

Received: 2015.01.28  
Accepted: 2016.04.05  
Published: 2016.08.17

## Endoteliny a nowotworzenie

### Endothelins and carcinogenesis

Jacek Olender<sup>1</sup>, Ewa Nowakowska-Zajdel<sup>2</sup>, Katarzyna Walkiewicz<sup>2</sup>,

Małgorzata Muc-Wierzoń<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Biologii Molekularnej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

<sup>2</sup> Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach Specjalistyczny Szpital nr 1 w Bytomiu

#### Streszczenie

Endoteliny to rodzina czterech endogennych peptydów: ET-1, ET-2, ET-3 oraz ET-4, wydzielanych przez śródbłonek naczyń, pierwotnie w postaci nieaktywnej i ulegających biologicznej aktywacji z udziałem enzymu konwertującego endoteliny. W licznych pracach jest opisywana ich pleiotropowa aktywność biologiczna. Uważane są za mediatory auto-, para- i endokrynne, uczestniczące, m.in. w regulacji takich procesów biologicznych jak proliferacja, angiogeneza, apoptoza i migracja komórek. Znana jest także ich istotna rola w regulacji wolemii, perfuzji tkankowej, w tym tkanek ośrodkowego układu nerwowego i funkcji skurczowej mięśnia sercowego. Ponadto zmiany aktywności transkrypcyjnej endotelin lub ich receptorów wpływają, za pośrednictwem licznych szlaków sygnałowych, na proces nowotworzenia, a także patogenezę niektórych chorób serca, nerek, płuc oraz skóry, zwłaszcza tych przebiegających z procesem włóknienia. Ich patogenetyczne znaczenie zostało udokumentowane także w rozwoju nowotworów złośliwych, takich jak: rak piersi, stercza, jelita grubego, jajnika, płuc, nerki, endometrium oraz w czerniaku.

W pracy przedstawiono krótką charakterystykę tej grupy peptydów oraz udział endotelin i ich receptorów w procesie nowotworzenia, sygnalizując ich znaczącą rolę jako czynników prognostycznych i predykcyjnych. Odwołano się także do badań klinicznych dotyczących zastosowania preparatów antagonistów receptorów endotelin (należących do grupy sentanów) w projektowaniu molekularnej strategii leczenia wybranych nowotworów złośliwych u ludzi.

#### Słowa kluczowe:

endoteliny • receptory endotelinowe • nowotworzenie

#### Summary

Endothelins are a family of four endogenous peptides (ET-1, ET-2, ET-3, ET-4) secreted primarily in an inactive form by the endothelium. They are activated with the participation of converting enzyme. Numerous studies have described their pleiotropic biological activity. These peptides are involved, inter alia, in the regulation of processes such as cell proliferation, migration, angiogenesis and apoptosis. Their important role in the regulation of blood pressure, tissue perfusion (especially in the central nervous system), and myocardial systolic function is also known. Moreover, changes in transcriptional activity of endothelin and its receptors may be involved, with the participation of a number of signaling pathways, in carcinogenesis, and the pathogenesis of numerous diseases (heart, kidney, lung and skin disorders, especially with the component of fibrosis). Their role has been documented in the development of breast, prostatic, colorectal, ovarian, lung, kidney, and endometrial cancer, and in melanoma. In this article we present



	a brief description of the endothelin group and the participation of them and their receptors in carcinogenesis. We also try to show their role as prognostic and predictive factors in human malignant tumors. The article also refers to clinical trials on the use of preparations of endothelin receptor antagonists in the design of molecular therapeutic strategies in human malignancies.
<b>Key words:</b>	<b>endothelins • endothelin receptor • carcinogenesis</b>
<b>Full-text PDF:</b>	<a href="http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1214386">http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1214386</a>
<b>Word count:</b>	2939
<b>Tables:</b>	–
<b>Figures:</b>	2
<b>References:</b>	79

**Adres autorki:** dr n.med. Katarzyna Walkiewicz, Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Specjalistyczny Szpital nr 1, ul. Żeromskiego 7, 41-902 Bytom; e-mail: kk.walkiewicz@gmail.com

**Wykaz skrótów:** **ECE** - konwertaza endoteliny; **EDN-3** - gen kodujący endotelinę 3; **EDRF** - śródbłonkowy czynnik rozkurczowy; **EGF** - epidermalny czynnik wzrostu; **ET** - endotelina; **ETA** - receptor typu A dla endoteliny; **ETB** - receptor typu B dla endoteliny; **FGF** - czynnik wzrostu fibroblastów; **IGF** - insulinopodobny czynnik wzrostu; **IL** - interleukina; **MMP** - metaloproteinaza; **PG** - prostaglandyna; **PLC** - fosfolipaza C; **TGF** - czynnik wzrostu nowotworów; **TIMP** - tkankowy inhibitor metaloproteinaz; **TNF** - czynnik martwicy nowotworów; **VEGF** - naczyniopochodny czynnik wzrostu; **VIC** - wazokonstrykcyjny peptyd jelitowy

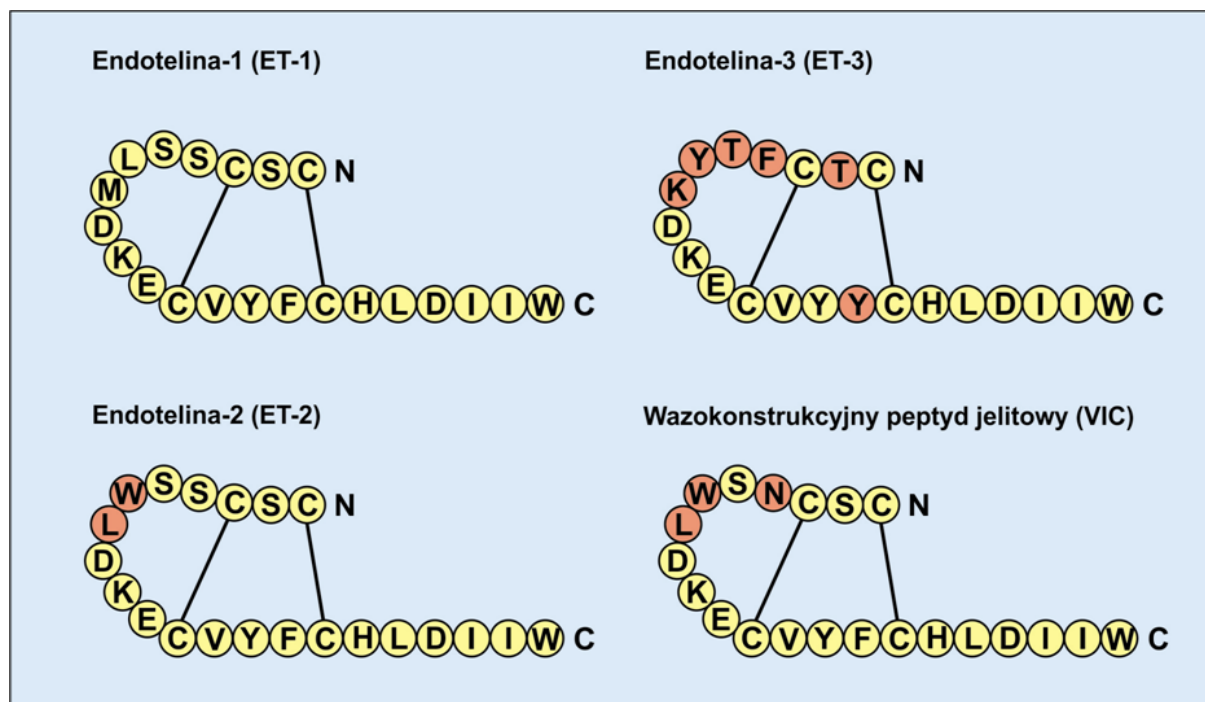
## ENDOTELINY – BUDOWA, WŁAŚCIWOŚCI, DZIAŁANIE

Rodzinę endotelin (ETs) tworzą cztery peptydy ET-1, ET-2 i ET-3 oraz ET-4, zwany również wazokonstrykcyjnym peptydem jelitowym – VIC (Vasoactive Intestinal Peptide) [12,34], kodowane przez odrębne geny, zawierające konserwatywną sekwencję nukleotydów [16]. W strukturze ich budowy można wyodrębnić biologicznie aktywny region N-końcowy (hydrofilowy z pojedynczą alfa-heliksą determinujący zarazem powinowactwo do receptora, który ma dwa wiązania disiarczkowe – ryc.1) oraz krótki C-końcowy hydrofobowy ogon o strukturze pogiętej kartki, będący miejscem wiązania z receptorem. Budowa ETs wskazuje, że mają właściwości amfipatyczne.

