

РОЛЬ ЦИТОКЕРАТИНІВ У ЗАБЕЗПЕЧЕННІ ОСНОВНИХ КЛІТИННИХ ФУНКЦІЙ ТА ДІАГНОСТИЦІ ЗАХВОРЮВАНЬ

В.В. МИХАЛЮК^{1,*}, В.В. ГАВРИЛЯК², Ю.Т. САЛИГА¹

¹ Інститут біології тварин НААН, вул. В. Стуса, 38, Львів 79034, Україна

² Національний університет «Львівська політехніка», Інститут хімії та хімічних технологій, пл. Св. Юра, 3/4, Львів 79013, Україна

E-mail: *vasylina.v.m@gmail.com, vitahavryliak@gmail.com, yursalyha@yahoo.com

Цитокератини — це велика група протеїнів інтермедіальних філаментів, що формують цитоскелет епітеліальних клітин та їх та їх придатки (волосся, нігті). Біохімічно, цитокератини поділяють на два основні типи: кислі та основні. Кожна пара цитокератинів обов'язково містить і кислі і основні цитокератини в еквімолярних кількостях. Це суттєво відрізняє цитокератини від інших протеїнів інтермедіальних філаментів та критично необхідно для правильної організації цитоскелету. Цитокератини забезпечують передачу сигналів у клітині, беруть участь у клітинній адгезії та апоптозі. На сьогодні відомі загальні принципи експресії цитокератинів на різних стадіях розвитку епітеліальних клітин. Експресія цитокератинів є органоспецифічною, і залежить від типу епітеліальних клітин, ступеня їх диференціювання та розвитку тканин. Тому профіль цитокератинів може бути використаний для діагностики різних патологічних процесів. Особлива увага в огляді приділена цитокератинам 8, 18 і 19 як можливим біомаркерам канцерогенезу.

Ключові слова: цитокератини, інтермедіальні філаменти, кератиноцити, цитоскелет, експресія.

Цитокератини — це протеїни, що формують інтермедіальні філаменти, які разом з мікротрубочками та мікрофіламентами утворюють цитоскелет епітеліальних клітин. З цих трьох компонентів цитоскелету, інтермедіальні філаменти характеризуються найбільшим різноманіттям. Вже давно стало зрозуміло, що функції цитокератинів не обмежуються лише підтримкою цитоскелету. Цитопротекторними властивостями таких кератинів можна пояснити зв'язок між різними захворюваннями та тера-

певтичним ефектом цих протеїнів. Цитокератини виступають маркерами клітинного розмноження, відповідають за передавання сигналів, реакцію на стрес, апоптоз, збереження автентичності епітеліальних клітин та їхню механічну міцність (Kumar et al, 2018; Kuburich et al 2021). Вони експресуються кератиноцитами та епітеліальними клітинами (Chan et al, 2018).

На сьогодні є достатньо інформації про структуру, класифікацію та функції цитокератинів (Moll et al, 1982; Strelkov et al, 2003; Vaidya et al, 2007; Moll et al, 2008; Awasthi et al, 2016; Kumar et al, 2018; Dmello et al, 2019; Kuburich et al, 2021). Проте, останнім часом дослідники більше увагу звертають саме на ті функції цитокератинів, які, в першу чергу, асоціюються із трансформацією клітин і канцерогенезом. Так, у огляді (Yoon et al, 2019), детально описано участь інтермедіальних філаментів кератину у міграції епітеліальних клітин. Автори вказують на відмінності у механізмах транслокації клітин за участі кератинового цитоскелету та скоротливого акто-міозинового апарату. Зроблено висновок про те, що рівні експресії та специфічна комбінація кератинів у клітині впливає на її міграцію через зміну в'язкоеластичності цитоплазми та адгезію до сусідніх клітин.

У огляді (Zhang et al, 2018) узагальнено інформацію про експресію кератинів під час розвитку шкіри, про їх регуляцію як на транскрипційному, так і на посттранскрипційному рівнях. Детально розглянуто питання, як мутації чи інші порушення регуляції цих ке-

ратинів впливають на шкірні захворювання та трансформацію клітин.

У статтях (Wiche et al, 2021) та (Laly et al 2021) показана роль плектину та кератинового цитоскелету в забезпеченні механочутливості кератиноцитів та трансдукції сигналу. Так, кератиноцити здатні реагувати на зміну жорсткості матриксу, опосередковуючи сигнали до ядра через ремодельовання ядерної ламіни.

Розуміння функцій кератину, характерних паттернів їх експресії та відповідних регуляторних механізмів дає надію не лише на точну діагностику, але і потенційний прогноз лікування багатьох захворювань, пов'язаних із трансформацією клітин епітеліального походження.

Отже, наша мета полягала в узагальненні наявної інформації щодо структури та основних біологічних функцій цитокератинів з акцентом на використанні їх як діагностичних та прогностичних маркерів багатьох захворювань, в основі яких лежить зміна характеру експресії цих протеїнів.

Класифікація та структура цитокератинів

Залежно від молекулярної маси та ізоелектричної точки, цитокератини поділяються на два типи: кислі цитокератини типу I, з низькою молекулярною масою, та основні або нейтральні цитокератини типу II, з високою молекулярною масою. Кератини з меншою молекулярною масою (ЦК9–ЦК20) кодуються генами на хромосомі 17q, а кератини з більшою молекулярною масою (ЦК1–ЦК8) – генами на хромосомі 12q (рис. 1.) (Kumar et al, 2018).

Деякі автори до цитокератинів типу I відносять ЦК 9–10, ЦК 12–28 та ЦК 31–40, а до цитокератинів типу II – ЦК 1–8 та ЦК 71–86 (Moll et al, 2008).

Поділ на кислі та основні цитокератини зроблено на основі двомірного поліакриламідного гель-електрофорезу. Фракції кислих цитокератинів отримано в кислому градієнтному гелі з ізоелектричною точкою 4,5–6,0, основні цитокератини отримано в нейтрально-основному градієнтному гелі з ізоелектричною точкою 6,5–8,5 (Moll et al, 1982; Moll et al, 2008; Jacob et al, 2018). За фізичними властивостями цитокератини поділяють на тверді та м'які. На основі рентгеноструктурного аналізу цитокератини поділяють на альфа, бета,

аморфні та цитокератини пір'я (Awasthi et al, 2016).

Існує 9 підтипів нейтральних цитокератинів: ЦК1, ЦК2, ЦК3, ЦК4, ЦК5, ЦК6, ЦК7, ЦК8, ЦК9 та 11 підтипів кислих: ЦК10, ЦК11, ЦК12, ЦК13, ЦК14, ЦК15, ЦК16, ЦК17, ЦК18, ЦК19, ЦК20 (Moll et al, 1982). Їхня молекулярна маса зменшується зі збільшенням порядкового номера: нейтральні цитокератини мають молекулярну масу в діапазоні 53–68 кДа, кислі – 40–56 кДа. Така дуалістична природа цих протеїнів має важливе функціональне призначення. Більшість інтермедіальних філаментів утворюється шляхом поетапного поєднання мономерів до утворення ниток довжиною 10 нм (Havryliak et al, 2020).

Цитокератини типу I і II здатні до утворення гетеродимерів та олігомерів, що приймають участь у формуванні мережі філаментних структур на периферії клітин, надаючи їм механічної міцності. Деагрегація цієї мережі та можливість повторного складання відображає здатність кератинів реагувати на зміну функціональних потреб клітин (Chan et al, 2018). Процеси складання та деагрегації кератинової мережі регулюється посттрансляційними модифікаціями, зокрема сайт-специфічним фосфорилуванням (Snider et al, 2014; Sawant et al, 2017).

