

Я.М. Шуба

Кальцієва сигналізація в канцерогенезі

Злокачественное перерождение клеток, характерное для рака простаты, связано с их чрезмерной пролиферацией и уменьшением способности к апоптозу в результате потери контроля над этими процессами. Несмотря на свою универсальность, ионы кальция являются ключевыми в обоих процессах, играя роль главных сигнальных агентов. В данном обзоре мы рассматриваем, какие изменения наблюдаются в распределении кальция между четырьмя основными компартментами: внеклеточным пространством, цитоплазмой, эндоплазматическим ретикуломом и митохондриями при переходе от нормального к патологическому росту и гибели клеток, какие кальцийуправляющие белки при этом оказываются задействованными и как это отражается на пространственных и временных характеристиках кальциевых сигналов, направленных на регуляцию специфических клеточных ответов. Раскрытие молекулярных событий, которые лежат в основе этих явлений, безусловно, поможет в разработке новых стратегий терапии рака.

ВСТУП

В основі злоякісного переродження тканини лежить порушення балансу між процесами клітинної проліферації та запрограмованої загибелі клітин, відомої під назвою апоптоз. Розвиток пухлини пов'язаний із аномально підвищеною проліферативною активністю за умов пригніченого апоптозу, результатом чого є неконтрольований ріст тканини та її інвазивність, що так характерні для раку. Проліферація та апоптоз контролюються різними молекулярними механізмами. Так, проходження процесу проліферації зумовлюється активністю циклінозалежних протеїнкіназ (від англ. cyclin-dependent protein kinase – CDK), що є регуляторами циклів клітинного поділу [87], тоді як апоптоз переважно залежить від каспаз – цистеїнових протеаз, які є виконавцями програми клітинної загибелі [86]. Незважаючи на відмінності в молекулярних механізмах, іони кальцію відіграють центральну роль в обох процесах, виступаючи як ключові сигнальні

агенти. З цього також випливає, що прості зміни концентрації цитоплазматичного кальцію ($[Ca^{2+}]_i$) не можуть бути достатніми для управління такими протилежними процесами, котрі визначають долю клітини. Специфічність кальцієвого сигналу досягається завдяки його амплітудним, просторовим і часовим характеристикам [7,8,53, 72,83,92]. При цьому зміни концентрації кальцію в субклітинних компартментах, зокрема в ендоплазматичному ретикуломі (ER) і мітохондріях є не менш важливими, ніж зміни в цитоплазмі та нуклеоплазмі, завдяки яким переважно здійснюється кальційзалежна регуляція ферментативних реакцій та активація генів. Формування локальних сигнальних комплексів у ділянках, в яких створені умови для обмеженої дифузії кальцію [2], дає змогу досягнути ще більшої спеціалізації клітинних реакцій, контрольованих цим двовалентним катіоном.

Перехід клітини з нормального в злоякісний стан є багатостадійним процесом,

© Я.М. Шуба

що супроводжується суттєвою реорганізацією молекулярних структур, відповідальних за активний і пасивний транспорт кальцію через плазматичну та субклітинні мембрани, а також задіяних у буферній стабілізації його концентрації, збереженні та вивільненні внутрішньоклітинними органелами [9]. Цей огляд присвячений характеристиці основних механізмів кальцієвої сигналізації та їх залученню в контроль процесів проліферації та клітинної загибелі. Однак слід зазначити, що прямиї зв'язок цих механізмів з розвитком раку не завжди легко прослідкувати з огляду на незначну кількість досліджень з безпосереднього зіставлення відповідних властивостей нормальних та ракових клітин. Дуже часто основні відомості з питань проліферації та апоптозу базуються на дослідженні не нативних клітин, а іморталізованих клітинних ліній, що виступають як модельні системи.

Зовнішньоклітинний кальцій і рак

Зовнішньоклітинний Ca^{2+} залучений у перебіг найрізноманітніших, життєво важливих процесів, починаючи від формування кісток і закінчуючи скороченням м'язів. G-білок спряжений, кальційчутливий рецептор (від англ. Ca^{2+} -sensing receptor – CaSR) може відчувати кальцій в діапазоні концентрацій 0,05–5 ммоль/л, що робить його ключовим посередником у реагуванні клітиною на фізіологічно-значимі зміни концентрації зовнішньоклітинного Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_o$) [82]. Цей рецептор є важливим компонентом гомеостатичної системи регуляції секреції паратиреоїдного гормону, екскреції Ca^{2+} нирками та реконструкції кісток. Для багатьох типів клітин, включаючи епітеліальні клітини кишечника та молочної залози, кератиноцити та поверхневі епітеліальні клітини яєчника, зміни $[\text{Ca}^{2+}]_o$ саме в діапазоні 0,05–5 ммоль/л можуть їх переключити зі стану проліферативної активності до стану спокою, або кінцевої диференціації.

З огляду на те, що рак є результатом порушення балансу між проліферацією, диференціацією та апоптозом не виключено, що дисфункція CaSR може принаймні частково впливати на таке переключення і, таким чином, бути причиною злоякісного росту [111]. Показано, що втрата пригнічувальної дії підвищеної $[\text{Ca}^{2+}]_o$ на ріст гіперплазії щитоподібної залози та карциноми товстого кишечника корелює зі змінами в експресії CaSR. Зменшена експресія CaSR впливає на нормальний перебіг диференціації клітин товстої кишки та сприяє розвитку колоректальної карциноми. Наприклад, клітини лінії Caco-2, що походять з аденокарциноми товстого кишечника людини, відповідають на зниження $[\text{Ca}^{2+}]_o$ активацією сигнального каскаду протеїнкінази C, кінцевим результатом чого є збільшення експресії мРНК онкопротеїну c-myc і порушення нормального контролю G1/S фази клітинного циклу [54]. Ця про-проліферативна відповідь може бути усунена активацією CaSR чи підвищенням $[\text{Ca}^{2+}]_o$, або через використання агоністу CaSR Gd^{3+} як заміника Ca^{2+} . Пригнічувальний вплив $[\text{Ca}^{2+}]_o$ на реплікацію клітин спостерігався з $\text{IC}_{50} = 0,045$ моль/л, що свідчить про наявність надзвичайно чутливого CaSR, що функціонує в умовах наднизьких $[\text{Ca}^{2+}]_o$. Специфічне імуномічення вказувало на наявність CaSR-позитивних клітин у криптовому епітелію нормальної слизової оболонки товстої кишки людини та в залозистих (тобто диференційованих) утвореннях карциноматозних розростань [54].

Є докази того, що CaSR також відповідає за підвищену експресію та секрецію паратиреоїдгормонзв'язаного пептиду (від англ. hormone-related peptide – PTHrP) – основного причинного фактора злоякісних новоутворень, індукованих гіперкальцемією, та стимулятора вогнищ метастазування в кістковій тканині. В паратиреоїдній тканині експресію CaSR вдалося пов'язати з проліферацією як аденоми, так і

карциноми щитоподібної залози [75]. Активація CaSR у ракових клітинах Лейдига шура (лінія H-500) за умов модельної гіперкальцемії призводила до стимуляції вивільнення PTHrP і проліферації [124]. Цей ефект був віднесений на рахунок CaSR-опосередкованої трансактивації (ймовірно, через фосфорилування) рецептортирозинкінази епідермального фактора росту (від англ. epidermal growth factor – EGF). Було зроблено висновок, що в ракових клітинах Лейдига зовнішньоклітинний кальцій через CaSR активує рецептор EGF, який у свою чергу запускає подальші сигнальні шляхи, що впливають на різноманітні мішені та пов'язані з ними біологічні функції.

CaSR може також впливати на проліферативний та апоптотичний статус клітин непрямо, через модуляцію механізмів, що підтримують клітинний об'єм. Дійсно, на епітеліальних клітинах людини було показано, що стимуляція CaSR призводить до посилення хлорного струму, що активується набуханням клітин для забезпечення регуляторного відновлення їх об'єму. Є докази того, що це відбувається завдяки дії CaSR на так звані об'ємрегульовані аніонні канали (ОРАК), який цей струм переносить. Причому літературні дані свідчать, що зв'язок CaSR та ОРАК забезпечується через G-білокопосередковане підвищення вмісту цАМФ [118]. Відомо, що проліферація та апоптоз супроводжуються суттєвими змінами клітинного об'єму [60] завдяки чому ОРАК виявляються залученими в перебіг як проліферації [22, 35, 116, 139], так і апоптозу [69, 89, 90, 117]. Таким чином, зовнішньоклітинний кальцій може впливати на канцерогенез використовуючи зв'язок CaSR з ОРАК та клітинним об'ємом. Більше того, на андрогензалежних епітеліальних клітинах раку простати людини лінії LNCaP було встановлено, що ОРАК знаходяться у функціональному зв'язку із депозалежними кальцієвими каналами, що дає змогу позаклітинному Ca^{2+} , який через них

надходить до клітини, модулювати ОРАК [68], забезпечуючи таким чином ще один, CaSR-незалежний механізм впливу зовнішньоклітинного Ca^{2+} на проліферативну та апоптотичну активність клітин.

Існують лабораторні та клінічні докази того, що кальцій і вітамін Д зменшують ризик колоректального раку [23]: імовірність виникнення раку товстої кишки обернено пропорційна дієтичному вживанню кальцію. Це твердження справедливе і відносно раку молочної залози [71]. Молекулярні та клітинні механізми дії цих харчових мікроелементів, що зумовлюють їх пухлиномодулюючий ефект, базуються на складному каскаді сигнальних подій, що впливають на структурну та функціональну організацію клітин товстого кишечника. Принаймні частково цінність кальцію як дієтичної добавки для попередження колоректального канцерогенезу пояснюється його дією через CaSR. Однак ще більш глибокий зв'язок між кальцієм, вітаміном Д та раком вдалося прослідкувати з клонуванням каналного транспортера, що відповідає за всмоктування кальцію в кишечнику [97]. Цей канал спочатку називали як CaT1 (від англ. Ca^{2+} transporter type 1), або ECaC2 (від англ. epithelial calcium channel 2), але згодом, з усвідомленням того, що він належить до надродини катіонних TRP (від англ. transient receptor potential) каналів, його було перейменовано у TRPV6. TRPV6 – кальційселективний канал, який, як вважалося, забезпечує апікальний вхід кальцію при його трансепітеліальному транспорті, що регулюється вітаміном Д. Цей канал широко представлений в апікальних мембранах абсорбуючих клітин кишечника, що вказувало на його роль як основного каналу входу кальцію в травному тракті [146]. Крім того, експресія білка каналу TRPV6 виявлена в екзокринних органах, включаючи простату, підшлункову та молочну залозу, свідчаючи про те, що він являє собою досить загальний компонент

механізму трансклітинного транспорту кальцію в багатьох тканинах. Більше того, експресія TRPV6 суттєво збільшується в різних карциномах: простати, молочної, щитоподібної залози, товстого кишечника та яєчника порівняно з відповідними нормальними тканинами [146]. Існують також докази того, що TRPV6 може бути залученим у депозалежний вхід кальцію як складова частина депозалежного кальцієвого каналу так званого CRAC (від англ. calcium release-activated channel)-типу [145], хоч таке залучення може бути притаманним далеко не всім клітинам. Зокрема, роботи на клітинах раку простати людини лінії LNCaP показали можливість участі TRPV6 у простатоспецифічних депозалежних кальцієвих каналах [130,131]. Цікаво, що експресія TRPV6 корелює зі ступенем раку простати [37,98,142], а той факт, що вона дуже залежить від вітаміну Д [12] говорить про те, що TRPV6 може бути важливим чинником у проапоптотичній дії лігандів рецептора вітаміну Д як на клітини раку простати, так і інших карцином [45]. Діючи через рецептор вітаміну Д, ці ліганди здатні пригнічувати експресію антиапоптотичних білків Bcl-2 і стимулювати вивільнення цитохрому С у лініях клітин раку простати LNCaP та ALVA-31 [45]. Не виключено, що при цьому TRPV6 може забезпечувати вхід Ca^{2+} , необхідного для преключення мітохондріальної проникності, саме в результаті якої і відбувається вивільнення цитохрому С.

