]. Представники цієї родини є гомодимерними глікопротеїнами на 30-45% ідентичними за амінокислотним складом [43]. З-поміж представників родини VEGF найкраще охарактеризованим є VEGFA, який складається з двох ідентичних одиниць масою 23 кДа [21]. Експресія та активність VEGF-A регулюється кількома механізмами, такими як гіпоксія, онкогенна регуляція, дисрегуляція супресорів пухлин, присутність факторів транскрипції, медіаторів запалення та механічні пошкодження [6].

Ген VEGFA знаходиться під контролем гіпоксія-індуцибельного фактора-1 α (HIF-1 α). В умовах гіпоксії, HIF-1 α димеризується з HIF-1 β з формуванням фактора транскрипції, що приєднується до гіпоксичних елементів відповіді (hypoxic response elements) в ділянці промотора гена VEGF [31]. Подальша взаємодія з транскрипційними ко-активаторами, такими як p300 та CBP, провокує транскрипцію HIF-цільових генів – VEGF, VEGF-R1 та багатьох інших генів, що регулюють ангиогенез, проліферацію та виживання клітин, апоптоз та їх рухливість [11].

Встановлено, що в результаті альтернативного сплайсингу пре-мРНК VEGFA утворюються різні ізоформи, найважливіші з яких – це VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉ та VEGF₁₂₁. Відомо також декілька другорядних ізоформ – VEGF₂₀₆, VEGF₁₈₃, VEGF₁₄₅ та VEGF₁₄₈, але їх функції ще мало вивчені [19].

Традиційні ізоформи VEGF є про-ангиогенними факторами проникності судин. Ці ізоформи мають екзони – 1-5 та 8a, а також варіабельні екзони 6a, 6b, 7a та 7b, вони формують родину пептидів, що ідентифікується за амінокислотною послідовністю та за властивостями зв'язувати гепарин. Дана родина ідентифікована як VEGF_{xxx}, де xxx відповідає кількості амінокислот [38].

У 2002 році Bates та співавтори [6], а в 2004 Woolard та співавтори [44] ідентифікували споріднену родину ізоформ VEGF, що мають однакову до-

вжину та структуру екзонів, відмінність лише в екзоні С-термального кінця, в результаті периферичного сплайсингу в якому було знайдено альтернативу відкритій рамці зчитування (екзон 8b замість 8a, SLTRKD замість CDKPRR). Дана родина була визначена як VEGF_{xxx}b – VEGF₁₆₅b VEGF₁₂₁b та VEGF₁₈₉b. Дані ізоформи володіють антиангіогенною активністю, що пов'язано зі слабкою активацією рецепторів та пригніченням сигнальних функцій VEGF-R2. Все це надало можливість припустити, що VEGF₁₆₅b, або маніпуляції з С-термальним кінцем VEGF, що дозволять проведення сплайсингу ще більш віддаленого від центру, можуть стати корисними в терапевтичній практиці лікування раку [35]. Після відкриття VEGF_{165b} була також ідентифікована нова родина ізоформ VEGF– VEGF_{189b} та VEGF_{121b} [38].

Гомологами VEGF миші є VEGF₁₂₀, VEGF₁₆₄, VEGF₁₈₈ [23]. VEGF₁₆₅ - гомодимер з молекулярною масою 45 кДа, глікопротеїн, що зв'язується з гепарином; VEGF₁₂₁ – слабо кислий, не зв'язується з гепарином, тому володіє низькою мітогенною активністю [24]. Важлива властивість VEGF – це позитивний хемотаксичний ефект на міграцію попередників ендотеліоцитів і макрофагів, які також додатково індукують ріст мікросудин [35].

VEGF також виступає важливим гомологом PDGF: 8 цистеїнів, які знайдено в А та В ланцюгах PDGF, також присутні в VEGF. Кристалічна структура VEGF показала, що цей білок формує антипаралельний гомодимер, ковалентно зв'язаний двома дисульфідними зв'язками між Cys-51 та Cys-60. Такий спосіб димеризації подібний до PDGF мономерів. Не зважаючи на подібність між VEGF та PDGF, структура NH₂-кінця в VEGF скоріше сферична, ніж простягаюча [15].

