

Продукція трансформуючого фактора росту α , вміст рецептора епідермального фактора росту та експресія трансформованого фенотипу в клітинах лінії Нер-2 карциноми людини, трансфікованих геном HIV-1 *tat*

О. О. Фільченков, І. А. Якимович¹, О. Г. Корчинський¹,
Ю. Й. Кудрявець, Р. С. Стойка¹

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького ІАН України
252022, Київ, вул. Васильківська, 45

¹ Відділення регуляторних систем клітини Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України
290005, Львів, вул. Драгоманова, 14/16

*Вивчали активність трансформуючого фактора росту альфа (ТФР- α) у безсироватковому середовищі, яке кондиціонували клонами карциномних клітин Нер-2, отриманими шляхом їх трансфекції регуляторним геном *tat* вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ-1). У клітинах одержаних клонів аналізували також рівень рецептора епідермального фактора росту (ЕФР)/ТФР- α і експресію трансформованого фенотипу (за інтенсивністю утворення клітинами колоній у середовищі, яке містить 0,33 % агару). Показано, що клітини клону А5st секретують стимулюючі рости фактори, активність яких пригнічується моноклональними антитілами проти ТФР- α . Клітини всіх досліджуваних клонів експресують приблизно однаковий рівень рецептора ЕФР/ТФР- α , що підтверджується двома різними методами — проточною цитофлюориметрією і радіорецепторним аналізом. ЕФР не впливав на експресію трансформованого фенотипу у клітинах клону А5st, які продукували ТФР- α . Разом з тим в інших клонах клітин Нер-2 ЕФР індукував експресію трансформованого фенотипу. Таким чином, стабільна експресія регуляторного гена *tat* ВІЛ-1 індукує продукцію ТФР- α , який бере участь у клітинній трансформації, що може підвищувати ризик розвитку онкологічних захворювань у ВІЛ-інфікованих хворих.*

Вступ. У інфікованих ВІЛ осіб ризик виникнення онкологічних захворювань є досить високим. Молекулярні механізми впливу ВІЛ на ці процеси вивчено недостатньо. Серед найвідоміших ВІЛ-асоційованих онкологічних захворювань знаходяться саркома Капоші та не-Ходжкінська лімфома [1]. У хворих на саркому Капоші виявлено підвищений рівень фактора росту фібробластів 5 та трансформуючого фактора росту (ТФР) β [2]. Відомо, що обидва ці фактори можуть індукувати фенотипічну трансформацію індикаторних нормальних клітин [3, 4]. Культивовані клітини, виділені з саркоми

Капоші, дають слабку проліферативну відповідь на дію інших факторів, що мають трансформуючий потенціал, а саме: епідермального фактора росту (ЕФР) та ТФР- α . У цих клітинах спостерігається знижений вміст мРНК та білка рецептора ЕФР [5]. Отримано також дані про позитивну кореляційну залежність між діагнозом СНІД та іншими формами раку, зокрема, базально-клітинними та лускувато-клітинними карциномами, меланою, гепатоцелюлярною карциномою [1]. Проте фактори росту, які задіяні в індукції пухлинного росту у цих випадках, невідомі.

Ген *tat* належить до найдослідженіших регуляторних генів ВІЛ. Показано, що цей ген, вміщений під контроль вірусних промоторів, ефективно

трансформус кератиноцити людини *in vitro* [6]. У трансгенних мишей, які містили ген *lat*, розвивалася гепатоцелюлярна карцинома, що дає підстави вважати ці зміни в печінці ініційованими зовнішньоклітинними ростовими факторами, які секретуються мишиними клітинами, що експресують *lat* [1].

Отже наявні дані дозволяють припустити, що експресія гена *lat* ВІЛ сприяє злоякісній трансформації клітин як на стадії ініціації, так і під час прогресії пухлинного росту. Проте молекулярні механізми дії гена *lat* у злоякісній трансформації клітин залишаються малозрозумілими.

