

ЕКСПРЕСІЯ ФІБРОНЕКТИНУ-1 У ЛІМФОЦИТАХ ХВОРИХ НА ЕРИТРЕМІЮ

А. О. КУЛІНІЧ¹, Д. О. МІНЧЕНКО², Г. С. МАСЛАК¹, А. І. ШЕВЦОВА¹,
О. З. БРАЗЛУК¹, О. Г. МІНЧЕНКО²

¹Дніпропетровська державна медична академія, Україна;
²Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
e-mail: ominchenko@yahoo.com

Проведено дослідження експресії мРНК фібронектину-1 в лімфоцитах хворих на еритремію та здорових донорів, визначено вміст фібронектину у плазмі крові та його гепаринзв'язуючу активність, а також рівень і внутрішньоклітинну локалізацію фібронектину в лімфоцитах. Показано, що в лімфоцитах крові хворих на еритремію спостерігається істотне підвищення рівня експресії мРНК фібронектину-1 порівняно із здоровими донорами. Встановлено також вірогідне зниження концентрації фібронектину та його гепаринзв'язуючої активності у плазмі крові та збільшення кількості лімфоцитів із поверхневою та внутрішньоклітинною локалізацією фібронектину-1 у хворих на еритремію порівняно з цими показниками у здорових донорів. Показано наявність позитивної кореляції між рівнем фібронектину плазми крові та його гепаринзв'язуючою активністю, а також негативної кореляції між рівнем фібронектину у плазмі крові та кількістю лімфоцитів, що експресують цей глікопротеїн на поверхні та всередині клітини. Результати роботи свідчать про порушення експресії фібронектину-1 у лімфоцитах хворих на еритремію, яка супроводжується зниженням вмісту фібронектину у плазмі крові.

Ключові слова: фібронектин-1, експресія мРНК, лімфоцити, плазма крові, еритремія.

Фібронектин — високомолекулярний поліфункціональний глікопротеїн, що здебільшого знаходиться у формі димеру, мономери якого зв'язані на С-термінальному кінці двома дисульфідними зв'язками. Особливістю фібронектину є наявність в його послідовності резистентних до дії протеаз доменів, здатних зв'язуватись із різноманітними лігандами, завдяки чому цей глікопротеїн бере участь у перебігу багатьох процесів, зокрема у міграції та диференціації клітин [1–3]. Фібронектин синтезується в гепатоцитах, ендотеліоцитах, фібробластах та багатьох інших клітинах, у тому числі і у клітинах крові, але він виявляється також в екстрацелюлярному матриксі та плазмі крові і суттєво змінюється при багатьох патологічних станах [4–11]. Важливу роль фібронектин відіграє в еритропоезі, взаємодіючи із специфічними рецепторами VLA-4 та VLA-5, що приводить до істотної активації мітогеном р38 MAPK (активованої мітогеном протеїнкінази), причому було встановлено опосередкованість цієї активації геміном [12]. Відомо, що р38 MAPK є ключовою сигнальною молекулою у процесі диференціації клітин під час еритропоезу. Фібронектин також бере участь у регуляції апоптозу: посилення експресії фібронектину і активація його ре-

цептора (VLA-4) призводить до загибелі клітин лімфоми шляхом апоптозу [13].

Нещодавно було встановлено, що посилення апоптозу пухлинних клітин лінії НЕК293 має місце за одночасного виключення двох генів — фібронектину і рибонуклеази Dicer, а у разі виключення одного гена Dicer спостерігається посилення експресії гена фібронектину шляхом індукції транскрипційного фактора Egr1 [14]. Ці дані свідчать про участь мікроРНК у регуляції експресії фібронектину. Експресія фібронектину та його рецептора $\alpha 5$ -інтегрину, що є основними факторами, задіяними в інвазії пухлинних клітин, посилюється інтерлейкіном 18, а також транскрипційним фактором, що індукується гіпоксією, HIF-1 α , експресія якого різко посилюється у різних злоякісних трансформованих клітинах [15, 16]. Активація інтегринів, зокрема $\alpha 5$ - $\beta 1$ -інтегрину, та полімеризація фібронектину контролюється сигнальною системою рецептора активатора плазміногену за участю кавеоліну-1, що важливо також і для процесу неоваскуляризації [17–21]. Встановлено важливу роль фібронектину також у дестабілізації колагену та його протеолізу [22, 23]. Останнім часом було показано, що фібронектин бере участь у прогресії злоякісних пухлин, індукуючи адапторний протеїн mda9/