Відмінність у формуванні цитокератинів від інших протеїнів інтермедіальних філаментів полягає в тому, що вони збираються в облігатні нековалентні гетеродимери, що містять один цитокератин типу I та один цитокератин типу II у стехіометричних кількостях. Димеризація між цитокератинами одного типу призводить до їх швидкої деградації, підтверджуючи перевагу зв'язку між філаментами типу I і типу II. Два гетеродимери взаємодіють антипаралельно та формують гетеротетраметри, а вони, шляхом полімеризації, утворюють філаментні структури довжиною 8–12 нм (рис. 2).

Це, так званий, процес самоскладання *in vitro*. Нитки філаментів простягаються від ядра клітини до її периферії, утворюючи сітку, що надає клітинам міцності (Barak et al, 2004; Kurburich et al, 2021).

Фосфорилування є основним механізмом формування інтермедіальних філаментів. Процес фосфорилування ІФ регулюється вели-

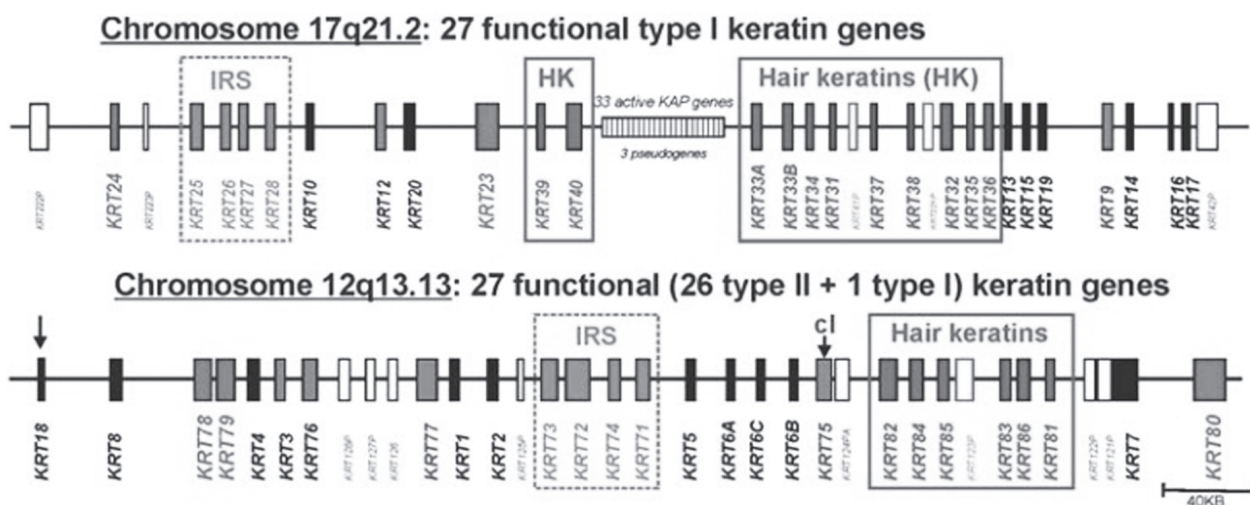


Рис. 1. Організація генів кератинів у геномі людини (Moll et al, 2008)

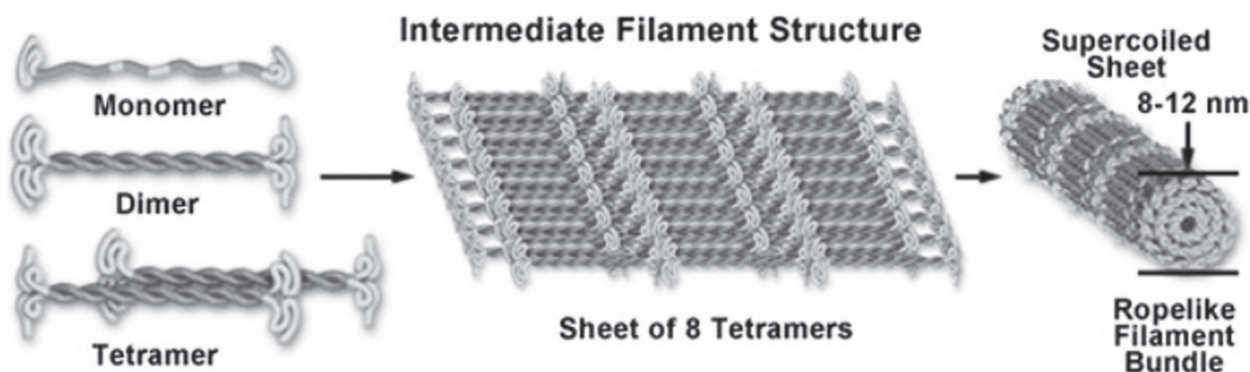


Рис. 2. Утворення філаментних структур (Davidson M. W. Intermediate Filaments [Electronic source]. Link: <http://micro.magnet.fsu.edu/cells/intermediatefilaments/intermediatefilaments>)

кою кількістю таких ферментів, як кінази та фосфатази. Цитокератини володіють великою кількістю сайтів фосфорилювання, що дозволяє ІФ швидко розпадатися на розчинні поодинокі нитки та повторно збиратися в нерозчинні філаментні нитки довжиною в 10 нм. Окрім цього, в результаті фосфорилювання нові субодиниці ІФ можуть включатися в будь-якому місці вздовж ниток ІФ. Це так званий «динамічний обмін субодиницями». Ця здатність відповідає за стресостійкість клітини, розташування органел та є важливою при поділі клітини (рис. 3) (Snider et al, 2014).

Відомо, що фосфорилювання цитокератину 8 в ділянці род-домени сприяє нерозчинності кератину та правильному формуванню філаментів (Snider et al, 2014).

Цитокератини мають схожу структуру до інших протеїнів інтермедіальних філаментів. Ланцюги цитокератинів, незалежно від типу, утворені трьома основними доменами: центральним α -спіральною род-доменом та двома неспіральними N- та С-термінальними доменами (рис. 4). Центральний род-домен містить консервативну послідовність зі 310–315 амінокислот та відповідає за димеризацію та високо впорядковану полімеризацію. Цей домен, в свою чергу, також може бути розділеним на 4 домени – 1A, 1B, 2A, 2B. Альфа-спіраль род-домени містить амінокислотні повтори, в яких 1 та 4 залишки є гідрофобними і розташовуються близько один до одного на поверхні спіралі і включають 2 сусідні поліпептиди для формування згорнутої котушки.

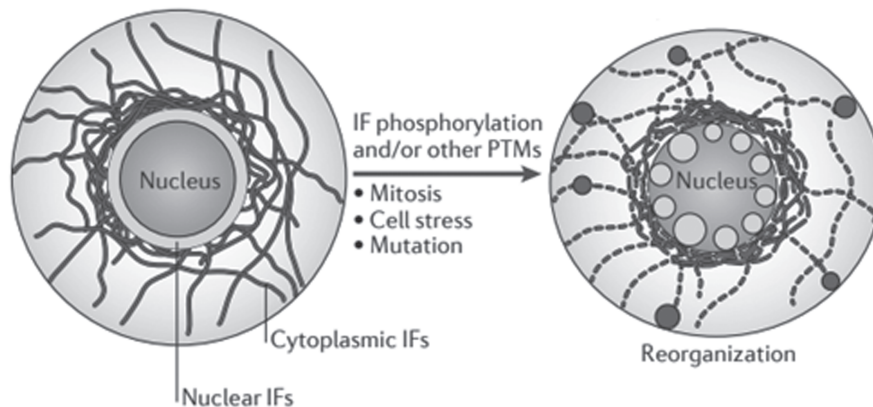


Рис. 3. Реорганізація ниток інтермедіальних філаментів (Snider et al, 2014)

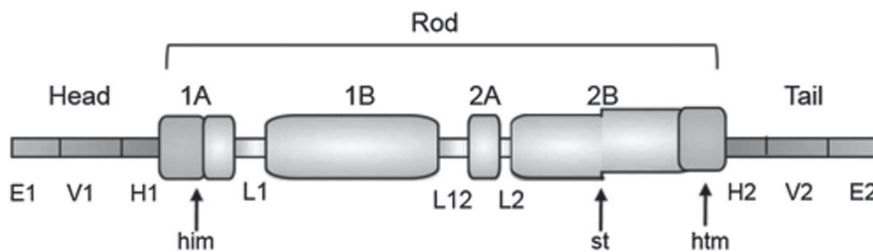


Рис. 4. Схематичне зображення вторинної структури цитокератинів (Dmello et al, 2019)

Домени 1A, 1B, 2A, 2B розділені неспіралізованими лінкерними доменами L1, L12 та L2. Багаті на гліцин та пролін L1 та L12 більш ефективно розкручують α -спіраль, ніж багатий на гліцин L2 (Awasthi et al, 2016).