ТФР (α та β) належать до головних індукторів фенотипічної трансформації клітин [7]. У своєму дослідженні ми використали клітини лінії Нер-2 карциноми гортані людини, трансфіковані геном *lat* ВІЛ. Метою роботи було вивчення впливу цього гена на продукцію клітинами ТФР- α , вміст рецепторів ЕФР (ТФР- α) та на рівень експресії клітинами трансформованого фенотипу. Було обстежено ряд клонів трансфікованих клітин і встановлено, що один з клонів секретує рістстимулюючий фактор(и), чия активність усувається моноклональними антитілами (mAb) до ТФР- α людини. Ми також виявили, що трансфекція клітин лінії Нер-2 геном *lat* не впливає на вміст рецепторів ЕФР (ТФР- α) та на експресію клітинами трансформованого фенотипу (останній визначали за інтенсивністю колонісутворення клітин, які перебували у напіврідкому культуральному середовищі, що містило 0,33 % агару).

Матеріали та методи. *Фактори росту та антитіла.* ЕФР з підщелепних слинних залоз миші очищали за допомогою гідрофобної хроматографії [8]. Радіоїодований ЕФР (питома активність 2,5—3,0 МБк/мкг білка) готували, використовуючи хлорамін Т, за методом [9]. Моноклональні антитіла R1 до рецептора ЕФР були люб'язно надані д-ром І. Гутом (Інститут Людвіга з ракових досліджень, Велика Британія). Флюоресцеїн-5-ізоціанат (ФІЦ)-мічені антитіла козла до IgG миші отримані від «Becton Dickinson» (Сан Хосе, США). ТФР- β очищали з тромбоцитів крові свині за раніше описаним методом [10].

Клітини та їх культивування. Нормальні фібробласти лінії NIH-3T3 з ембріонів миші отримували з колекції клітинних культур Інституту цитології РАН (Росія). Клітини вирощували у середовищі Ігла, модифікованому Дульбекко («Flow Lab», Велика Британія), з додаванням 10 % сироватки ембріонів корів («ДИАЛЕК», Білорусь). Клітини лінії Нер-2 (карцинома гортані людини) та лінії А-431 (епідермальна карцинома вувли людини) отримували з колекції клітинних культур Інституту експериментальної патології, онкології і радіо-

біології ім. Р. Є. Кавецького НАН України. Ці клітини вирощували у середовищі RPMI-1640 («Flow Lab») з додаванням 10 % ембріональної сироватки. Всі клітинні культури інкубували при 37 °С в атмосфері 5 % CO₂/95 % повітря при 100 % вологості.

Кондиціоновані середовища. Для отримання кондиціонованого середовища (КС) субконфлюентну культуру клітин лінії Нер-2 промивали безсироватковим середовищем RPMI-1640 протягом 30 хв і далі культивували у свіжому середовищі RPMI-1640 протягом 24 год. Після цього середовище відкидали і додавали свіже безсироваткове середовище. По закінченні інкубації протягом 48 год КС збирали, центрифугували при 20000 g, 4 °С протягом 30 хв і тоді стерилізували фільтруванням (0,21 мкм).

*Трансфікування клітин Нер-2 геном *lat* HIV-1.* Експресуючий вектор *pSV-tat-LAI*, люб'язно наданий проф. Ф. Кисельовим (Інститут канцерогенезу РАН, Росія), був отриманий в Інституті Пастера (Франція). Його вводили до клітин Нер-2 разом з іншим вектором *pSV2neo*. Перша з плазмід містила 1-й екзон гена *lat* HIV-1, який знаходився під контролем екзогенного промотора (рання ділянка вірусу SV-40), а друга — бактеріальний ген *neo*, необхідний для відбору клітинних клонів у культуральному середовищі, яке містило антибіотик генетицину (G-418). Співвідношення векторів, що утворювали гени *lat* та *neo*, було 10:1. Трансфекцію здійснювали за допомогою стандартного методу кальцій-фосфатної преципітації [11]. Отримано серію клонів, стійких до дії генетицину (400 мкг/мл). Деякі з них (A1st, A5st, A25t, A26st, B2st, B5st, B4cd12) використані у дослідженнях. Клітини цих клонів вирощували у присутності G-418 (400 мкг/мл).

Включення ³H-тимідину. Рістстимулюючу активність отриманих КС визначали, використовуючи фібробласти лінії NIH-3T3, які вирощували у 24-лункових пластикових планшетах («Flow Lab»). Клітини у кількості 10⁴ на лунку висівали в середовищі DMEM у присутності 10 % ембріональної сироватки. Через 16 год середовище видаляли, а клітини промивали безсироватковим середовищем DMEM і далі культивували у присутності різних КС. У паралельних дослідах до тестованих КС додавали інсулін (1 мкг/мл, «Sigma», США) чи інсулін разом з mAb проти ТФР- α (20 мкг/мл, «Peninsula», США). Клітини культивували протягом 24 год, як описано вище, і імпульсно мітили за допомогою ³H-тимідину протягом наступних 5 год. Визначення радіоактивності, включеної до осаду, нерозчинного у 5 %-й трихлороцтовій кислоті, визначали за допомогою рідинного сцинтиляційного лічильника Mark III («Tracor», Нідерланди).