синтенін, що є позитивним регулятором росту пухлинних клітин і активує протеїнкіназу С- α та FAK-кіназу, а це сприяє адгезії фібронектину до пухлинних клітин грудної залози та меланоми [24, 25]. Оскільки адгезія фібронектину до пухлинних клітин пригнічується PPAR- β рецептором, то припускається, що він може відігравати роль інгібітора канцерогенезу та прогресії пухлин [26].

Встановлено, що у дефіцитних на фібриноген мишей різко збільшується рівень фібронектину і має місце агрегація тромбоцитів, що обумовлено важливою функцією фібриногену в інтерналізації фібронектину та його експонуванні на мембрані тромбоцитів і що свідчить про потенційну роль фібронектину в патогенезі кардіоваскулярних захворювань [27, 28]. Виявлено також, що фібронектин може експонуватися і на плазмолемі лімфоцитів, але роль його експресії та експонування на цих клітинах ще недостатньо вивчено, хоча є роботи, що вказують на можливий вплив фібронектину на функціонування клітин крові [29–31].

Метою роботи було вивчити експресію гена фібронектину-1 у лімфоцитах здорових донорів та хворих на еритремію, а також розподіл лімфоцитів за локалізацією фібронектину і рівень та функціональну активність цього глікопротеїну у плазмі крові.

Матеріали і методи

РНК із лімфоцитів виділяли за допомогою реагенту Trizol (Invitrogen, США). Для цього до суспензії лімфоцитів додавали 80 мкл реагенту Trizol, перемішували, додавали 20 мкл хлороформу, знову перемішували та центрифугували при 16 000 g і +4 °C протягом 10 хв. Відбирали 50 мкл супернатанту і РНК осаджували рівним об'ємом ізо-пропанолу впродовж двох годин при –20 °C. Одержані осади РНК промивали 100 мкл 75%-го етанолу та розчиняли у стерильній воді, вільній від рибонуклеаз (QIAGEN, Німеччина).

Зворотну транскрипцію РНК проводили за допомогою набору «Quantitect Reverse Transcription Kit» (QIAGEN) відповідно до протоколу виробника. Для реакції зворотної транскрипції брали 1 мкг РНК та суміш праймерів із набору. Далі проводили ампліфікацію одержаних препаратів кДНК. Реакційна суміш містила 8 мкл води, вільної від нуклеаз, 1 мкл кДНК, 1 мкл 10 мкМ суміші праймерів та 10 мкл двократної суміші для полімеразної ланцюгової реакції (QIAGEN). Ампліфікацію фібронектину-1 проводили протягом 35 циклів в апараті «MasterCycler Personal» (Eppendorf,

Німеччина), використовуючи пару праймерів: прямий 5'-ACCAACCTACGGATGACTCG-3' та зворотний праймер для мРНК фібронектину-1: 3'-GCTCATCATCTGGCCATTTT-5'. Ці олігонуклеотиди відповідають нуклеотидним послідовностям 6769–6788 та 6998–6979 кДНК фібронектину-1 людини (GenBank номер NM_002026). Відповідність продукту ампліфікації фібронектину-1 було перевірено шляхом секвенування.

Експресію мРНК фібронектину-1 досліджували також методом кількісної полімеразної ланцюгової реакції кДНК, використовуючи описані вище праймери. Кількісну полімеразну ланцюгову реакцію проводили на апараті «Stratagene Mx 3000P cycler» із застосуванням SYBRGreen Mix. Аналіз результатів виконували за допомогою спеціальної комп'ютерної програми «Differential expression calculator», а статистичний аналіз – в Excel програмі.