Endoteliny powstają w wyniku transkrypcji DNA i translacji mRNA, będąc następnie modyfikowane w dojrzałe postaci [4]. Modyfikacje potranslacyjne endotelin (203aa) rozpoczynają odcięcie peptydu sygnałowego od preproET i hydroliza cząsteczki katalizowana przez konwertazę furynową do tzw. dużej endoteliny (big-ET-1 zbudowanej z 38 lub 39aa, big-ET-2:37 lub 38aa, big-ET3:41aa). Kolejny enzym zwany konwertazą endoteliny (ECE), katalizuje przekształcenie big-ET do aktywnej postaci ET. Enzymy konwertujące endotelinę ECE należą do grupy metaloproteinaz zależnych od jonów cynku. Znane są dwa typy konwertaz ECE-1 i ECE-2 przekształcające „big-endoteliny” wewnątrz lub zewnątrzkomórkowo [34,39]. Konwertaza ECE-1 kodowana jest przez gen umiejscowiony na chromosomie 1p.36.1 [73], a konwertaza ECE-2 przez gen umiejscowiony na chromosomie 3q28-q29

[45]. Cechą charakterystyczną obydwu enzymów jest różnica pH dla ich optimum aktywności. Dla ECE-1 jest to odczyn obojętny a dla ECE-2 - odczyn kwaśny [26]. ECE-2 w środowisku o pH obojętnym niemal całkowicie traci swoją aktywność. Enzymy te różnią się też miejscem występowania. Dla konwertaz ECE-2 jest to obszar wewnątrzkomórkowy, dla konwertaz ECE-1 zależy od typu izoformy. Dla izoformy ECE-1a to błona komórkowa, ECE-1b to obszar śródkomórkowy, a ECE-1c występuje pośrednio [73]. Aktywność enzymów konwertujących endoteliny jest również zróżnicowana w zależności od typu endoteliny, i tak aktywność zarówno ECE-1 czy ECE-2 jest około 10-krotnie większa w stosunku do ET-1 niż do ET-2 czy ET-3 [39]. Głównym enzymem odpowiedzialnym za proteolizę prekursorów endotelin jest enzym ECE-1, bowiem ECE-2 występuje głównie w komórkach nerwowych i glejowych, a globalna jego ekspresja wynosi zaledwie 1-2% [39].

Do krwiobiegu wydzielane są „big-endoteliny” i dojrzałe endoteliny. Okres półtrwania dojrzałej ET-1 w krwiobiegu wynosi około 7 minut, a stężenia oceniane metodą radioimmunologiczną wynoszą dla ET-1 i ET-2 (łącznie ze względu na brak różnic antygenowych) około 2,0 pg/ml, a dla ET-3 0,9 pg/ml [39]. Komórki nie mają zdolności gromadzenia endotelin, a ich niskie stężenia w surowicy wynikają z aktywnego wychwytu z krwiobiegu przez obecne w komórkach receptory: ETA (ET-RA) i ETB (ET-RB). Syntezę endotelin stymulują: kwasica metaboliczna, niedokrwienie, katecholaminy, hipoksja, hiperkapnia, katecholaminy, trombina, insulina, lipoproteiny LDL i HDL, angiotensyna



**Ryc. 1.** Struktura peptydów rodziny endotelin z zaznaczonymi wiązaniami między atomami siarki dwóch reszt cysteinowych (cystyna). Pogrubione koła wewnątrz których są podane aminokwasy różniące rodzinę endotelin [4,36]

II, czynniki wzrostowe (FGF, EGF, IGF-1), cytokiny (IL-1, -2, -6, TNF- $\alpha$ ). Natomiast, działanie hamujące na ich syntezę wykazują: przedsionkowy peptyd natriuretyczny, PGE2, PGI2, EDRF, nitraty, glikokortykosteroidy i heparyna [3,8]. Degradacja endotelin odbywa się głównie wewnątrzkomórkowo. Po połączeniu z receptorem następuje internalizowanie kompleksu przez mechanizm zależny od białka wewnątrzkomórkowego arrestyny. Obecność tego kompleksu stwierdza się już we wczesnych endosomach. Połączenie kompleksu ETB plus endoteliny z arrestyną jest trwałe i kompleks ten jest kierowany do lizosomów, zaś kompleks ETA plus endotelina, który jest słabiej związany z arrestyną, kierowany jest do układu pericentrolarnego, gdzie receptory ETA są odzyskiwane i powracają na powierzchnię błony komórkowej [51]. Endoteliny wykazują działanie autokrynne, parakrynne [4] oraz w mniejszym stopniu endokrynne, są bowiem hormonami wydzielanymi przez największy gruczoł dokrewny jakim jest śródbłonek naczyniowy. Wpływają na remodeling mięśnia sercowego mając zarazem właściwości arytmogenne. Ich działanie na mięsień sercowy ma charakter inotropowy i chronotropowy dodatni. Ponadto stymulują wydzielanie natriuretycznego peptydu przedsionkowego oraz regulują wolemie organizmu. Generują skurcz naczyń mózgowych w krwawieniu podpajęczynówkowym [39]. Potwierdzono ich rolę w patogenezie włóknienia płuc [69] oraz w chorobach przebiegających z włóknieniem tkanek, np. w twardzinie układowej [60]. W procesie włóknienia, endoteliny aktywują granulocyty, monocyty oraz wewnątrzcytoplazmatyczne elastazy, w wyniku czego dochodzi do skurczu naczyń, wzmożonej agregacji płytek oraz indukcji procesu zapalnego [68]. Wpływają również na regulację synte-

zy kolagenu-I [25]. Endoteliny wpływają na skurcz mięśni gładkich i sekrecję gruczołów śluzowych układu oddechowego. Odgrywają również rolę w rozwoju embrionalnym organizmu [4]. Wpływają na wzrost i rozwój włókien układu współczulnego [46]. W mózgu modulują funkcje ośrodka naczynioruchowego [4]. Uczestniczą również w regulacji równowagi kwasowo-zasadowej i wodno-elektrolitowej [50]. Biorą udział w regulacji gospodarki węglowodanowej [74] oraz tkanki tłuszczowej. Wpływają na insulinooporność tkanek obwodowych [74]. Ponadto oddziałują na przemianę kwasu arachidonowego i powstawanie prostacyklin [68]. Oddziałują również na układ immunologiczny [74]. Indukują wydzielanie angiotensyny II, norepinefryny, kortyzolu, kortykosteronu oraz aldosteronu przez nadnercza [68]. Odgrywają również istotną rolę w patofizjologii bólu [31]. Potwierdzono ich wpływ w patofizjologii choroby Hirschsprunga [14]. Ich udział potwierdzono w powstawaniu nowotworów, są obecne na wielu etapach procesu karcynogeneza [2].