Посттрансляційні модифікації центрального домену спостерігаються рідко, але повідомляється про низку таких модифікацій як для N-, так і для C-кінцевих доменів (Strelkov et al, 2003; Barak et al, 2004). Наприклад, генетичний та молекулярний аналізи демонструють, що точкові мутації N-, та C-кінцевих доменів призводять до таких аутоімунних захворювань шкіри, як бульозний епідермоліз та пальмоплантарна кератодермія (Vaidya et al, 2007; Dmello et al, 2019).

Встановлено певні загальні принципи експресії генів кератинів, проте важливою особливістю є те, що хоча б один член кожного підтипу цитокератинів завжди коекспресується в будь-якій конкретній епітеліальній тканині. Різні гени кератинів експресуються на різних етапах розвитку епітеліальних клітин під час ембріогенезу. Експресія цитокератинів є органоспецифічною (Kumar et al, 2018), залежить

від типу епітеліальних клітин, ступеня диференціювання та розвитку тканини (Barak et al, 2004). Аномальна експресія або дисбаланс пар цитокератинів типу I і II призводить до резистентності до ліків, посилення диференціації клітин, порушення відновлення тканин та інших патологічних станів (Bambang et al, 2009).

В таблиці подано інформацію про найважливіші функції певних типів цитокератинів, про які більш детально йдеться в наступному розділі статті.

Особливі функції цитокератинів. Захист від стресу

Цитокератиновий скелет захищає клітини від механічного стресу шляхом формування 3-D комплексу з протеїнами гемідесмосом та десмосом. Дослідження на мишачих гепатоцитах, що синтезують кератини з мутованими сайтами фосфорилювання, підтверджують механічну стійкість цих клітин після перфузії печінки. Автори дослідження вважають, що ЦК 8 і 18, хоча не виключено, що і інші кератини можуть теж виконувати функцію так званої «губки» для стрес-активованих фосфо-

кіназ. В нормі, міграція епітеліальних листів є важливим процесом у морфогенезі та відновленні тканин, що передбачає підтримання контакту між клітинами. Зв'язок цитокератинів з гемідесмосомами та десмосомами сприяє клітинній адгезії та зв'язку клітин зі сполучною тканиною. Однак, процес міграції епітеліальних клітин також стимулює метастазування пухлинних клітин (Moll et al, 2008; Awasthi et al, 2016).

Цитокератини зв'язуються з несприном 3 – протеїном ядерної оболонки, який відповідає за зв'язок ядерної пластинки з цитоскелетом. Як зазначалося вище, на клітинній мембрані цитокератини зв'язуються з десмосомами. Таким чином, утворюється цитокератинова мережа, яка поєднує ядро з цитоплазмою, тим самим підтримуючи стресостійкість клітин (Kuburich et al, 2021).

Участь цитокератинів в апоптозі

Як вже зазначалося, цитокератини відповідають за апоптоз клітини. Зокрема, деякі автори повідомляють про те, цитокератини 8 і 18 захищають клітини раку молочної залози

від TRAIL-індукованого апоптозу (Bozza et al, 2018). Відомо, що TRAIL індукує апоптоз шляхом залучення членів 10A та 10B надсімейства фактора некрозу пухлин (TNFRSF10A та TNFRSF10B відповідно). Дослідження, спрямовані на розробку препаратів для стимуляції апоптозу для лікування раку, тривали більше 10 років. На жаль, ці препарати продемонстрували лише обмежений терапевтичний ефект, здебільшого через резистентність пухлини. Механізм виникнення цієї резистентності ще не визначений. Дослідженнями встановлено, що цитокератини 8 і 18, негативно регулюють апоптоз, індукований TRAIL. Рівні цитокератинів 8/18 стабільно вищі в клітинах, стійких до TRAIL, порівняно з TRAIL-чутливими клітинами в панелі клітинних ліній раку молочної залози. Блокада цитокератину 8 збільшувала експресію TNFRSF10B на поверхні клітин-мішеней і сенсibilізувала клітини до апоптозу, індукованого TRAIL. І навпаки, ектопічна експресія цитокератинів 8/18 зменшувала експресію протеїнів TNFRSF10B. З цього можна зробити висновок, що цитокератини 8/18 негативно регулюють передачу сигналів апоп-

Основні функції цитокератинів

Функція	Тип цитокератину	Посилання
Захист від стресу	ЦК 8, 18	Moll et al, 2008; Awasthi et al, 2016; Kuburich et al, 2021
Участь цитокератинів у апоптозі	ЦК 8, 18	Ueno, 2005; Ohman et al, 2010; Bozza et al, 2018; Chen, 2021
Роль цитокератинів у діагностиці раку	ЦК 5, 6, 8, 18, 19, 20	Ueno, 2005; Alam et al, 2011; Ju et al, 2013; Iyer et al, 2013; Choi et al, 2014; Toivola et al, 2015; Zhang et al, 2016; Seiler et al, 2017; Kumar et al, 2018; Dmello et al, 2019; Calvete et al, 2019
Роль цитокератинів у діагностиці непухлинних захворювань	ЦК 7, 8, 18	Zatloukal et al, 2004; Toivola et al, 2004; Guy et al, 2012; Kucukoglu et al, 2014; Toivola et al, 2015
Роль цитокератинів у клітинній проліферації	ЦК 10, 13, 16, 19	Paramio et al, 1999; Santos et al, 2002; Sharma et al, 2019
Антибактеріальна активність цитокератинів	ЦК 6A	Bernerdt et al, 1993; Jiang et al, 1993; Komine et al, 2001; Tam et al, 2012; McCarthy et al, 2015; Chan et al, 2018
Участь цитокератинів у процесі загоєння ран	ЦК 6, 14, 16, 17	Wong et al, 2003; Raja et al, 2007; Takayama, 2012; Kanapathy et al, 2017; Zhang et al, 2019; Kanapathy et al, 2021
Роль цитокератинів в клітинній адгезії	ЦК 19	Alsharif et al, 2021

тозу через TNFRSF10B в клітинах раку молочної залози (Bozza et al, 2018).

Також були проведені дослідження на здатність цитокератину 18 регулювати апоптичну активність клітин раку шлунка (Chen, 2021). Було виявлено підвищену експресію цитокератину 18 у пухлинних клітинах. Згідно з даними Chen та співавторів, цитокератин 18 здатен пригнічувати проліферацію і сприяти апоптозу в клітинах аденокарциноми шлунка.

Під час апоптозу клітина зазнає значних змін внаслідок реорганізації цитоплазматичного та ядерного скелету. Дослідженнями встановлено, що під час фракціонування клітини внаслідок вірусної інфекції цитокератини накопичуються на мітохондріях. Цитокератини типу I під час апоптозу піддаються деградації, що призводить до загального розпаду цитокератинових філаментів на великі агрегати, втрати внутрішньоклітинних контактів та відділення клітин від субстратів. Тому не виключено, що реорганізація цитокератинової мережі також бере участь в регуляції клітинної смерті під час вірусної інфекції (Ohman et al, 2010).