Експресія мРНК β -актину та рибосомного протеїну S16 слугувала додатковим контролем кількості аналізованої РНК. Для ампліфікації кДНК β -актину використовували наступні праймери: форвард – 5'-GGACTTCGAGCAAGAGATGG-3' та зворотний – 5'-AGCACTGTGTTGGCGTACAG-3'. Ці олігонуклеотиди відповідають нуклеотидним послідовностям 704–723 та 937–918 кДНК β -актину людини (GenBank номер X00351).

Для ампліфікації кДНК рибосомного протеїну S16 використовували наступні праймери: форвард – 5'-GGCAATGGTCTCATCAAGGT-3' та зворотний – 5'-TCTCCTTCTTGGGAAGCCTCA-3'. Ці олігонуклеотиди відповідають нуклеотидним послідовностям 133–152 та 373–354 кДНК рибосомного протеїну S16 людини (GenBank номер X00351). Всі праймери отримані від компанії Sigma (США).

Продукти ампліфікації аналізували електрофорезом у 2%-му агарозному гелі, забарвлюючи ДНК 5x Sight DNA Stain (EUROMEDEA). Гелі аналізували в системі Quantity One BioRad System (США).

Рівень фібронектину визначали також у плазмі здорових донорів ($n = 12$) та хворих на еритремію ($n = 12$) методом імунодоту з використанням поліклональних кролячих антитіл до фібронектину. Одержані результати аналізували за допомогою програми GelProAnalyser 32. Гепаринзв'язуючу активність фібронектину плазми крові визначали методом холодової гепарин-преципітації за кількістю фібронектину, що перейшов у гепариновий преципітат [32]. Розподіл лімфоцитів за локалізацією

фібронектину визначали методом протокової цитофлуориметрії. Для цього спочатку проводили лізис еритроцитів за допомогою розчину OptiLyse C (Beckman Coulter, США), а потім клітини фіксували 8%-им параформальдегідом і визначали рівень фібронектину на поверхні клітин. Для визначення внутрішньоклітинної локалізації фібронектину здійснювали пермеабілізацію лімфоцитів розчином дигітоніну (Fluka, Швейцарія) з концентрацією 250 мкг/мл. Як первинні антитіла використовували моноклональні антитіла до фібронектину (AbD Serotec, Велика Британія), а антитіла до імуноглобулінів миші, що були кон'юговані з ізотіоціанатом флуоресцеїну (Millipore, США), використовували як вторинні антитіла. Аналіз лімфоцитів, отриманих від здорових донорів та хворих на еритремію, проводили на протоковому цитометрі EPICS XL (Beckman Coulter, США). Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми Statistics 6.0.

Результати та обговорення

Результати дослідження експресії мРНК фібронектину-1 у лімфоцитах крові здорових донорів та хворих на еритремію пацієнтів із допомогою полімеразної ланцюгової реакції наведено на рис. 1, які свідчать про наявність експресії мРНК фібронектину-1 як у здорових людей, так і у хворих на еритремію, але кількісний аналіз її експресії був проведений методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі в розрахунку на експресію двох контрольних генів – β -актину та S16 рибосомного протеїну. Із даних, наведених на рис. 2, видно, що у хворих на еритремію порівняно із здоровими донорами спостерігається істотне підвищення рівня експресії мРНК фібронектину-1.

Було встановлено, що рівень фібронектину-1 у плазмі хворих на еритремію та його гепаринзв'язувальна активність істотно знижуються порівняно зі здоровими донорами, а також було виявлено наявність позитивного кореляційного зв'язку між зазначеними вище параметрами (таблиця).