На відміну від простати збільшення цитоплазматичної концентрації кальцію, яке супроводжує індукований вітаміном Д апоптоз клітин раку молочної залози лінії MCF-7 відбувається не внаслідок входу Ca^{2+} , а через його вивільнення з ER [79]. Цікаво, що в цьому разі підвищення $[Ca^{2+}]_i$ призводить до включення каспазnezалежного апоптотичного шляху, який базується на активації кальційзалежних цистеїнових протеаз з родини калпаїнів [79]. У нормальних клітинах молочної залози ліганди

рецептора вітаміну Д викликають тільки короткочасне підвищення цитозольної концентрації кальцію через активацію потенціалзалежних кальцієвих каналів, які в ракових клітинах зникають. Нормальні клітини молочної залози також експресують кальційзв'язувальний буферний білок калбіндин-Д, завдяки чому вони здатні згладжувати збільшення $[Ca^{2+}]_i$, викликані мобілізуючим агентом Ca^{2+} з ER – тапсигаргіном, або Ca^{2+} -іонофором – іономіцином [115].

Показано, що штучна надекспресія TRPV6 також підвищує швидкість кальційзалежної проліферації клітин, що є передумовою для його можливого залучення в ріст пухлин [114].

Цитоплазматичний кальцій і рак

Цитоплазма – саме те місце клітини, де більшість механізмів кальцієвої сигналізації конвертують, щоб створити сигнал з такими часово-просторовими характеристиками, які б найбільше підходили для специфічного впливу на вибрані ефектори. В стані спокою середня концентрація кальцію в цитозолі підтримується на доволі низькому рівні близько 10^{-7} моль/л, а різні її зміни тонко регулюються щодо їх амплітуди, локалізації, тривалості та здатності до розповсюдження. При цьому основними молекулярними структурами плазматичної мембрани (ПМ), що забезпечують обмін кальцієм між цитоплазмою та зовнішньоклітинним простором, є Ca^{2+} -АТФази (від англ. PMCA – plasma membrane Ca^{2+} -ATPase), Na^+ - Ca^{2+} -обмінники (від англ. NCX – Na^+ - Ca^{2+} exchanger), потенціалзалежні, рецепторкеровані та депозалежні кальцієві канали.

Помірні підвищення $[Ca^{2+}]_i$ супроводжують практично всі фази клітинного циклу: перехід від стану спокою в ранню фазу G1, перехід G1-S та прогресію через фази S та M [7,83]. При цьому кальцій відіграє роль універсального алостеричного активатора, або інгібітора низки внутрішньоклі-

тинних ферментів, серед яких чи не найбільш важливим для проліферації є кальмодулін. Він регулює найрізноманітніші ефектори, зокрема представників кальцій/кальмодулінзалежних кіназ II типу (CaMKII) і мембранних іонних каналів. Існують докази того, що CaMKII безпосередньо задіяні в перебігу декількох ключових етапів клітинного циклу [53]. Кальційзалежні ферменти також регулюють активність транскрипційних факторів і факторів, задіяних у системі поділу ДНК, включаючи CDK і цикліни [112].

Водночас тривале перевантаження цитоплазми кальцієм зазвичай призводить до запуску сигнального шляху, що спричинює клітинну смерть. Цей шлях переважно базується на активності кальцій/кальмодулінзалежної фосфатази – кальційневрину. Дефосфорилювання, каталізоване кальційневрином, сприяє апоптозу через регуляцію активності низки подальших білків-мішеней, включаючи проапоптотичного представника Bcl-2 родини – Bad [138] і транскрипційні фактори родини NFAT (від англ. nuclear factor of activated T cells) [103]. Існують також і інші кальційзалежні ферменти, задіяні на різних стадіях апоптозу, такі, наприклад, як ДНК-деградуючі ендонуклеази [110] та Ca²⁺-активовані цистеїнові протеази родини калпаїнів, важливі для стимуляції проапоптотичних ефекторів [3].

Залежно від типу клітин шляхи входу Ca²⁺ в них переважно складають комбінації різних потенціалзалежних, рецепторкерованих, депозалежних кальцієвих каналів. Дані з експресії кожного з цих каналів при злоякісному переродженні є досить різноманітними і їх не можна розглядати без прив'язки до конкретного типу ракових клітин. Так, диференціація андрогензалежних клітин раку простати лінії LNCaP у злоякісний, апоптозрезистивний, нейроендокринний фенотип, який характерний для пізньої, андрогеннезалежної, невиліковної стадії раку простати, супроводжується значною

експресією потенціалзалежних кальцієвих каналів T-типу (або низькопорогових), особливо їх $\alpha 1H$ (Cav3.2) ізоформи [76]. Завдяки своїй специфічній потенціалзалежності ці канали здатні забезпечувати вхід Ca²⁺ у клітини поблизу їх потенціалу спокою. Вважається, що цей кальцій може бути залученим у кальційзалежні трофічні процеси, що відповідають за формування нейроноподібних морфологічних ознак (тобто ріст нейритів) злоякісних нейроендокринних клітин. Однак чи роблять ці канали внесок у підвищену апоптотичну резистивність нейроендокринних клітин поки що не з'ясовано. Згадані клітини, так само як і інші фенотипи андрогеннезалежних, апоптозрезистивних клітин раку простати, зокрема ті, що надекспресують анти-апоптотичний білок Bcl-2, також характеризуються пригніченим депозалежним входом кальцію найімовірніше внаслідок того, що в їх ПМ зменшується щільність депозалежних кальцієвих каналів депозалежних кальцієвих каналів [101,132,134]. Загалом видається, що пригнічений депозалежний вхід кальцію являє собою спільну ознаку підвищеної апоптотичної резистивності принаймні всіх тих фенотипів клітин (безвідносно до їх походження), які надекспресують Bcl-2 [100], хоч щодо цього існують і протилежні дані [141].

Результати досліджень, одержані на декількох клітинних лініях поширених карцином людини, свідчать, що нові блокатори потенціалзалежних кальцієвих каналів T-типу – похідні 3,4-дигідроквіназоліну здатні виявляти пригнічувальну дію на проліферативну активність ракових клітин. Вважається, що це відбувається завдяки блокуванню входу Ca²⁺ через ці канали, який необхідний для проходження фаз клітинного циклу, хоч детальні механізми виявленої дії поки залишаються невідомими [62]. Загалом існуючі дані щодо значимості фармакологічної модуляції потенціалкерованих кальцієвих каналів T-типу для

цитостатичної терапії раку все ще залишаються суперечливими [44]. Стосовно інших потенціалкерованих кальцієвих каналів, зокрема, було показано, що при раку товстої кишки спостерігається підвищення рівня мРНК кардіоспецифічної ізоформи згаданих каналів L-типу – $\alpha 1C$ (Cav1.2) [140]. В умовах культури вмісту білка $\alpha 1C$ був вищим у неконфлуентних, які інтенсивно діляться, клітинах товстої кишки, що свідчило про потенційну значимість такого зростання для канцерогенезу.

Контроль над внутрішньоклітинним кальцієвим гомеостазом може розглядатися як перспективна стратегія з терапевтичного запобігання або, навпаки, посилення запрограмованої клітинної загибелі. Такого контролю, зокрема, можна досягти через надекспресію Na^+-Ca^{2+} -обмінника – універсального механізму виводу надлишкового Ca^{2+} в багатьох типах збудливих і незбудливих клітин [10]. Na^+-Ca^{2+} -обмінник поєднує електрогенний трансмембранний транспорт трьох іонів Na за їх електрхімічним градієнтом з одним іоном Ca проти його електрхімічного градієнта. В деяких типах клітин, включаючи кардіоміоцити [107], Na^+-Ca^{2+} -обмінник, являючи собою основний механізм виводу Ca^{2+} , відіграє ключову роль у регуляції $[Ca^{2+}]_i$.

Штучна надекспресія NCX1.7 ізоформи Na^+-Ca^{2+} -обмінника в ракових, інсулінсекретуючих BRIN-BD11-клітинах призвела до суттєвого спустошення Ca^{2+} депо ER, результатом чого був його стрес, активація специфічної, ER-локалізованої каспази-12 та посилення кальційзалежних і кальційнезалежних механізмів апоптозу. Очевидно, що в цих клітинах саме стрес ER був основною причиною апоптозу з огляду на те, що при цьому також спостерігалось помітне зниження базального рівня $[Ca^{2+}]_i$ [32,33]. Зменшення загального наповнення Ca^{2+} депо ER та зниження $[Ca^{2+}]_i$ завдяки посиленому виводу Ca^{2+} назовні також пояснює, чого надекспресія NCX1.7 або

плазмолемальної Ca^{2+} АТФази – PMCA2 супроводжувалася пригніченням клітинної проліферації [32,33]. Отже, з огляду на те, що надмірна проліферативна активність клітин і пригнічений апоптоз є ключовими характеристиками раку, штучна надекспресія Na^+-Ca^{2+} -обмінника в злоякісних клітинах методами спрямованої генної терапії може розглядатися як перспективний підхід до терапії раку.

Серцеві глікозиди, які в основному відомі завдяки своїй здатності чинити позитивний інотропний ефект на серцеву діяльність за допомогою непрямого впливу на зворотну функцію Na^+-Ca^{2+} -обмінника (тобто, коли він не виводить, а, навпаки, закачує Ca^{2+} у клітину), також можуть викликати значну проапоптотичну дію на клітини раку простати через зміни їх кальцієвого гомеостазу [49,80]. З використанням модельної системи андрогеннезалежних клітин раку простати лінії PC-3 людини було показано, що серцеві глікозиди викликають вхід Ca^{2+} [49,80], імовірно, завдяки зворотній активності Na^+-Ca^{2+} -обмінника. Цей вхід супроводжувався втратою митохондріального потенціалу [49] та вивільненням цитохрому C з подальшою активацією каспази-3 та каспази-8 [80].