Podwyższone stężenia endotelin występują w kardiomiopatii rozstrzeniowej, nadciśnieniu tętniczym i płucnym oraz w niewydolności mięśnia sercowego [4]. Również znamienne podwyższone bywają w popłuczynach z drzewa oskrzelowego w jego przewlekłych procesach zapalnych [39].

### ENDOTELINA-1 (ET-1)

Endotelina-1 jest kodowana przez gen umiejscowiony na chromosomie 6 (6p23-p24), składający się z 5 eksonów o długości 6,84 kb mRNA. W wyniku translacji prepro-ET-



-1mRNA powstaje prekursor, cząsteczka zbudowana z 212 aminokwasów, tzw. preproendotelina ET-1. Ta pod wpływem enzymów konwertujących zostaje przekształcona do cząsteczki złożonej z 38 lub 39 aminokwasów „big-endoteliny-1”, a następnie do postaci dojrzałej (ryc.1) [4,42]. Endotelina-1 (ET-1) jest wytwarzana przez śródbłonek naczyń, śródbłonek oskrzeli [27], fibroblasty [71], neurony mózgu [30], kardiomiocyty, komórki wysp B trzustki [50], oraz komórki raka: trzustki, sutka, jelita grubego [41], jajnika, stercza, czerniaka, płuc, pęcherza moczowego, mięsaka Kaposiego [1]. Spośród endotelin właśnie endotelina-1 (ET-1) jest najbardziej reprezentatywną endoteliną. Jest najpotężniejszym naczynioskurczowym czynnikiem o działaniu przewyższającym aktywność noradrenaliny ponadstukrotnie, stymuluje proliferację, działa synergicznie z innymi czynnikami wzrostu, takimi jak: EGF, bFGF, insulina, IGF, PDGF, TGF- $\beta$  oraz IL-6 [39]. Ważną rolę w procesie migracji i proliferacji komórek odgrywa jej współdziałanie z cytokiną TGF- $\beta$ , która indukuje ekspresję genu odpowiedzialnego za powstawanie endoteliny-1 w komórkach śródbłonka [9]. Wspólnie stymulują migrację i proliferację komórek oraz podwyższają ekspresję genów odpowiedzialnych za wytwarzanie kolagenu I i inhibitora plazminogenu typu I (PAI-1) [9]. Pod wpływem ET-1 dochodzi do zmiany fenotypu fibroblastów na miofibroblastyczne. Miofibroblasty wydzielają cytokiny, chemokiny oraz współuczestniczą w karcynogenezie, a dodatkowo ET-1 uaktywnia ich właściwości kurczliwe [63]. Ponadto endotelina-1 hamuje aktywność metaloproteiny-1 (MMP-1), wpływa na remodeling fibroblastów i wytwarzanie macierzy pozakomórkowej [64].

Endotelina-1 działa wielokierunkowo wpływając na aktywność mitogenną oraz transformację nowotworową, obserwacje te potwierdzono w wielu nowotworach [1,2]. W nowotworach wykazuje plejotropizm: wpływa na rozwój komórki guza, aktywuje angiogenezę [16] i przerzutowanie [2].

### ENDOTELINA-2 (ET-2)

Endotelina-2 (ET-2) to 21-aminokwasowy peptyd różniący się w budowie od poprzedniej obecnością dwóch innych aminokwasów (Tr6, Leu7). Kodowana jest przez gen umiejscowiony na chromosomie 1p34, składający się z 5 eksonów o długości 5,9 kb mRNA. W wyniku translacji prepro-ET-2mRNA powstaje prekursor, cząsteczka 212-aminokwasowa zwana preproendoteliną ET-2. Pod wpływem wewnątrzkomórkowych proteinaz zostaje przekształcona do cząsteczki złożonej z 37 lub 38 aminokwasów „big-endoteliny-2” (ryc.1) [4,42]. Endotelina-2 (ET-2) jest wytwarzana przez jajniki, komórki nabłonka jelit, pęcherzyki płucne [4] oraz komórki raka piersi [18]. Zaobserwowano również, że ET-2 w komórkach raka piersi uaktywnia chemotaksję oraz aktywuje chemokiny CXCL12 i CCL21 uczestniczące w progresji oraz przerzutowaniu. Może również uaktywniać makrofagi, którym towarzyszy wzmożona aktywność metaloproteiny MMP-2 i MMP-9. Wykazano także autokrynną rolę ET-2 w mechanizmie indukcji proliferacji komórek rakowych przez aktywację receptora ETA [17].

### ENDOTELINA-3 (ET-3)

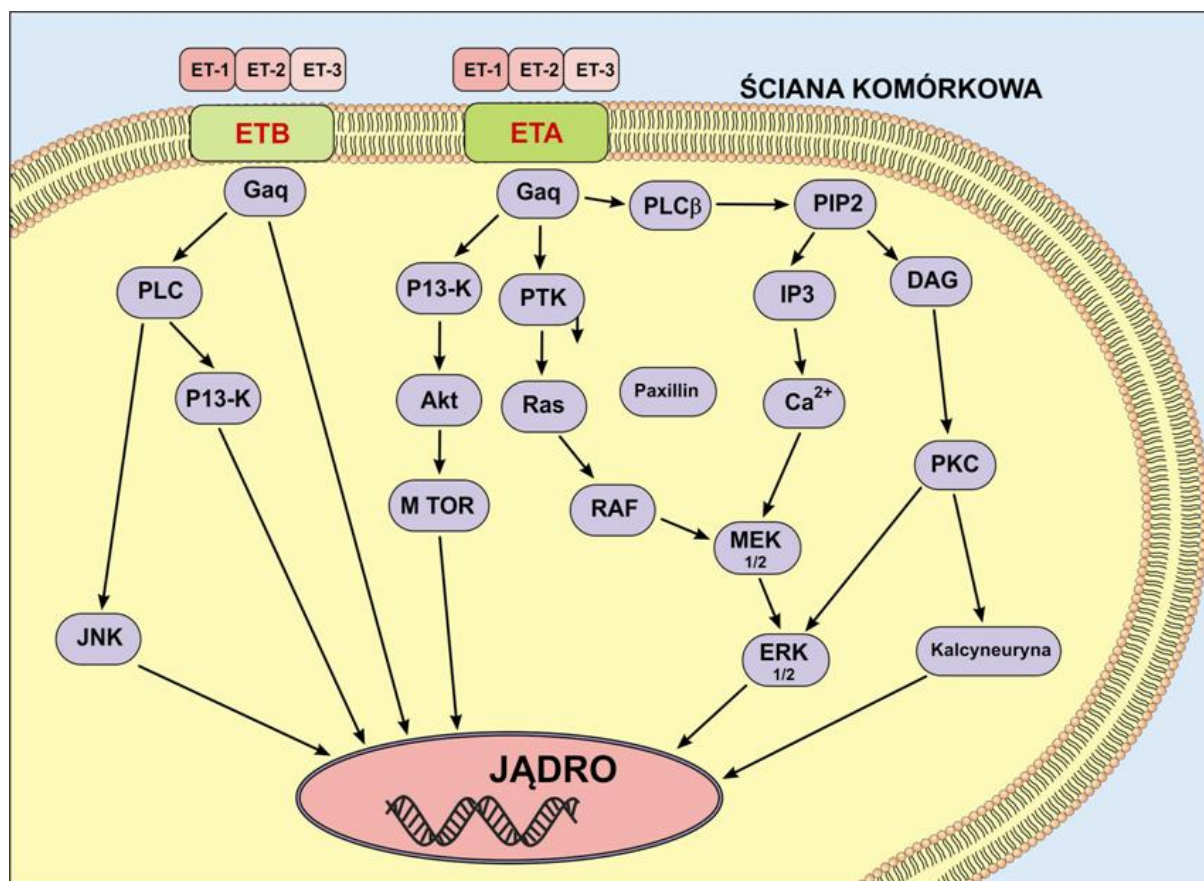
Endotelina-3 jest kodowana przez gen umiejscowiony na chromosomie 20 (20q13.2-q13.3), składający się z 6 eksonów o długości 25,5 kb mRNA. W wyniku translacji prepro-ET-3 mRNA powstaje prekursor endoteliny, cząsteczka zbudowana z 212 aminokwasów preproendotelina ET-3. Pod wpływem wewnątrzkomórkowych proteinaz zostaje przekształcona do cząsteczki złożonej z 41 aminokwasów „big-endoteliny-3 (ryc.1) [4,42]. Endotelina-3 (ET-3) jest wydzielana przez komórki śródbłonka naczyń, komórki nerwowe mózgu, nabłonka cewek nerkowych, nabłonka jelit [30], komórki trzustki, śledziony, jąder oraz stercza [28,53,77]. Potwierdzono jej udział w rozwoju czerniaka złośliwego [65]. W raku piersi obserwuje się wielokrotnie obniżoną ekspresję genu *EDN-3* (kodującego endotelinę-3) w przeciwieństwie do tkanek zdrowych, co wiąże się ze złym rokowaniem [77]. Jak wynika z dotychczasowych badań hipermetylacja genu *EDN-3* odpowiada za wyciszenie jego aktywności transkrypcyjnej [77].