Дослідження розподілу лімфоцитів за локалізацією фібронектину показало, що у здорових донорів лише частина популяції лімфоцитів представлена клітинами, що мають фібронектин як на поверхні, так і всередині клітини, а у хворих на еритремію майже у всіх лімфоцитів є наявним поверхнево-асоційований та внутрішньоклітинний фібронектин (рис. 3, А, Б). Так, кількість клітин із поверхнево-асоційованим фібронектином збільшується у хворих на еритремію на 31,4%, а з внутрішньоклітинним

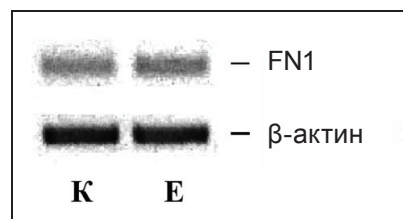


Рис. 1. Експресія мРНК фібронектину в лімфоцитах здорових донорів (К) та хворих на еритремію (Е) за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. Продукти ампліфікації розділяли електрофорезом в 2%-му агарозному гелі, забарвлювали «5x Sigh DNA Stain» і фотографували. За експресією мРНК β -актину оцінювали кількість аналізуємої РНК. Представлено типову із п'яти електрофореграм

фібронектином – на 45,2% (рис. 4), причому виявлено негативний кореляційний зв'язок між концентрацією фібронектину у плазмі крові та кількістю лімфоцитів, які мають фібронектин на поверхні або всередині клітин при еритремії (рис. 5). Так, для лімфоцитів із поверхнево-асоційованим фібронектином коефіцієнт кореляції у хворих на еритремію дорівнює $-0,757$, у здорових донорів – $-0,577$, а для клітин із внутрішньоклітинним фібронектином він змінюється з $-0,125$ у нормі до $-0,410$ у хворих на еритремію.

Кожна субодинаця молекули фібронектину містить по три домени, що можуть зв'язуватись із гепарином. Вважають, що

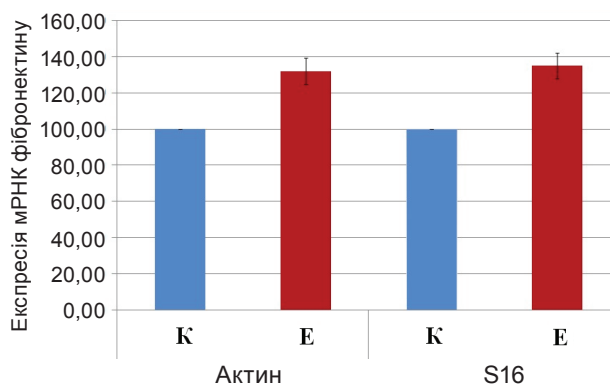


Рис. 2. Кількісна оцінка експресії мРНК фібронектину в лімфоцитах здорових донорів (К) та хворих на еритремію (Е) за допомогою полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі. Величину експресії мРНК фібронектину нормалізували за експресією β -актину та рибосомного протеїну S16 і виражали у відсотках по відношенню до контролю; $n = 3$; $P < 0,05$

Вміст та гепаринзв'язуюча активність фібрoneктину плазми

Досліджувана група	Вміст фібрoneктину, мкг/мл	Ступінь зв'язування фібрoneктину з гепарином, %	Коефіцієнт кореляції, <i>r</i>
Здорові донори	328,21 ± 16,97	100	0,322
Хворі на еритремію	239,01 ± 11,96; <i>P</i> < 0,001	55,48 ± 7,22; <i>P</i> < 0,05	0,849; <i>P</i> < 0,01

