

# Рецептори до фрагментів фібрину на нейроендокринних клітинах PC-12

Н. Ю. Чорна, Ю. І. Петрова, О. М. Калашник, Т. М. Платонова,  
С. Седерхольм-Вільямс, М. В. Скок

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України  
Вул. Леонтовича, 9, Київ, 01601, Україна

lk56@yandex.ru

---

*Метами цитофлуориметрії та клітинного імуноферментного аналізу показано, що нейроноподібні клітини лінії PC-12 експресують інтегрин  $\alpha_5\beta_1$ , відповідальний за зв'язування клітин з фібриногеном і D-, DD- та E-фрагментами фібрину. Кожна клітина містить приблизно  $110^6$  сайтів зв'язування D-фрагмента з константою афінності  $8,12 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$ , зв'язування блокується RGD-вмісним пептидом. За фізіологічних температурних умов відбувається інтерналізація рецепторів з подальшим відновленням на мембрані. Передінкубація з фрагментами фібрину призводить до зростання кількості рецепторів на поверхні клітин. Адсорбовані на поверхні пластику D-, DD- і E-фрагменти фібрину сприяють проліферації клітин PC-12, що пояснює позитивний вплив цієї сполуки на відновлення нервових клітин.*

*Ключові слова: клітини лінії PC-12, D-, DD- і E-фрагменти фібрину, інтегрини.*

---

**Вступ.** Травми і поранення пошкоджують периферичні нерви, регенерація яких є критичною для відновлення функцій органів і тканин. Однією з перших реакцій у відповідь на пошкодження тканини є активація системи зсідання крові, що призводить до утворення фібринового згустка. Останній стає тимчасовим матриксом для клітин, які мігрують у місця пошкодження, і поступово розщеплюється під дією протеолітичних ферментів прилеглих клітин, у тому числі нервових [1]. Утворені продукти деградації, як і сам фібрин, є біологічно активними речовинами, що впливають на процес регенерації нервів [2]. Фібрин у вигляді клею запропоновано для з'єднання [3, 4] і стабілізації нервів під час операції [5] та як депо речовин, що

збільшують швидкість та якість регенерації нервів [6]. Незважаючи на досить широкий практичний досвід, молекулярні механізми впливу продуктів деградації фібрину на нервові клітини вивчено недостатньо.

У попередніх дослідженнях ми показали, що клітини феохромоцитоми щурів PC-12, які за своїми властивостями близькі до симпатичних нейронів та є визнаною моделлю нервових клітин [7], сприяють руйнуванню фібринового згустка за рахунок секреції плазміногену та його тканинного активатора [8]. D-, DD- і E-фрагменти фібрину, що утворюються внаслідок гідролізу, в свою чергу впливають на життєдіяльність клітин PC-12, посилюючи їхні адгезивні властивості [9].

Метою представленої роботи стало визначення типу і специфічності рецепторів до D-, DD- і E-фрагментів фібрину на поверхні клітин PC-12.

**Матеріали і методи.** Клітини РС-12 одержано з Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України. Умови їхнього культивування, а також виділення і полімеризацію фібриногену описано нами раніше [8]. Фрагменти DD, E фібрину і D фібриногену отримували за описаною методикою [10, 11].

Здатність клітин РС-12 прикріплюватися до фібрину і продуктів його деградації аналізували в експериментах з неадгезивним (бактеріологічним) пластиком, вкритим фібриновою плівкою, фібриногеном (10 мкг/мл), желатиною (0,6 мг/мл), DD- і E-фрагментами фібрину або D-фрагментом фібриногену (10 мкг/мл). Розчини висушували в лунках 96-лункових планшетів протягом 12 год за температури 37 °С, після чого планшети тричі відмивали розчином забуференого фізіологічного розчину (ЗФР), рН 7,4. Клітини вносили в лунки у поживному середовищі на 1,5 год, потім тричі відмивали розчином ЗФР за допомогою м'якого піпетування. Кількість клітин, які залишилися прикріпленими, підраховували методом включення тріазолілу блакитного [12].