### ENDOTELINA-4 (ET-4) -VIC

Endotelina-4 (zwana również wazokonstrykcyjnym peptydem jelitowym – VIC – Vasoactive Intestinal Peptide) została odkryta w latach osiemdziesiątych ub.w. w wyniku analizy porównawczej ludzkich i mysich genomów. Wyniki badań wykazały, że VIC jest mysim ortologiem ludzkiego peptydu ET-2 [36], dlatego często nazywa się go ET-2/VIC. Struktura ET-2 różni się od VIC tylko jednym z 21 reszt aminokwasowych (ryc. 1). Początkowo uważano, że występuje tylko w jelicie. Obecnie, w wyniku badań prowadzonych bardziej czułymi technikami biologii molekularnej stwierdzono, że jest obecny również w jajniku, macicy, żołądka, jądrach i mózgu [38,72]. Ekspresję genu ET-2/VIC obserwowano w prawidłowych tkankach oraz w tkankach nowotworowych, dla których ET-2 może być markerem diagnostycznym [6]. ET-2/VIC w warunkach niedotlenienia stanowi autokrynną czynnik przeżycia komórek nowotworowych [58], charakteryzujący się szerokim zakresem działań biologicznych np.: uczestniczy w utrzymaniu prawidłowej architektury kosmków jelitowych [7], silnie rozszerza naczynia krwionośne, powoduje rozluźnienie mięśni gładkich, indukuje wydzielanie elektrolitów i uwalnianie hormonów trzustkowych. Potwierdzono również, że VIC/ET-2 aktywowany przez ekspozycję na promienie ultrafioletowe (UV-C), w skórze może działać jako parakrynną czynnik wzrostu melanocytów i melanogenezy oraz jako autokrynną czynnik wzrostu keratynocytów [36].

### RECEPTORY ENDOTELINOWE

U ludzi zidentyfikowano dwa typy receptorów metabotropowych dla endotelin: ETA i ETB, sprzężonych z białkiem G [10,56], które występują w komórkach wielu tkanek, m.in. w śródbłonku, sercu, nerkach, jelicie, płucach, mózgu, śledzionie oraz skórze [10].



Ryc. 2. Ścieżki kaskad sygnałowych aktywowanych przez endoteliny (wg [2,13,44] zmodyfikowano)

Receptor ETA kodowany przez gen EDNRA umiejscowiony na chromosomie 4 (4q31.2), składa się z 8 eksonów o długości 63,97 kb. Endoteliny łączą się ze zmienną swoistością z receptorem ETA, co można przedstawić równaniem matematycznym: ET-1 = ET-2 > ET-3 [10].

Receptor ETB kodowany przez gen EDNRB, umiejscowiony na chromosomie 13 (13q22), jest zbudowany z 8 eksonów o długości 80,05 kb. Gen dla receptora ETB charakteryzuje się silną ekspresją w śródbłonku oraz w mózgu i w mniejszym stopniu w aorcie, sercu, płucach, nerkach i nadnerczach, a także w mięśniach gładkich naczyń [75]. Powinowactwo endotelin do ETB jest podobne (ET-1=ET-2=ET-3) [10].

Obecność receptorów endoteliny w ścianie przewodu pokarmowego i zdolność ich agonistów do zmiany napięcia mięśni gładkich jelit, wskazuje na ich udział w regulacji funkcji biologicznych i molekularnych przewodu pokarmowego [61]. Występuje np. w neuronach uczestniczących w regulacji skurczów jelita: warstwy mięśniowej (splot Auerbacha) i neuronach splotu podśluzówkowego (splot Meissnera), w komórkach pnia błony śluzowej, w blaszce mięśniowej błony śluzowej i w okrzętej oraz podłużnej warstwie błony mięśniowej. Endoteliny mogą zarówno hamować jak i pobudzać mięśnie gładkie przewodu pokarmowego lub nerwy trzewne. Działanie ich jest

często przeciwstawne: rolę pobudzającą odgrywa receptor ETA, a hamującą - ETB [61]. W naczyniach krwionośnych receptory endotelin odpowiadają za skurcz naczyń w krążeniu wieńcowym, nerkowym, wrotnym i w naczyniach krezki oraz za silne działanie proliferacyjne komórek. Połączenie ETA z ET-1 w komórkach mięśni gładkich powoduje wazokonstrykcję – skurcz mięśni gładkich w ścianie naczyń krwionośnych, czyli zwężenie światła naczyń z udziałem szlaku PLC, natomiast w śródbłonku, po połączeniu ETB z endoteliną powoduje wazodylatację – rozkurcz mięśni gładkich w ścianie naczyń krwionośnych, połączone z uwalnianiem NO i prostacykliny (PGI 2) [23,33,79].

### MECHANIZM DZIAŁANIA RECEPTORÓW ETA I ETB

Receptory ETA i ETB umiejscowione w błonie komórkowej po połączeniu z endoteliną, aktywują ścieżki transdukcji sygnałów komórkowych prowadząc do regulacji wielu procesów fizjologicznych. W systemie przekazywania sygnału, uczestniczy rodzina heterotrimericznych białek mających zdolność wiązania i hydrolizowania guanozyno-5'-trifosforanu (GTP), określana jako białko G, zbudowane z trzech podjednostek  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ . Kryterium podziału stanowi podjednostka  $\alpha$ , która dzieli to białko na cztery podrodziny: G $\alpha$ i, G $\alpha$ s, G $\alpha$ q oraz G $\alpha$ 12/13. Białko G $\alpha$ s stymuluje cyklazę adenylogową, G $\alpha$ i hamuje cyklazę adenylogową



oraz aktywuje kanały jonów wapnia, białko Gαq aktywuje fosfolipazę C, Gα12/13 kontroluje przekazywanie sygnału międzykomórkowego [10,43,56]. Aktywacja receptorów ETA i ETB uaktywnia białka Gαq oraz Gαs [4], natomiast aktywacja ETB uaktywnia białka Gαi, Gαs i Gαq.