Ще один шлях зменшення цитозольної концентрації Ca^{2+} за допомогою його вилучення назовні через ПМ представлений PMCA-помпою [17]. Стає все більш очевидно, що зміни у функції PMCA можуть бути пов'язані з пухлинним ростом: принаймні дані щодо цього були отримані для раку молочної залози [105,106]. Всього було ідентифіковано чотири PMCA-ізоформи – PMCA1-4 кодовані генами, розташованими на різних хромосомах [17]. PMCA1 та PMCA4 широко розповсюджені в різних тканинах, тоді як PMCA2 та PMCA3 переважно зосереджені у збудливих тканинах [121]. Експресія PMCA зростає в ракових клітинах, зокрема, рівень PMCA2 у туморогенних клітинах ліній MCF-7 і

MDA-MB-231 молочної залози людини є в 100 разів вищим, ніж у лініях нетуморогенних клітин лінії MCF-10A [64]. Хоч і не настільки, але вміст мРНК двох інших ізоформ – РМСА1 і РМСА4 також був підвищеним у ракових клітинах [63,64]. Цікаво, що гібридне вилучення РМСА пригнічує проліферацію клітин MCF-7 [65]. Однак з огляду на те, що надекспресія РМСА загалом призводить до зниження вмісту Ca^{2+} в ЕР і мітохондріях, а також підвищує ефективність вилучення Ca^{2+} з цитозолу [14], поки залишається неясним, чи РМСА прямо задіяна в регуляцію проліферації злоякісних клітин раку молочної залози, чи опосередковано [64].

Підвищена експресія та активність РМСА також спостерігається в гепатокарциномі [29, 78]. Так, показано, що в AS-30D-асцитах гепатокарциноми активність РМСА посилюється порівняно з мембранними фракціями нормальної печінки миші [78], причому найімовірніше це відбувається завдяки змінам у синтезі декількох ізоформ РМСА [29].

Кальцій ендоплазматичного ретикулума та рак

ЕР відіграє центральну роль у багатьох нормальних клітинних процесах. Він є основним місцем синтезу, збирання та правильного скерування білків [103]. У ньому також синтезуються стероїди, холестерол та інші ключові ліпіди [103]. ЕР може ефективно акумулювати та вивільнювати кальцій, завдяки чому він є основною структурою, залученою у зберігання кальцію, кальцієву сигналізацію та підтримання внутрішньоклітинного кальцієвого гомеостазу [103]. У еукаріотних клітинах новосинтезовані поверхневі та секретовані білки спочатку попадають у розгорнутому вигляді через спеціалізовані канали в ЕР, де вони потрапляють в окиснювальне, збагачене кальцієм середовище, в якому проходить їх модифікація [26, 74]. Дозріван-

ня білків, що утворилися, вимагає високого вмісту кальцію, а резидентні білки-партнери в ЕР забезпечують їх необхідне згортання [74]. Правильно згорнуті білки залишають ЕР і рухаються далі фізіологічним секреторним шляхом, тоді як незгорнуті або невірно згорнуті білки експортуються з ЕР і деградуються цитоплазматичними протеосомами [74].

ЕР надзвичайно чутливий навіть до незначних збурень у складі свого внутрішнього середовища і, особливо, до вмісту кальцію. Відхилення в кальцієвому гомеостазі ЕР або акумуляція в ньому надлишку білків призводять до так званого стресу ЕР, результатом чого є активація каспази-12 [129], що запускає програму апоптозу [85]. Негативно на функцію ЕР впливають як ендогенні патофізіологічні чинники (наприклад, глюкозна депривація, окисдаивний стрес, ішемія та інфекція), так і низка зовнішніх, серед яких кальцієві іонофори та хімічні токсиканти [103]. Відповіддю ЕР на стрес може також бути запуск особливого сигнального шляху, відомого під назвою UPR (від англ. unfolded protein response). UPR захищає клітини від варіацій у складі середовища ЕР у допустимих межах [74, 103], але останні дані вказують на те, що цей шлях може активуватися в пухлинах [74].

Для забезпечення ефективного захоплення, зберігання та вивільнення кальцію ЕР наділений множинними механізмами. Основними молекулярними детермінантами, що забезпечують активне вивільнення Ca^{2+} з ЕР є рецептори інозитолтрифосфату (IP_3R) та р'анодину (RyR). Пасивний витік Ca^{2+} з ЕР здійснюється через канали втрат, а активне його захоплення забезпечується SERCA-помпами. У зберіганні внутрішньолімінального Ca^{2+} в самому ЕР задіяні спеціалізовані кальцій-зв'язувальні білки – чаперони (від англ. chaperones). Скоординоване функціонування каналів втрат, SERCA-помп і кальцій-зв'язувальних чаперонів забезпечує опти-

мальний базальний рівень наповнення ER кальцієм, який необхідний для синтезу та подальшої обробки білків.

Вивільнення кальцію з ER через пригнічення функції SERCA-помп при допомозі їх специфічного, незворотного інгібітора тапсигаргіну, або іншими подібними впливами викликає стресорну відповідь з одночасною активацією як ER-залежного, так і мітохондрійзалежного апоптозних шляхів. Однак з огляду на те, що SERCA-білки наявні у всіх без винятку клітинах, тапсигаргін виявляє значну токсичність не тільки до ракових, а і до нормальних клітин, що робить його непридатним для терапії раку. Проблему загальної цитотоксичності тапсигаргіну можна вирішити приєднанням його до білка-переносника, створивши таким чином неактивну форму препарату, який може бути активований тільки в злоякісних клітинах-мішенях. Що стосується раку простати, то як переносник перспективним буде використання пептиду, що є субстратом простатспецифічної серинової протеази, відомої під назвою простатспецифічний антиген (ПСА). В експериментах *in vitro* з використанням ПСА-продукуючих клітин раку простати лінії LNCaP та на *in vivo* ксенотрансплантованих моделях раку простати на мишах (з використанням тих самих клітин LNCaP) був продемонстрований ефективний гідроліз відповідного комплексу-попередника простатспецифічним антигеном, селективна токсичність вивільненого тапсигаргіну до клітин LNCaP та ефективне пригнічення росту ксенотрансплантованих пухлин [31]. Відповідні препарати нині проходять доклінічні випробування для перспективної терапії раку простати; при цьому безпосередньою мішенню терепевтичного впливу є SERCA-помпа, значення якої таким чином переходить із переважно теоретичної у чисто практичну площину [30].

Через блокування активності SERCA-помпи тапсигаргін викликає стрес ER.

Аналогічна дія притаманна і деяким іншим сполукам, зокрема дііндолилметану (від англ. diindolylmethane – DIM), що є похідним індол-3-карбіноалу, знайденого у хрестоцвітих овочах [113]. DIM, так само як і тапсигаргін, мобілізує Ca^{2+} з ER у клітинних лініях ракового походження, але на відміну від нього індукує апоптоз у клітинно-специфічний спосіб. Так, індукція апоптозу андрогеннезалежних клітин раку простати людини лінії DU-145 у відповідь на DIM вимагала не тільки зменшення наповнення ER кальцієм, а й підвищення концентрації кальцію в цитозолі, в той час як у клітинах C33A раку шийки матки для цього було достатньо одного спустошення ER. На основі цих результатів зроблено висновок, що залежно від типу лінії ракових клітин зміни в інтралюмінальному кальцієвому гомеостазі ER можуть ініціювати апоптоз через різні механізми.

Інфекція вірусом гепатиту В або С є визначальним фактором для розвитку цирозу печінки та гепатоклітинної карциноми [13,25]. Хоч дія цих вірусів зумовлена різними механізмами, обидва вони безпосередньо впливають на контроль кальцієвого гомеостазу гепатоцитів людини. Один з білків, кодованих геном вірусу гепатиту В – HBx (від англ. hepatitis virus X protein), є ключовим для реплікації вірусу і одночасно відіграє важливу роль в онкогенезі печінки. HBx – це багатофункціональний білок [84], експресія якого, зокрема, дерегулює клітинний ріст [66]. Інтеграція ДНК вірусу В у геном клітин-господарів виявляється більше ніж у 90 % випадків гепатоклітинної карциноми, пов'язаних з цим вірусом [95]. Нещодавно було показано, що інтеграція ДНК вірусу В у ген, що кодує SERCA1-ізоформу кальцієвої помпи в клітинах пухлини печінки, призводить до експресії мутованого білка помпи, наслідком чого є зниження наповнення ER кальцієм і відповідне підвищення здатності до апоптозу [20]. Вкорочені сплайс-варіанти

SERCA1, подібні до мутованої форми, експресуються також у нормальній печінці, але збільшення їх експресії понад норму викликає посилення втрат Ca^{2+} з ЕР, зниження його наповнення та спричиняє апоптоз [19].

Більше того, НВх сам по собі може модифікувати кальцієвий гомеостаз низки клітинних ліній, включаючи клітини гепатоми лінії Нер G2 людини [18]. Штучна надекспресія НВх збільшувала амплітуду цитоплазматичних кальцієвих танзієнтів у відповідь на прикладання агоністів, які стимулюють вироблення інозотолтрифосфату (IP_3). Таке збільшення найімовірніше було зумовлено каспазnezалежною деградацією Ca^{2+} АТФ-ази плазматичної мембрани без суттєвих змін у базальному наповненні ЕР кальцієм та кінетиці його вивільнення з ЕР [18]. НВх також викликав значні зміни у морфології мітохондрій (фрагментацію та набухання) та знижував мітохондріальне захоплення кальцію. Було зроблено висновок, що НВх змінює внутрішньоклітинний кальцієвий гомеостаз переважно діючи на механізми виведення Ca^{2+} з клітини і що саме ця дія може лежати в основі НВх-викликаного апоптозу [18].

Нещодавно було встановлено роль капсидного білка вірусу гепатиту С в онкогенезі печінки [96]. Показано, що цей білок змінює кальцієву сигналізацію [39] та викликає апоптоз трансфєкованих клітин [104] найімовірніше завдяки його дії на акумуляцію Ca^{2+} в ЕР без впливу на механізми вивільнення Ca^{2+} з ЕР [5]. Хоча в клітинах, трансфєкованих капсидним білком вірусу гепатиту С, і відзначається деяке збільшення вмісту кальційзв'язувального білка ЕР калретикуліну, таке підвищення імовірніше призводить до пригнічення функції SERCA2b-помпи [52], ніж до зростання кальційнакопичувальної здатності ЕР [5]. Отримані результати узгоджуються з точкою зору, що капсидний білок викликає апоптоз частини трансфє-

кованих клітин через стрес ЕР у результаті його недонаповнення кальцієм [5] без зменшення депозалежного входу кальцію [100].