Колонісутворення клітин в агаризованому середовищі. Рівень фенотипічної трансформації клітин лінії HEp-2 визначали за інтенсивністю їх субстратнезалежної проліферації. Для цього у пластикові чашки Петрі (діаметр 40 мм, завод медичних полімерів, Росія) заливали 1 мл середовища для культивування (DMEM, 10 % ембріональної сироватки крові), що містило 0,5 % агару («Difco», США). Після затвердіння цієї підкладки у кожному чашку вносили 1 мл суспензії клітин (10^4), яку готували у середовищі для культивування, що містило 0,33 % агару. Чашки з клітинами витримували протягом 14 днів в атмосфері 5 % CO_2 і 95 % повітря при 37 °C і 100 % вологості. Після завершення інкубації підраховували кількість клітинних колоній, що мали у діаметрі понад 50 мкм.

Проточна цитофлюориметрія. Щільність розміщення рецепторів ЕФР на поверхні різних клонів клітин лінії HEp-2 виявляли, як описано раніше [12], за допомогою проточної цитофлюориметрії з непрямим фарбуванням. Для аналізу використовували 10^4 клітин. Вимірювання здійснювали на проточному цитофлюориметрі Epics-C («Coultronics», Франція). Відносний вміст поверхневих рецепторів ЕФР оцінювали на підставі різниці в інтенсивності флюоресценції між клітинами, які оброблялися або не оброблялися R1 mAb.

¹²⁵I-ЕФР зв'язування. Аналіз здійснювали, як описано раніше [13], використовуючи різні клони клітин лінії HEp-2, які культивували у 24-луноквих пластикових планшетах до стадії повного моношару. Клітини двічі промивали безсироватковим культуральним середовищем і додавали ¹²⁵I-ЕФР (насичуюча концентрація, 2 pM) у присутності чи відсутності 500-кратного надлишку неміченого ЕФР. Клітини інкубували протягом 1 год при 4 °C. Після видалення культурального середовища клітини двічі промивали забуференим фізіологічним розчином та солюбілізували в 1 M розчині NaOH, що містив 1 % SDS, протягом 10 год при температурі 20 °C. Радіоактивність в аліквотах лізатів клітин визначали за допомогою гамма-лічильника Searle 1175R («Searle», США).

Статистичний аналіз. Для встановлення статистичної вірогідності визначень використовували t-критерій Ст'юдента.

Результати та обговорення. Для дослідження збирали безсироваткові культуральні середовища, кондиціоновані різними клонами клітин лінії HEp-2, і вивчали їх здатність підтримувати проліферацію нормальних індикаторних клітин (фіброласти лінії NIH-3T3 миші). З даних, наведених на рис. 1, видно, що всі КС, отримані від різних клонів клітин HEp-2, підтримують синтез ДНК у нормальних фіброблестах лінії NIH-3T3. Інсулін посилював рістстимулюючу активність чотирьох з п'яти використаних КС, причому найпомітніший

приріст включення ³H-тимідину у ДНК клітин виявлено у випадку використання середовища, кондиціонованого клітинами клону A5st. Під час дії на клітини HEp-2 різних клонів інсуліном у поєднанні з mAb проти ТФР- α згаданий вище рістстимулюючий ефект інсуліну у більшості випадків посилювався. Лише за умови використання клону A5st та mAb проти ТФР- α цей ефект повністю усувався.

Раніше ми показали, що ЕФР або інсулін, діючи незалежно один від одного, слабо впливали на інтенсивність синтезу ДНК у фіброблестах лінії NIH-3T3, і лише під час їх спільної дії спостерігався достовірний стимулюючий вплив на даний процес [14]. Ці результати вказують на доцільність використання згаданої клітинної тест-системи для виявлення біологічної активності ТФР- α — структурно-функціонального аналога ЕФР [15].