W przypadku aktywacji receptora ETA i białka Gαq, aktywna podjednostka α doprowadza do fosforylacji tyrozyny w fosfolipazie C, następnie dochodzi do hydrolizy difosforanu-4,5-fosfatydyloinozytolu (PIP2, składnik błony komórkowej). Skutkiem hydrolizy PIP2 jest diacyloglicerol (DAG) oraz inozytolo-1,4,5-trifosforan (IP3) (ryc.2) [2]. Inozytolo-1,4,5-trifosforan (IP3) to rozpuszczalny w wodzie cukier, który dyfundując do retikulum endoplazmatycznego ma zdolność otwierania kanałów wapniowych i uwalniania jonów wapnia z magazynów wewnątrzkomórkowych. Uwolnione jony wapnia są nośnikiem informacji, ale emisja sygnału poprzez niezbuforowane jony wapnia jest niewielka i dotyczy małego obszaru komórki, gdy tymczasem inozytolo-1,4,5-trifosforan (IP3) emituje sygnał na całą komórkę (ryc. 2) [2,13]. Jony wapnia odgrywają również ważną rolę we wzroście komórek, wydzielaniu białek, regulacji siły skurczu, biorą również udział w przewodzeniu nerwowym oraz uaktywnianiu enzymów. Są niezbędne przy aktywacji kinaz: kinazy białkowej C (PKC) [44], kinaz MEK1/2 oraz kinaz ERK1/2 [2]. Kinaza białkowa C pobudzając bezpośrednio kalcyneurynę, uaktywnia czynnik transkrypcyjny (ryc. 2).

Inna ścieżka sygnalizacyjna to aktywacja kinazy tyrozynowej (PTK), następnie kinazy serynowo-treoninowej (Raf), kinaz MEK1/2 oraz ERK1/2 [2]. Następną ścieżką: receptor EDNRA, białko Gq, kinaza tyrozynowa PTK może generować fosforylację tyrozyn w białkach powiązanych z cytoszkieletem, jak np. paksylina (ryc. 2) [62].

Możliwa jest również aktywacja kinazy PI3K za pośrednictwem białka Gαq, następnie aktywacja kinazy Akt oraz kinazy m-TOR [2,52]. Szlak kinaz m-TOR jest szlakiem sprawującym kontrolę nad wzrostem komórki. Endoteliny (ET-1,2,3) przez receptor EDNRB, białko Gαq generują sygnał za pośrednictwem kinazy białkowej C (PLC) która uaktywnia niezależnie kinazy: JNK oraz PI3K.

## ENDOTELINY I ICH RECEPTORY W TRANSFORMACJI NOWOTWOROWEJ

Endotelina-1 aktywując receptor ETA indukuje aktywność dwóch typów proteinaz: metaloproteinazy (MMP) oraz urokinazy typu plazminogenu [21,49,70,79]. Podwyższa aktywność: MMP-2, -7, -9, -13, MT1-MMP, TIMP-1,-2 [2,24] obniżając aktywność MMP-1 [22]. ET-1 stymulując fosforylację paksyliny i kadheryn, wpływa na remodeling cytoszkieletu. Ponadto oddziałuje na połączenia komórkowe „gap-junction” zmieniając adhezję komórkową [2]. Zastosowanie inhibitora ETA zmniejszało aktywność fosforylacji koneksyn, korelujące ze zmniejszeniem progresji nowotworu [67]. Endoteliny wpływają na zmniejszenie liczby połączeń komórkowych oraz pogorszenie międzykomórkowej komunikacji komórka-komórka oraz komórka-macierz zewnątrzkomórkowa [67]. Sprzyjającym ele-

mentem komórkowej sygnalizacji w zakresie działania mitogennego jest zjawisko cross-talk pomiędzy receptorami GPCR i EGFR [2]. Endotelina-1 jest także ważnym mitogenem dla komórek raka, będąc zarazem autokrynnym modulatorem ich wzrostu [1] oraz aktywatorem kinaz [35]. W raku jajnika obserwowano duże stężenia endoteliny-1 w płynie puchlinowym co korelowało z dużymi stężeniami proteinaz degradujących macierz oraz nasileniem procesu przerzutowania nowotworu [59].

## ANGIOGENEZA

Ważną rolę w regulacji angiogeny odgrywają: HIF-1, VEGF oraz ET-1 [55,57]. Niedotlenienie tkanek wpływa na wydzielanie mediatora hipoksji czynnika HIF-1. Składa się z dwóch podjednostek α i β, których obecność zależy od warunków panujących w komórce [16]. W przypadku prawidłowego dostępu tlenu do komórek i spełnienia warunków normoksji jest obecna tylko podjednostka α. Przy spadku utlenowania pojawia się podjednostka β [76], która generuje czynność transkrypcyjną jądra wpływając na wytwarzanie VEGF i ET-1. Jednocześnie endotelina (ET-1) stymuluje powstawanie podjednostki β nawet przy prawidłowym utlenowaniu komórki. Jednak pojawienie się podjednostki HIF-1β powoduje powstawanie endoteliny (ET-1) [16]. W rozwoju nowotworów, wielokrotnie stwierdza się spadek utlenowania w nowo powstałych komórkach nowotworowych oraz podwyższoną aktywność endoteliny (ET-1), co sprzyja inicjacji angiogenezy [54]. Ponadto na obecność podjednostki HIF-1α stabilizująco wpływają również: czynniki wzrostu, erytropoetyna, angiotensyna II oraz trombina [15,66], co potwierdzono w nowotworach stercza, jajnika, piersi, czerniaka, płuc i mięsaka Kaposiego [16].

## APOPTOZA

Endotelina-1 należy do antyapoptycznych regulatorów komórek nowotworowych [48]. W nowotworach podwyższone stężenie ET-1 aktywujących receptory ETA powodują wzmożenie aktywności kinaz (Akt), będących regulatorami przeżycia i rozwoju komórek nowotworowych [11]. Endotelina aktywując receptory ETA wpływa korzystnie na przeżycie komórek nowotworowych, natomiast stymulacja receptora ETB prowadzi do ich apoptozy [48]. Zmniejszenie ekspresji receptora ETB w komórkach nowotworowych jest wynikiem metylacji promotora genu kodującego receptor EDNRB. Właśnie w hamującym oddziaływaniu endotelin na apoptozę komórek nowotworowych upatruje się oporność nowotworów na chemioterapię [40,48].