Ступінь наповнення ЕР кальцієм значною мірою залежить від експресії SERCA-помп. Було описано декілька SERCA-кодуючих родин генів, з яких SERCA3 – найбільша родина, що об'єднує низку видоспецифічних ізоформ [11], конкретна роль яких у клітинній фізіології ще не зовсім зрозуміла. Відомо, що SERCA3 не експресується при раку товстої кишки, хоч в нормальних епітеліальних клітинах товстої кишки та шлунка вона наявна [38]. Відповідно до цього при розвитку раку товстої кишки внутрішньоклітинний кальцієвий гомеостаз суттєво спотворюється, відображаючи недостатній рівень експресії SERCA3 [15]. Схожа ситуація складається і при раку простати. В андрогензалежних епітеліальних клітинах раку простати людини лінії LNCaP була виявлена експресія лише SERCA2b-ізоформи SERCA-помпи [67, 132]. Трансформація клітин LNCaP в андрогенnezалежні фенотипи, які характеризуються підвищеною метастазною здатністю та резистивністю до апоптозу, загалом супроводжується зменшенням рівня експресії SRCA2b кальцієвої помпи. Таке зниження є однією з основних причин того, що кальцієве депо ЕР у цих клітинах відзначається суттєво нижчим рівнем наповнення, що в свою чергу призводить до зменшення їх чутливості до апоптозу у відповідь на стрес ЕР [132, 134, 101].

SERCA-помпи відіграють важливу роль також у проліферативній активності клітин [73]. Так, було показано, що проліферація васкулярних гладеньком'язових клітин (ВГМК) супроводжується зниженням експресії SERCA2a-помпи, в той час як її штучна надекспресія у ВГМК сонної артерії пригнічує проліферативну активність [72]. При цьому надекспресія SERCA2a призводила до підвищення наповнення ЕР кальцієм і зменшення амплітуди цитоплаз-

матичних Ca^{2+} -транзієнтів, викликаних стимуляцією пуринових P_2Y -рецепторів, очевидно, внаслідок більш ефективного зворотного захоплення кальцію назад у ЕР [72]. Роль наповнення ЕР кальцієм у індукції апоптозу визначена, однак, як воно впливає на проліферацію, все ще залишаються недостатньо вивченими. З використанням клітин лінії LNCaP як моделі раку простати *in vitro* було встановлено, що модуляція росту клітин такими чинниками, як епідермальний фактор росту (від англ. epidermal growth factor – EGF), сироватка та андрогени корелює з рівнем базального наповнення ЕР кальцієм: стимуляція росту при допомозі EGF викликала підвищення наповнення, а пригнічення росту через депривацію андрогенів або сироватки знижували наповнення [67]. При цьому збільшення або зменшення вмісту Ca^{2+} в ЕР відбувалося паралельно зі збільшенням або зменшенням експресії SERCA2b-помпи. Схожі результати були отримані і з іншими модуляторами росту клітин раку простати: інсуліновим фактором росту (від англ. insulin growth factor – IGF), який стимулює проліферацію, та фактором некрозу пухлин- α (від англ. tumour necrosis factor- α – TNF- α), який пригнічує проліферацію та індукуює апоптоз [50]. Більше того, IGF втрачав здатність посилювати проліферацію в клітинах, в яких депо ЕР було попередньо спустошене тапсигаргіном. З огляду на те, що кальцієвий статус ЕР є також важливим чинником апоптозу клітин LNCaP [119], всі ці дані дають змогу запропонувати загальну схему залучення рівня наповнення ЕР кальцієм у регуляцію росту та загибелі клітин раку простати, згідно з якою стабільний ріст характеризується оптимальним рівнем наповнення ЕР завдяки збалансованій експресії та функції SERCA2b Ca^{2+} -помпи та каналів втрат у мембрані ЕР, посилення проліферативної активності – деяким перенаповненням ЕР внаслідок підвищеної експресії SERCA2b, зменшення

проліферативної активності – зниженням наповнення через недоекспресію SERCA2b і, нарешті, апоптоз – спустошенням ЕР через недостатню експресію SERCA2b і збільшення втрат.

Мітохондріальний кальцій і рак

Мітохондрії відіграють ключову роль у багатьох клітинних процесах, включаючи ті з них, що є важливими для канцерогенезу: клітинний ріст, поділ, енергетичний метаболізм та апоптоз. Як органели, що містять весь необхідний молекулярний апарат для запуску процесу клітинної смерті, вони являють собою центральний інтеграційний пункт для сигналів, що регулюють долю клітини. Перевантаження клітини кальцієм, що може мати найрізноманітніші початкові причини, стимулює захоплення Ca^{2+} мітохондріями. Надлишкове накопичення Ca^{2+} в мітохондріальному матриксі є одним з основних поштовхів до переключення мітохондріальної проникності, яке принаймні частково зумовлюється відкриттям РТР (від англ. permeability transition pore) пори – мультибілкового комплексу, розташованого у місцях контакту внутрішньої та зовнішньої мітохондріальних мембран. Відкриття РТР призводить до вивільнення мітохондріальних апоптогенних факторів – цитохрому С (Cyt-c) та апоптозіндукуючого фактора (від англ. apoptosis-inducing factor, AIF) у цитоплазму, де вони активують каскад реакцій із залученням апоптозвизкожуючих каспаз. Мітохондріальна проникність загалом і РТР-комплекс зокрема регулюються білками Bcl-2 родини. Такі члени цієї родини, як сам Bcl-2, Bcl-x_L та Mcl-1 перешкоджають вивільненню апоптогенних факторів і, таким чином, відіграють захисну роль проти апоптозу, в той час як інші – Bax і Bak сприяють вивільненню апоптогенних факторів, виступаючи в ролі посилювачів апоптозу [1].

Мітохондрії наділені ефективними механізмами захоплення та вивільнення Ca^{2+}

через свою внутрішню мембрану [108], завдяки чому вони беруть участь у контролі як загальної, так і локальних концентрацій Ca^{2+} у цитозолі. РТР разом з H^+ - Ca^{2+} та Na^+ - Ca^{2+} -обмінниками представляють шляхи вивільнення Ca^{2+} з мітохондрій, тоді як мітохондріальне захоплення Ca^{2+} переважно здійснюється через каналоподібний уніпортер [55]. Просторово мітохондрії розташовуються поблизу спеціалізованих кальцієвих компартментів [109] і кальцієвих каналів [135] і беруть участь у таких важливих кальційзалежних процесах, як активація транскрипційних факторів і експресія генів [21, 34]. У Т-лімфоцитах керування депозалежних кальцієвих каналів типу CRAC, а також кінетика та амплітуда кальцієвого струму через них (I_{CRAC}) модулюються функціональним станом мітохондрій, що підкреслює важливу роль останніх в активації Т-лімфоцитів та інших фізіологічних і патофізіологічних процесів, залежних від входу Ca^{2+} [40, 47, 48]. Потенціалзалежне захоплення Ca^{2+} зарядженими мітохондріями знижує вміст цитозольного Ca^{2+} поблизу CRAC, сприяючи їх відкриванню [40,47]. На противагу цьому, незаряджені мітохондрії та зменшене мітохондріальне захоплення Ca^{2+} призводить до підвищення $[\text{Ca}^{2+}]_i$, що у свою чергу підтримує CRAC закритими завдяки механізму їх кальційзалежної інактивації [47, 93]. З огляду на здатність мітохондрій суттєво впливати на кальцієву сигналізацію, а через неї на транскрипційну активність клітини [47], спрямований вплив на мітохондрії може бути ефективним засобом контролю над CRAC-опосередкованим входом Ca^{2+} та пов'язану з ним проліферативну активність [36, 46, 81, 88].

Такі речовини, як карбоксиамідотриазол або салицилат, які пригнічують мітохондріальний імпорт кальцію [81, 88], або діазоксид, котрий деполаризує мітохондріальний мембранний потенціал [46], можуть призводити до зупинки клітинного

циклу та блокування проліферації. З огляду на те, що мітохондріальний мембранний потенціал різко зростає при вході проліферуючих клітин у S-фазу [123], "фіксація" потенціалу на низькому, деполаризованому рівні за допомогою діазоксиду надає механістичну основу для його антипроліферативної дії та зупинці циклу у G0/G1-фазі без переходу в S-фазу.

Кальцієва сигналізація та блокування клітинного циклу

Роль внутрішньоклітинної сигналізації, пов'язаної з дією факторів росту, у патогенезі раку досить добре встановлена, а сам канцерогенез часто супроводжується підвищеною експресією рецепторів цих факторів [1]. В умовах *in vitro* вилучення сироватки з культурального середовища призводить до блокування клітинного циклу частково моделюючи різницю між нормальними та раковими клітинами. Показано, що таке вилучення впродовж 48–72 год не тільки пригнічує проліферацію, а і змінює експресію низки білків, залучених у кальцієву сигналізацію, включаючи IP_3R , кальцієві канали плазматичної мембрани, Ca^{2+} -помпи та Na^+ - Ca^{2+} -обмінники ([41, 43, 120, 128, 137, 143]. Наприклад, 72-годинне позбавлення сироватки Jurkat-клітинах Т-лімфоцитів викликало п'ятиразове підвищення експресії гомеостатичного білка ER – CHERP (від англ. homeostasis endoplasmic reticulum protein), яке було повністю зворотним при відновленні вмісту сироватки у культуральному середовищі, слабо впливаючи на експресію таких білків, як IP_3R або циклін 1 [91]. CHERP – це інтегральний білок мембрани ER, залучений у регуляцію IP_3 -стимульованого вивільнення Ca^{2+} [61]. Для встановлення ролі дефіциту CHERP у кальцієвій сигналізації та зупинці проліферації у відповідь на вилучення сироватки порівнювалися характеристики кальцієвої мобілізації з ER у контрольних клітинах і клітинах із штучно

пригніченою експресією CHERP за допомогою гібридного вилучення відповідної мРНК. Основний результат цих експериментів полягав у тому, що дефіцит CHERP призводив до неможливості вивільнення кальцію в Jurkat-клітинах у відповідь на фітогемаглютинін або тромбін. При цьому спостерігалася пряма кореляція між значенням $[Ca^{2+}]_i$ транзєнтів і рівнем гібридного вилучення CHERP. При зменшенні рівня CHERP на 70 % і більше знижувалася не тільки амплітуда РНА-викликаних підвищень $[Ca^{2+}]_i$, що були спричинені фітогемаглютиніном, але і вхід Ca^{2+} , а також наповнення TG-чутливого кальцієвого депо. Ці результати свідчать, що при значному дефіциті CHERP уражаються практично всі механізми кальцієвої сигналізації – Ca^{2+} -мобілізація з ER, наповнення ER кальцієм і спряження між спустошенням ER і депозалежним входом Ca^{2+} (від англ. store-operated Ca^{2+} entry, SOCE). Як було показано на Jurkat- та HEL-клітинах, сама проліферація теж пригнічувалася при дефіциті CHERP [61], що супроводжувалося суттєвим зниженням експресії цикліну D1. Зменшення наповнення ER кальцієм і пригнічення проліферації у відповідь на вилучення сироватки спостерігалось і на інших типах клітин [43, 122]. При цьому відзначалося також зменшення рівня експресії SERCA-помп (див. вище).

