



УДК 612.419:576.31576

## Фенотипові та морфологічні зміни культури клітин кісткового мозку щурів в процесі їх культивування

А.Й. Мазуркевич, В.В. Ковпак, О.С. Ковпак  
kovpak8887@gmail.com

Національний університет біоресурсів і природокористування України,  
вул. Героїв Оборони, 11, м. Київ, 03041, Україна

Дослідження первинної культури клітин кісткового мозку щура показали, що вона морфологічно гетерогенна, відмічали невелику кількість клітин полігональної форми, оточених фібробластоподібними клітинами. У процесі культивування культура клітин стає більш гомогенною за рахунок фібробластоподібних клітин. Як наслідок – відбувався процес переходу від гетерогенної культури на нульовому пасажі до найбільш гомогенної культури на 4 пасажі. Імунофенотипування популяції культури клітин, отриманих з кісткового мозку щура, дозволило виявити високий рівень експресії пан-кератину; помірний рівень – CD34, CD48, CD66e, CD95; низький рівень – CD38, CD45, CD56, CD227, CD326; відсутність експресії – CD10, CD54. Зміну експресії деяких поверхневих маркерів відмічали на кожному пасажі: достовірно збільшується CD48, CD66e, CD95; достовірно зменшується CD38, CD45, CD326, пан-кератин. Маркери CD34, CD56, CD 227 експресувалися на одному рівні з першого до четвертого пасажу. Експресію маркерів CD10, CD54 впродовж всього терміну дослідження виявлено не було.

Дослідження культури клітин показало, що експресія маркерів, характерних для гемопоетичних стовбурових клітин (CD34, CD38, CD45), в процесі культивування знижується. У той час маркери, характерні для епітеліальних клітин (CD66e, CD326), достовірно збільшують інтенсивність своєї експресії з кожним пасажем. Дані, отримані від імунофенотипового аналізу культури клітин кісткового мозку щурів, підтверджуються зміною морфології моношару за рахунок фібробластоподібних клітин.

**Ключові слова:** культура клітин, кістковий мозок, імунофенотипування, морфологія, поверхневі CD-маркери.

## Фенотипические и морфологические изменения культуры клеток костного мозга крыс в процессе их культивирования

А.И. Мазуркевич, В.В. Ковпак, О.С. Ковпак  
kovpak8887@gmail.com

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,  
ул. Героев Обороны, 11, Киев, 03041, Украина

Исследование первичной культуры клеток костного мозга крысы показали, что она морфологически гетерогенная, отмечали небольшое количество клеток полигональной формы, окруженных фибробластоподобными клетками. В процессе культивирования культура клеток становится более гомогенной за счет фибробластоподобных клеток. В результате происходил процесс перехода от гетерогенной культуры на нулевом пассаже к наиболее гомогенной культуре на 4 пассаже. Имунофенотипирование популяции культуры клеток, полученных из костного мозга крысы, позволило выявить высокий уровень экспрессии пан-кератина; умеренный уровень – CD34, CD48, CD66e, CD95; низкий уровень – CD38, CD45, CD56, CD227, CD326; отсутствие экспрессии – CD10, CD54. Изменение экспрессии некоторых поверхностных маркеров отмечали на каждом пассаже: достоверно увеличивается CD48, CD66e, CD95; достоверно уменьшается CD38, CD45, CD326, пан-кератин. Маркеры CD34, CD56, CD 227 экспрессировались на одном уровне с первого до четвертого пассажа. Экспрессию маркеров CD10, CD54 в течение всего срока исследования выявлено не было.

### Citation:

Mazurkiewicz, A.I., Kovpak, V.V., Kovpak, O.S. (2016). Phenotypic and morphological changes of bone marrow cells culture of rats during cultivation. *Scientific Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhytskyj*, 18, 2(66), 126–131.