У деяких дослідах клітини попередньо інкубували з розчином DD-фрагмента протягом 30 хв за  $t = 37$  °С, після чого вносили в лунки з сорбованим фрагментом і далі аналізували, як описано вище. Для визначення ролі RGD-сайта у зв'язуванні фрагментів фібрину разом з клітинами в лунки вносили пептид Arg-Gly-Asp-Ser («Sigma», США).

Пряме вивчення зв'язування розчинних фрагментів фібрину з клітинами РС-12 проводили методом клітинного імуноферментного аналізу (ІФА). Клітини ( $5 \cdot 10^5$  кл/пробу), вміщені в пробірки Епендорф, інкубували з різними концентраціями фібриногену чи фрагментів фібрину на льоду або за  $t = 37$  °С. Після відмивання клітини обробляли в розведенні 1:20000 кролячими поліклональними антитілами проти фібриногену (отриманими нами раніше [8]) або проти D- і E-фрагментів фібрину («Oxford Bioresearch Laboratory», Велика Британія) протягом 1 год.

Ендогенну пероксидазну активність клітин блокували інкубацією з 1 %  $H_2O_2$  протягом 20 хв, після чого антитіла, які зв'язалися з поверхнею клітин, виявляли кон'югатом антитіл кози проти IgG кроля

з пероксидазою хрому («Sigma», 1:500). Пероксидазу зв'язаного кон'югату проявляли розчином *o*-фенілендіаміну (0,4 мг/мл) і 0,05 %  $H_2O_2$  в 0,05 М  $KH_2PO_4$ , рН 5,0. Реакцію зупиняли додаванням 4 н. розчину  $H_2SO_4$ . Клітини осаджували центрифугуванням, а надклітинну рідину переносили в лунки 96-лункового планшета і фотометрували на приладі Microelisa Autoreader («Dynatech», Швейцарія) в двопроменевому режимі за довжини хвилі 490/630 нм.

В окремих дослідах клітини попередньо інкубували з різними дозами E-фрагмента фібрину в 1 %-му розчині бичачого сироваткового альбуміну в ЗФР (ЗФР/БСА) протягом 2 год за  $t = 4$  °С, після чого двічі відмивали ЗФР і інкубували з D-фрагментом (10 мкг/мл у ЗФР/БСА) ще протягом 30 хв. Зв'язаний D-фрагмент виявляли, як описано вище.

Для вивчення кінетики зв'язування D-фрагмент митили ізотіоціанатом флуоресцеїну (ФІТЦ) за описаною методикою [13]. Залежність інтенсивності флуоресценції від концентрації D-ФІТЦ визначали на спектрофлуориметрі MRF-4 «Hitachi» (Японія) при довжині хвилі збудження 494 нм з максимумом емісії на 520 нм. У проби клітин ( $0,8610^7$  в 1 мл) вносили по 50 мкл D-ФІТЦ до концентрації 0–200 мкг/мл і інкубували протягом 30 хв у крижаній бані. В деяких експериментах клітини попередньо інкубували з неміченими D- або E-фрагментами (від 0 до 100 мкг/мл) упродовж 60 хв у крижаній бані, двічі відмивали ЗФР, додавали на 30 хв D-ФІТЦ (60 мкг/мл) і знову відмивали. Інтенсивність флуоресценції зв'язаного з клітинами D-ФІТЦ вимірювали на спектрофлуориметрі при довжині хвилі збудження 494 нм з максимумом емісії на 520 нм. Кінетичний аналіз зв'язування проводили відповідно до [14] на основі ізотерми Ленгмюра:

$$Y/(1 - Y) = K[X],$$

де  $X$  – концентрація вільного D-ФІТЦ;  $Y$  – зв'язаний D-ФІТЦ, розрахований як відсоток від концентрації насичення;  $K$  – константа афінності для зв'язування D-ФІТЦ клітинами. Концентрацію зв'язаного D-ФІТЦ для кожної точки титрування розраховували відповідно до стандартної кривої,