Відомо також, що VEGF₁₈₉ та VEGF₂₀₆ – володіють характерними лужними властивостями та зв'язуються з гепарином з високою спорідненістю [28]. Найбільше значення для кровоносних судин має фактор VEGFA, а для росту лімфатичних - VEGFC. Білки VEGFC та -D, мають регуляторний вплив на ендотеліальні клітини лімфатичних судин через рецептор VEGF-R3, що діє як мітоген [2].

Активність VEGF *in vitro* полягає в здатності стимулювати ріст судин ендотеліальних клітин, що походять з артерій, вен та лімфатичних судин. VEGF також виступає фактором виживання як *in vitro* так й *in vivo*. *In vitro* VEGF попереджає апоптоз ендотелію індукуючи експресію антиапоптозних протеїнів. *In vivo* VEGF, як фактор виживання, регулюється в процесі розвитку [16]. Найперші повідомлення стосовно того, що VEGF може впливати на кровоносні судини пов'язані зі здатністю VEGF забезпечувати хемотаксис

моноцитів. Потім була описана властивість VEGF впливати на гематопоезис та індукувати продукцію В клітин [17].

Було продемонстровано, що рівень мРНК VEGF у нормальних клітинах зазвичай дуже низький, але суттєво підвищується в пухлинних клітинах [7, 32, 33]. Це вказує на пухлинну специфічність VEGF. Проведені молекулярні та імуногістохімічні дослідження підтвердили надмірну експресію ендотеліального фактору росту, що виявляють в клітинах пухлин. Клітини пухлин нирок, молочних залоз, яєчників, шлунку, легень, мочевого пузиря, гліобластоми експресують VEGF [3].

VEGF стимулює мікрогемодинаміку, викликає швидке збільшення та міграцію ендотеліальних клітин [18]. Показано, що стимуляція експресії VEGF можлива в умовах гіпоглікемії, запалення, клітинної дегенерації, тканинної регенерації через підсилення транскрипції та за рахунок стабілізації мРНК фактора VEGF [41]. В експериментальних умовах були зроблені спроби використовувати екзогенний VEGF для корекції різних мікросудинних ушкоджень у міокарді, а також у нижніх кінцівках [39]. Показано, що фактор VEGF відіграє суттєву роль у процесах регенерації скелетних м'язових волокон після ішемічних ушкоджень, в той час як його експресія в інтактній м'язовій тканині залишається незначною [26].

Важливість VEGFA для росту пухлини була наочно продемонстрована за допомогою блокування проліферації VEGF рецепторів *in vivo*, а також за допомогою блокуючих антитіл до VEGF або до одного з VEGF рецепторів. Внаслідок цього інтерференція VEGF-A стала основним інтересом для розробки лікарських препаратів, спрямованих на блокаду ангіогенезу і метастазування [1,9].

Інтерналізація VEGF призводить не лише до фенотипових змін ендотеліоцитів: поряд зі стимуляцією ангіогенезу в аутокринному варіанті цей фактор індукує міогенне диференціювання, а також попереджає розвиток апоптотичних реакцій у процесах ішемічної загибелі м'язових компонентів [18].

Як було зазначено раніше, представники родини VEGF зв'язуються з трьома різними тирозин-кіназними рецепторами – VEGF-R1, -2 та -3. Хоча експресія VEGF-R1 та VEGF-R2 відбувається у клітинах ендотелію судин, ангіогенні властивості VEGF передаються в основному через VEGF-R2. VEGF-R1 також експресується на моноцитах впливаючи на їх хемотаксис. VEGF-R3 експресується в основному в

лімфатичному ендотелію і бере участь в лімфангіогенезі, але його експресія також відмічена в нормальних судинах та в судинах пухлин, таким чином відіграючи важливу роль в утворенні судин [29].

Гібридизація *in situ* надала дані про те, що посилена експресія мРНК VEGF спостерігається у багатьох пухлинах людини, включаючи – карциному легенів, молочної залози, шлунково-кишкового тракту, нирок, сечового міхура, яєчників, слизової оболонки матки, декілька внутрішньочеревних пухлин - різноманітні типи гліобластоми [34,37]. Найвищий рівень експресії мРНК VEGF відмічено в ділянках, прилеглих до некрозу. Також експресія мРНК проходить і в ендокринних пухлинах [36].