*Исследования культуры клеток показало, что экспрессия маркеров, характерных для гемопоэтических стволовых клеток (CD34, CD38, CD45), в процессе культивирования снижается. В это время маркеры, характерные для эпителиальных клеток (CD66e, CD326), достоверно увеличивают интенсивность своей экспрессии с каждым пассажем. Данные, полученные от иммунофенотипического анализа культуры клеток костного мозга крыс, подтверждаются изменением морфологии монослоя за счет фибробластоподобные клеток.*

**Ключевые слова:** культура клеток, костный мозг, иммунофенотипирование, морфология, поверхностные CD-маркеры.

## Phenotypic and morphological changes of bone marrow cells culture of rats during cultivation

A.I. Mazurkiewicz, V.V. Kovpak, O.S. Kovpak  
kovpak8887@gmail.com

National University of life and environmental sciences of Ukraine,  
Heroyiv Oborony Str., 11, Kyiv, 03041, Ukraine

*Bone marrow is the only adult tissue which normally consists of immature undifferentiated and low differentiated cells which called stem cells and they are similar in structure to embryonic stem cells. But literature data analysis doesn't give an unambiguous answer regarding phenotypic and morphological changes of bone marrow cells culture of rats during their in vitro cultivation which necessitated further research.*

*Investigate phenotypic and morphological changes of bone marrow cells culture of rats during their in vitro cultivation from first to fourth passage.*

*We were used in these research bone marrow cells of rats from the first to the fourth passages. Microscopic analysis and evaluation morphological changes of bone marrow cells culture of rats during cultivation were carried out using inverted microscope Axiovert 40. Control of changes phenotype was performed by detecting CD markers (CD10, CD38, CD34, CD45, CD48, CD54, CD56, CD66e, CD96, CD227, CD326, pan-keratin). The evaluation was performed by the semi-quantitative method (H-Score).*

*The research of primary culture of rat bone marrow cells showed that it morphologically heterogeneous, noted the small number of cells polygonal shape, surrounded by the fibroblast cells. During the cultivation cell culture becomes more homogenous at the expense of fibroblast-like cells. As a result of occurred the transition process from heterogeneous culture in zero passage to the most homogeneous culture in 4 passage. Immunophenotyping population of cell culture derived from rat bone marrow, revealed a high level of expression of pan-keratin; moderate level – CD34, CD48, CD66e, CD95; low level – CD38, CD45, CD56, CD227, CD326; lack of expression – CD10, CD54. Change of the expression of surface markers varies in each passage CD48, CD66e, CD95 increased significantly; CD38, SD45, SD326, pan-keratin reduced significantly. The markers CD34, CD 56, CD 227 were expressed on the one level from the first to the fourth passage. The expression of the CD10, CD54 markers during the study period was not identified.*

**Key words:** cell culture, bone marrow cells, immunophenotyping, morphology.

### Вступ

Головним органом кровотворення у ссавців є кістковий мозок губчатої речовини кісткової тканини. Він являє собою м'яку тканину, в якій проходять процеси кровотворення та диференціації клітин крові з гемопоетичних стовбурових клітин (ГСК) (Abdulkadyrov, 2004). На відміну від більшості інших тканин, кістковий мозок можна легко отримати від живої тварини тому він є незамінним об'єктом для вивчення процесів проліферації і диференціації клітин.

Кістковий мозок – єдина тканина дорослого організму, яка в нормі складається з незрілих, недиференційованих і низькодиференційованих клітин, так званих стовбурових клітин, близьких за будовою до ембріональних клітин (Ningning et al., 2014). Доведено, що мезенхімальні та ендотеліальні клітини, що містяться у кістковому мозку, здатні розвиватися в різноманітні негемопоетичні тканини – остеокласти, хондроцити, адипоцити, епітелій (Sukhikh et al., 2002; Dorshkind, 2002).