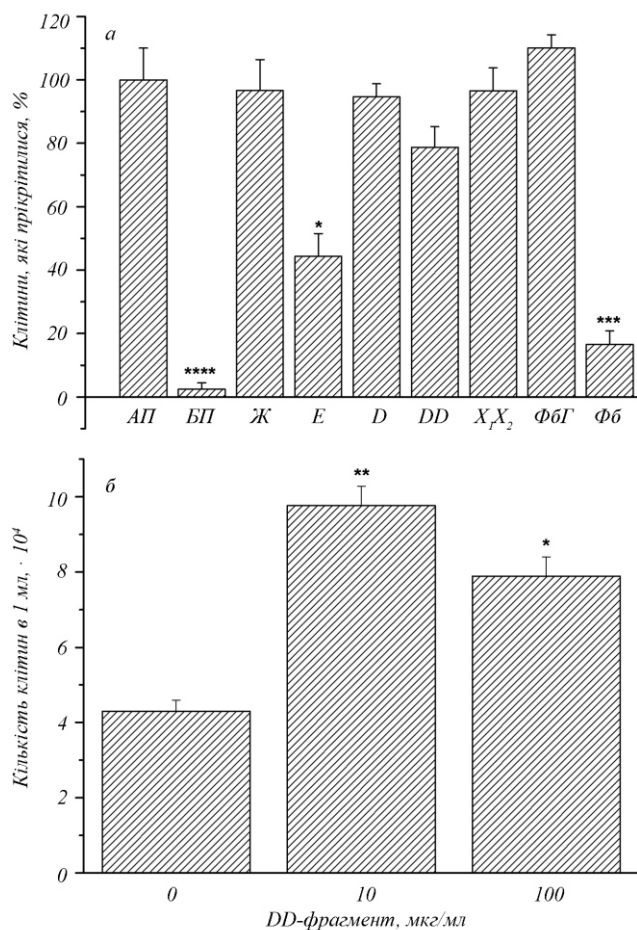


Рис. 1. Прикріплення клітин РС-12 до адгезивного пластику (АП), бактеріологічного пластику (БП) та бактеріологічного пластику, покритого желатиною (Ж), Е-, D- і DD-фрагментами, фібриногеном (ФБГ), сумішшю його X<sub>1</sub>- та X<sub>2</sub>-фрагментів (X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>) або фібрином (ФБ) (а) та адгезія до сорбованого DD-фрагмента після передінкубації клітин з розчинним фрагментом (б)

побудованої на базі декількох концентрацій розчинного D-ФІТЦ. Концентрацію вільного D-ФІТЦ визначали як різницю між кількістю внесеного D-ФІТЦ та кількістю D-ФІТЦ, що зв'язався з клітинами. Константу афінності розраховували як нахил лінійної кривої, побудованої в координатах  $Y/1 - Y$  та  $X$ , коефіцієнт Хілла – як нахил прямої, побудованої в координатах Хілла  $\log Y/1 - Y$  та  $X$ . Кількість сайтів зв'язування D-фрагмента на клітину ( $n$ ) визначали за рівнянням

$$n = N \cdot B/C,$$

де  $N$  – число Авогадро;  $B$  – максимальна концентрація насичення при зв'язуванні D-ФІТЦ;  $C$  – кількість клітин в 1 мл [14].

Наявність інтегрину  $\nu_3$  на клітинах РС-12 аналізували методом проточної цитофлуориметрії за допомогою біотинільованих антитіл кози до N-кінця інтегрину  $\nu$  щура sc-6617 («Santa Cruz Biotechnology», США). Клітини інкубували з антитілами в концентрації 0,05–1 мкг IgG на  $110^6$  клітин протягом 30 хв за  $t = 4$  С з попередньою інкубацією клітин з 1 мкг/мл фібриногену або без неї. Зв'язані антитіла виявляли внесенням комплексу стрептавідин–фікоеритрин (BD PharMingen™), вимірюючи флуоресценцію при довжині хвилі 575 нм з використанням проточного цитофлуориметра Epics XL («Beckman Coulter», США).