На даний момент більше 110 фармацевтичних компаній в усьому світі залучені в розробку антагоністів VEGF. Їх розробки включають антагоністи VEGF-A або його рецепторів, селективні інгібітори тирозин-кінази. Адресованість передачі сигналів VEGF може мати дуже важливе терапевтичне значення для багатьох захворювань і служити основою для розробки майбутніх (анти)-ангіогенних методів лікування.

Ангіогенез як мішень для терапії

Концепція пригнічення ангіогенезу, як напрямок терапевтичної стратегії боротьби з ангіогенез-залежними хворобами такими як рак, є відносно новою. На даний час анти-VEGF терапія є ще однією терапевтичною стратегією поряд з хірургією, хіміотерапією та радіотерапією, а нещодавні випробування антитіл до VEGF мали значні клінічні переваги у лікуванні карцином прямої кишки, легенів та яєчників, а також інших злоякісних утворень [21,38].

Припущення, що застосування VEGF-терапії може дати позитивні результати для людей, було вперше перевірено Isner з співавторами. Артеріальне перенесення ДНК плазміди, що кодує VEGF₁₆₅, підтвердило ефективність VEGF-терапії серед пацієнтів, хворих на ішемію кінцівок. Також вченими було показано, що локальна ін'єкція цієї ж плазміди має позитивний терапевтичний ефект при міокардальній ішемії [23].

Терапевтичний ангіогенез спрямований або на зниження рівня VEGF або на блокування його рецепторів, в результаті чого пригнічується передача сигналу по таких шляхах як RAS/RAF/MEK/ERK та PI3-кіназний шлях. Таким чином, молекули, що застосовуються в клініці блокують VEGF або пригнічують тирозин-кіназну активність VEGF

рецепторів. Такі класичні підходи очевидно націлені на ендотеліальні клітини й, хоча, перешкоджають розвитку ангіогенезу, але й при цьому пригнічують аутокринні шляхи проліферації/виживання [19].

Постійно проводяться клінічні дослідження стосовно пошуку інгібіторів VEGF. На даний час застосовують анти-VEGF моноклональні антитіла людини (rhuMab VEGF; bevacizumab; Avastin, Genentech, South San Fransisco, CA), анти-VEGFR-2 антитіла, малі молекули інгібітори передачі сигналів від VEGFR-2 та VEGF-R химерний протеїн [16].

Основним засобом, що застосовується при анти-VEGF терапії є Бевацізумаб (Bevacizumab – BVZ), IgG1-монокланальне антитіло людини, ціллю якого є VEGF-A та всі його ізоформи [15]. В клінічних дослідженнях показано, що Бевацізумаб може суттєво продовжити час до прогресії хвороби в пацієнтів з метастатичним раком клітин нирок. Проте лише лікування, що включає поєднання Бевацізумабу з інтерфероном α , отримало схвалення FDA (Food and Drug administration) в США та ЕМА (European Medicines Agency) в Європі. Відповідно до проведених досліджень було встановлено, що при застосуванні даного способу лікування спостерігається підвищення відсотку виживання в порівнянні з використанням лише інтерферону [45]. Застосування Бевацізумабу в поєднанні з 5-FU-лейковорином характеризується підвищенням терміну виживання від 6,2 до 10,6 місяців, а також подовжує час прогресування хвороби (колоректального раку) від 6,7 до 8,8 місяців. Поєднання Бевацізумабу разом з хіміотерапією також ефективне у випадку лікування раку легень та раку молочної залози [22].

Інші способи лікування націлені на рецептори VEGF і включають інгібітори тирозин-кіназних рецепторів, такі як сунітініб (sunitinib), мішенню якого є VEGF-R2, PDGF-R, FLT3 та c-Kit, а також сорафеніб (sorafenib), мішенню якого виступають B-Raf, c-Raf, VEGF-R2/3, PDGFR, FLT3 та c-Kit. Літературні дані надають позитивні дані щодо застосування сорафенібу при раковому захворюванні клітин нирок, відмічено зменшення розміру пухлини, підвищення виживання та покращення якості життя [12]. Малі молекули-антагоністи рецепторів VEGF, що включають сорафеніб (sorafenib-BAY 43-9006) та малат сунітінібу (sunitinib malate – Sutent), проявляють широкий спектр активності по відношенню до цілого ряду кіназ, включаючи рецептори VEGF. FDA затвердив застосування сорафенібу при лікуванні раку клітин нирок. А в 2006 році таке затвердження було надано

сорафенібу, але для лікування імаїніб-стійких пухлин шлунково-кишкового тракту та прогресуючого раку клітин нирок [21,25].