Вилучення сироватки з культурального середовища специфічно впливає на експресію різних типів кальцієвих каналів плазматичної мембрани. Так, експресія потенціалзалежних кальцієвих каналів у відсутності сироватки підвищується [51, 56, 94], а непотенціалзалежних – навпаки, знижується [42, 43, 122, 143, 144].

Специфічність кальцієвих сигналів

Перебіг різноманітних кальційзалежних процесів базується на специфічних просторово-часових характеристиках кальцієвих сигналів [127]. Однак яким чином ці

характеристики змінюються під час канцерогенезу, поки що залишається не зовсім з'ясованим. З огляду на ключову роль кальцієвої сигналізації в регуляції росту клітин важливо зрозуміти, як різноманітні фактори росту, нейромедіатори та гормони, які залучені в нормальну та патологічну проліферацію, запускають специфічні кальцієві сигнали. Так, наприклад, агоніст-викликана стимуляція двох рецепторів у епітеліальних клітинах раку простати – $\alpha 1$ -адренорецепторів ($\alpha 1$ -AR) і метаболічних пуринових рецепторів (P2Y-R) викликає протилежні ефекти на проліферацію: стимуляція $\alpha 1$ -AR посилює проліферацію [125], а стимуляція P2Y-R призводить до її припинення [133]. Такі протилежні ефекти на проліферативну активність видаються досить дивними з огляду на те, що дія обох рецепторів опосередковується через спільний сигнальний шлях фосфоліпази C (PLC) каталізованого розщеплення фосфоліпідів, внаслідок якого генеруються два вторинні посередники, важливі для кальцієвої сигналізації – IP_3 і діацилгліцерол [77, 136]. Невдавні роботи на клітинах раку простати внесли деяку ясність у ці незвичайні результати [125]. Виявилось, що кальцієва сигналізація, пов'язана з двома згаданими рецепторами, залучає різні шляхи входу Ca^{2+} , які націлені на неоднакові внутрішньоклітинні ефектори. Так, стимуляція $\alpha 1$ -AR призводила до активації неспецифічних катіонних каналів плазматичної мембрани, які безпосередньо керуються діацилгліцерами [126], зовсім не зачіпаючи будь-якого кальцієвого депо ER. На відміну від цього, стимуляція P2Y-R призводила до IP_3 -опосередкованого спустошення депо ER та активації депозалежних кальцієвих каналів – SOCs [133]. У цілковитій згоді з цими особливостями агоніст $\alpha 1$ -AR фенілефрин викликав внутрішньоклітинну кальцієву сигналізацію осциляторного типу (тобто генерацію хвиль $[Ca^{2+}]_i$) із залученням діацилгліцеролкерованих катіонних каналів, в той час

як агоніст P2Y-R АТФ призводив до транз'єнтного підвищення $[Ca^{2+}]_i$, яке переходило у дещо зменшений стаціонарний рівень внаслідок вивільнення кальцію з депо та активації SOC-каналів. Було показано, що два шляхи входу Ca^{2+} також мають різну молекулярну основу: перший базується на діацилгліцеролкерованому каналі з родини TRP (від англ. transient receptor potential) TRPC6, а другий – на депозалежних представниках цієї ж родини TRPC1 і TRPC4.

Експресія генів, залучених у проліферацію та апоптоз, забезпечується ядерними транскрипційними факторами. Білки NFAT (від англ. nuclear factor of activated T cells) входять до родини кальційзалежних транскрипційних факторів [27], чия транслокація в ядро та транскрипційна активність регулюються кальцій/кальмодулінзалежною фосфатазою – кальційневрином [27]. Таким чином, NFAT-білки потенційно можуть бути активовані найрізноманітнішими стимулами, що спричиняють підвищення внутрішньоклітинної концентрації кальцію. NF- κ B (від англ. nuclear factor kappa B) – це ще одна родина широко розповсюджених транскрипційних факторів, залежних від кальцієвого гомеостазу, особливо від наповненості кальцієвих депо ER [24,70]. Виявилося, що стимуляція α 1-AR посилює проліферацію епітеліальних клітин простати за допомогою активації входу Ca^{2+} через TRPC6-канали, результатом чого є активація NFAT [125]. Гібридне вилучення мРНК TRPC6-каналу призводило до тих самих наслідків, що і фармакологічна блокада α 1-AR, а саме до пригнічення агоніствикликаного входу Ca^{2+} та кальцієвої сигналізації у вигляді генерації хвиль внутрішньоклітинного Ca^{2+} і як наслідок припинення проліферації клітин. Більше того, довготривала інкубація клітин за наявності α 1-агоністів посилювала експресію білка TRPC6 та змінювала експресію двох білків-регуляторів клітинного циклу –

CDK4 та інгібітора циклінзалежної кінази – p27. Ці дані вказують на прямий зв'язок між α 1-AR-каналом TRPC6 і транскрипційним фактором NFAT у регуляції клітинної проліферації. На противагу їм вхід Ca^{2+} у відповідь на стимуляцію P2Y-R зовнішньоклітинною АТФ та пов'язане з ним припинення проліферації відбувалися без залучення як TRPC6-каналу, так і транслокації NFAT. Загалом, одержані результати засвідчили, що кальцієва сигналізація, яка запускається через α 1-AR і призводить до посилення проліферації епітеліальних клітин раку простати, вимагає активації TRPC6 і NFAT, тим самим підкреслюючи значення TRPC6-каналу як потенційної терапевтичної мішені при раку простати.

Доклінічні дослідження вказують на можливість застосування антагоністів α 1-AR як проапоптотичних агентів, здатних стимулювати апоптоз епітеліальних і гладеньком'язових клітин раку простати людини без впливу на їх проліферацію [58]. Однак існуючі дані свідчать, що ці ефекти антагоністів α 1-AR найімовірніше не асоціюються з дією через рецептор [6, 57] та пов'язану з ним кальцієву сигналізацію.

Нещодавно були отримані докази того, що експресія TRPC1, TRPC3 та TRPV6-каналів у андрогензалежних клітинах раку простати лінії LNCaP контролюється рівнем наповнення кальцієвих депо ER: тривале (впродовж 24–48 год) спустошення депо тапсигаргіном, який сам по собі має виражену проапоптотичну дію, призводило до посилення експресії цих каналів. Посилення TRPC1 та TRPC3 було пов'язане з активацією сигнального шляху кальцій/кальмодулін/кальційневрин/NFAT [99]. Функціонально клітини з підвищеною експресією TRPC1, TRPC3 і TRPV6, спричиненою спустошенням кальцієвих депо, характеризувалися більш високим $[Ca^{2+}]_i$ у відповідь на α -адренергічну стимуляцію, хоч при цьому змін у величині депозалежного входу Ca^{2+} не спостерігалось. Вибіркова надексп-

ресія тільки TRPV6 (без змін експресії TRPC1 або TRPC3) не викликала аналогічних ефектів, свідчаючи про важливість саме TRPC1 та/або TRPC3 у α -адренергічній стимуляції кальцієвого сигналу.

Численні дані вказують на важливу роль NFAT не тільки при раку простати, але і у інших типах карцином людини. Зокрема, підвищена активність транскрипційних факторів NFAT відзначалась у клітинах карциноми молочної залози та товстої кишки. В епітеліальних клітинах молочної залози встановлений прямий зв'язок NFAT1 із метастазним потенціалом ракових клітин, в яких він може бути активований Wnt-5a-білком з родини секретованих Wingless (Wnt) сигнальних білків через неканонічний кальційзалежний сигнальний шлях [28]. NFATc1 надекспресується при карциномах підшлункової залози, посилюючи злоякісність пухлинних клітин за допомогою транскрипційної активації протоонкогена c-myc, що зрештою призводить до підвищення проліферативної активності клітин [16]. І, навпаки, транскрипція c-myc і ріст клітин могли бути суттєво послаблені блокуванням кальцій/кальційневринової сигналізації або пригніченням експресії NFATc1 з використанням siRNA. Ці результати показують, що активація NFATc1 через кальцій/кальційневриновий сигнальний шлях є важливим механізмом активації онкогенного c-myc при раку підшлункової залози [16].

ВИСНОВКИ

Трансформація нормальних клітин у ракові супроводжується значними змінами у експресії та функції кальцієвих pomp, Na^+ – Ca^{2+} -обмінників, плазмолемальних і ретикулярних кальцієвих каналів. Ці молекули утворюють сигнальні комплекси, що забезпечують кальцієву сигналізацію з просторовими та часовими характеристиками, потрібними для запуску транскрипційних

механізмів, що лежать в основі переходу від нормального до патологічного росту клітин. Ідентифікація всіх можливих молекулярних детермінантів, що беруть участь у кальцієвій сигналізації та збільшують свою експресію саме у ракових клітинах, є важливим для спрямованого терапевтичного впливу на патологічну проліферацію. Однак з огляду на уніфікованість цих молекулярних детермінантів та їх наявність не тільки у ракових, а і у багатьох типах нормальних клітин та органів, слід створювати засоби терапевтичного впливу на ті чи інші канали, помпи та обмінники з можливістю їх доставки саме до ракових вогнищ. Нові підходи до терапії раку, такі, як ліки-посередники, що можуть бути активовані специфічними для ракових клітин протеазами, наприклад сериною протеазою – простатспецифічним антигеном і трансфекційні реагенти для спрямованого введення siRNA з метою пригнічення експресії дають надію, що це буде досягнуто.

За часткової підтримки INTAS 05-1000008-8223. Автор вдячний професорам Н. Преварській та Р. Скрімі з лабораторії фізіології клітини Лільського університету (Франція) за критичне прочитання тексту.

Іа. М. Shuba

CALCIUM SIGNALING IN CARCINOGENESIS

Malignant transformation of the cells in cancer is caused by excessive proliferation accompanied by diminished ability for apoptosis due to the loss of normal control on these processes. Despite their ubiquity calcium ions are central to both processes, serving as major signalling agents. The present review examines what changes in calcium distribution among various compartments: extracellular space, cytoplasm, endoplasmic reticulum and mitochondria take place during transition from normal to pathological cell growth and death, what Ca^{2+} -handling proteins are involved, and how this affects spatial and temporal characteristics of Ca^{2+} signals aimed at regulating specific cellular responses. Uncovering the underlying molecular events may help elaborating new strategies for cancers treatment.