**Результати і обговорення.** В першій серії експериментів вивчали взаємодію клітин РС-12 з фібриновим згустком, для чого їх сумісно культивували в лунках 96-лункових планшетів згідно з [8]. За даними мікроскопічних досліджень, клітини не прикріплювалися до фібринового згустка, уникаючи контакту з ним. Вони також слабо прикріплювалися до неадгезивного пластику, покритого фібрином, проте добре адгезували до фібриногену, фрагментів фібрину, желатини та пластику для культури клітин (рис. 1, а). Це означає, що клітини РС-12 мають широкий спектр молекул адгезії, серед яких рецептори до колагену (желатини), вітронектину (який сорбується на пластик із сироватки культурального середовища) і фібриногену, але не до фібрину. Ділянки молекули фібриногену, з якими взаємодіють ці рецептори, стають менш доступними після полімеризації, але зберігаються у високомолекулярних продуктах деградації фібрину.

Передінкубація клітин з розчином DD-фрагмента протягом 30 хв збільшує їхню адгезію до останнього, який було сорбовано на пластик (рис. 1, б). Передінкубація з Е-фрагментом також посилює зв'язування D-фрагмента з клітинами (за даними клітинного ІФА і прямого визначення D-фрагмента, міченого ФІТЦ). Ці дані свідчать про те, що зв'язування лігандів призводить до урегуляції відповідних рецепторів і дають підставу вважати D- і Е-фрагменти фібрину лігандами одного типу рецепторів.

Методом клітинного ІФА показано, що за  $t = 4$  С зв'язування D- і Е-фрагментів фібрину з клітинами РС-12 має характер насичення. За темпе-

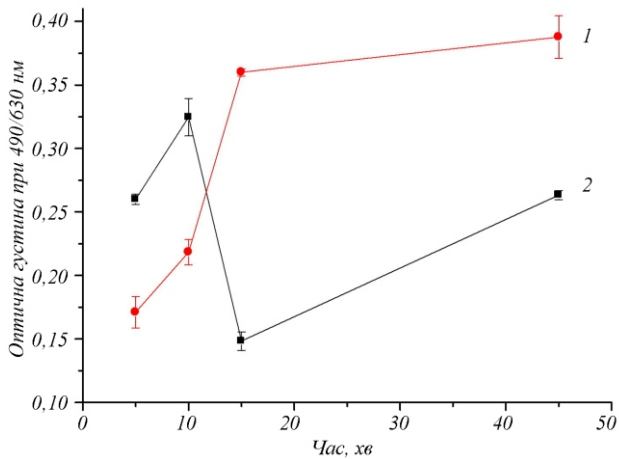


Рис. 2. Динаміка зв'язування D-фрагмента фібрину з клітинами РС-12 за різних температурних умов: 1 – 4 °С; 2 – 37 °С