Пригнічення VEGF також ефективно застосовують при неоваскулярному захворюванні пов'язаним з віком – макулярна дегенерація (AMD). Пегаптаніб натрію (pegaptanib sodium – Macugen), олигонуклеотидний аптамер, селективною мішенню якого є VEGF₁₆₅ та ранібізумаб (ranibizumab – Lucenis), рекомбінантний анти-VEGF Fab фрагмент людини, отримали затвердження від FDA для лікування неоваскулярного AMD [21].

В роботі J. Mei та співавторів показано, що застосування прийомів іРНК (інтерферуючих РНК) спричинює пригнічення експресії генів VEGF, а також проаналізовано вплив іРНК технології на апоптоз, проліферацію та мімікрію остеосаркоми *in vitro*. Регуляція експресії VEGF призводить до пригнічення проліферації та індукування апоптозу, а також інгібування формування судинного русла остеосаркоми [30].

Ще один клас сполук націлений на mTOR шлях. Пацієнтам, в яких спостерігається покращення під час застосування інгібіторів рецепторів VEGF, а також тим, в яких такого покращення не відмічається, рекомендується вживати mTOR-блокатори - темсіролімус (temsirolimus) або еверолімус (everolimus). Дефоролімус (deforolimus) – це нове покоління анти- mTOR сполук, що застосовуються при раковому захворюванні клітин нирок [19].

Краще розуміння диференційної ролі рецепторів VEGF може відкрити додаткові напрямки досліджень. Нещодавні експерименти підкреслили, що VEGF-R1 володіє важливими функціями при гематопоезі та підкріпленні мононуклеарних клітин. Факт того, що активація VEGF-R1 асоційована зі зменшенням побічної дії VEGF, робить його привабливою мішенню для досліджень. Більше того, існують дані, стосовно того, що VEGF-R1-агоніст захищає печінку від пошкодження токсинами шляхом стимулювання продукції цілої низки факторів росту ендотелієм, що також свідчить на користь застосування даного рецептора [5].

Існують й інші властивості VEGF, що можуть стати цікавими для клінічних досліджень. Наприклад, базуючись на тому, що VEGF відіграє ключову роль в ангиогенезі та у формуванні ендохондріальних кісток, застосування даного фактору може бути корисним й при посиленні ревазуляризації та відновленні функціональності після переломів, тріщин та інших порушеннях скелету. Існують

наукові підтвердження того, що застосування рекомбінантного та аденовірус-опосередкованого VEGF призводить до посилення інтенсивності формування кровоносних судин та окостеніння в дослідженнях з пошкодженням кісток [14,16].

Однією з найголовніших проблем, з якою зустрічаються пацієнти, що притримуються антиангіогенної терапії, є відсутність біомаркера, який би передбачив ефект після застосування такої терапії. Багато досліджень спрямовані на ідентифікацію таких біомаркерів, які б стали в допомозі при виборі відповідної терапії. В цьому напрямку отримано цілу низку суперечливих результатів, які ще більше підтверджують необхідність в подальшій експериментальній роботі [27].

Висновок

Прогрес, якого було досягнуто в сфері анти-ангіогенної терапії, дозволив перетворити гіпотезу в реальність, підтверджену цілою низкою експериментальних досліджень. Цей успіх надав можливість представити анти-ангіогенну терапію в якості нового стандарту для лікування широкого спектру пухлин. В найближчому майбутньому, основний акцент має робитися на застосування розчинних рецепторів та анти-рецепторних агентів.

Досягнення у збільшенні числа антагоністів VEGF у клінічних дослідженнях ще раз підкреслюють його роль в захворюваннях, пов'язаних з неоваскуляризацією, з акцентом на ефективності вибору даного фактору росту в якості цільового агенту терапії.