International Center of Molecular Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Aaronson S. Growth factors and cancer // *Science*. – 1991. – **254**. – P.1146–1153.
2. Allbritton N., Meyer T., Stryer L. Range of messenger action of calcium ion and inositol 1,4,5-trisphosphate // *Ibid.* – 1992. – **258**. – P. 1812–1815.
3. Altnauer F., Conus S., Cavalli A. et al. Calpain-1 regulates Bax and subsequent Smac-dependent caspase-3 activation in neutrophil apoptosis // *J. Biol. Chem.* – 2004. – **279**. – P. 5947–5957.
4. Antonsson B., Martinou J. The Bcl-2 protein family // *Exp. Cell. Res.* – 2000. – **256**. – P. 50–57.
5. Benali-Furet N., Chami M., Houel L. et al. Hepatitis C virus core triggers apoptosis in liver cells by inducing ER stress and ER calcium depletion // *Oncogene*. – 2004. – **24**. – P. 4921–4933.
6. Benning C., Kyprianou N. Quinazoline-derived alpha1-adrenoceptor antagonists induce prostate cancer cell apoptosis via an alpha1-adrenoceptor-independent action // *Cancer. Res.* – 2002. – **62**. – P. 597–602.
7. Berridge M. Calcium signalling and cell proliferation // *Bioessays*. – 1995. – **17**. – P. 491–500.
8. Berridge M., Bootman M., Lipp P. Calcium-a life and death signal // *Nature*. – 1998. – **395**. – P. 645–648.
9. Berridge M., Bootman M., Roderick H. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2003. – **4**. – P. 517–529.
10. Blaustein M., Lederer W. Sodium/calcium exchange: its physiological implications // *Physiol Rev.* – 1999. – **79**. – P. 763–854.
11. Bobe R., Bredoux R., Corvazier E. et al. How many Ca(2)+ATPase isoforms are expressed in a cell type? A growing family of membrane proteins illustrated by studies in platelets // *Platelets*. – 2005. – **16**. – P. 133–150.
12. Bouillon R., Van Cromphaut S., Carmeliet G. Intestinal calcium absorption: Molecular vitamin D mediated mechanisms // *J. Cell. Biochem.* – 2003. – **88**. – P. 332–339.
13. Brechot C., Gozuacik D., Murakami Y., Paterlini-Brechot P. Molecular bases for the development of hepatitis B virus (HBV)-related hepatocellular carcinoma (HCC) // *Semin. Cancer. Biol.* – 2000. – **10**. – P. 211–231.
14. Brini M., Bano D., Manni S. et al. Effects of PMCA and SERCA pump overexpression on the kinetics of cell Ca(2+) signalling // *Embo J.* – 2000. – **19**. – P. 4926–4935.
15. Brouland J., Gelebart P., Kovacs T. et al. The loss of sarco/endoplasmic reticulum calcium transport ATPase 3 expression is an early event during the multistep process of colon carcinogenesis // *Amer. J. Pathol.* – 2005. – **167**. – P. 233–242.
16. Buchholz M., Schatz A., Wagner M. et al. Overexpression of c-myc in pancreatic cancer caused by ectopic activation of NFATc1 and the Ca²⁺/calcineurin signaling pathway // *Embo J.* – 2005. – **25**. – P. 3714–3724.
17. Carafoli E. Biogenesis: plasma membrane calcium ATPase: 15 years of work on the purified enzyme // *Faseb J.* – 1994. – **8**. – P. 993–1002.
18. Chami M., Ferrari D., Nicotera P. et al. Caspase-dependent alterations of Ca²⁺ signaling in the induction of apoptosis by hepatitis B virus X protein // *J. Biol. Chem.* – 2003. – **278**. – P. 31745–31755.
19. Chami M., Gozuacik D., Lagorce D. et al. SERCA1 truncated proteins unable to pump calcium reduce the endoplasmic reticulum calcium concentration and induce apoptosis // *J. Cell. Biol.* – 2001. – **153**. – P. 1301–1314.
20. Chami M., Gozuacik D., Saigo K. et al. Hepatitis B virus-related insertional mutagenesis implicates SERCA1 gene in the control of apoptosis // *Oncogene*. – 2000. – **19**. – P. 2877–2886.
21. Chen L., Fischle W., Verdin E., Greene W. Duration of nuclear NF-kappaB action regulated by reversible acetylation // *Science*. – 2001. – **293**. – P. 1653–1657.
22. Chen L., Wang L., Zhu L. et al. Cell cycle-dependent expression of volume-activated chloride currents in nasopharyngeal carcinoma cells // *Amer. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2002. – **283**. – P. C1313–1323.
23. Chia V., Newcomb P. Calcium and colorectal cancer: some questions remain // *Nutr Rev.* – 2004. – **62**. – P. 115–120.
24. Clapham D. TRP channels as cellular sensors // *Nature*. – 2003. – **426**. – P. 517–524.
25. Colombo M., Sangiovanni A. Etiology, natural history and treatment of hepatocellular carcinoma // *Antiviral Res.* – 2003. – **60**. – P. 145–150.
26. Cooper G., Brostrom C., Brostrom M. Analysis of the endoplasmic reticular Ca²⁺ requirement for alpha1-antitrypsin processing and transport competence // *Biochem J.* – 1997. – **325** (Pt 3). – P. 601–608.
27. Crabtree G. Calcium, calcineurin, and the control of transcription // *J. Biol. Chem.* – 2001. – **276**. – P. 2313–2316.
28. Dejmeč J., Saffholm A., Kamp Nielsen C. et al. Wnt-5a/Ca²⁺-induced NFAT activity is counteracted by Wnt-5a/Yes-Cdc42-casein kinase 1alpha signaling in human mammary epithelial cells // *Mol. Cell. Biol.* – 2006. – **26**. – P. 6024–6036.
29. Delgado-Coello B., Santiago-Garcia J., Zarain-Herzberg A., Mas-Oliva J. Plasma membrane Ca²⁺-ATPase mRNA expression in murine hepatocarcinoma and regenerating liver cells // *Mol. Cell. Biochem.* – 2003. – **247**. – P. 177–184.
30. Denmeade S., Isaacs J. The SERCA pump as a therapeutic target: making a «smart bomb» for prostate cancer // *Cancer. Biol. Therap.* – 2005. – **4**. – P. 14–22.
31. Denmeade S., Jakobsen C., Janssen S. et al. Prostate-specific antigen-activated thapsigargin prodrug as targeted therapy for prostate cancer // *J. Natl. Cancer. Inst.* – 2003. – **95**. – P. 990–1000.
32. Diaz-Horta O., Kamagate A., Herchuelz A., Van Eylen F. Na/Ca exchanger overexpression induces endoplasmic reticulum-related apoptosis and caspase-12 activation in insulin-releasing BRIN-BD11 cells // *Diabetes*. – 2002. – **51**. – P. 1815–1824.
33. Diaz-Horta O., Van Eylen F., Herchuelz A. Na/Ca ex-

- changer overexpression induces endoplasmic reticulum stress, caspase-12 release, and apoptosis // *Ann N. Y. Acad. Sci.* – 2003. – **1010**. – P. 430–432.
34. Dolmetsch R., Lewis R., Goodnow C., Healy J. Differential activation of transcription factors induced by Ca^{2+} response amplitude and duration // *Nature*. – 1997. – **386**. – P. 855–858.
 35. Doroshenko P., Sabanov V., Doroshenko N. Cell cycle-related changes in regulatory volume decrease and volume-sensitive chloride conductance in mouse fibroblasts // *J. Cell. Physiol.* – 2001. – **187**. – P. 65–72.
 36. Enfissi A., Prigent S., Colosetti P., Capiod T. The blocking of capacitative calcium entry by 2-aminoethyl diphenylborate (2-APB) and carboxyamidotriazole (CAI) inhibits proliferation in Hep G2 and Huh-7 human hepatoma cells // *Cell. Calcium*. – 2004. – **36**. – P. 459–467.
 37. Fixemer T., Wissenbach U., Flockerzi V., Bonkhoff H. Expression of the Ca^{2+} -selective cation channel TRPV6 in human prostate cancer: a novel prognostic marker for tumor progression // *Oncogene*. – 2003. – **22**. – P. 7858–7861.
 38. Gelebart P., Kovacs T., Brouland J. et al. Expression of endomembrane calcium pumps in colon and gastric cancer cells. Induction of SERCA3 expression during differentiation // *J. Biol. Chem.* – 2002. – **277**. – P. 26310–26320.
 39. Giannini C., Brechot C. Hepatitis C virus biology // *Cell. Death. Differ.* – 2003. – 10 Suppl 1. – P. 527–538.
 40. Gilibert J., Parekh A. Respiring mitochondria determine the pattern of activation and inactivation of the store-operated $Ca(2+)$ current $I(CRAC)$ // *Embo J.* – 2002. – **19**. – P. 6401–6407.
 41. Gill D., Waldron R., Rys-Sikora K. et al. Calcium pools, calcium entry, and cell growth // *Biosci Rep.* – 1996. – **16**. – P. 139–157.
 42. Golovina V. Cell proliferation is associated with enhanced capacitative $Ca(2+)$ entry in human arterial myocytes // *Amer. J. Physiol.* – 1999. – **277**. – P. C343–349.
 43. Golovina V., Platoshyn O., Bailey C. et al. Upregulated TRP and enhanced capacitative $Ca(2+)$ entry in human pulmonary artery myocytes during proliferation // *Amer. J. Physiol. Heart. Circulat. Physiol.* – 2001. – **280**. – P. 746–755.
 44. Gray L., Macdonald T. The pharmacology and regulation of T type calcium channels: new opportunities for unique therapeutics for cancer // *Cell. Calcium*. – 2006. – **40**. – P. 115–120.
 45. Guzey M., Kitada S., Reed J. Apoptosis induction by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 in prostate cancer // *Mol. Cancer. Therap.* – 2002. – **1**. – P. 667–677.
 46. Holmuhamedov E., Lewis L., Bienengraeber M. et al. Suppression of human tumor cell proliferation through mitochondrial targeting // *Faseb. J.* – 2002. – **16**. – P. 1010–1016.
 47. Hoth M., Button D., Lewis R. Mitochondrial control of calcium-channel gating: a mechanism for sustained signaling and transcriptional activation in T lymphocytes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2000. – **97**. – P. 10607–10612.
 48. Hoth M., Fanger C., Lewis R. Mitochondrial regulation of store-operated calcium signaling in T lymphocytes // *J. Cell. Biol.* – 1997. – **137**. – P. 633–648.
 49. Huang Y., Chueh S., Teng C., Guh J. Investigation of ouabain-induced anticancer effect in human androgen-independent prostate cancer PC-3 cells // *Biochem. Pharmacol.* – 2004. – **67**. – P. 727–733.
 50. Humez S., Legrand G., Vanden-Abeebe F. et al. Role of endoplasmic reticulum calcium content in prostate cancer cell growth regulation by IGF and TNF α // *J. Cell. Physiol.* – 2004. – **201**. – P. 201–213.
 51. Ihara E., Hirano K., Hirano M. et al. Mechanism of down-regulation of L-type $Ca(2+)$ channel in the proliferating smooth muscle cells of rat aorta // *J. Cell. Biochem.* – 2002. – **87**. – P. 242–251.
 52. John L., Lechleiter J., Camacho P. Differential modulation of SERCA2 isoforms by calreticulin // *J. Cell. Biol.* – 1998. – **142**. – P. 963–973.
 53. Kahl C., Means A. Regulation of cell cycle progression by calcium/calmodulin-dependent pathways // *Endocr. Rev.* – 2003. – **24**. – P. 719–736.
 54. Kallay E., Bajna E., Wrba F. et al. Dietary calcium and growth modulation of human colon cancer cells: role of the extracellular calcium-sensing receptor // *Cancer. Detect. Prev.* – 2000. – **24**. – P. 127–136.
 55. Kirichok Y., Krapivinsky G., Clapham D. The mitochondrial calcium uniporter is a highly selective ion channel // *Nature*. – 2004. – **427**. – P. 360–364.
 56. Kushmerick C., Romano-Silva M., Gomez M., Prado M. Changes in $Ca(2+)$ channel expression upon differentiation of SN56 cholinergic cells // *Brain. Res.* – 2001. – **916**. – P. 199–210.
 57. Kyprianou N., Benning C. Suppression of human prostate cancer cell growth by $\alpha(1)$ -adrenoceptor antagonists doxazosin and terazosin via induction of apoptosis // *Cancer. Res.* – 2000a. – **60**. – P. 4550–4555.
 58. Kyprianou N., Chon J., Benning C. Effects of $\alpha(1)$ -adrenoceptor ($\alpha(1)$ -AR) antagonists on cell proliferation and apoptosis in the prostate: therapeutic implications in prostatic disease [In Process Citation] // *Prostate Suppl.* – 2000b. – **9**. – P. 42–46.
 59. Lamprecht S., Lipkin M. Chemoprevention of colon cancer by calcium, vitamin D and folate: molecular mechanisms // *Nat. Rev. Cancer*. – 2003. – **3**. – P. 601–614.
 60. Lang F., Ritter M., Gamper N. et al. Cell volume in the regulation of cell proliferation and apoptotic cell death // *Cell. Physiol. Biochem.* – 2000. – **10**. – P. 417–428.
 61. Laplante J., O'Rourke F., Lu X. et al. Cloning of human Ca^{2+} homeostasis endoplasmic reticulum protein (CHERP): regulated expression of antisense cDNA depletes CHERP, inhibits intracellular Ca^{2+} mobilization and decreases cell proliferation // *Biochem J.* –