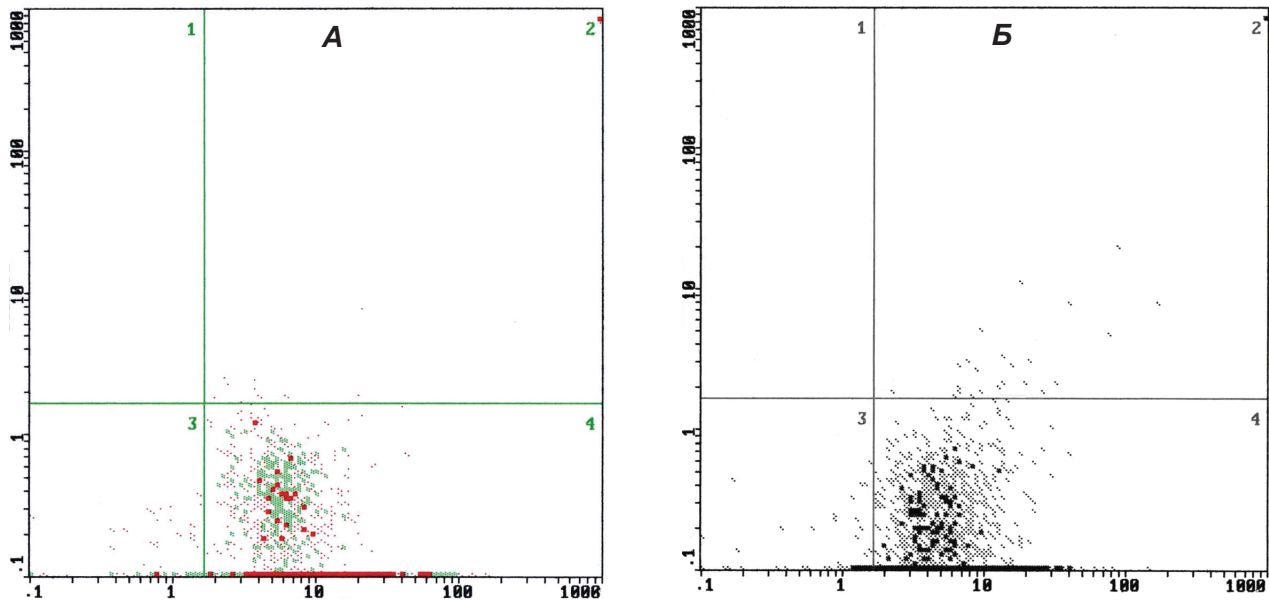


Рис. 3. Розподіл лімфоцитів за наявністю поверхнево-асоційованого (А) та внутрішньоклітинного (Б) фібрoneктину за еритремії. Квадранти 3 та 4 – клітини, що мають фібрoneктин

ступінь зв'язування фібрoneктину з гепарином відображає функціональну активність молекули фібрoneктину [32]. Результати проведених нами досліджень продемонстрували, що при еритремії як вміст фібрoneктину у плазмі крові, так і рівень зв'язування гепарину плазмою крові, обумовлений фібрoneктином, істотно знижуються. Позитивна кореляція між зазначеними вище показниками може вказувати на те, що зниження функціональної активності фібрoneктину за рівнем зв'язування гепарину плазмою крові обумовлене переважно зниженням його концентрації у крові. Серед причин зниження вмісту цього глікопротеїну може бути підвищене його використання як опсоніну для виведення із кровотоку різних мікрочастинок, а також відкладення у тромбах судин, утворення яких характерно для хворих на еритремію [33, 34].

Досліджуючи розподіл лімфоцитів за локалізацією фібрoneктину, нами встановлено, що при еритремії збільшується кількість клітин із внутрішньоклітинною та поверхневою

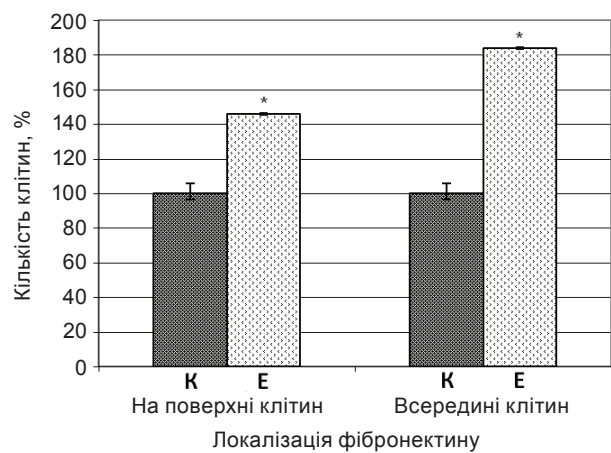


Рис. 4. Кількісна оцінка розподілу лімфоцитів за локалізацією фібрoneктину на поверхні та всередині клітин в нормі (К) та при еритремії (E), * *P* < 0,001

локалізацією цього глікопротеїну. Враховуючи те, що фібрoneктин синтезується в лімфоцитах і може експонуватися на їхній поверхні [30],