Отже на підставі результатів, наведених на рис. 1, можна вважати, що одному з клонів (A5st) клітин HEp-2, трансфікованих геном *lat* HIV-1, притаманна підвищена здатність продукувати ТФР- α -імунореактивний фактор(и).

ТФР- α відносять до найбільш сильнодіючих трансформуючих факторів і тому його експресію часто вважають маркером пухлинного росту [7, 15]. Відомо, що більшість клітинних ліній, отрима-

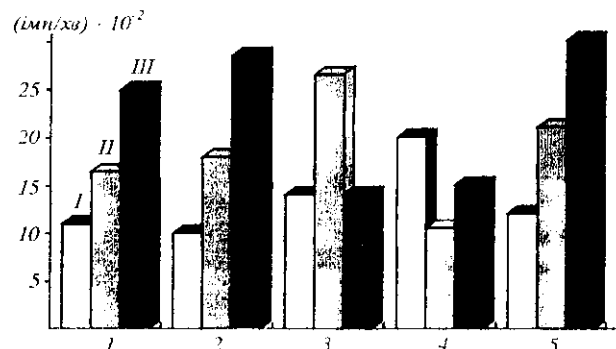


Рис. 1. Вплив антитіл проти ТФР- α на рістстимулюючу активність кондиціонованих середовищ (розведення 1:10), отриманих від субклонів клітин лінії HEp-2 карциноми горлані людини: 1 — клон B4cd12 (трансфекція геном *neo*); 2 — клон B5st (контрансфекція генами *lat* ВІЛ і *neo*); 3 — клон A5st (контрансфекція генами *lat* ВІЛ і *neo*); 4 — клон A25st (контрансфекція генами *lat* ВІЛ і *neo*); 5 — клон A1st (контрансфекція генами *lat* ВІЛ і *neo*) (I — тільки кондиціоноване середовище; II — кондиціоноване середовище + інсулін (1 мкг/мл); III — кондиціоноване середовище + інсулін (1 мкг/мл) + антитіла проти ТФР- α)

них з карциномних пухлин людини, експресує мРНК ТФР- α [16]. Молекулярний механізм, за допомогою якого ген *tat* індукуює продукцію ТФР- α клітинами Нер-2, поки що залишається нез'ясованим.

В іншому дослідженні ми вивчали вплив КС, забезпеченого екзогенним інсуліном КС і отриманого від спільної культури лімфоцитів хворих на СНІД та лімфоїдних клітин, на синтез ДНК у нормальних фібробластах лінії NIH-3T3 [17]. Встановлено, що у цьому випадку mAb проти ТФР- α не виявляла інгібуючої дії на даний процес. Тому було зроблено висновок про те, що лімфоцити периферичної крові не є джерелом ТФР- α , який може виявлятися у хворих на СНІД. Наші результати стосовно продукції ТФР- α -імунореактивного фактора (ів) одним з клонів *tat*-трансфікованих клітин Нер-2 дозволяють припустити, що клітини деяких епітеліальних тканин є не лише мішенями ВІЛ-інфекції, але й стимулюються до злоякісної трансформації під впливом цієї інфекції.

У зв'язку з цим припущенням ми дослідили,

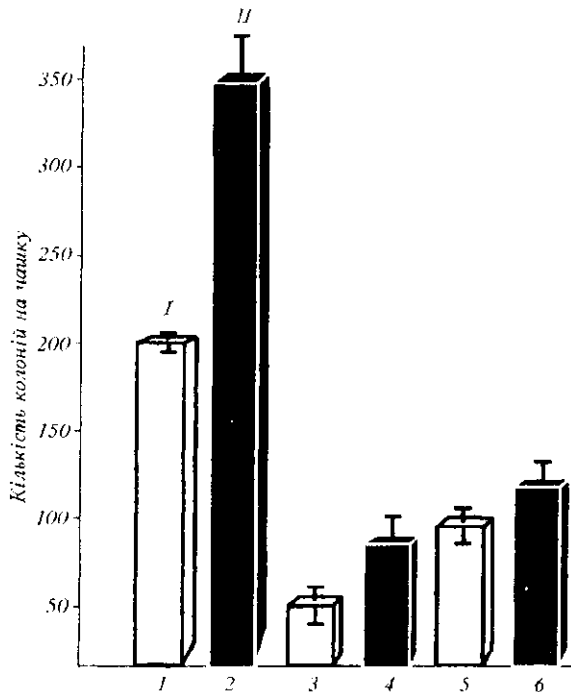


Рис. 2. Вплив ЕФР на прояв трансформованого фенотипу клітинами лінії Нер-2 та їх субклонами. 1, 2 — контрольні клітини (трансфекція плазмідом, яка не містить гена *tat*); 3, 4 — клон A1st (трансфекція генами *tat*, BIL і *neo*); 5, 6 — клон A5st (трансфекція генами *tat*, BIL і *neo*) (I — без додавання ЕФР; II — після додавання ЕФР, 10 нг/мл)