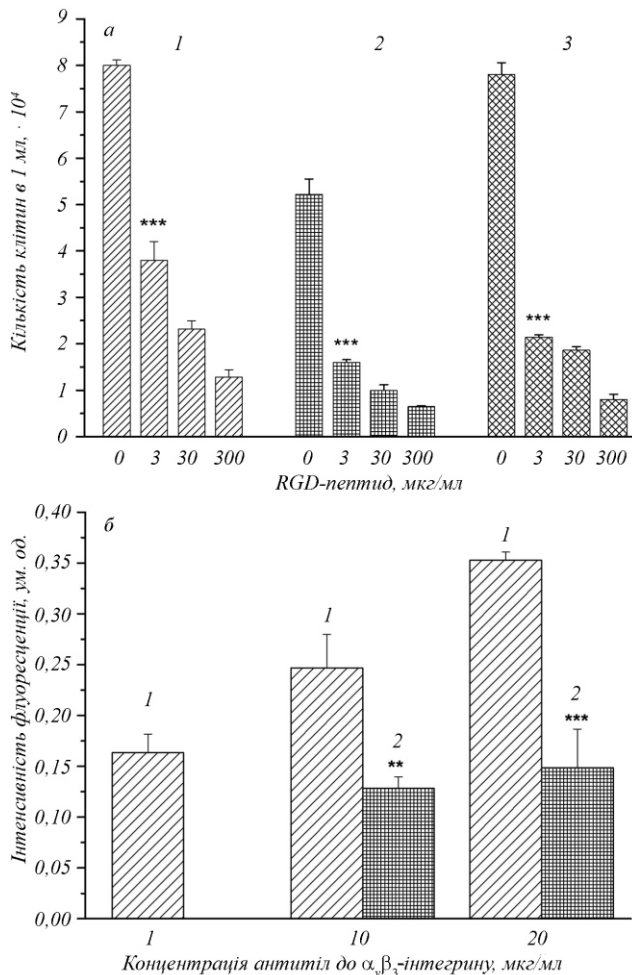


Рис. 3. Зв'язування клітин РС-12 з адсорбованим на пластичку фібриногеном, D- і E-фрагментами фібрину за присутності розчинного RGD-пептиду (а: 1 – D-фрагмент; 2 – E-фрагмент; 3 – фібриноген) та з клітинами РС-12 антитіл проти  $\alpha_v\beta_3$ -інтегрину за відсутності (1) і в присутності (2) фібриногену, за даними проточної цитофлуориметрії

ратури 37 °С кількість зв'язаних фрагментів зростала упродовж лише перших 150 хв, а далі відбувалось різке її зниження з наступним повільним відновленням (рис. 2). Такі результати свідчать про те, що рецептори, специфічні до фрагментів фібрину, інтерналізуються після зв'язуванні ліганда за фізіологічних умов, а потім повертаються на поверхню клітини.

Використання в клітинному ІФА вторинних реагентів (антитіл) перешкоджало проведенню кінетичного аналізу зв'язування. Тому наступним кроком стало отримання флуоресцентного похідного очищеного D-фрагмента. Пряме виявлення зв'язування міченого фрагмента дозволило встановити, що кожна клітина РС-12 несе на своїй поверхні близько  $110^6$  сайтів зв'язування, з якими D-фрагменти фібрину взаємодіють з константою афінності  $8,12 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$ . Розрахований коефіцієнт Хілла дорівнює  $0,697 (< 1)$ , що вказує на зв'язування рецептор–ліганд у співвідношенні 1:1.

Взаємодія клітин з позаклітинним матриксом та білками системи зсідання крові опосередкована адгезивними рецепторами – інтегринами. Значна кількість інтегринів розпізнає на своїх лігандах так званий RGD-сайт (послідовність Arg-Gly-Asp [15]). У наших експериментах прикріплення клітин РС-12 до фібриногену та його D- і E-фрагментів зменшувалося за присутності RGD-вмісного пептиду (рис. 3, а). Висока густина рецепторів на поверхні, рівень афінності, а також ур-регуляція після зв'язування ліганда відповідали відомим характеристикам інтегринів [16, 17].

RGD-залежними адгезивними молекулами, з якими може взаємодіяти фібриноген, є інтегрини  $\alpha_v\beta_3$  і  $\alpha_{IIb}\beta_3$  [18, 19]. Інтегрин  $\alpha_{IIb}\beta_3$  характерний для клітин мегакаріоцитарного ряду і попередників кровотворних клітин [20]. Інтегрин  $\alpha_v\beta_3$  зв'язує переважно колаген і фібронектин. Тому найімовірнішим кандидатом у рецептори до фібриногену і фрагментів фібрину на клітинах РС-12 вважають інтегрин  $\alpha_v\beta_3$ . Його присутність прямо показана нами методом проточної цитофлуориметрії. Антитіла до  $\alpha_v$ -ланцюга дозозалежно зв'язувалися з клітинами РС-12 і їхнє зв'язування зменшувалося за присутності фібриногену (рис. 3, б). Цей результат узгоджується з літературними дани-