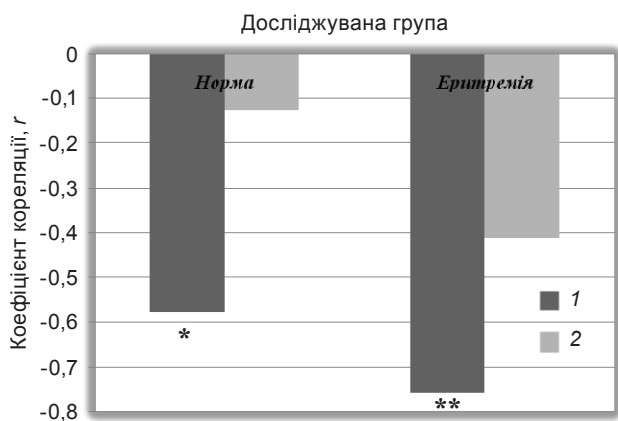


Рис. 5. Коефіцієнт кореляції (r) між рівнем фібронектину у плазмі та кількістю лімфоцитів із поверхневою (1) та внутрішньоклітинною (2) локалізацією фібронектину у здорових донорів та за еритремії. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

логічно припустити, що при еритремії збільшується інтенсивність синтезу фібронектину в лімфоцитах. Це і знайшло підтвердження у проведених нами дослідженнях з вивчення експресії мРНК фібронектину-1 у лімфоцитах методом кількісної полімеразної ланцюгової реакції.

Разом з тим, повідомлялося, що рецептори, які належать до $\beta 1$ -інтегринів, а саме VLA-4 та VLA-5, можуть зв'язуватись із фібронектином та іммобілізувати його на клітинній поверхні, з чим пов'язана не лише полімеризація фібронектину та колагену типу I і III, а і його участь у різних біологічних процесах [35–37]. Наявність негативної кореляції між рівнем фібронектину у плазмі крові та кількістю лімфоцитів, що мають мембранозв'язаний фібронектин, може вказувати на його часткове екзогенне походження у хворих на еритремію. Саме тому, збільшення кількості клітин із поверхневою локалізацією фібронектину може бути однією з причин зниження вмісту фібронектину, що циркулює у крові.

Відомо, що фібронектин відіграє важливу роль в еритропоезі, взаємодіючи із специфічними рецепторами VLA-4 та VLA-5, а це приводить до опосередкованої геміном суттєвої активації ключової сигнальної молекули диференціації клітин у процесі еритропоезу, а саме р38-протеїнкінази, яка активується мітогеном [12]. Саме тому, однією з причин стимуляції проліферації лімфоцитів у хворих на еритремію може бути посилена експресія фібронектину в цих клітинах та його локалізація на поверхні клітин зокрема. Разом з тим, оскільки фібро-

нектин бере також участь у регуляції апоптозу, то індукція фібронектину і активація його рецептора (VLA-4) може призводити до загибелі лімфомних клітин шляхом апоптозу [13].

Таким чином, одержані в роботі результати свідчать про порушення експресії фібронектину в лімфоцитах при еритремії як на рівні мРНК, так і протеїну, а також його внутрішньоклітинного розподілу, але для встановлення тонких механізмів цих порушень та функціонального значення їх у лімфоцитах хворих на еритремію потрібні подальші детальніші дослідження.

ЭКСПРЕССИЯ ФИБРОНЕКТИНА-1 В ЛИМФОЦИТАХ БОЛЬНЫХ ЭРИТРЕМИЕЙ

А. А. Кулинич¹, Д. А. Минченко²,
А. С. Маслак¹, А. И. Шевцова¹,
А. З. Бразалук¹, А. Г. Минченко²

¹Днепропетровская государственная
медицинская академия, Украина;

²Институт биохимии им. А. В. Палладина
НАН Украины Киев;
e-mail: ominchenko@yahoo.com