Зважаючи на все вищезазначене, кістковий мозок є незамінним об'єктом отримання матеріалу для потреб клітинної терапії. Проте сучасна практика запровадження клітинної терапії вимагає кропіткого експерт-

ного аналізу вихідного матеріалу, ретельної деталізації кожного з етапів застосування клітин, відстеження подальшої долі останніх *in vitro* або *in vivo* (Brodskiy et al., 2011). Виникають питання, зокрема щодо класифікації клітин залежно від способу їх отримання та ступеня зрілості. З огляду на останнє, фенотипування культури клітин кісткового мозку видається актуальним та своєчасним.

Мета дослідження: дослідити морфологічні та фенотипові зміни клітин кісткового мозку в процесі їх культивування *in vitro* з першого до четвертого пасажу.

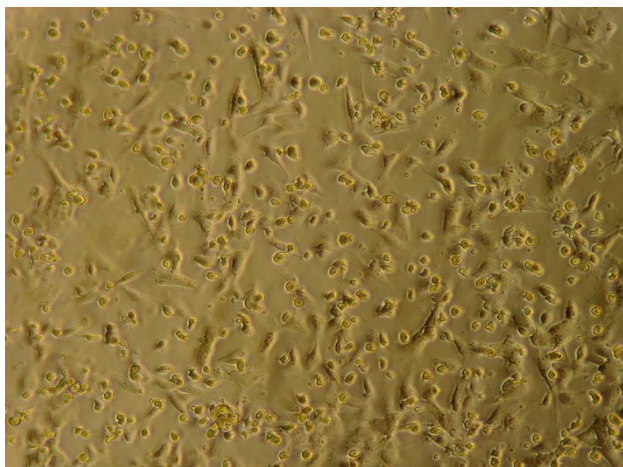
### Матеріал і методи досліджень

Експерименти на тваринах були проведені з дотриманням вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (ст. 230 від 2006 року), «Загальних етичних принципів експериментів над тваринами», схвалених Національним конгресом з біоетики і узгоджених з положеннями «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментах та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986).

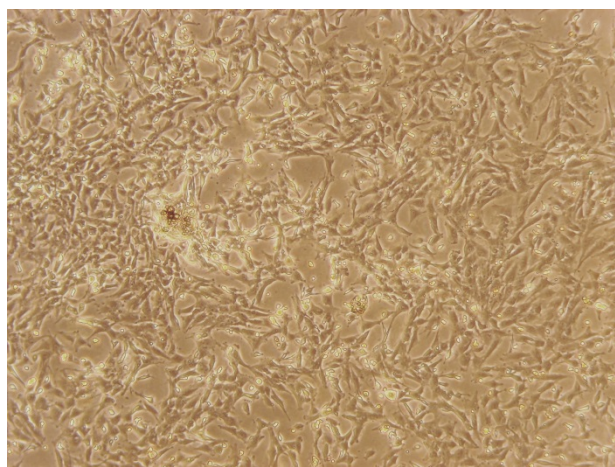
У досліді використали 9 нелінійних щуренят 12-денного віку. Евтаназію дослідних тварин здійснювали шляхом декапітації під ефірним наркозом. Культу-

ру клітин кісткового мозку (КККМ) отримували з кісткового мозку стегнових, великогомілкових та плечових кісток щурів. Одержану клітинну масу культивували у стандартному середовищі: 80% – сере-

довище Ігла модифіковане Дульбекко (DMEM); 20% – фетальна сироватка телят (FBS); 10 мкл/см<sup>3</sup> – антибіотика–антимікотика («Sigma», США) (рис.1).