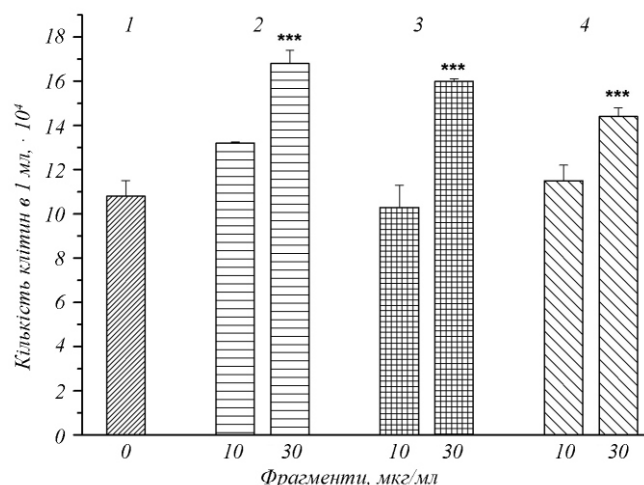


Рис. 4. Проліферація клітин PC-12 за присутності D- (2); DD- (3) і E- (4) фрагментів фібрину, адсорбованих на поверхні адгезивного пластику; 1 – контроль

ми як щодо клітин PC-12, так і інших клітин нейронального походження [21, 22].

Фібриноген може зв'язуватися з інтегрином  $\alpha_3\beta_3$  через RGD-вмісні послідовності A<sub>572-574</sub> C-домену і A<sub>95-97</sub>, а також через RGD-залежні сайти 190–202 і 346–358 у  $\beta$ -ланцюгу D-домену [18]. Клітини PC-12 взаємодіють з фібриногеном бика та з X<sub>1</sub> і X<sub>2</sub>-фрагментами фібриногену людини, у яких послідовність 572–574 відсутня (рис. 1, a). Сайт A<sub>95-97</sub> втрачається після глибшого розщеплення фібрин(оген)у плазмінном [23]. Відповідно до наших даних, клітини PC-12 схожим чином взаємодіють з фібриногеном та D-, DD-, E-фрагментами, причому зв'язування одного з фрагментів посилює взаємодію з іншими (даних не наведено). Таким чином, сайт(и) зв'язування з інтегрином  $\alpha_3\beta_3$  мають бути присутніми на всіх досліджених фрагментах.

D(DD)-фрагмент містить RGD-залежні сайти (190–202 і 346–358)  $\beta$ -ланцюга, в E-фрагменті подібних послідовностей не визначено. Наші дані свідчать про те, що в E-фрагменті також існує RGD-залежний сайт взаємодії з  $\alpha_3\beta_3$  інтегрином, можливо, меншої афінності, оскільки адгезія клітин PC-12 до E-фрагмента була слабшою, ніж до D (рис. 1, a). Наявність такого сайту узгоджується з даними Кодама та співавт. [24], які показали, що RGD-залежна міграція клітин гладеньких м'язів су-

дин у фібриновий гель блокується D- і E-фрагментами фібрин(оген)у і антитілами проти них.

На відміну від розчинних DD-, D- і E-фрагментів [9], фрагменти, адсорбовані на поверхні пластику, сприяли проліферації клітин PC-12 (рис. 4). Не виключено, що за фізіологічних умов продукти деградації згустка при зв'язуванні на прилеглих тканинах також виявляють біологічну дію, відмінну від розчинних фрагментів фібрину.

У цілому, отримані нами дані свідчать про те, що клітини нервової тканини піддаються впливу корових продуктів деградації фібрин(оген)у – DD-, D- і E-фрагментів – завдяки інтегринам типу  $\alpha_3\beta_3$ . Останні сприяють адгезивним взаємодіям клітин і підтримують їхній проліферативний потенціал, що може пояснити позитивний ефект фібринового згустка (за природних умов) або клею (при штучному застосуванні) на відновлення нервових клітин.