як впливає ЕФР (структурно-функціональний аналог ТФР- α) на експресію трансформованого фенотипу клітинами лінії Нер-2, трансфікованими геном *tat*.

Для порівняння брали клітини, що не трансфіковувалися цим геном, а також два клони трансфікованих ним клітин — A5st, який продукує ТФР- α -імунореактивний фактор(и), та A1st, що не володіє такою здатністю. З даних, наведених на рис. 2, видно, що рівень колонієутворення вищий у нетрансфікованих клітин. Однак не менш цікавим є те, що клітинний клон A5st, який, згідно з нашими даними, здатний секретувати ТФР- α , не змінює ефективності колонієутворення у відповідь на дію ЕФР. У той самий час інтенсивність субстратнезалежної проліферації клітинного клону A1st, який не продукує імунореактивного ТФР- α , суттєво стимулюється ЕФР. Аналогічна ЕФР-залежна стимуляція колонієутворення виявляється і у випадку, коли використовували клітини лінії Нер-2, не трансфіковані геном *tat*.

На підставі отриманих даних можна зробити припущення про те, що за умов ендогенної продукції клітинами ТФР- α вони можуть втрачати здатність реагувати на дію екзогенно доданого ЕФР. Очевидно, таке явище лежить в основі порушення регуляторних механізмів клітинної проліферації у трансформованих клітинах, які завдяки аутокринній регуляції можуть виходити з-під контролю з боку організму.

Відомо, що трансформація клітин відбувається не лише шляхом зміни у продукції ними трансформуючих факторів росту, але й через зростання вмісту рецепторів цих факторів [7]. Тому ми дослідили експресію рецепторів ЕФР ТФР- α у різних клонів клітин лінії Нер-2, трансфікованих геном *tat*. З цією метою використовували два різні методи аналізу — проточну цитофлуориметрію та радіорецепторний аналіз. З отриманих нами даних видно, що щільність розміщення згаданих рецепторів (рис. 3) та кількість зв'язаного ними 125 I-ЕФР (рис. 4) у досліджуваних клонів суттєво не відрізняються від таких показників у клітин дикого типу, які не трансфікувалися плазмідом, що містила ген *tat*. Ці результати свідчать про те, що трансформуючий потенціал експресії гена *tat* ВІЛ не опосередковується змінами у вмісті рецепторів ЕФР/ТФР- α .

Узагальнюючи дані щодо ТФР- α , наведені у роботі, а також результати стосовно продукції ТФР- β клітинами, інфікованими ВІЛ та трансфікованими *tat* [17], можна вважати, що індукція експресії ТФР може бути одним з важливих механізмів злоякісної трансформації клітин у хворих на СНІД.

Автори вдячні проф. Ф. Кисельову за люб'язне

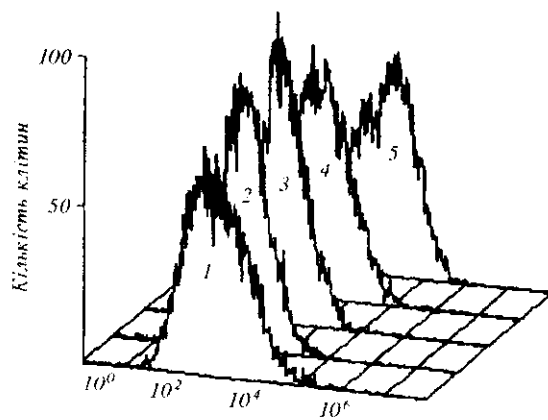


Рис. 3. Щільність рецепторів ЕФР на поверхні клітин лінії НЕР-2 та їх субклонів: 1 — контрольні клітини (без трансфекції); 2 — клон А25st (трансфекція генами *tat* ВІЛ і *neo*); 3 — клон А1st (трансфекція генами *tat* ВІЛ і *neo*); 4 — клон А5st (трансфекція генами *tat* ВІЛ і *neo*); 5 — клон В2st (трансфекція генами *tat* ВІЛ і *neo*)