Зокрема повідомляється про можливість використання моноклонального антитіла M30 для виявлення апоптичних клітин імуногістохімічними методами. На ранніх стадіях апоптозу цитокератин 18 розщеплюється за допомогою каспаз на три фрагменти. M30 розпізнає неопітоп розщепленого каспазою цитокератину 18 і не розпізнає нативні чи інтактні цитокератини (Ueno, 2005).

Участь цитокератинів у діагностиці раку

Різні види цитокератинів по-різному експресуються в епітеліальних клітинах та відіграють певну роль у їх диференціації. Ця особливість є важливою для діагностування пухлин (Kumar et al, 2018).

Обмежений розподіл цитокератинів у епітелії дозволяє використовувати протеїни для моніторингу раку епітеліального походження. Встановлено, що тканинний поліпептидний антиген (ТПА), що являє собою протеїновий комплекс, ізольований з нерозчинної фракції ракових тканин, містить гомологічні послідовності з протеїнами інтермедіальних філаментів та спільний епітоп з цитокератинами. У

1984 р. ТПА було віднесено до комплексу фрагментів цитокератинів 8, 18 та 19. Згодом зроблено більш специфічні маркери. Наприклад, тканинний поліпептид-специфічний антиген визначає структуру епітопу цитокератину 18 (Ueno, 2005).

Отже, для кращого розуміння змін цитокератинових структур під час трансформації епітеліальних клітин та утворення пухлин необхідне поглиблене дослідження молекулярних регуляторних механізмів експресії ЦК (Awasthi et al, 2016).

ЦК найчастіше використовують, як діагностичні маркери, проте, накопичені наукові дані вказують на їх не меншу важливість, як прогностичних маркерів та активних регуляторів епітеліального пухлиноутворення та чутливості до лікування. Експресія цитокератинів 23, 24, 78, 79, 80 залишається нез'ясованою (Kumar et al, 2018).

Епітеліальна специфічність ЦК, їх здатність до розщеплення під дією каспаз цікавить дослідників в першу чергу в якості біомаркерів. Хоча є поодинокі дані, які свідчать про те, що високий рівень ЦК, розщеплених каспазою, пов'язаний з великим розміром пухлин, рецидивним пухлиноутворенням (як у випадку з раком молочної залози) та з низьким рівнем виживання пацієнтів (як у випадку з раком легень). Однак, досі не досліджено зв'язок між ЦК 18, розщепленими каспазами, та прогнозуванням перебігу лікування раку. Так само незрозуміло, чи ЦК, розщеплені каспазами та виявлені в кровеносній системі, походять з клітин пухлини, які гинуть в кровеносній системі, чи з вмираючих клітин тканин (Linder, 2007).

На сьогодні недостатньо зрозумілою залишається роль ЦК 18 в пухлинних утвореннях тканин зі змінною експресією цього ЦК. Наприклад, як у випадку з раком печінки та сечового міхура (Menz et al, 2021).

Спірним залишається також прогностичний потенціал ЦК 18 при раку молочної залози. Є дані, які свідчать, що втрата експресії ЦК 18 є ознакою поганого прогнозу перебігу раку молочної залози. Інші автори стверджують, що підвищення рівня ЦК 18 пов'язане із запущеною стадією раку (Yang et al, 2018).

Так, зокрема автори (Yang et al, 2018) показали, що висока експресія ЦК 18 суттєво

пов'язана з позитивною експресією рецептора прогестерону (PR) та рецептора 2 епідермального фактора росту (HER2), що вказує на метастатичне прогресування раку молочної залози. З іншого боку, висока експресія ЦК18 у сироватці крові свідчила про поганий прогноз щодо лікування хворих на рак молочної залози, тоді як підвищений рівень експресії ЦК18 в тканинах був пов'язаний зі сприятливим прогнозом у хворих на рак.

Zhang зі співавторами встановили, що цитокератин 18 відіграє важливу роль у прогресуванні раку легень і може бути терапевтичною мішенню для недрібноклітинного раку легень. Висока експресія ЦК18 була виявлена у 101 зі 129 досліджуваних випадків раку легень. Автори статті відзначають суттєву кореляцію між експресією ЦК18 та клінічною стадією, метастазами у лімфатичні вузли та рецидивом раку легень. Встановлено, що блокування ЦК18 зменшує міграцію клітин і підвищує чутливість клітин раку легень до паклітакселу (Zhang et al, 2016).

Є дані, що виявлення за допомогою ІФА загального та розщепленого рівня ЦК18 на різних етапах лікування раку шлунково-кишкового тракту можуть бути хорошим інструментом моніторингу захворювань на рак травної системи. Відомо, що виявлення фрагментів ЦК за допомогою моноклональних антитіл М30 і М65 свідчать про поганий прогноз у хворих на рак травної системи. У випадку метастазованих або прогресуючих пухлини прогностичне значення має лише М30 (Huang et al, 2019).

Відомо, що сироватковий карциноембріональний антиген (СЕА) і фрагмент цитокератину 19 (CYFRA 21-1) є важливими маркерами в діагностиці недрібноклітинного раку легень. Метааналіз 2063 пацієнтів з недрібноклітинним раком легень будь-якої стадії показав, що високий рівень CYFRA 21-1 до лікування був несприятливим прогностичним фактором незалежно від запланованого лікування (Baek et al, 2018).

Дослідження ролі цитокератинів у адгезії, міграції та інвазії ракових клітин дозволяють спеціально націлювати кератини та пов'язані з ними молекули для лікування раку. Залежно від типу тканини, кератини можуть як сти-

мулювати, так і пригнічувати ріст пухлин (Dmello et al, 2019). Наприклад, зниження експресії цитокератину 19 у клітинах раку молочної залози посилює їх проліферацію та міграцію. В цьому випадку, цитокератин 19 функціонує, як репресор пухлини (Ju et al, 2013). Пара цитокератинів 8 і 18 відіграє значну роль у модуляції $\alpha 6 \beta 4$ інтегрин-опосередкованої передачі сигналів для модуляції рухливості клітин, клітинної інвазії, що посилюють утворення пухлин у ротовій порожнині людини. У цьому дослідженні, зниження регуляції цитокератину 8 в клітині, отриманій з клітинної лінії плоскоклітинного раку порожнини рота, призвело до зниження рівня інтегрину $\alpha 6 \beta 4$, наступних ефекторів $\beta 4$ інтегрин-опосередкованої сигналізації та актин-зв'язуючого протеїну, фасцину (Alam et al, 2011). У змішаному епітелії, наприклад епітелії молочних залоз, цитокератини 8/18 відіграють іншу роль. Зниження експресії пари 8/18 у клітинах MDAMB468, неінвазивних клітинах, отриманих з пухлини молочної залози, призводило до зростання міграції ракових клітин та інвазії *in vitro* (Iyer et al, 2013).

Цитокератини 5, 6 та 20 теж можна використовувати для діагностування раку. Одночасна імуногістохімічна оцінка фібробластасоційованих протеїнів у злоякісних фібробластах та цитокератинів 5, 6 і 20 у неопластичних клітинах може бути основним інструментом для оцінки перебігу хвороби у пацієнтів з раком сечового міхура високого ступеня тяжкості з радикальною цистектомією (Calvete et al, 2019). Молекулярна таксономія раку сечового міхура залежить від типу цитокератинів, які експресують пухлини – цитокератини 5, 6 чи 20, а також від резистентності до цисплатин-індукованого апоптозу (Choi et al, 2014). Ідентифікація молекулярного підтипу раку сечового міхура дозволяє краще підібрати метод лікування та раціональніше підбирати хіміотерапію для таких пацієнтів (Choi et al, 2014; Seiler et al, 2017).