Література

1. Клонирование и секвенирование гена и проверка биологической активности фактора роста эндотелия сосудов человека / И.А. Иванов, Л.Л. Круковская, А.Э. Машарский [и др.] // «ВИЧ/СПИД» и родственные проблемы. – 2001. – Т 5, № 2. – С. 71-74.
2. Экспрессия генов VEGF-A и VEGF-C и их рецепторов в лимфоцитах и макрофагах мышей / О.И. Степанова, А.В. Крылов, В.И. Людыно, Е.П. Киселева // Биохимия. – 2007. – Т. 72, вып. 11. – С. 1468-1473.
3. Мнихович М.В. Роль и значение сосудистого фактора, межклеточных взаимодействий, и компонентов экстрацеллюлярного матрикса в развитии опухолей молочной железы / М.В. Мнихович, М.М. Тернов, Л.В. Кактурский // Biomedical and biosocial anthropology. – 2011. – № 16. – С. 195-201.
4. Фридман М.В. Ангиогенез и рак – медико-биологическое значение, методы оценки, перспективы дальнейшего изучения / М.В. Фридман, Ю.Е. Демидчик // Онкологический журнал. – 2009. – Т. 3, № 2 (10). – С. 82-90.

5. Backer M.V. Inhibition of vascular endothelial growth factor receptor signaling in angiogenic tumor vasculature / M.V. Backer, C.V. Hamby, J.M. Backer // *Adv. Genet.* – 2009. – Vol. 67. – P. 1–27.

6. VEGF165b, an inhibitory splice variant of vascular endothelial growth factor, is downregulated in renal cell carcinoma / D.O. Bates, T.G. Cui, J.M. Doughty [e.a.] // *Cancer Research.* – 2002. – Vol. 62. – P. 4123–4131.

7. Oxidized phospholipids stimulate angiogenesis via induction of VEGF, IL-8, COX-2 and ADAMTS-1 metalloprotease, implicating a novel role for lipid oxidation in progression and destabilization of atherosclerotic lesions / V.N. Bochkov, M. Philippova, O. Oskolkova [e.a.] // *Circ. Res.* – 2006. – Vol. 99, № 8. – P. 900–908.

8. Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer / P. Carmeliet // *Oncology.* – 2005. – Vol. 69. – P. 4–10.

9. Impaired myocardial angiogenesis and ischemic cardiomyopathy in mice lacking the vascular endothelial growth factor isoforms VEGF₁₆₄ and VEGF₁₈₈ / P.N. Carmeliet, Y.S. Nuyens, D. Theilmeier [e.a.] // *Nat. Med.* – 1999. – Vol. 5. – P. 495–502.

10. Human vascular permeability factor. Isolation from U937 cells / D.T. Connolly, J.V. Olander, D. Heuvelman [e.a.] // *Journal of Biochemistry.* – 1989. – Vol. 264. – P. 20017–20024.

11. Dvorak H.F. Vascular permeability factor. Vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and potential target for diagnosis and therapy / H.F. Dvorak // *Journal of clinical oncology.* – 2002. – Vol. 20, № 21. – P. 4368–4380.

12. Escudier B. Sorafenib for treatment of renal cell carcinoma: final efficacy and safety results of the phase III treatment approaches in renal cancer global evaluation trial / B. Escudier, T. Eisen, W.M. Stadler // *Journal of Clinical Oncology.* – 2009. – Vol. 27, № 20. – P. 3312–3318.

13. Ferrara N. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells / N. Ferrara, W.J. Henzel // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1989. – Vol. 161. – P. 851–858.

14. Ferrara N. The biology of vascular endothelial growth factor / N. Ferrara, T. Davis-Smyth // *Endocr. Rev.* – 1997. – Vol. 18. – P. 4–25.

15. Ferrara N. Molecular and biological properties of vascular endothelial factor / N. Ferrara // *J. Mol. Med.* – 1999. – Vol. 77. – P. 527–543.

16. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress / N. Ferrara // *Endocr. Rev.* – 2004. – Vol. 25, № 4. – P. 581–611.

17. Folkman J. Angiogenesis / J. Folkman, Y. Shing // *J. Biol. Chem.* – 1992. – Vol. 267. – P. 10931–10934.

18. Gerber H.P. Vascular endothelial growth factor regulates endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt signal transduction pathway. Requirement for Flk-1/KDR activation / H.P. Gerber, A. McMurtry, J. Kowalski // *J. Biol. Chem.* – 1998. – Vol. 273. – P. 30336–30343.