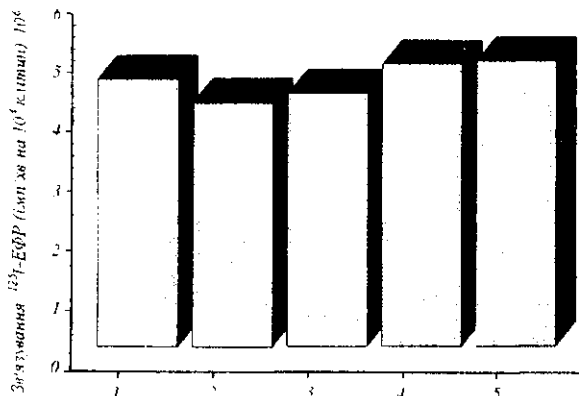


Рис. 4. Аналіз зв'язування ¹²⁵I-ЕФР з клітинами лінії НЕР-2 та їх субклонами, трансфікованими плазмідами, що містять ген *tat* ВІЛ та ген *neo*. Позначення такі ж, як на рис. 3

надання плазмід *pSV-tat-LAI* та *pSV2neo*, а також д-ру І. Гуту — за моноклональні антитіла R1 проти рецептора ЕФР.

Робота підтримувалася грантом N93/30 Національного Комітету по боротьбі із захворюванням на СНІД при Президентіві України.

А. А. Фильченков, И. А. Якимович, А. Г. Корчинский, Ю. И. Кудрявец, Р. С. Стойка

Продукция трансформирующего фактора роста α , содержание рецептора эпидермального фактора роста и экспрессия трансформированного фенотипа в клетках линии НЕР-2 карциномы человека, трансфицированных геном HIV-1 *tat*

Резюме

Изучали активности трансформирующего фактора роста альфа (ТФР- α) в бессывороточной среде, кондиционированной клонами карциномных клеток НЕР-2, полученными путем их трансфекции регуляторным геном *tat* вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-1). В клетках полученных клонов анализировали также уровень рецептора эпидермального фактора роста (ЭФР)/ТФР- α и экспрессию трансформированного фенотипа (по интенсивности образования клетками колоний в среде, содержащей 0,33 % агара). Показано, что клетки клона А5st секретируют стимулирующие рост факторы, активность которых ингибируется моноклональными антителами против ТФР- α . Клетки всех исследуемых клонов экспрессируют примерно одинаковый уровень рецептора ЭФР/ТФР- α , что подтверждается двумя различными методами — проточной цитофлуориметрией и радиорецепторным анализом. ЭФР не оказывал влияния на экспрессию трансформированного фенотипа в клетках клона А5st, продуцирующих ТФР- α . Вместе с тем в других клонках клеток НЕР-2 ЭФР индуцировал экспрессию трансформированного фенотипа. Таким образом, стабильная экспрессия регуляторного гена *tat* ВИЧ-1 индуцирует продукцию ТФР- α , участвующего в клеточной трансформации, что может повышать риск развития онкологических заболеваний у ВИЧ-инфицированных больных.

А. А. Phylchenkov, I. A. Yakimovich, A. G. Korchinsky, Yu. I. Kudryavets, R. S. Stoika

Transforming growth factor α production, EGF receptor level and expression of transformed phenotype in HEP-2 human carcinoma cells transfected with HIV-1 *tat* gene

Summary

Several clones of HEP-2 human carcinoma cells transfected with HIV-1 *tat* regulatory gene were studied for the presence of transforming growth factor α (TGF- α) activity in the serum-free culture medium conditioned by these cells, the level of epidermal growth factor (EGF)/TGF- α receptors and the expression of transformed phenotype. Clone А5st was shown to secrete growth stimulating factors whose activity was inhibited by the monoclonal antibody against TGF- α . The cells of all studied clones possessed the same level of EGF/TGF- α receptors measured by two different methods — indirect flow cytometry and radioreceptor analysis. The expression of transformed phenotype (estimated on the basis of intensity of colonyforming by the cells cultured in the medium supplemented with 0.33 % agar) did not change under the effect of EGF in А5st clone producing TGF- α immunoreactive factors. But this expression was induced in the other studied clones of HEP-2 cells. Thus, the expression of HIV-1 *tat* regulatory gene can induce cellular production of TGF- α which participates in the cell transformation and in this way increases the risk of development of oncological diseases in AIDS patients.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Vogel J., Hinrichs S. H., Napoliano L. A. et al. Liver cancer in transgenic mice carrying the human immunodeficiency virus *tat* gene // *Cancer Res.*—1991.—51.—Р. 6886—6690.
2. Rots W. K. TGF- β and FGF-like growth factors involved in the