## ANTAGONIŚCI RECEPTORÓW ENDOTELIN – SENTANY

Początek lat 90 ub.w. to okres intensywnych badań nad antagonistami receptorów endotelinowych, odkryto wówczas pierwszych antagonistów: selektywnego dla receptora A „BQ-123”, a dla receptora B „BQ-788” oraz nieselektywnych: dla receptora A i B „RO 47-0203” (Bosentan). Pierwsi antagoniści receptorów endotelino-

wych BQ-123 i BQ-788 są nadal używani do badań w patofizjologii osi endotelinowej, mimo wysokiej ceny oraz niekorzystnej pozajelitowej drogi podania. Bosentan to pierwszy antagonist, który znalazł się na liście leków dopuszczonych i zatwierdzonych przez FDA, stosowany jest do dziś, m.in. w kardiomiopatii rozstrzeniowej oraz nadciśnieniu płucnym. Stosowany i testowany jest w eksperymentalnych modelach zwierzęcych, w chorobach takich jak nadciśnienie tętnicze i płucne, niewydolność krążenia, dysfunkcja nerek oraz w mózgowym skurczu naczyń w przebiegu krwotoku podpajęczynówkowego [5]. Powstała nowa klasa leków zwana „sentanami” [5]. Obecnie znane preparaty to: blokery nieselektywne receptorów ETA/ETB t-Bosentan, Enrasentan, Tezosentan; blokery selektywne ETA to Ambriesentan, Antrasentan, Avosentan, BMS-193884, Clazosentan, Darusentan, Edonentan, S-0139, Sitaxsentan, TBC 3711, YM598, ZD4054, BQ123; blokery selektywne ETB to BQ-788 [5]. Selektywny bloker receptora ETB znany jako BQ-788 pod względem budowy chemicznej należy do peptydów. Został opracowany przez firmę Bany Pharmaceutical Co (Merck) i jest już komercyjnie dostępny. Prowadzone są badania nad kolejnymi preparatami; w nowotworach złośliwych są to badania przedkliniczne mające na celu oszacowanie wyniku przeciwnowotworowego [20]. W ostatnich 10 latach dwa koncerny farmaceutyczne prowadziły badania nad zastosowaniem klinicznym blokerów ETA (Antrasentan i Zibotentan) w nowotworach, m.in. w raku stercza [47]. Badania kliniczne II fazy były obiecujące, jednak III fazy z taksanami okazały się negatywne. Prowadzone są badania z zastosowaniem doustnych antagonistów receptora

endoteliny w celu wzmocnienia działania przeciwnowotworowego interferonu w raku nerki [19] i w połączeniu z paklitaksem w raku jajnika [32]. Jednak ich wykorzystanie w codziennej praktyce klinicznej wymaga dalszych badań i metaanaliz.

## PODSUMOWANIE

Najnowsze doniesienia wskazują na istotne znaczenie endoteliny w procesach nowotworowych, jednak należy to rozpatrywać w odniesieniu do całego systemu składającego się z czterech białek i dwóch receptorów. Ścieżki sygnałowe związane z aktywacją receptorów dla endoteliny mają wpływ na regulację różnych procesów, m.in. prowadzą do rozwoju i progresji nowotworów. Ich znaczenie zostało udokumentowane w nowotworach złośliwych, takich jak: rak piersi, stercza, jelita grubego, jajnika, płuc, nerki, endometrium, w czerniaku i innych. Endoteliny mogą mieć także znaczenie prognostyczne i predykcyjne, co udowodniono w badaniach klinicznych [29]. Połączenie endoteliny z receptorami wykazuje oprócz działania autokrynnego, działanie parakrynnego, wpływ na komórki podścieliska guza, uwalnianie cytokin i chemokin oraz metaloproteinaz. Analiza ekspresji białek, receptorów, poznanie ich znaczenia w procesach komórki stało się podstawą do zidentyfikowania nowych strategii leczenia ukierunkowanego molekularnie [37]. Badania są prowadzone od kilkunastu lat i oczekuje się, że leczenie oparte na wykorzystaniu leków cytotoksycznych, inhibitorów czynników wzrostu i białek szlaków wewnątrzkomórkowych przyczyni się do poprawy wyników leczenia przeciwnowotworowego.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Bagnato A., Natali P.G.: Endothelin receptors as novel targets in tumor therapy. *J. Transl. Med.*, 2004; 2: 16
- [2] Bagnato A., Spinella F., Rosanò L.: Emerging role of the endothelin axis in ovarian tumor progression. *Endocr. Relat. Cancer*, 2005; 12: 761-772
- [3] Bagnato A., Spinella F., Rosanò L.: The endothelin axis in cancer: the promise and the challenges of molecularly targeted therapy. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 2008; 86: 473-484
- [4] Barton M., Yanagisawa M.: Endothelin: 20 years from discovery to therapy. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 2008; 86: 485-498
- [5] Battistini B., Berthiaume N., Kelland N.F., Webb D.J., Kohan D.E.: Profile of past and current clinical trials involving endothelin receptor antagonists: the novel “-sentan” class of drug. *Exp. Biol. Med.*, 2006; 231: 653-695
- [6] Bianchi M., Adur J., Izaguirre M.F., Viale S., Cesar C.L., Casco V.H.: Endothelin-2 differential expression in normal and early-stages of colon cancer development. *J. Cancer Ther.*, 2013; 4: 26-33
- [7] Bianchi M., Adur J., Takizawa S., Saida K., Casco V.H.: Endothelin system in intestinal villi: a possible role of endothelin-2/vasoactive intestinal contractor in the maintenance of intestinal architecture. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2012; 417: 1113-1118
- [8] Brackowski R., Romanawski W., Danikiewicz A., Muc-Wierzoń M., Błażelonis A., Zubelewicz B.: Decrease of erythropoietin level by human recombinant tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in patients with advanced cancer. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*, 2001; 15: 366-369
- [9] Castañares C., Redondo-Horcajo M., Magán-Marchal N., ten Dijke P., Lamas S., Rodríguez-Pascual F.: Signaling by ALK5 mediates TGF- $\beta$ -induced ET-1 expression in endothelial cells: a role for migration and proliferation. *J. Cell Sci.*, 2007; 120: 1256-1266
- [10] Davenport A.P.: International Union of Pharmacology. XXIX. Update on endothelin receptor nomenclature. *Pharmacol. Rev.*, 2002; 54: 219-226
- [11] Del Bufalo D., Di Castro V., Biroccio A.: Endothelin-1 protects ovarian carcinoma cells against paclitaxel-induced apoptosis: requirement for Akt activation. *Mol. Pharmacol.*, 2002; 61: 524-532
- [12] Dobrek Ł., Thor P.: Endotelina w patofizjologii chorób sercowo-naczyniowych. *Pol. Merkur. Lek.*, 2010; 28: 289-292
- [13] Domeier T.L., Zima A.V., Maxwell J.T., Huke S., Mignery G.A., Blatter L.A.: IP3 receptor-dependent Ca<sup>2+</sup> release modulates excitation-contraction coupling in rabbit ventricular myocytes. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2008; 294: 596-604
- [14] Duan X.L., Zhang X.S., Li G.W.: Clinical relationship between EDN-3 gene, EDNRB gene and Hirschsprung's disease. *World J. Gastroenterol.*, 2003; 9: 2839-2842
- [15] Folberg R., Hendrix M.J., Maniotis A.J.: Vasculogenic mimicry and tumor angiogenesis. *Am. J. Pathol.*, 2000; 156: 361-381