**Рис. 1.** Мікрофотографія адгезованих клітин кісткового мозку *in vitro*, 3 доба культивування. Нативний препарат ок.×10,об.×10



**Рис. 2.** Мікрофотографія культури клітин кісткового мозку, 7 доба культивування (0 пасаж). Нативний препарат. ок.×10, об×5

Культивування проводили у CO<sub>2</sub> інкубаторі за 37 °C та 5% концентрації CO<sub>2</sub>, 8 днів, до конфлюентності 90–100% . Клітини знімали за стандартною методикою (розчином 0,25% трипсин/ЕДТА) (Masurkewitsch et al., 2014). Подальше пасажування здійснювалось у розведенні 1:3. Мікроскопічний аналіз і оцінку культури здійснювали за допомогою інвертованого мікроскопа Axiovert 40 (Карл Цейс).

Контроль зміни фенотипу проводили шляхом виявлення CD–маркерів (CD10, CD38, CD34, CD45, CD48, CD54, CD56, CD66e, CD96, CD227, CD326, пан–кератин). Для цього клітини вирощували на покритих скельцях. Скельця з клітинами промивали тричі у PBS, після чого фіксували розчином метанол/оцтова кислота (1:1) («Sigma», США), t –4 °C протягом 2 годин. Далі промивали тричі у PBS. Скельця переносили на 20 хвилин у 1% розчин бичачого сироваткового альбуміну на PBS. Потім скельця струшували від рідини та наносили первинні антитіла (розведення 1:100), експозиція 1 година. Після чого скельця промивали двічі у PBS та наносили вторинні антитіла Alexa Fluor 488 donkey anti–mouse IgG (H+L) (розведення 1:500) («Invitrogen», США), експозиція 1 год. Далі скельця промивали тричі у PBS, на скельця наносили гліцерин та закріплювали на них покривні скельця (Masurkewitsch et al., 2014). Дослідження зразків здійснювали за допомогою флуоресцентного мікроскопа Leica DMR (Німеччина).

Оцінку проводили напівкількісно (метод H–Score), були обрані 20 полів у випадковому порядку при збільшенні x400. Середній бал вираховували за формулою: S=1xA+ 2xB + 3xC, де S – показник «H–Score», значення якого знаходяться у межах від 0 (білок не експресується) до 300 (сильна експресія у 100% клітин); А – клітини з слабкою експресією; В – відсоток клітин з помірною експресією білка; С – відсоток

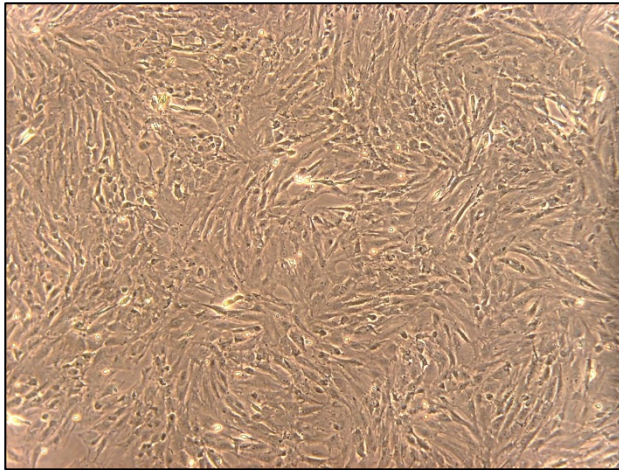
клітин з сильною експресією. Ступінь експресії визначали як негативний, якщо число балів було в діапазоні від 0 до 50; низький — від 51 до 100; помірний — від 101 до 200; високий — 201 та вище (Urogov et al., 2000).