N. Y. Chorna, Y. I. Petrova, O. M. Kalashnik, T. M. Platonova, S. Cederholm-Williams, M. V. Skok

Receptors for fibrin fragments on neuroendocrine PC-12 cells

Summary

By means of flow cytometry and cell immunoenzyme assay the neuron-like cells PC-12 are shown to express  $\alpha_3\beta_3$  integrin responsible for the binding of these cells with fibrinogen and D, DD, E fibrin fragments. Each cell contains about  $1 \cdot 10^6$  D fragment binding sites with the affinity constant of  $8.12 \cdot 10^6 M^{-1}$ , the binding is blocked by the RGD-containing peptide. The receptors are internalized at physiological temperature renewing on the plasma membrane later. Preincubation with the fibrin fragments results in the increase in receptors number on the cell surface. The D, DD and E fibrin fragments adsorbed on the plastic surface favor PC-12 cell proliferation that may explain a positive effect of fibrin on nerve regeneration.

Keywords: PC-12 cell line, D, DD and E fibrin(ogen) fragments, integrins.

Н. Ю. Черная, Ю. И. Петрова, Е. Н. Калашник, Т. Н. Платонова, С. Седерхольм-Вильямс, М. В. Скок

Рецепторы к фрагментам фибрина на нейроэндокринных клетках линии PC-12

Резюме

Методами цитофлуориметрії и клеточного иммуноферментного анализа показано, что нейроноподобные клетки линии PC-12 экспрессируют  $\alpha_3\beta_3$ -интегрин, ответственный за связывание клеток с фибриногеном и D-, DD-, E-фрагментами фибрина. Каждая клетка содержит приблизительно  $1 \cdot 10^6$  сайтов связывания D-фрагмента с константой аффинности  $8,12 \cdot 10^6 M^{-1}$ , связывание блокируется RGD-содержащим пеп-

тидом. При фізіологічній температурі происходит інтерналізація рецепторів з наступним відновленням на мембрані. Прейнкубація з фрагментами фібрину приводить до збільшення кількості рецепторів на поверхні кліток. Адсорбовані на поверхні пластику D-, DD- та E-фрагменти фібрину сприяють проліферації кліток РС-12, що об'ясняє позитивне впливання фібрину на відновлення нервових кліток.