- [16] Grimshaw M.J.: Endothelins and hypoxia-inducible factor in cancer. *Endocr. Relat. Cancer*, 2007; 14: 233-244
- [17] Grimshaw M.J., Hagemann T., Ayhan A., Gillett C.E., Binder C., Balkwill F.R.: A role for endothelin-2 and its receptors in breast tumor cell invasion. *Cancer Res.*, 2004; 64: 2461-2468
- [18] Grimshaw M.J., Naylor S., Balkwill F.R.: Endothelin-2 is a hypoxia-induced autocrine survival factor for breast tumor cells. *Mol. Cancer Ther.*, 2002; 1: 1273-1281
- [19] Groenewegen G., Walraven M., Vermaat J., de Gast B., Witteveen E., Giles R., Haanen J., Voest E.: Targeting the endothelin axis with atrasentan, in combination with IFN- $\alpha$ , in metastatic renal cell carcinoma. *Br. J. Cancer*, 2012; 106: 284-289
- [20] Haque S.U., Dashwood M.R., Heetun M., Shiwen X., Farooqui N., Ramesh B., Welch H., Savage F.J., Ogunbiyi O., Abraham D.J., Lozidou M.: Efficacy of the specific endothelin A receptor antagonist zibotentan (ZD4054) in colorectal cancer: a preclinical study. *Mol. Cancer Ther.*, 2013; 12: 1556-1567
- [21] Harłodzińska-Szmyrka A., Sobańska E.: Przerzuty nowotworowe – terrorysta XXI wieku. *Przegl. Lek.*, 2008; 1: 19-27
- [22] Harris A.K., Hutchinson J.R., Sachidanandam K., Johnson M.H., Dorrance A.M., Stepp D.W., Fagan S.C., Ergul A.: Type 2 diabetes causes remodeling of cerebrovasculature via differential regulation of matrix metalloproteinases and collagen synthesis: role of endothelin-1. *Diabetes*, 2005; 54: 2638-2644
- [23] Haynes W.G., Webb D.J.: Contribution of endogenous generation of endothelin 1 to basal vascular tone. *Lancet*, 1994; 344: 852-854
- [24] He S., Prasanna G., Yorio T.: Endothelin-1-mediated signaling in the expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in astrocytes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2007; 48: 3737-3745
- [25] Horstmeyer A., Licht C., Scherr G., Eckes B., Krieg T.: Signalling and regulation of collagen I synthesis by ET-1 and TGF- $\beta$ 1. *FEBS J.*, 2005; 272: 6297-6309
- [26] Ikeda K., Emoto N., Raharjo S.B., Nurhantari Y., Saiki K., Yokoyama M., Matsuo M.: Molecular identification and characterization of novel membrane-bound metalloprotease, the soluble secreted form of which hydrolyzes a variety of vasoactive peptides. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 32469-32477
- [27] Inoue A., Yanagisawa M., Kimura S., Kasuyi Y., Mayauchi T., Goto K., Masaki T.: The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989; 86: 2863-2867
- [28] Kalabis J., Li G., Fukunaga-Kalabis M., Rustgi A.K., Herlyn M.: Endothelin-3 stimulates survival of goblet cells in organotypic cultures of fetal human colonic epithelium. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2008; 295: 1182-1189
- [29] Kalles V., Zografos G.C., Provatopoulou X., Kalogera E., Liakou P., Georgiou G., Sagkriotis A., Nonni A., Gounaris A.: Circulating levels of endothelin-1 (ET-1) and its precursor (Big ET-1) in breast cancer early diagnosis. *Tumour Biol.*, 2012, 33: 1231-1236
- [30] Kedzierski R.M., Yanagisawa M.: Endothelin system: the double-edged sword in health and disease. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2001; 41: 851-876
- [31] Khodorova A., Montmayeur J.P., Strichartz G.: Endothelin receptors and pain. *J. Pain*, 2009; 10: 4-28
- [32] Kim S.J., Kim J.S., Kim S.W., Brantley E., Yun S.J., He J., Maya M., Zhang F., Wu Q., Lehembre F., Regenass U., Fidler I.J.: Macitentan (ACT-064992), a tissue-targeting endothelin receptor antagonist, enhances therapeutic efficacy of paclitaxel by modulating survival pathways in orthotopic models of metastatic human ovarian cancer. *Neoplasia*, 2011; 13: 167-179
- [33] Kleinz M.J., Davenport A.P.: Immunocytochemical localization of endogenous vasoactive peptide apelin to human vascular and endothelial cells. *Regul. Pept.*, 2004; 118: 119-125
- [34] Kleniewska P., Michalski Ł., Skibska B., Goraca A.: The influence of endothelin-1 and endothelin receptor blocker on the content of white blood cells in the peripheral blood of rat. *Pol. Merkur. Lek.*, 2012; 32: 225-227
- [35] Komatsu K., Buchanan F.G., Otaka M., Jin M., Odashima M., Horikawa Y., Watanabe S., Dubois R.N.: Gene expression profiling following constitutive activation of MEK1 and transformation of rat intestinal epithelial cells. *Mol. Cancer*, 2006; 5: 63
- [36] Kotake-Nara E., Saida K.: Endothelin-2/vasoactive intestinal contractor: regulation of expression via reactive oxygen species induced by CoCl<sub>2</sub> and biological activities including neurite outgrowth in PC12 cells. *Sci. World J.*, 2006; 6: 176-186
- [37] Kowalczyk A., Kołodziejczyk M., Gorąca A.: Antagoniści receptorów endotelinowych (ERA) – krótka charakterystyka nowej grupy leków. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2014; 68: 1076-1080
- [38] Kozakai T., Zhao H., Sakate M., Masuo Y., Uchide T., Saida K.: Effect of aging on gene expression rates of endothelin-1 and endothelin-2/vasoactive intestinal contractor in ethanol-induced gastric mucosal injury of the mouse. *Clin. Sci.*, 2002; 103: 455-458
- [39] Kun T., Dąbrowski R.: Endoteliny w regulacji funkcji układu krążenia. *Pol. Przegl. Kardiol.*, 2002; 4: 149-155
- [40] Küry S., Buecher B., Robiou-du-Pont S., Scoul C., Colman H., Le Neel T., Le Horuérrou C., Faroux R., Ollivry J., Lafraise B., Chupin L.D., Sébille V., Bézieau S.: Low-penetrance alleles predisposing to sporadic colorectal cancers: a French case-controlled genetic association study. *BMC Cancer*, 2008; 8: 326
- [41] Kusuhara M., Yamaguchi K., Nagasaki K.: Production of endothelin in human cancer cell lines. *Cancer Res.*, 1990; 50: 3257-3261
- [42] Lee S., Lin M., Mele A., Cao Y., Farmer J., Russo D., Redman C.: Proteolytic processing of big endothelin-3 by the kallikrein blood group protein. *Blood*, 1999; 94: 1440-1450
- [43] Lewandowicz A.M., Kowalski M.L., Pawliczak R.: Białka regulujące przekazywanie sygnału przez białka G (białka RGS) i ich znaczenie w regulacji odpowiedzi immunologicznej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2004; 58: 312-320
- [44] Liu L., Heneghan J.F., Mitra-Ganguli T., Roberts-Crowley M.L., Rittenhouse A.R.: Role of PIP<sub>2</sub> in regulating versus modulating Ca<sup>2+</sup> channel activity. *J. Physiol.*, 2007; 583: 1165-1166
- [45] Lorenzo M.N., Khan R.Y., Wang Y., Tai S.C., Chan G.C., Cheung A.H., Marsden P.A.: Human endothelin converting enzyme-2 (ECE2): characterization of mRNA species and chromosomal localization. *Biochim. Biophys. Acta*, 2001; 1522: 46-52
- [46] Makita T., Sucov H.M., Gariepy C.E., Yanagisawa M., Ginty D.D.: Endothelins are vascular-derived axonal guidance cues for developing sympathetic neurons. *Nature*, 2008; 452: 759-763
- [47] Nelson J.B., Fizazi K., Miller K., Higano C., Moul J.W., Akaza H., Morris T., McIntosh S., Pemberton K., Gleave M.: Phase 3, randomized, placebo-controlled study of zibotentan (ZD4054) in patients with castration-resistant prostate cancer metastatic to bone. *Cancer*, 2012; 118: 5709-5718
- [48] Nelson J.B., Udan M.S., Guruli G., Pflug B.R.: Endothelin-1 inhibits apoptosis in prostate cancer. *Neoplasia*, 2005; 7: 631-637
- [49] Oppenheimer S.B.: Cellular basis of cancer metastasis: a review of fundamentals and new advances. *Acta Histochem.*, 2006; 108: 327-334
- [50] Ortmann J., Nett P.C., Celeiro J., Hofmann-Lehmann R., Tornillo R., Terracciano L.M., Barton M.: Downregulation of renal endothelin-converting enzyme 2 expression in early autoimmune diabetes. *Exp. Biol. Med.*, 2006; 231: 1030-1033
- [51] Paasche J.D., Attramadal T., Sandberg C., Johansen H.K., Attra-



madal H.: Mechanisms of endothelin receptor subtype-specific targeting to distinct intracellular trafficking pathways. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 34041-34050