### Результати та їх обговорення

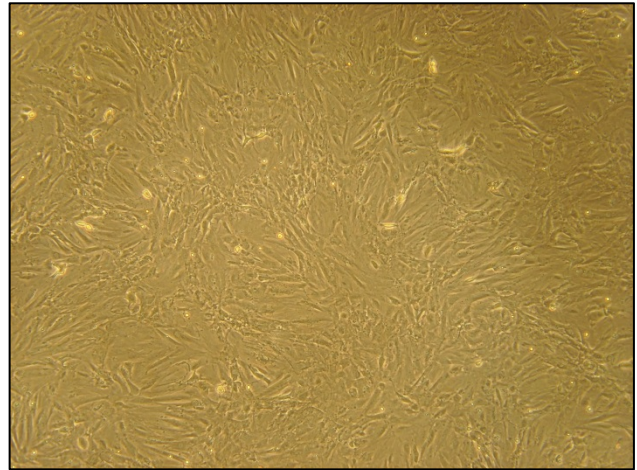
*Морфологічна характеристика культури клітин кісткового мозку.* Первинна культура адгезивних клітин кісткового мозку щурів характеризувалася морфологічною гетерогенністю. Протягом декількох днів після висівання можна було спостерігати значну кількість прикріплених округлих клітин, що не діляться, у поєднанні з фібробластоподібними клітинами (рис. 1), які у подальшому покривали основну масу культурального пластику. Первинна КККМ досягла конфлюентності 90 – 100% у середньому за 8 днів.

На першому пасажі відмічали гетерогенність культури, КККМ щурів складалася з невеликої кількості клітин полігональної форми, оточених фібробластоподібними клітинами (рис. 3). З кожним пасажем кількість клітин полігональної форми зменшувалась. На четвертому пасажі відмічали найбільший гомогенний склад культури. Морфологія КККМ на 4 пасажі характеризувалася фібробластоподібною структурою з окремими клітинами полігональної форми (рис. 4.)

Описані зміни можна пояснити тим, що кровотворні клітини, які містяться у кістковому мозку, здатні тривалий час переживати і самопідтримуватися без суттєвого збільшення їх кількості (Ningning et al., 2014). Тому на фоні пасажувань та при швидкому збільшенні фібробластоподібних клітин відсоток клітин полігональної форми суттєво знижується.



**Рис. 3. Мікрофотографія моношару КККМ, 1 пасаж.** Нативний препарат. ок.×10, об×5



**Рис. 4. Мікрофотографія моношару КККМ, 4 пасаж.** Нативний препарат. ок.×10, об×5

*Характеристика культури клітин кісткового мозку за поверхневими маркерами.* Імунофенотипування популяції культури клітин, отриманих з кісткового мозку щура, дозволило виявити високий рівень експресії пан-кератину; помірний рівень – CD34, CD48, CD66e, CD95 ; низький рівень – CD38, CD45, CD56, CD227, CD326; відсутність експресії – CD10, CD54.

CD34 – трансмембранний мономерний глікопротеїн I типу, що опосередковує процеси міжклітинної адгезії. Він є маркером гемопоетичних стовбурових клітин, ендотеліальних клітин судин, ембріональних фібробластів (Krause et al., 1996). Під час дослідження відмічали підтримання рівня його експресії на одному рівні з незначними коливаннями.

Таблиця 1

**Зміна експресії поверхневих маркерів у популяції клітин, виділених з кісткового мозку щура з першого до четвертого пасажу,  $M \pm m$ ,  $n = 3$**

Поверхневі маркери	Пасаж			
	I	II	III	IV
	Оцінка в балах за методом H-Score (від 0 до 300)			
10	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
34	108 ± 8	97 ± 8	92 ± 2	97 ± 4
38	116 ± 9	94 ± 8	57 ± 7**	38 ± 11**
45	95 ± 12	83 ± 12	76 ± 13	45 ± 7*
48	68 ± 11	75 ± 15	84 ± 15	115 ± 13*
54	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0
56	73 ± 12	85 ± 8	96 ± 7	84 ± 7
66e	57 ± 12	78 ± 11	108 ± 14*	115 ± 15*
95	66 ± 13	79 ± 15	110 ± 7*	119 ± 9*
227	52 ± 12	68 ± 13	89 ± 11	83 ± 9
326	97 ± 21	87 ± 19	76 ± 11	37 ± 6*
Пан-кератин	279 ± 15	259 ± 20	253 ± 19	193 ± 16*