**Ключеві слова:** клітки лінії РС-12, D-, DD- та E-фрагменти фібрину(ноге)а, інтегрини.

#### ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Akassoglou K., Kombrinck K. W., Degen J. L., Strickland S. Tissue plasminogen activator-mediated fibrinolysis protects against axonal degeneration and demyelination after sciatic nerve injury // *J. Cell Biol.*—2000.—**149**, N 5.—P. 1157–1166.
2. Zeng L., Huck S., Redl H., Schlag G. Fibrin sealant matrix supports outgrowth of peripheral sensory axons // *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand Surg.*—1995.—**29**, N 3.—P. 199–204.
3. Matras H., Braun F., Lassmann H. Plasma clot welding of nerves (experimental report) // *J. Max. Fac. Surg.*—1973.—**1**.—P. 236–247.
4. Dagum A. B. Peripheral nerve regeneration, repair and grafting // *J. Hand Ther.*—1998.—**11**, N 2.—P. 111–117.
5. Menovsky T., Bartels R. H. Stabilization and accurate trimming of nerve ends: practical use of fibrin glue: technical note // *Neurosurgery.*—1999.—**44**, N 1.—P. 224–229.
6. Yin Q., Kemp G. J., Yu L. G. Neurotrophin-4 delivered by fibrin glue promotes peripheral nerve regeneration // *Muscle Nerve.*—2001.—**24**, N 3.—P. 345–351.
7. Greene L. A., Tischler A. S. Establishment of a noradrenergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1976.—**73**.—P. 2424–2428.
8. Петрова Ю. І., Савчук О. М., Калашиник О. М., Платонова Т. М., Скок М. В., Седерхольм-Вільямс С. Клітини ЗС-12 гідролізують фібриновий згусток шляхом продукції плазміногену та його тканинного активатора // *Укр. біохім. журн.*—2004.—**76**, № 2.—С. 64–68.
9. Калашиник О. М., Петрова Ю. І., Платонова Т. М., Скок М. В., Седерхольм-Вільямс С. Роль продуктів деградації фібринового згустку в регуляції життєвих функцій клітин лінії РС-12 // *Укр. біохім. журн.*—2005.—**77**, № 5.—С. 37–44.
10. Платонова Т. М., Лукинова Н. І., Медведь Л. В. Виявлення та аналіз активованих форм димерного D-фрагмента молекули фібрину // *Доклади АН України.*—1993.—**6**.—С. 5–8.
11. Бєлицер В. О., Варецька Т. В., Цинкаловська С. М., Позднякова Т. М., Толстих В. М. Виділення та дослідження високомолекулярного триптичного фрагмента фібриногену – інгібітора полімеризації фібрину // *Укр. біохім. журн.*—1972.—**44**, № 4.—С. 411–417.
12. Carmichael J., DeGraff W. G., Gazdar A. F. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of radiosensitivity // *Cancer Res.*—1987.—**47**, N 4.—P. 943–946.
13. Клаус Дж. Лимфоциты. Методы.—М.: Мир, 1990.—395 с.
14. Корниш-Боуден А. Принципы кинетики энзимов.—М.: Мир, 1979.—280 с.
15. Ровенский Ю. А. Клеточные и молекулярные механизмы опухолевой инвазии // *Биохимия.*—1998.—**63**, № 9.—С. 1204–1221.
16. Bretscher M. S. Circulating integrins:  $\alpha_5\beta_1$ ,  $\alpha_6\beta_4$  and Mac-1, but not  $\alpha_3\beta_1$ ,  $\alpha_4\beta_1$  or LFA-1 // *EMBO J.*—1992.—**11**.—P. 405–410.
17. Critchley D. R. Focal adhesions – the cytoskeletal connection // *Curr. Opin. Cell Biol.*—2000.—**12**, N 1.—P. 133–139.
18. Yokoyama K., Erickson H. P., Ikeda Y., Takada Y. Identification of amino acid sequences in fibrinogen gamma-chain and tenascin CC-terminal domains critical for binding to integrin  $\alpha\text{v}\beta_3$  // *J. Biol. Chem.*—2000.—**275**, N 22.—P. 16891–16898.
19. Podolnikova N. P., Yakubenko V. P., Volkov G. L., Plow E. F., Ugarova T. P. Identification of a novel binding site for platelet integrins  $\alpha\text{IIb}\beta_3$  (GPIIb/IIIa) and  $\alpha_5\beta_1$  in the gamma C-domain of fibrinogen // *J. Biol. Chem.*—2003.—**278**, N 34.—P. 32251–32258.
20. Corbel C., Vaigot C., Salaun J. (alpha)IIb Integrin, a novel marker for hemopoietic progenitor cells // *Int. J. Develop. Biol.*—2005.—**49**, N 2–3.—P. 279–284.
21. Yip P. M., Zhao X., Montgomery A. M., Siu C. H. The Arg-Gly-Asp motif in the cell adhesion molecule L1 promotes neurite outgrowth via interaction with the  $\alpha\text{v}\beta_3$  integrin // *Mol. Biol. Cell.*—1998.—**9**, N 2.—P. 277–290.
22. Pittier R., Sauthier F., Hubbell J. A., Hall H. Neurite extension and *in vitro* myelination within three-dimensional modified fibrin matrices // *J. Neurobiol.*—2005.—**63**, N 1.—P. 1–14.
23. Луговской Э. В. Молекулярные механизмы образования фибрина и фибринолиза.—К.: Наук. думка, 2003.—223 с.
24. Kodama M., Naito M., Nomara H., Iguchi A., Thompson W. D., Stirk C. M., Smith E. B. Role of D and E domains in the migration of vascular smooth muscle cells into fibrin gels // *Life Sci.*—2002.—**71**, N 10.—P. 1139–1148.

УДК 577:27

Надійшла до редакції 26.11.07