Проведено изучение экспрессии мРНК фибронектина-1 в лимфоцитах больных эритремией и у здоровых доноров, а также определено содержание фибронектина-1 в плазме крови и его гепаринсвязывающая активность, а также уровень и внутриклеточная локализация фибронектина-1 в лимфоцитах. Показано, что у больных эритремией наблюдается существенное увеличение уровня экспрессии мРНК фибронектина-1 в лимфоцитах по сравнению со здоровыми донорами. Установлено также наличие достоверного снижения концентрации фибронектина и его гепаринсвязывающей активности в плазме крови и увеличение количества лимфоцитов с внутриклеточной и поверхностной локализацией фибронектина-1 у больных эритремией при сравнении с этими показателями у здоровых доноров. Показано наличие позитивной корреляции между уровнем фибронектина плазмы крови и его гепаринсвязывающей активностью, а также негативной корреляции между уровнем фибронектина плазмы крови и количеством лимфоцитов, что экспрессируют данный гликопротеин на поверхности и внутри клеток. Результаты работы свидетельствуют о нарушении экспрессии фибронектина-1 в лимфоцитах у больных эритремией и сопровождаются снижением уровня фибронектина в плазме крови.

Ключевые слова: фибронектин-1, экспрессия мРНК, лимфоциты, плазма крови, эритремия.

**FIBRONECTIN-1 EXPRESSION
IN LYMPHOCYTES OF PATIENTS
WITH ERYTHREMIA DISEASE**

A. O. Kulinich¹, D. O. Minchenko²,
A. S. Maslak¹, A. I. Shevtsova¹,
O. Z. Brazaluk¹, O. H. Minchenko²

¹Dnipropetrovsk State Medical Academy, Ukraine;

²Palladin Institute of Biochemistry, National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: ominchenko@yahoo.com

S u m m a r y

Expression of fibronectin-1 mRNA in lymphocytes in erythremia patients and healthy donors as well as fibronectin-1 concentration in plasma and its heparin-binding activity have been studied. Moreover, we also investigated the expression of fibronectin protein in lymphocytes and cell surface in erythremia disease as compared to healthy donors. It was shown that fibronectin-1 mRNA expression in lymphocytes is increased in patients with erythremia as compared to healthy donors. The decrease of plasma fibronectin concentration and its heparin-binding activity as well as the increase of lymphocyte content with surface-associated and intracellular fibronectin were revealed in erythremia disease in comparison with healthy donors. Positive correlation between plasma fibronectin level and its heparin-binding activity and negative correlation between plasma fibronectin level and quantity of lymphocytes which express fibronectin inside the cell and on cell surface was detected. Results of this investigation demonstrate that fibronectin-1 mRNA expression in lymphocytes is disturbed in erythremia disease and is accompanied by a decrease of fibronectin plasma level.

Key words: fibronectin-1, mRNA expression, lymphocyte, plasma, erythremia.