19. Hilmi C. VEGF spliced variants: possible role of anti-angiogenesis therapy / C. Hilmi, M. Guyot, G. Pages // *Journal of nucleic acids.* – 2012. – Vol. 7. – P. 1–7.

20. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis / A. Hoeber, B. Landuyt, M.S. Highley [e.a.] // *Pharmacological Reviews.* – 2004. – Vol. 56. – P. 549–580.

21. Ho Q.T. Vascular endothelial growth factor: biology and therapeutic applications / Q.T. Ho, C.J. Kuo // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* – 2007. – Vol. 39. – P. 1349–1360.

22. Hurwitz H. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer / H. Hurwitz, H.L. Fehrenbacher, F. Kabbinavar // *The New England Journal of Medicine.* – 2004. – Vol. 350. – P. 2335–2342.

23. Clinical evidence of angiogenesis after arterial gene transfer of phVEGF165 in patient with ischaemic limb / J.M. Isner, A. Pieczek, R. Schainfeld [e.a.] // *Lancet.* – 1996. – Vol. 348. – P. 370–374.

24. Translation of vascular endothelial growth factor mRNA by internal ribosome entry: implications for translation under hypoxia / S.I. Itin, A. Einat, P. Skaltner // *Mol. Cell. Biol.* – 1998. – Vol. 18. – P. 3112–3119.

25. Jain R.K. Normalizing tumor vasculature with anti-angiogenic therapy: a new paradigm for combination therapy / R.K. Jain // *Nat. Med.* – 2001. – Vol. 7. – P. 987–989.

26. Jennische E. Expression of hepatocyte growth factor in growing and regenerating rat skeletal muscle / E. Jennische // *Am. J. Physiol.* – 1993. – Vol. 265. – P. 122–128.

27. Jubb A.M. Biomarkers to predict the clinical efficacy of bevacizumab in cancer / A.M. Jubb, A.L. Harris // *The Lancet Oncology.* – 2010. – Vol. 11, № 12. – P. 1172–1183.

28. Kalka C. Vascular endothelial growth factor(165) gene transfer augments circulating endothelial progenitor cells in human subjects / C. Kalka, H. Masuda, T. Takahashi // *Circ. Res.* – 2000. – Vol. 86. – P. 1198–1202.

29. Matsumoto T. Signal transduction via vascular endothelial growth factor (VEGF) receptors and their roles in atherogenesis / T. Matsumoto, H. Mugishima // *Journal of atherosclerosis and thrombosis.* – 2006. – Vol. 13, № 3. – P. 130–135.

30. Mei J. VEGF-siRNA silencing induces apoptosis, inhibits proliferation and suppresses vasculogenic mimicry in osteosarcoma in vitro / J. Mei, Y. Gao, L. Zhang [e.a.] // *Experimental oncology.* – 2008. – Vol. 30 (1). – P. 29–34.

31. Hypoxia regulatory elements of the human vascular endothelial growth factor gene / A. Minchenko, S. Salceda, T. Bauer, J. Caro // *Cell. Molec. Biol. Res.* – 1994. – Vol. 40 (1). – P. 35–39.

32. Hypoxic stimulation of vascular endothelial growth factor expression in vitro and in vivo / A. Minchenko, T. Bauer, S. Salceda, J. Caro // *Laboratory Invest.* – 1994. – Vol. 71 (3). – P. 374–379.

33. Expression of the VEGF, Glut1 and 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase-3 and -4 in human cancers of the lung, colon and stomach / D.O. Min-

chenko, A.Y. Bobarykina, T.Y. Senchenko [e.a.] // *Studia Biologica*. – 2009. – Vol. 3, № 1. – P. 25-34.

34. Regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) gene transcription by estrogen receptors "α" and "β" / M.D. Mueller, J.-L. Vigne, A.G. Minchenko [e.a.] // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 2000. – Vol. 97 (20). – P. 10972-10977.

35. Nowak D. G. Regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) splicing from pro-angiogenic to anti-angiogenic isoforms: a novel therapeutic strategy for angiogenesis / D.G. Nowak, E.M. Amin, E.S. Rennel // *Journal of Biological Chemistry*. – 2010. – Vol. 285, № 8. – P. 5532-5540.