Окрім діагностики та класифікації пухлин, цитокератини надають інформацію про їх поширення. За допомогою методу одноетапної ампліфікації нуклеїнових кислот можна виявити експресію мРНК цитокератину 19 у кістковому мозку. Також відомо, що цитокератини

є маркерами для виявлення циркулюючих пухлинних клітин у крові (Toivola et al, 2015).

Роль цитокератинів у діагностиці непухлинних захворювань

Диференційовані гепатоцити у нормі експресують лише цитокератини 8 і 18 у еквімолярних співвідношеннях, що утворюють у клітині мережу інтермедіальних філаментів. Варто зазначити, що інтермедіальні філаменти – це основні клітинні структури гепатоцитів, що в першу чергу уражаються при хронічних захворюваннях печінки. Дещо складніша модель експресії цитокератинів спостерігається у жовчних протоках. Окрім цитокератинів 8 і 18 у клітинах жовчних проток експресуються цитокератини 7 і 19. Проте, при деяких захворюваннях печінки у гепатоцитах спостерігається експресія інших цитокератинів (Zatloukal et al, 2004).

Аберантна експресія цитокератину 7 у гепатоцитах свідчить про хронічний холестаз, що важливо для діагностики первинного міліарного цирозу печінки. Зокрема, повідомляється про підвищену експресію цитокератину 7 у випадку гострого алкогольного гепатиту з швидким летальним ефектом (Toivola et al, 2015).

Надэкспресія кератинів спостерігається при різних захворюваннях печінки. Це призводить до порушення балансу між цитокератинами 8 і 18, а саме до збільшення цитокератину 8. У результаті цього дисбалансу утворюються тільки Меллорі-Денка, що по своїй суті є агрегатами неправильно згорнутих цитокератинів 8/18, які характерні для алкогольного та неалкогольного стеатогепатозу. Кератини тілець Меллорі-Денка характеризуються зміненою молекулярною структурою, на відміну від кератинів інтермедіальних філаментів. Ці зміни полягають у активнішій фосфорилляції, конформаційних змінах з утворенням β-листів та перехресне зшивання. Гіперфосфорилування цитокератинів 8/18 є маркером захворювання на хронічний гепатит С (Toivola et al, 2004). Згідно з літературними даними, в експериментах на мишах показано, що нокдаун цитокератину 8 унеможлилював утворення тілець Меллорі-Денка, в той час як при нокдауні цитокератину 18 спостерігалось спон-

танне утворення тілець навіть у мишей у пізньому віці (Kucukoglu et al, 2014; Zatloukal et al, 2004).

Руйнування ниток цитокератинів 8 і 18 у клітинах печінки є маркером захворювання на алкогольний або неалкогольний стеатогепатоз. Гепатоцити у стані балонної дистрофії є важливою характеристикою неалкогольної жирової хвороби печінки. Про наявність таких змінених гепатоцитів свідчить втрата цитокератинів 8 та 18, які не зафарбовуються. Тому фарбування цитокератинів 8/18 використовують для оцінки ураження печінки (Guy et al, 2012).

Участь цитокератинів у поділі клітин

Під час поділу клітини філаментні нитки цитокератинів реорганізуються. Цей процес регулюється за допомогою фосфорилування-дефосфорилування. Процес фосфорилляції відбувається на N-термінальному кінці цитокератину та каталізується кіназами CDK1, Aurora-B та Rho. Неушкоджена мережа цитокератинів релокалізується, в той час як інші цитокератини солюбілізуються у вогнищах концентрованих цитокератинових гранул. Результат цього процесу залежить від експресії кіназ чи від типу цитокератинів, що експресуються в клітині (Kuburich et al, 2021).

Участь цитокератинів у клітинній адгезії

Мережа цитокератинів виконує важливу функцію при підтриманні клітинної адгезії в епітеліальних листках. Філаменти цитокератину зв'язуються з десмоплакіном – основним протеїном демосом, що відповідає за клітинну адгезію, зокрема за адгезію епітеліальних клітин, утворення адгезійних бляшок та приєднання інтермедіальних філаментів до демосом. Взаємодія філаментів цитокератину з десмосомами важлива для підтримання форми клітин та полегшення міжклітинних контактів (Lowery et al, 2015).

Цитокератини також пов'язані з іншим протеїном, що відповідає за клітинну адгезію, а саме з E-кадгеріном. В цьому випадку, цитокератини забезпечують правильну локалізацію E-кадгерину – молекули адгезії, яка функціонує для підтримки міжклітинних контактів. E-кадгерин локалізується на базолатеральній частині клітинної мембрани та утворює адге-

живні з'єднання і служить для передачі сигналів. Порушення утворення цитокератинів призводить до неправильної локалізації E-кадгерину, що проявляється у втраті полярності клітин (Shafraz et al, 2018; Kuburich et al, 2021).

В науковій літературі також повідомляється про зв'язок цитокератину 19 та плакоглобіну – іншого протеїну, що задіяний у процесах клітинної адгезії. Автори експериментів на ракових клітинах молочної залози виявили, що в клітинах, в яких відсутні цитокератини 19, порушується експресія плакоглобіну та знижується рівень E-кадгерину на поверхні клітин. Варто зазначити, що згідно з результатами авторів Alsharif et al, саме цитокератини 19 відповідають за стабілізацію комплексу E-кадгерину в клітинній мембрані. Як вже зазначалося вище, E-кадгерин є важливим для підтримання клітинної адгезії (Alsharif et al, 2021).

Роль цитокератинів у клітинній проліферації

Згідно з дослідженнями встановлено, що примусова експресія певних цитокератинів впливає на регуляцію клітинної проліферації. Зокрема, повідомляється про здатність цитокератину 10 пригнічувати, а цитокератину 16 посилювати проліферацію клітин. В експериментах використовувалися лінії людських кератиноцитів HaCaT, які трансфікували плазмідами, що кодують ЦК 10, 13, 14, 16. Згідно з отриманими результатами ЦК 10 і 13 пригнічують ріст клітин. ЦК 16 навпаки посилюють проліферацію клітин. ЦК 14 істотно не впливають на проліферативну активність клітин. Відмінність у впливові ЦК 10 і 16 на проліферацію клітин, зокрема проявляється у розмірах колоній клітин. Колонії клітин, трансфікованих ЦК 10 були значно меншими, ніж колонії клітин трансфікованих ЦК 16. Вплив ЦК 10 і 16 на клітинну проліферацію свідчить про те, що цитокератини впливають на клітинний цикл під час переходу від фази G1 до S (Paramio et al, 1999).

У досліджах на клітинних лініях мишей встановлено, що модуляція росту клітин за участю ЦК 10 пов'язана з протеїном ретинобластоми та експресією цикліну D1. Ектопічна експресія ЦК 10 призводить до порушення передачі сигналів фосфоінозитид-3-кінази – ключового фермента Akt/PKB сигнального шляху,

що відповідає за виживання та ріст клітин. Таким чином, у трансгенних мишей, в яких експресія гену людського ЦК 10 була спрямована на базальний шар епідермісу за участю промотора бичачого цитокератину 5, спостерігалися зміни у проліферації клітин епідермісу. Ці зміни, зокрема, проявлялися в пригніченні утворення пухлин *in vivo* (Santos et al, 2002).