- pathogenesis of AIDS-associated Kaposi's sarcoma // *Res. Virol.*—1993.—144.—P. 105—109.
3. *Rizzino A., Ruff E., Rizzino H.* Induction and modulation of anchorage-independent growth by platelet-derived growth factor, fibroblast growth factor, and transforming growth factor- β // *Cancer Res.*—1986.—46.—P. 2816—2820.
 4. *Якимович И. А., Стойка Р. С., Кусень С. И.* Влияние основного фактора роста фибробластов β и его сочетания с трансформирующим фактором роста и инсулином на субстратнезависимую пролиферацию клеток линии СНО-719 // *Эксперим. онкология.*—1993.—15, № 4.—С. 59—61.
 5. *Werner S., Viciweger P., Hofschneider P. H., Roth W. K.* Low mitogenic response to EGF and TGF- α : a characteristic feature of cultured Kaposi's sarcoma derived cells // *Oncogene.*—1991.—6.—P. 59—64.
 6. *Kim C.-M., Vogel J., Jay G., Rhim J. S.* The HIV *tat* gene transforms human keratinocytes // *Ibid.*—1992.—7.—P. 1525—1529.
 7. *Фильченков А. А., Стойка Р. С., Быкорез А. И.* Трансформирующие факторы роста.—Киев: Наук. думка, 1993.—292 с.
 8. *Фильченков А. А., Иващенко Ю. Д., Кулик Г. А.* Получение эпидермального фактора роста с помощью гидрофобной хроматографии // *Эксперим. онкология.*—1991.—13, № 5.—С. 71—74.
 9. *Greenwood F. C., Hunter W. N., Glover J. S.* The preparation of 125 I-labeled human growth hormone of high-specific radioactivity // *Biochem. J.*—1963.—89.—P. 114—123.
 10. *Стойка Р. С., Сушельницкий С. И., Кусень С. И.* Влияние трансформирующего фактора роста β , эпидермального фактора роста и инсулина на биосинтез ДНК в мышечных фибробластах линии Swiss-3T3 при низкой и высокой плотности клеток в монослойной культуре // *Биополимеры и клетка.*—1992.—8, № 4.—С. 39—43.
 11. *Маниатис Т., Фрич Э., Самбрук Дж.* Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование.—М.: Мир, 1984.—480 с.
 12. *Фильченков А. А., Слуквин И. И., Погребной П. В. и др.* Использование проточной цитометрии с антителами против рецептора ЭФР и связывания 125 I-ЭФР для определения рецепторов ЭФР в некоторых линиях опухолевых клеток // *Эксперим. онкология.*—1992.—14, № 1.—С. 45—46.
 13. *Фильченков А. А., Слуквин И. И., Кудрявец Ю. И. и др.* Экспрессия и функциональная активность рецептора трансферрина в опухолевых клетках различного гистогенеза // *Там же.*—№ 6.—С. 22—27.
 14. *Стойка Р. С., Сушельницкий С. И., Кусень С. И.* Влияние трансформирующего фактора роста β на интенсивность синтеза ДНК клеток в зависимости от типа и условий культивирования // *Цитология.*—1990.—32, № 2.—С. 132—139.
 15. *Derynck R.* Transforming growth factor α // *Cell.*—1988.—54.—P. 593—595
 16. *Derynck R., Goeddel D. V., Ulrich A. et al.* Synthesis of messenger RNAs for transforming growth factors α and β and the epidermal growth factor receptor by human tumors // *Cancer Res.*—1987.—47, N 3.—P. 707—712.
 17. *Stoika R. S., Yakimovych I. A., Antonenko S. V. et al.* Transforming activity of growth factors in blood serum of AIDS and Kaposi sarcoma patients // *Exp. Oncol.*—1995.—17, N 1.—P. 3—9.

УДК 576.355

Надійшла до редакції 26.06.96