2000. – **348** Pt 1. – P. 189–199.
62. Lee J., Park S., Lee M. et. al. Growth inhibition of human cancer cells in vitro by T-type calcium channel blockers // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2006. – **16**. – P. 5014–5017.
63. Lee W., Roberts-Thomson S., Holman N. et. al. Expression of plasma membrane calcium pump isoform mRNAs in breast cancer cell lines // *Cell. Signal.* – 2002. – **14**. – P. 1015–1022.
64. Lee W., Roberts-Thomson S., Monteith G. Plasma membrane calcium-ATPase 2 and 4 in human breast cancer cell lines // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* – 2005a. – **337**. – P. 779–783.
65. Lee W., Robinson J., Holman N. et. al. Antisense-mediated Inhibition of the plasma membrane calcium-ATPase suppresses proliferation of MCF-7 cells // *J. Biol. Chem.* – 2005b. – **280**. – P. 27076–27084.
66. Lee Y., Kang-Park S., Do S. The hepatitis B virus-X protein activates a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent survival signaling cascade // *J. Biol. Chem.* – 2001. – **276**. – P. 16969–16977.
67. Legrand G., Humez S., Slomianny C. et. al. Ca^{2+} pools and cell growth. Evidence for sarcoendoplasmic Ca^{2+} -ATPases 2B involvement in human prostate cancer cell growth control // *J. Biol. Chem.* – 2001. – **276**. – P. 47608–47614.
68. Lemonnier L., Prevarskaya N., Shuba Y. et. al. Ca^{2+} modulation of volume-regulated anion channels: evidence for colocalization with store-operated channels // *Faseb J.* – 2002. – **16**. – P. 222–224.
69. Lemonnier L., Shuba Y., Crepin A. et. al. Bcl-2-dependent modulation of swelling-activated Cl^- current and $ClC-3$ expression in human prostate cancer epithelial cells // *Cancer. Res.* – 2004. – **64**. – P. 4841–4848.
70. Li X., Stark G. R. NF κ B-dependent signaling pathways // *Exp. Hematol.* – 2002. – **30**. – P. 285–296.
71. Lipkin M., Newmark H. Vitamin D, calcium and prevention of breast cancer: a review // *J. Amer. Coll. Nutr.* – 1999. – **18**. – P. 392S–397S.
72. Lipskaia L., del Monte F., Capiod T. et. al. Sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase gene transfer reduces vascular smooth muscle cell proliferation and neointima formation in the rat // *Circulat. Res.* – 2005. – **97**. – P. 488–495.
73. Lipskaia L., Lompre A. Alteration in temporal kinetics of Ca^{2+} signaling and control of growth and proliferation // *Biol. Cell.* – 2004. – **96**. – P. 55–68.
74. Ma Y., Hendershot L. The role of the unfolded protein response in tumour development: friend or foe? // *Nat. Rev. Cancer.* – 2004. – **4**. – P. 966–977.
75. Manning A., O'Brien N., Kerin M. Roles for the calcium sensing receptor in primary and metastatic cancer // *Eur. J. Surg. Oncol.* – 2006. – **32**. – P. 693–697.
76. Mariot P., Vanoverbergh K., Lalevee N. et. al. Overexpression of an alpha 1H (Cav3.2) T-type calcium channel during neuroendocrine differentiation of human prostate cancer cells // *J. Biol. Chem.* – 2002. – **277**. – P. 10824–10833.
77. Marshall I., Burt R., Chapple C. Signal transduction pathways associated with alpha-adrenoceptor subtypes in cells and tissues including human prostate // *Eur. Urol.* – 1999. – **36** Suppl 1. – P. 42–47; discussion 65.
78. Mas-Oliva J., Perez-Montfort R., Cardenas-Garcia M., Rivas-Duro M. Altered coupling states between calcium transport and (Ca^{2+}, Mg^{2+}) -ATPase in the AS-30D ascites hepatocarcinoma plasma membrane // *Mol. Cell. Biochem.* – 1991. – **100**. – P. 39–50.
79. Mathiasen I., Sergeev I., Bastholm L. et. al. Calcium and calpain as key mediators of apoptosis-like death induced by vitamin D compounds in breast cancer cells // *J. Biol. Chem.* – 2002. – **277**. – P. 30738–30745.
80. McConkey D., Lin Y., Nutt L. et. al. Cardiac glycosides stimulate Ca^{2+} increases and apoptosis in androgen-independent, metastatic human prostate adenocarcinoma cells // *Cancer. Res.* – 2000. – **60**. – P. 3807–3812.
81. Mignen O., Brink C., Enfissi A. et. al. Carboxyamidotriazole-induced inhibition of mitochondrial calcium import blocks capacitative calcium entry and cell proliferation in HEK-293 cells // *J. Cell. Sci.* – 2005. – **118**. P. 5615–5623.
82. Msaouel P., Nixon A., Bramos A. et. al. Extracellular calcium sensing receptor: an overview of physiology, pathophysiology and clinical perspectives // *In Vivo.* – 2004. – **18**. – P. 739–753.
83. Munaron L., Antoniotti S., Lovisolo D. Intracellular calcium signals and control of cell proliferation: how many mechanisms? // *J. Cell. Mol. Med.* – 2004. – **8**. – P. 161–168.
84. Murakami S. Hepatitis B virus X protein: a multifunctional viral regulator // *J. Gastroenterol.* – 2001. – **36**. – P. 651–660.
85. Nakagawa T., Zhu H., Morishima N. et. al. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta // *Nature.* – 2000. – **403**. – P. 98–103.
86. Nicholson D. Caspase structure, proteolytic substrates, and function during apoptotic cell death // *Cell. Death. Differ.* – 1999. – **6**. – P. 1028–1042.
87. Nigg E. Cyclin-dependent protein kinases: key regulators of the eukaryotic cell cycle // *Bioessays.* – 1995. – **17**. – P. 471–480.
88. Nunez L., Valero R., Senovilla L. et. al. Cell proliferation depends on mitochondrial Ca^{2+} uptake: inhibition by salicylate // *J. Physiol.* – 2006. – **571**. – P. 57–73.
89. Okada Y., Maeno E. Apoptosis, cell volume regulation and volume-regulatory chloride channels // *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* – 2001. – **130**. – P. 377–383.
90. Okada Y., Shimizu T., Maeno E. et. al. Volume-sensitive chloride channels involved in apoptotic volume decrease and cell death // *J. Membr. Biol.* – 2006. – **209**. – P. 21–29.