В дослідженні на лінії генетично сконструйованих клітин MCF7 було доведено важливість цитокератину 19 у процесах проліферації клітин. Було використано два клони KRT 19 KO – KO1 і KO2. Автори дослідження за допомогою системи CRISPR/Cas-9 досягли втрати експресії ЦК 19, що було підтверджено за допомогою вестерн-блоттингу та кількісного RT-PCR. Згідно з результатами експерименту, втрата експресії була специфічною лише для ЦК 19, в той час як експресія ЦК 8 і 18 залишалася незмінною в клітинах MCF7. Встановлено, що клітини лінії KRT 19 KO при культивуванні характеризувалися суттєвим зниженням проліферації та метаболічної активності у порівнянні з батьківською лінією (Sharma et al, 2019).

Автори вказують, що вплив ЦК19 на програму клітинного циклу реалізується через його взаємодію з цикліном D3, а втрата ЦК19 призводить до зниження стабільності цього білка та чутливості клітин до індукованої інгібітором циклін-залежних кіназ (CDK) загибелі. Тому існує думка, що ЦК19 можна використовувати для прогнозування ефективності інгібіторів CDK при лікуванні раку молочної залози (Sharma et al, 2019).

Антибактеріальна активність цитокератинів

Першим захисним бар'єром організму проти патогенних елементів є епітеліальні покриви. Епітеліальні клітини експресують протеїни, що володіють антимікробними властивостями. Ця здатність забезпечується епітеліальними цитокератинами, що функціонують як антимікробні пептиди ендogenous походження та відіграють важливу роль у епітеліальному вродженому імунітеті (Tam et al, 2012).

Зокрема, відомо що цитокератин 6A виробляє протимікробні пептиди. У бактерицидному лізаті з фракції клітин рогики ока людини були виявлені C-термінальні фрагменти цито-

кератину 6A. Ці фрагменти містять велику кількість амінокислоти гліцину. Встановлено, що заміна гліцину на аланін у 2 та 8 позиціях знижує антибактеріальну активність фрагментів цитокератинів. Цей факт пояснюється тим, що гліцин надає цитокератинам високу структурну гнучкість, що забезпечує антибактеріальну дію молекул. Проте, на антибактеріальні властивості С-термінальних фрагментів не впливає заряд цих пептидів та немає жорстких вимог до їх вторинної структури. Цитокератини 6A зв'язуються з *P. aeruginosa* та пригнічують рухливість бактерій. Блокування цього типу цитокератинів знижує антибактеріальну дію лізатів епітеліальних клітин *in vitro*, окрім цього спостерігалось збільшення прилипання бактерій до рогики ока мишей *in vivo* (Tam et al, 2012).

У відповідь на бактеріальні ліганди, а саме флагелін, полісахариди та ліпоейхоеву кислоту, в рогиці ока людини відбувається ремоделювання цитокератину 6A, що контролюється убіквітин-протеасомною системою та посттрансляційними модифікаціями. Внаслідок цього ремоделювання у цитозолі утворюються вільні розчинні цитокератини 6A та кератинові антимікробні пептиди. На год-домені цитокератину 6A відбувається активне фосфорилування залишків серину, що спровоковане контактом з бактеріальними лігандами. Відомо, що експресія цитокератину 6A збільшується під впливом інтерлейкіну 1, фактору некрозу пухлин, трансформуючого фактору росту альфа та епідермального фактору росту, а активність протеосом збільшується під дією інтерферону гамма та інтерферону типу I. Розуміння цих механізмів стає підґрунтям для стимуляції експресії цитокератину 6A та активності протесом, як терапевтичного методу для покращення імунної відповіді організму у боротьбі з інфекціями (Bernerd et al, 1993; Jiang et al, 1993; Komine et al, 2001; McCarthy et al, 2015; Chan et al, 2018).

Участь цитокератинів у загоєнні ран

Загоєння ран включає в себе три основні етапи: запалення, формування тканини та реепітелізація і тканинне ремоделювання (Kurokawa et al, 2006).

Експресія цитокератинів клітинами пошкодженого та інтактного епідермісу відрізня-

ється. До прикладу, клітини інтактного епідермісу експресують цитокератинові пари 5 і 14 та 1 і 10. Внаслідок пошкодження тканини спостерігається активна експресія цитокератинів 6, 16 та 17. Окрім місць загоєння ран та при різних захворюваннях шкіри, цитокератин 6 активно експресується в гіперпроліферативних ракових клітинах. Активація цитокератинів 6 та 16 може бути викликана інтерлейкіном 1, епідермальним фактором росту, трансформуючим фактором росту альфа та фактором некрозу пухлин (Takayama, 2012). Згідно з літературними даними, в досліджах на мишах встановлено, що недостатня експресія цитокератину 6 призводить до дефектного загоєння ран (Wong et al, 2003).

Надекспресія цитокератину 16 в кератиноцитах призводить до реорганізації кератинових ниток. Цей процес залежить від тривалості та концентрації Кальцію. Дослідженнями встановлено зв'язок між активацією експресії цитокератину 17 та ростом кератиноцитів раневого ложа у мишей. Цитокератин 17 є найважливішим для загоєння ран, він забезпечує виживання кератиноцитів. У відповідь на пошкодження кератиноцити починають проліферувати та мігрувати до пошкодженої ділянки для того щоб новий епітелій покрив рану (Raja et al, 2007). Експресія цитокератину 17 особливо активізується у впродовж першої години після поранення та продовжує збільшуватися до повного покриття раневого ложа. Цьому сприяє застосування антиоксидантів при лікуванні ран (Zhang et al, 2019).

Для пришвидшення загоєння ран використовують шкірні та епідермальні трансплантати. Механізм загоєння ран за допомогою шкірного трансплантата добре вивчений, на відміну від механізму дії епідермального. Відомо, що при використанні епідермального трансплантата ключовими є три процеси: активація кератиноцитів, секреція фактора росту та реепітелізація з краю рани (Kanapathy et al, 2017).

Важливою ознакою успішного загоювання є інтеграція трансплантата в раневе ложе. Ця інтеграція підтверджується наявністю маркерів кератиноцитів, а саме цитокератинів 6 та 14 у раневому ложі. Повідомляється, що цитокератини експресувалися у всіх раневих ложах за використання шкірних трансплантатів, та

були відсутніми за використання епідермальних трансплантатів. Це свідчить про відсутність інтеграції епідермального трансплантата з раневим ложем. Та не зважаючи на те, епідермальний трансплантат пришвидшує загоєння рани від її країв через активацію раневого ложа, що супроводжується міграцією кератиноцитів від країв крани (Капарату ет ал, 2021).

У підсумку, літературні дані свідчать, що застосування цитокератинів як маркерів багатьох процесів є результатом досягнення значного прогресу у вивченні біології цих протеїнів. Патерни експресії цитокератинів залежать від типу епітеліальної тканини та її диференціації. Дуже часто в науковій літературі трапляються суперечливі дані щодо застосування певних типів ЦК як прогностичних та діагностичних маркерів. Тому, подальші дослідження цитокератинів значно розширяють наші можливості в діагностиці багатьох патологій, пов'язаних з епітеліальною тканиною.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Це дослідження не отримувало будь-якого конкретного гранту від фінансуючих установ в державному, комерційному або некомерційному секторах.