[52] Park S., Lim S., Chang W., Song H., Lee S., Song B.W., Kim H.J., Cha M.J., Choi E., Jang Y., Chung N., Cho S.Y., Hwang K.C.: The inhibition of insulin-stimulated proliferation of vascular smooth muscle cells by rosiglitazone is mediated by the Akt-mTOR-P70S6K pathway. *Yonsei Med. J.*, 2008; 49: 592-600

[53] Rauh A., Windischhofer W., Kovacevic A., DeVaney T., Huber E., Semlitsch M., Leis H.J., Sattler W., Malle E.: Endothelin (ET)-1 and ET-3 promote expression of *c-fos* and *c-jun* in human choriocarcinoma via ET<sub>B</sub> receptor-mediated G<sub>i</sub>- and G<sub>q</sub>-pathways and MAP kinase activation. *Br. J. Pharmacol.*, 2008; 154: 13-24

[54] Ribatti D., Conconi M.T., Nussdorfer G.G.: Nonclassic endogenous novel regulators of angiogenesis. *Pharmacol. Rev.*, 2007; 59: 185-205

[55] Rosano L., Di Castro V., Spinella F., Tortora G., Nicotra M.R., Natali P.G., Bagnato A.: Combined targeting of endothelin A receptor and epidermal growth factor receptor in ovarian cancer shows enhanced antitumor activity. *Cancer Res.*, 2007; 67: 6351-6359

[56] Rozengurt E.: Mitogenic signaling pathways induced by G protein-coupled receptors. *J. Cell Physiol.*, 2007; 213: 589-602

[57] Sacewicz I., Wiktorska M., Wysocki T., Niewiarowska J.: Mechanizmy angiogenezy nowotworowej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2009; 63: 159-168

[58] Saida K., Gao X., Matsui M., Mitsui Y.: Vasoactive intestinal contractor (VIC)/mouse ET-2 and VIC receptor: biological activity, gene expression, and specific receptor. *Nihon Rinsho*, 1996; 54: 1115-1121

[59] Salani D., Di Castro V., Nicotra M.R., Rosano L., Tecce R., Venuti A., Natali P.G., Bagnato A.: Role of endothelin-1 in neovascularization of ovarian carcinoma. *Am. J. Pathol.*, 2000; 157: 1537-1547

[60] Secchi M.E., Sulli A., Pizzorni C., Cutolo M.: Endothelin-1 in systemic sclerosis. *Reumatismo*, 2007; 59: 129-134

[61] Shahbazian A., Holzer P.: Regulation of guinea pig intestinal peristalsis by endogenous endothelin acting at ET<sub>B</sub> receptors. *Gastroenterology*, 2000; 119: 80-88

[62] Shan Y., Yu L., Li Y., Pan Y., Zhang Q., Wang F., Chen J., Zhu X.: Nudel and FAK as antagonizing strength modulators of nascent adhesions through paxillin. *PLoS Biol.*, 2009; 7: e1000116

[63] Shephard P., Hinz B., Smola-Hess S., Meister J.J., Krieg T., Smola H.: Dissecting the roles of endothelin, TGF- $\beta$  and GM-CSF on myofibroblast differentiation by keratinocytes. *Thromb. Haemost.*, 2004; 92: 262-274

[64] Shi-Wen X., Denton C.P., Dashwood M.R., Holmes A.M., Bou-Gharios G., Pearson J.D., Black C.M., Abraham D.J.: Fibroblast matrix gene expression and connective tissue remodeling: role of endothelin-1. *J. Invest. Dermatol.*, 2001; 116: 417-425

[65] Spinella F., Rosano L., Di Castro V., Decandia S., Nicotra M.R., Natali P.G., Bagnato A.: Endothelin-1 and endothelin-3 promote invasive behavior via hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  in human melanoma

cells. *Cancer Res.*, 2007; 67: 1725-1734

[66] Spinella F., Rosano L., Di Castro V., Natali P.G., Bagnato A.: Endothelin-1 induces vascular endothelial growth factor by increasing hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  in ovarian carcinoma cells. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 27850-27855

[67] Spinella F., Rosano L., Di Castro V., Nicotra M.R., Natali P.G., Bagnato A.: Endothelin 1 decreases gap junctional intercellular communication by inducing phosphorylation of connexin 43 in human ovarian carcinoma cells. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 41294-41301

[68] Sticherling M.: The role of endothelin in connective tissue diseases. *Rheumatology*, 2006; 45 Suppl. 3: 8-10. Erratum in: *Rheumatology*, 2008; 47: 234-235

[69] Swigris J.J., Brown K.K.: The role of endothelin-1 in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *BioDrugs*, 2010; 24: 49-54

[70] Śliwowska I., Kopczyński Z.: Metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej – charakterystyka biochemiczna i kliniczna wartość oznaczania u chorych na raka piersi. *Współ. Onkol.*, 2005; 9: 327-335

[71] Takuwa N., Takuwa Y., Yanagisawa M., Yamashita K., Masaki T.: A novel vasoactive peptide endothelin stimulates mitogenesis through inositol lipid turnover in Swiss 3T3 fibroblasts. *J. Biol. Chem.*, 1989; 264: 7856-7861

[72] Uchide T., Fujimori Y., Sasaki T., Temma K., Adur J., Masuo Y., Kozakai T., Lee Y.S., Saida K.: Expression of endothelin-1 and vasoactive intestinal contractor genes in mouse organs during the perinatal period. *Clin. Sci.*, 2002; 103: 167-170

[73] Valdenaire O., Barret A., Schweizer A., Rohrbacher E., Mongiat F., Pinet F., Corvol P., Tougaard C.: Two di-leucine-based motifs account for the different subcellular localizations of the human endothelin-converting enzyme (ECE-1) isoforms. *J. Cell Sci.*, 1999; 112: 3115-3125

[74] Van Harmelen V., Eriksson A., Aström G., Wahlén K., Näslund E., Karpe F., Frayn K., Olsson T., Andersson J., Rydén M., Arner P.: Vascular peptide endothelin-1 links fat accumulation with alterations of visceral adipocyte lipolysis. *Diabetes*, 2008; 57: 378-386

[75] Wanecek M., Weitzberg E., Rudehill A., Oldner A.: The endothelin system in septic and endotoxin shock. *Eur. J. Pharmacol.*, 2000; 407: 1-15

[76] Wenger R.H.: Mammalian oxygen sensing, signalling and gene regulation. *J. Exp. Biol.*, 2000; 203: 1253-1263

[77] Wiesmann F., Veeck J., Galm O., Hartmann A., Esteller M., Knüchel R., Dahl E.: Frequent loss of endothelin-3 (EDN3) expression due to epigenetic inactivation in human breast cancer. *Breast Cancer Res.*, 2009; 11: R34

[78] Witz I.P.: The tumor microenvironment: the making of a paradigm. *Cancer Microenviron.*, 2009; 2: 9-17

[79] Wnuczko K., Szczepański M.: Śródbłonek – charakterystyka i funkcje. *Pol. Merkur. Lek.*, 2007; 23: 60-65

-----  
Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.