1. Sottile J., Hocking D. C. // *Mol. Biol. Cell.* – 2002. – **13**, N 10. – P. 3546–3559.
2. Hashimoto G., Shimoda M., Okada Y. // *J. Biol. Chem.* – 2004. – **279**, N 31. – P. 32483–32491.
3. Tvorogov D., Wang X., Zent R., Carpenter G. // *J. Cell. Science.* – 2005. – **118**, N 3. – P. 601–610.
4. Majumdar P., Chen S., George B. et al. // *Diabetes Metab. Res. Rev.* – 2009. – **25**, N 5. – P. 452–463.
5. Huang G., Zhang Y., Kim B. et al. // *J. Biol. Chem.* – 2009. – **284**, N 38. – P. 25879–25888.
6. Ozcelik F., Erdogan O., Aktoz M. et al. // *Ann. Hematol.* – 2009. – **88**, N 3. – P. 249–253.
7. Salmenperä P., Kankuri E., Bizik J. et al. // *Exp. Cell. Res.* – 2008. – **314**, N 19. – P. 3444–3452.
8. Brenmoehl J., Falk W., Guke M. et al. // *Int. J. Colorectal. Dis.* – 2008. – **23**, N 10. – P. 947–955.
9. Pecheniuk N. M., Elias D. J., Deguchi H. et al. // *Thromb. Haemost.* – 2008. – **100**, N 2. – P. 224–228.
10. Williams C. M., Engler A. J., Slone R. D. et al. // *Cancer Res.* – 2008. – **68**, N 9. – P. 3185–3192.
11. Dietrich T., Perlitz C., Licha K. et al. // *Basic Res. Cardiol.* – 2007. – **102**, N 4. – P. 298–307.
12. Tanaka R., Owaki T., Kamiya S. et al. // *J. Biol. Chem.* – 2009. – **284**, N 30. – P. 19817–19825.
13. Saito Y., Owaki T., Matsunaga T. et al. // *Ibid.* – 2010. – **285**, N 10. – P. 7006–7015.
14. Tang K. F., Song G. B., Shi Y. S. et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2010. – **1800**, N 3. – P. 380–384.
15. Ryu M.H., Park H.M., Chung J. et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2010. – **393**, N 1. – P. 11–15.
16. Reddy V. S., Harskamp R. E., van Ginkel M. W. et al. // *J. Cell. Physiol.* – 2008. – **215**, N 3. – P. 697–707.
17. Monaghan-Benson E., Mastick C. C., McKeown-Longo P. J. // *J. Cell. Sci.* – 2008. – **121**, Pt 22. – P. 3693–3703.
18. Shi F., Sottile J. // *Ibid.* – 2008. – Pt 14. – P. 2360–2371.
19. Zhou X., Rowe R. G., Hiraoka N. et al. // *Genes Dev.* – 2008. – **22**, N 9. – P. 1231–1243.
20. Monaghan E., Gueorguiev V., Wilkins-Port C., McKeown-Longo P. J. // *J. Biol. Chem.* – 2004. – **279**, N 2. – P. 1400–1407.
21. De Petro G., Taviani D., Marchina E., Barlati S. // *Biol. Chem.* – 2002. – **383**, N 1. – P. 177–187.
22. Erat M. C., Slatter D. A., Lowe E. D. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2009. – **106**, N 11. – P. 4195–4200.
23. Sottile J., Shi F., Rublyevska I. et al. // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2007. – **293**, N 6. – P. C1934–C1946.
24. Hwangbo C., Kim J., Lee J. J., Lee J. H. // *Cancer Res.* – 2010. – **70**, N 4. – P. 1645–1655.

25. Ryschich E., Khamidjanov A., Kerkadze V. et al. // *Pancreas*. – 2009. – **38**, N 7. – P. 804–810.
26. Yang L., Olsson B., Pfeifer D. et al. // *Oncogene*. – 2010. – **29**, N 4. – P. 516–526.
27. Zhai Z., Wu J., Xu X. et al. // *J. Thromb. Haemost.* – 2007. – **5**, N 8. – P. 1740–1746.
28. Bütün I. I., Ekmekçi H., Sönmez H. et al. // *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* – 2007. – **13**, N 3. – P. 308–312.
29. Han Q., Kang W., Zhang L. et al. // *Inflamm. Res.* – 2010. – **59**, N 2. – P. 135–139.
30. Blum S., Hug F., Hdn̄sch G., Wagner C. // *Immunol. Cell Biol.* – 2005. – **83**, N 2. – P. 167–174.
31. Wagner C., Bürger A., Radsak M. et al. // *Immunology*. – 2000. – **99**, N 4. – P. 532–539.
32. Левитан Б. Н., Умерова А. Р., Астахин А. В. // *Кубанский национальный медицинский вестник*. – 2009. – **109**, № 4. – С. 116–120.
33. Clemmensen I. // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2008. – **11**, N 3. – P. 145–146.
34. Mosher D. // *Artheroscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2006. – **26**, N 6. – P. 1193–1195.
35. Velling T., Risteli J., Wennerberg K. et al. // *J. Biol. Chem.* – 2002. – **277**, N 40. – P. 37377–37381.
36. Johansson S., Svineng G., Wennerberg K. et al. // *Front Biosci.* – 1997. – **2**. – P. d126–146.
37. Lohikangas L., Gullberg D., Johansson S. // *Exp. Cell Res.* – 2001. – **265**. – P. 135–144.

Отримано 10.07.2010