THE ROLE OF CYTOKERATINS IN ENSURING THE BASIC CELLULAR FUNCTIONS AND IN DIAGNOSIS OF DISORDERS

V.V. Mykhaliuk, V.V. Havryliak, Y.T. Salyha

Institute of Animal Biology NAAS, 38 Stus street, Lviv 79034, Ukraine

Lviv Polytechnic National University, Institute of Chemistry and Chemical Technologies, 3/4 St Yura Square, Lviv 79013, Ukraine

E-mail: vasylyna.v.m@gmail.com,

vitahavryliak@gmail.com, yursalyha@yahoo.com

Cytokeratins are a large group of intermediate filament proteins that form the cytoskeleton of epithelial cells and their appendages (hair, nails). Biochemically, cytokeratins are divided into two main types: acidic and basic. Each cytokeratin pair necessarily contains both acidic and basic cytokeratins in equimolar amounts. This significantly distinguishes cytokeratins from other intermediate filament proteins and is essential for proper organization of the cytoskeleton. Cytokeratins also provide signaling in the cell and participate in cell-cell adhesion, and apoptosis. Today, the general

principles of cytokeratin expression at different stages of epithelial cell development are known. The expression of cytokeratins is organ-specific, depending on the type of epithelial cells, the degree of differentiation, and tissue development. Therefore, the cytokeratins profile can be used to diagnose various pathological processes. Special attention in the review is paid to cytokeratins 8, 18, and 19 as possible biomarkers of carcinogenesis.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Alam H, Kundu ST, Dalal SN, Vaidya MM (2011) Loss of keratins 8 and 18 leads to alterations in $\alpha\beta 4$ -integrin-mediated signalling and decreased neoplastic progression in an oral-tumour-derived cell line. *J Cell Sci* <https://doi.org/10.1242/jcs.073585>.
- Alsharif S, Sharma P, Bursch K, Milliken R, Lam V, Fallatah A, Chung BM (2021) Keratin 19 maintains E-cadherin localization at the cell surface and stabilizes cell-cell adhesion of MCF7 cells. *Cell Adhesion & Migration* 15:1–17. <https://doi.org/10.1080/19336918.2020.1868694>.
- Awasthi P, Thahriani A, Bhattacharya A (2016) Keratins or cytokeratins – a review article. *J Advan Med Dental Sci Res* <https://doi.org/10.21276/jamdsr.2016.4.4.30>.
- Baek AR, Seo HJ, Lee JH et al (2018) Prognostic value of baseline carcinoembryonic antigen and cytokeratin 19 fragment levels in advanced non-small cell lung cancer. *Cancer Biomarkers* 22(1):55–62.
- Bambang IF, Lu D, Li H, Chiu LL, Lau QC, Koay E, Zhang D (2009) Cytokeratin 19 regulates endoplasmic reticulum stress and inhibits ERp29 expression via p38 MAPK/XBP-1 signaling in breast cancer cells. *Experim Cell Res* 315:1964–1974. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2009.02.017>.
- Barak V, Goike H, Panaretakis KW, Einarsson R (2004) Clinical utility of cytokeratins as tumor markers. *Clin Biochem* 37:529–540. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2004.05.009>.
- Bernerd F, Magnaldo T, Freedberg IM, Blumenberg M (1993) Expression of the carcinoma-associated keratin K6 and the role of AP-1 proto-oncoproteins. *Gene Expr* 3:187–199.
- Bozza WP, Zhang Y, Zhang B (2018) Cytokeratin 8/18 protects breast cancer cell lines from TRAIL-induced apoptosis. *Oncotarget* <https://doi.org/10.18632/oncotarget.25297>.
- Calvete J, Larrinaga G, Errarte P, Martn AM, Dotor A, Esquinas C, Angulo JC (2019) The coexpression of fibroblast activation protein (FAP) and basal-type markers (CK 5/6 and CD44) predicts prognosis in high-grade invasive urothelial carcinoma of the bladder. *Hum Pathol* 91:61–68. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2019.07.002>.
- Chan JK, Yuen D, Too M, Sun Y, Willard B, Man D, Tam C (2018) Keratin 6a reorganization for ubiquitin-proteasomal processing is a direct antimicro-

- bial response. *J Cell Biol* 217:731–744. <https://doi.org/10.1083/jcb.201704186>.
- Chen B, Xu X, Lin DD, Chen X, Xu YT, Liu X, Dong WG (2021) KRT18 modulates alternative splicing of genes involved in proliferation and apoptosis processes in both gastric cancer cells and clinical samples. *Front Genet* 12. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.635429>.
- Choi W, Czerniak B, Ochoa A, Su X, Siefker-Radtke A, Dinney C, McConkey DJ (2014) Intrinsic basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer. *Nature Reviews Urology* 11:400–410. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2014.129>.
- Choi W, Porten S, Kim S, Willis D, Plimack E, Hoffman-Censits J, McConkey DJ (2014) Identification of distinct basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with different sensitivities to frontline chemotherapy. *Cancer Cell* 25:152–165. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.01.009>.
- Dmello C, Srivastava SS, Tiwari R, Chaudhari PR, Sawant S, Vaidya MM (2019) Multifaceted role of keratins in epithelial cell differentiation and transformation. *J Biosci* 44:1–16. <https://doi.org/10.1007/s12038-019-9864-8>.
- Guy CD, Suzuki A, Burchette JL, Brunt EM, Abdelmalek MF, Cardona D (2012) Nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. Costaining for keratins 8/18 plus ubiquitin improves detection of hepatocyte injury in nonalcoholic fatty liver disease. *Human Pathol* 43:790–800. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2011.07.007>.
- Havryliak V, Mykhaliuk V (2020) The comparative analysis of the methods for keratin extraction from sheep wool and human hair. *Anim Biol* 22:9–12. <https://doi.org/10.15407/animbiol22.04.009>.
- Huang Y, Yang L, Lin Y, Chang X, Wu H, Chen Y (2019) Prognostic value of non-invasive serum Cytokeratin 18 detection in gastrointestinal cancer: a meta-analysis. *J Cancer* 10(20):4814.
- Iyer SV, Dange PP, Alam H, Sawant SS, Ingle AD, Borges AM, Shirsat NV, Dalal SN, Vaidya MM (2013) Understanding the role of keratins 8 and 18 in neoplastic potential of breast cancer derived cell lines. *PloS One* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053532>.
- Jacob JT, Coulombe PA, Kwan R, Omary MB (2018) Types I and II keratin intermediate filaments. *Cold Spring Harbor perspectives in biology* 10(4). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018275>.
- Jiang CK, Magnaldo T, Ohtsuki M, Freedberg IM, Bernerd F, Blumenberg M (1993) Epidermal growth factor and transforming growth factor alpha specifically induce the activation- and hyperproliferation associated keratins 6 and 16. *Proc Nat Acad Sci USA* 90:6786–6790. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.14.6786>.
- Ju JH, Yang W, Lee KM, Oh S, Nam K, Shim S, Shin I (2013) Regulation of cell proliferation and migration by keratin19-induced nuclear import of early growth response-1 in breast cancer cells. *Clin Cancer Res* 19:4335–4346. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-3295>.
- Kanapathy M, Hachach-Haram N, Bystrzonowski N, Becker DL, Mosahebi A, Richards T (2021) Epidermal graft encourages wound healing by down-regulation of gap junctional protein and activation of wound bed without graft integration as opposed to split-thickness skin graft. *Inter Wound J* 18:332–341. <https://doi.org/10.1111/iwj.13536>.
- Kanapathy M, Hachach-Haram N, Bystrzonowski N, Connelly JT, O'Toole EA, Becker DL, Richards T (2017) Epidermal grafting for wound healing: a review on the harvesting systems, the ultrastructure of the graft and the mechanism of wound healing. *Inter Wound J* 14:16–23. <https://doi.org/10.1111/iwj.12686>.
- Komine M, Rao LS, Freedberg IM, Simon M, Milisavljevic V, Blumenberg M (2001) Interleukin-1 induces transcription of keratin K6 in human epidermal keratinocytes. *J Invest Dermatol* 116:330–338. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2001.01249.x>.
- Kuburich NA, den Hollander P, Pietz JT, Mani SA (2021) Vimentin and cytokeratin: good alone, bad together. In *Seminars in cancer biology*. Acad Press <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2021.12.006>.
- Kucukoglu O, Guldiken N, Chen Y, Usachov V, El-Heliebi A, Haybaeck J, Strnad P (2014) High-fat diet triggers Mallory-Denk body formation through misfolding and crosslinking of excess keratin 8. *Hepatology* 60:169–178. <https://doi.org/10.1002/hep.27068>.
- Kumar A, Jagannathan N (2018) Cytokeratin: A review on current concepts. *Inter J Orofacial Biol* 2:6–11.
- Kurokawa I, Mizutani H, Kusumoto K, Nishijima S, Tsujita-Kyutoku M, Shikata N, Tsubura A (2006) Cytokeratin, filaggrin, and p63 expression in reepithelialization during human cutaneous wound healing. *Wound Repair Regenerat* 14:38–45. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2005.00086.x>.
- Laly AC, Sliogeryte K, Pundel OJ, Ross R, Keeling MC, Avisetti D, Waseem A, Gavara N, Connelly JT (2021) The keratin network of intermediate filaments regulates keratinocyte rigidity sensing and nuclear mechanotransduction. *Sci Adv* 5:eabd6187
- Linder S (2007) Cytokeratin markers come of age. *Tumor Biol* 28(4):189–195.
- Lowery ER, Kuczmarski H, Herrmann RD (2015) Intermediate filaments play a pivotal role in regulating cell architecture and function. *J Biol Chem* 290:17145–17153. <https://doi.org/10.1074/jbc.R115.640359>.
- McCarthy MK, Weinberg JB (2015) The immunoproteasome and viral infection: a complex regulator of inflammation. *Front Microbiol* <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00021>.
- Menz A, Weitbrecht T, Gorbokon N et al (2021) Diagnostic and prognostic impact of cytokeratin 18 expression in human tumors: A tissue microarray study on 11,952 tumors. *Mol Med* 27(1):1–16.
- Moll R, Divo M, Langbein L (2008) The human keratins:

- biology and pathology. *Histochemist Cell Biol* 129:705–733. <https://doi.org/10.1007/s00418-008-0435-6>.
- Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R (1982) The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 31:11–24. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(82\)90400-7](https://doi.org/10.1016/0092-8674(82)90400-7).
- Ohman T, Lietzén N, Valimäki E, Melchjorsen J, Matikainen S, Nyman TA (2010) Cytosolic RNA recognition pathway activates 14-3-3 protein mediated signaling and caspase-dependent disruption of cytokeratin network in human keratinocytes. *J Proteome Res* 9:1549–1564. <https://doi.org/10.1021/pr901040u>.
- Paramio JM, Casanova ML, Segrelles C, Mittnacht S, Lane EB, Jorcano JL (1999) Modulation of cell proliferation by cytokeratins K10 and K16. *Mol Cell Biol* 19:3086–3094. <https://doi.org/10.1128/MCB.19.4.3086>.
- Raja SK, Garcia MS, Isseroff RR (2007) Wound re-epithelialization: modulating keratinocyte migration in wound healing. *Front Biosci* 12:2849–2868.
- Santos M, Paramio JM, Bravo A, Ramirez A, Jorcano JL (2002) The expression of keratin k10 in the basal layer of the epidermis inhibits cell proliferation and prevents skin tumorigenesis. *J Biol Chem* 277:19122–19130.
- Sawant MS, Leube RE (2017) Consequences of keratin phosphorylation for cytoskeletal organization and epithelial functions. *Inter Rev Cell Mol Biol* 330:171–225. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2016.09.005>.
- Seiler R, Ashab HD, Erho N, van Rhijn BW, Winters B, Douglas J, Black PC (2017) Impact of molecular subtypes in muscle-invasive bladder cancer on predicting response and survival after neoadjuvant chemotherapy. *Europ Urol* 72:544–554.
- Shafraz O, Rüksam M, Stahley SN, Caldara AL, Kowalczyk AP, Niessen CM, Sivasankar S (2018) E-cadherin binds to desmoglein to facilitate desmosome assembly. *J Invest Dermatol* <https://doi.org/10.1016/j.jid.2018.03.881>.
- Sharma P, Alsharif S, Bursch K et al (2019). Keratin 19 regulates cell cycle pathway and sensitivity of breast cancer cells to CDK inhibitors. *Scientific Reports* 9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51195-9>.
- Snider NT, Omary MB (2014) Post-translational modifications of intermediate filament proteins: mechanisms and functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 15:163–177. <https://doi.org/10.1038/nrm3753>.
- Snider NT, Park H, Omary MB (2013) A conserved rod domain phosphotyrosine that is targeted by the phosphatase ptp1b promotes keratin 8 protein insolubility and filament organization. *J Biol Chem* 288:31329–31337. <https://doi.org/10.1074/jbc.m113.502724>.
- Strelkov SV, Herrmann H, Aebi U (2003) Molecular architecture of intermediate filaments. *Bioessays* 25:243–251. <https://doi.org/10.1002/bies.10246>.
- Takayama Y (2012) Molecular regulation of skin wound healing. Lactoferrin and its Role in Wound Healing. Springer https://doi.org/10.1007/978-94-007-2467-9_1.
- Tam C, Mun JJ, Evans DJ, Fleiszig SM (2012) Cytokeratins mediate epithelial innate defense through their antimicrobial properties. *J Clin Invest* 122:3665–3677. <https://doi.org/10.1172/JCI64416>.
- Toivola DM, Boor P, Alam C, Strnad P (2015) Keratins in health and disease. *Curr Opin Cell Biol* 32:73–81. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2014.12.008>.
- Toivola DM, Ku NO, Resurreccion EZ, Nelson DR, Wright TL, Omary MB (2004) Keratin 8 and 18 hyperphosphorylation is a marker of progression of human liver disease. *Hepatology* 40:459–466. <https://doi.org/10.1002/hep.20277>.
- Ueno T, Toi M, Linder S (2005) Detection of epithelial cell death in the body by cytokeratin 18 measurement. *Biomed Pharmacoth* 59:359–362. [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(05\)80078-2](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(05)80078-2).
- Vaidya MM, Kanojia D (2007) Keratins: markers of cell differentiation or regulators of cell differentiation? *J Biosci* 32:629–634. <https://doi.org/10.1007/s12038-007-0062-8>.
- Wiche G (2021) Plectin-mediated intermediate filament functions: Why isoforms matter. *Cells* 10(8):2154. <https://doi.org/10.3390/cells10082154>.
- Wong P, Coulombe PA (2003) Loss of keratin 6 (K6) proteins reveals a function for intermediate filaments during wound repair. *J Cell Biol* 163:327–337.
- Yang J, Gao S, Xu J, Zhu J (2018) Prognostic value and clinicopathological significance of serum-and tissue-based cytokeratin 18 express level in breast cancer: a meta-analysis. *Bioscience reports* 38(2).
- Yoon S, Leube RE (2019) Keratin intermediate filaments: intermediaries of epithelial cell migration. *Essays in biochemistry* 63(5):521–533. <https://doi.org/10.1042/EBC20190017>.
- Zatloukal K, Stumtner C, Fuchsbichler A, Fickert P, Lackner C, Trauner M, Denk H (2004) The keratin cytoskeleton in liver diseases. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland* 204:367–376. <https://doi.org/10.1002/path.1649>.
- Zhang B, Wang J, Liu W et al (2016) Cytokeratin 18 knockdown decreases cell migration and increases chemosensitivity in non-small cell lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 142:2479–2487. <https://doi.org/10.1007/s00432-016-2253-x>.
- Zhang LJ (2018) Keratins in skin epidermal development and diseases. In *Keratin*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79050>.
- Zhang X, Yin M, Zhang LJ (2019) Keratin 6, 16 and 17 – critical barrier alarmin molecules in skin wounds and psoriasis. *Cells* 8:807. <https://doi.org/10.3390/cells8080807>.

Надійшла в редакцію 08.06.22
Після доопрацювання 03.07.22
Прийнята до друку 18.11.22