91. O'Rourke F., LaPlante J., Feinstein M. Antisense-mediated loss of calcium homeostasis endoplasmic reticulum protein (CHERP; ERPROT213-21) impairs Ca^{2+} mobilization, nuclear factor of activated T-cells (NFAT) activation and cell proliferation in Jurkat T-lymphocytes // *Biochem. J.* – 2003. – **373**. – P. 133–143.
92. Orrenius S., Zhivotovsky B., Nicotera P. Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2003. – **4**. – P. 552–565.
93. Parekh A. Slow feedback inhibition of calcium release-activated calcium current by calcium entry // *J. Biol. Chem.* – 1998. – **273**. – P. 14925–14932.
94. Patel M., Clunn G., Lymn J. et. al. Effect of serum withdrawal on the contribution of L-type calcium channels (CaV1.2) to intracellular Ca^{2+} responses and chemotaxis in cultured human vascular smooth muscle cells // *Br. J. Pharmacol.* – 2005. – **145**. – P. 811–817.
95. Paterlini P., Driss F., Nalpas B. et. al. Persistence of hepatitis B and hepatitis C viral genomes in primary liver cancers from HBsAg-negative patients: a study of a low-endemic area // *Hepatology*. – 1993. – **17**. – P. 20–29.
96. Pawlotsky J. Pathophysiology of hepatitis C virus infection and related liver disease // *Trends Microbiol.* – 2004. – **12**. – P. 96–102.
97. Peng J., Chen X., Berger U. et. al. Molecular cloning and characterization of a channel-like transporter mediating intestinal calcium absorption // *J. Biol. Chem.* – 1999. – **274**. – P. 22739–22746.
98. Peng J., Zhuang L., Berger U. et. al. CaT1 expression correlates with tumor grade in prostate cancer // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* – 2001. – **282**. – P. 729–734.
99. Pigozzi D., Ducret T., Tajeddine N. et. al. Calcium store contents control the expression of TRPC1, TRPC3 and TRPV6 proteins in LNCaP prostate cancer cell line // *Cell. Calcium*. – 2006. – **39**. – P.401–415.
100. Pinton P., Ferrari D., Magalhaes P. et. al. Reduced loading of intracellular Ca^{2+} stores and downregulation of capacitative Ca^{2+} influx in Bcl-2-overexpressing cells // *J. Cell. Biol.* – 2000. – **148**. – P. 857–862.
101. Prevarskaya N., Skryma R., Shuba Y. Ca^{2+} homeostasis in apoptotic resistance of prostate cancer cells // *Biochem/ and Biophys. Res. Commun.* – 2004. – **322**. – P. 1326–1335.
102. Rao A., Luo C., Hogan P. Transcription factors of the NFAT family: regulation and function // *Annu Rev Immunol.* – 1997. – **15**. – P. 707–747.
103. Rao R., Hermel E., Castro-Obregon S. et. al. Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program. Mechanism of caspase activation // *J. Biol. Chem.* – 2001. – **276**. – P. 33869–33874.
104. Realdon S., Gerotto M., Dal Pero F. et. al. Proapoptotic effect of hepatitis C virus CORE protein in transiently transfected cells is enhanced by nuclear localization and is dependent on PKR activation // *J. Hepatol.* – 2004. – **40**. – P. 77–85.
105. Reinhardt T., Filoteo A., Penniston J., Horst R. Ca^{2+} -ATPase protein expression in mammary tissue // *Amer. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2000. – **279**. – P. C1595–1602.
106. Reinhardt T., Horst R. Ca^{2+} -ATPases and their expression in the mammary gland of pregnant and lactating rats // *Amer. J. Physiol.* – 1999. – **276**. – P. C796–802.
107. Reuter H., Pott C., Goldhaber J. et. al. Na^{+} - Ca^{2+} exchange in the regulation of cardiac excitation-contraction coupling // *Cardiovasc. Res.* – 2005. – **67**. – P. 198–207.
108. Rizzuto R., Bernardi P., Pozzan T. Mitochondria as all-round players of the calcium game // *J. Physiol.* – 2000. – **529 Pt 1**. – P. 37–47.
109. Rizzuto R., Pinton P., Carrington W. et. al. Close contacts with the endoplasmic reticulum as determinants of mitochondrial Ca^{2+} responses // *Science*. – 1998. – **280**. – P. 1763–1766.
110. Robertson J., Orrenius S., Zhivotovsky B. Review: nuclear events in apoptosis // *J. Struct. Biol.* – 2000. – **129**. – P. 346–358.
111. Rodland K. The role of the calcium-sensing receptor in cancer // *Cell. Calcium*. – 2004. – **35**. – P. 291–295.
112. Santella L. The role of calcium in the cell cycle: facts and hypotheses // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* – 1998. – **244**. – P. 317–324.
113. Savino J., 3rd Evans J., Rabinowitz D. et. al. Multiple, disparate roles for calcium signaling in apoptosis of human prostate and cervical cancer cells exposed to diindolylmethane // *Mol. Cancer. Therap.* – 2006. – **5**. – P. 556–563.
114. Schwarz E., Wissenbach U., Niemeyer B. et. al. TRPV6 potentiates calcium-dependent cell proliferation // *Cell. Calcium*. – 2006. – **39**. – P. 163–173.
115. Sergeev I. Calcium signaling in cancer and vitamin D // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 2005. – **97**. – P. 145–151.
116. Shen M., Droogmans G., Eggermont J. et. al. Differential expression of volume-regulated anion channels during cell cycle progression of human cervical cancer cells // *J. Physiol.* – 2000. – **529 Pt 2**. – P. 385–394.
117. Shen M., Yang T., Tang M. A novel function of BCL-2 overexpression in regulatory volume decrease. Enhancing swelling-activated Ca^{2+} entry and Cl^{-} channel activity // *J. Biol. Chem.* – 2002. – **277**. – P. 15592–15599.
118. Shimizu T., Morishima S., Okada Y. Ca^{2+} -sensing receptor-mediated regulation of volume-sensitive Cl^{-} channels in human epithelial cells // *J. Physiol.* – 2000. – **528**. – P. 457–472.
119. Skryma R., Mariot P., Bourhis X. et. al. Store depletion and store-operated Ca^{2+} current in human prostate cancer LNCaP cells: involvement in apoptosis // *J. Physiol.* – 2000. – **527 Pt 1**. – P. 71–83.
120. Smith L., Smith J. Regulation of sodium-calcium exchanger by glucocorticoids and growth factors in vascular smooth muscle // *J. Biol. Chem.* – 1994. – **269**. –

- P. 27527–27531.
121. Strehler E., Zacharias D. Role of alternative splicing in generating isoform diversity among plasma membrane calcium pumps // *Physiol. Rev.* – 2001. – **81**. – P. 21–50.
122. Sweeney M., Yu Y., Platoshyn O. et. al. Inhibition of endogenous TRP1 decreases capacitative Ca^{2+} entry and attenuates pulmonary artery smooth muscle cell proliferation // *Amer. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* – 2002. – **283**. – P. L144–155.
123. Sweet S., Singh G. Changes in mitochondrial mass, membrane potential, and cellular adenosine triphosphate content during the cell cycle of human leukemic (HL-60) cells // *J. Cell. Physiol.* – 1999. – **180**. – P. 91–96.
124. Tfelt-Hansen J., Ferreira A., Yano S., Kanuparthi D. Calcium-sensing receptor activation induces nitric oxide production in H-500 Leydig cancer cells // *Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2005. – **288**. – P. E1206–1213.
125. Thebault S., Flourakis M., Vanoverberghe K. et. al. Differential role of transient receptor potential channels in Ca^{2+} entry and proliferation of prostate cancer epithelial cells // *Cancer. Res.* – 2006. – **66**. – P. 2038–2047.
126. Thebault S., Roudbaraki M., Sydorenko V. et. al. Alpha1-adrenergic receptors activate Ca^{2+} -permeable cationic channels in prostate cancer epithelial cells // *J. Clin. Invest.* – 2003. – **111**. – P. 1691–1701.
127. Thomas A., Bird G., Hajnoczky G., Robb-Gaspers L. Spatial and temporal aspects of cellular calcium signaling // *Faseb. J.* – 1996. – **10**. – P. 1505–1517.
128. Valloj O., Combettes L., Jourdon P. et. al. Intracellular Ca^{2+} handling in vascular smooth muscle cells is affected by proliferation // *Arterioscler. Thromb. Vascular. Biol.* – 2000. – **20**. – P. 1225–1235.
129. Van de Craen M., Vandenabeele P., Declercq W. et. al. Characterization of seven murine caspase family members // *FEBS Lett.* – 1997. – **403**. – P. 61–69.
130. Vanden Abeele F., Lemonnier L., Thebault S. et. al. Two types of store-operated Ca^{2+} channels with different activation modes and molecular origin in LNCaP human prostate cancer epithelial cells // *J. Biol. Chem.* – 2004. – **279**. – P. 30326–30337.
131. Vanden Abeele F., Roudbaraki M., Shuba Y. et. al. Store-operated Ca^{2+} current in prostate cancer epithelial cells. Role of endogenous Ca^{2+} transporter type 1 // *J. Biol. Chem.* – 2003. – **278**. – P. 15381–15389.
132. Vanden Abeele F., Skryma R., Shuba Y. et. al. Bcl-2-dependent modulation of Ca^{2+} homeostasis and store-operated channels in prostate cancer cells // *Cancer. Cell.* – 2002. – **1**. – P. 169–179.
133. Vanoverberghe K., Mariot P., Vanden Abeele F. et. al. Mechanisms of ATP-induced calcium signaling and growth arrest in human prostate cancer cells // *Cell. Calcium.* – 2003. – **34**. – P. 75–85.
134. Vanoverberghe K., Vanden Abeele F., Mariot P. et. al. Ca^{2+} homeostasis and apoptotic resistance of neuroendocrine-differentiated prostate cancer cells // *Cell. Death. Differ.* – 2004. – **11**. – P. 321–330.
135. Varadi A., Cirulli V., Rutter G. Mitochondrial localization as a determinant of capacitative Ca^{2+} entry in HeLa cells // *Cell. Calcium.* – 2004. – **36**. – P. 499–508.
136. Von Kugelgen I., Wetter A. Molecular pharmacology of P2Y-receptors // *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* – 2000. – **362**. – P. 310–323.
137. Waldron R., Short A., Meadows J. et. al. Endoplasmic reticulum calcium pump expression and control of cell growth // *J. Biol. Chem.* – 1994. – **269**. – P. 11927–11933.
138. Wang H., Pathan N., Ethell I. et. al. Ca^{2+} -induced apoptosis through calcineurin dephosphorylation of BAD // *Science.* – 1999. – **284**. – P. 339–343.
139. Wang L., Chen L., Zhu L., Rawle M. Regulatory volume decrease is actively modulated during the cell cycle // *J. Cell. Physiol.* – 2002. – **193**. – P. 110–119.
140. Wang X., Nagaba Y., Cross H. et. al. The mRNA of L-type calcium channel elevated in colon cancer: protein distribution in normal and cancerous colon // *Amer. J. Pathol.* – 2000. – **157**. – P. 1549–1562.
141. Williams S., French J., Gilbert M. et. al. Bcl-2 overexpression results in enhanced capacitative calcium entry and resistance to SKF-96365-induced apoptosis // *Cancer. Res.* – 2000. – **60**. – P. 4358–4361.
142. Wissenbach U., Niemeyer B., Fixemer T. et. al. Expression of CaT-like, a novel calcium-selective channel, correlates with the malignancy of prostate cancer // *J. Biol. Chem.* – 2001. – **276**. – P. 19461–19468.
143. Yu Y., Fantozzi I., Remillard C. et. al. Enhanced expression of transient receptor potential channels in idiopathic pulmonary arterial hypertension // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004. – **101**. – P. 13861–13866.
144. Yu Y., Sweeney M., Zhang S. et. al. PDGF stimulates pulmonary vascular smooth muscle cell proliferation by upregulating TRPC6 expression // *Amer. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2003. – **284**. – P. C316–330.
145. Yue L., Peng J., Hediger M., Clapham D. CaT1 manifests the pore properties of the calcium-release-activated calcium channel // *Nature.* – 2001. – **410**. – P. 705–709.
146. Zhuang L., Peng J., Tou L. et. al. Calcium-selective ion channel, CaT1, is apically localized in gastrointestinal tract epithelia and is aberrantly expressed in human malignancies // *Lab. Invest.* – 2002. – **82**. – P. 1755–1764.