36. Nowak D. G. Expression of pro- and anti-angiogenic isoforms of VEGF is differentially regulated by splicing and growth factors / D.G. Nowak, J. Woolard, E.M. Amin // *Journal of Cell Science*. – 2008. – Vol. 121, № 20. – P. 3487-3495.

37. Antioxidants attenuate early up regulation of retinal vascular endothelial growth factor in streptozotocin-diabetic rats / I.G. Obrosova, A.G. Minchenko, V. Marinescu [e.a.] // *Diabetologia* – 2001. – Vol. 44 (9). – P. 1102-1110.

38. The endogenous anti-angiogenic VEGF isoform, VEGFb inhibits human tumor growth in mice / E. S. Rennel, E. Waine, H. Guan [e.a.] // *British journal of cancer*. – 2008. – Vol. 98. – P. 1250-1257.

39. Rivard A. Angiogenesis and vasculogenesis in treatment of cardiovascular disease / A. Rivard // *Mol. Med*. – 1998. – Vol. 4. – P. 429-440.

40. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid / D.R. Senger, S.J. Galli, A.M. Dvorak [e.a.] // *Science*. – 1983. – Vol. 219. – P. 983-985.

41. Shih S.C. Regulation of human vascular endothelial growth factor mRNA stability in hypoxia by heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L / S.C. Shih // *J. Biol. Chem*. – 1999. – Vol. 274. – P. 1359-1365.

42. Tee M.K. A precursor form of vascular endothelial growth factor arises by initiation from an upstream in frame CUG codon / M.K. Tee, R.B. Jaffe // *Biochemistry Journal*. – 2001. – Vol. 359. – P. 219-226.

43. Major aminoacids sequence variants of varial endothelial growth factor are functionally equivalent during Orf virus infection of sheep skin / L.M. Wise, L.J. Savory, N.H. Dryden [e.a.] // *Virus research*. – 2007. – Vol. 128. – P. 115-125.

44. VEGF165b, an inhibitory vascular endothelial growth factor splice variant: mechanism of action, in vivo effect on angiogenesis and endogenous protein expression / J. Woolard, W.Y. Wang, H.S. Bevan [e.a.] // *Cancer Research*. – 2004. – Vol. 64. – P. 7822-7835.

45. Yang J.C. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer / J.C. Yang, L. Haworth, R.M. Sherry // *New England Journal of Medicine*. – 2003. – Vol. 349, № 5. – P. 427-434.

Резюме

Хоменко Є.В., Орябінська Л.Б., Мінченко О.Г. *Ендотеліальний фактор росту судин: біологія та терапевтичне значення.*

У статті наведена загальна характеристика структури та функцій ендотеліального фактору росту судин, який є мітогеном фізіологічного і патологічного ангиогенезу. Представлено основні аспекти анти-ангіогенної терапії хвороб, пов'язаних з неоваскуляризацією.

Ключові слова: ендотеліальний фактор росту судин (VEGF), терапевтичний ангиогенез, анти-VEGF терапія.

Резюме

Хоменко Е.В., Орябинская Л.Б., Минченко А.Г. *Эндотелиальный фактор роста сосудов: биология и терапевтическое значение.*

В статье приведена общая характеристика структуры и функций эндотелиального фактора роста сосудов, который является митогеном физиологического и патологического ангиогенеза. Представлены основные аспекты анти-ангиогенной терапии болезней, связанных с неоваскуляризацией.

Ключевые слова: эндотелиальный фактор роста сосудов (VEGF), терапевтический ангиогенез, анти-VEGF терапия.

Summary

Khomenko E.V., Oryabinska L.B., Minchenko O.G. *Vascular endothelial growth factor: biology and therapeutical importance.*

General description of the structure and function of vascular endothelial growth factor, which is a mitogen of physiological and pathological angiogenesis, is resulted in the article. It is also presented the main aspects of anti-angiogenic therapy of the diseases which are associated with neovascularization.

Key words: vascular endothelial growth factor (VEGF), therapeutic angiogenesis, anti-VEGF therapy.

Рецензент: д.біол.н., проф. І.О. Іванюра