**Примітка.** \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ ; \*\*\* –  $P < 0,001$  порівняно з контролем (контролем для кожного CD маркера виступав перший пасаж)

CD38 – одноланцюговий трансмембранний глікопротеїд II типу (Alessio et al., 1990). Він є маркером лінійно-комітованих гемопоетичних клітин-попередників, експресія якого характерна для клітин-попередників мієлоїдного та еритроїдного ряду кісткового мозку (Terstappen et al., 1991; Malavasi et al., 1994). Під час дослідження відмічали достовірне зниження експресії від 116 (I пасаж) до 38 балів (IV пасаж). Отримані дані можуть вказувати про зниження кількості гемопоетичних клітин у КККМ з пасажами, що підтверджується зміною морфології культури.

CD45 – трансмембранний глікопротеїн I типу, що належить до родини протеїнів тирозин фосфатаз і експресується на всіх гемопоетичних клітинах, за винятком еритроцитів та тромбоцитів (Trowbridge and Thomas, 1994). Даний факт може пояснювати достовірне зменшення експресії даного маркера в отриманій КККМ з 95 (I пасаж) до 45 (IV пасаж) балів.

CD48 – трансмембранний глікопротеїн I типу, зв'язаний з клітинною мембраною за допомогою глікозит фосфатидилінозита (Shin and Abraham, 2001). CD48 експресований на деяких гемопоетичних та ендотеліальних клітинах. Бере участь у активації і шляхах диференціації вказаних клітин. Під час дослідження відмічали достовірне збільшення експресії CD48 від 68 (I пасаж) до 115 балів (IV пасаж).

CD48 – трансмембранний глікопротеїн I типу, зв'язаний з клітинною мембраною за допомогою глікозит фосфатидилінозита (Shin and Abraham, 2001). CD48 експресований на деяких гемопоетичних та ендотеліальних клітинах. Бере участь у активації і шляхах диференціації вказаних клітин. Під час дослідження відмічали достовірне збільшення експресії CD48 від 68 (I пасаж) до 115 балів (IV пасаж).

CD66e – глікозольований глікопротеїд поверхневої мембрани епітеліальних клітин (Hammarström, 1999). Маркер клітинної адгезії (Zhang et al., 2009), клітинної міграції, збудник зв'язування та активації сигнальних шляхів (Blumenthal et al., 2005), експресується епітеліальними клітинами, чим пояснюється виявлення CD66e у більшості органів (Hammarström, 1999). Нормальні клітини зазвичай піддаються апоптозу при відсутності адгезивних взаємодій з CD66e, явище, відоме як «аноїкіс» («anoikis»). Стійкість до апоптозу характерна для пухлинних клітин (Blumenthal et al., 2005). У досліджуваній культурі клітин достовірно збільшується з першого (57 балів) до четвертого (115 балів) пасажу. Отриманні дані можуть вказувати на відсутність активної неопластичної трансформації КККМ.

CD95 – трансмембранний глікопротеїд I типу, опосередковує сигнал, що ініціює апоптоз (Yonehara et al., 1989). Починаючи з першого пасажу інтенсивність експресії даного маркера достовірно збільшується з 66 до 119 балів відповідно.

Дані росту експресії CD95 корелюють з рівнем апоптозу у культурі клітин, що було досліджено нами раніше (Mazurkevich et al., 2006). Отже, з отриманих даних можна зробити висновок, що підвищення рівня CD95 пояснюється збільшенням клітин у стані апоптозу.

CD227 – трансмембранний глікопротеїн, що експресується епітеліальними та деякими гемопоетичними клітинами (Inagaki et al., 2009). Гіперекспресія даного маркера призводить до трансформації клітин та нівелює стрес-індукований апоптоз через Akt або p53 каскади (Raina et al., 2004). Під час дослідження нами відмічалось збільшення експресії CD227 з першого (52 бали) до третього (89 балів) пасажу з подальшим зниженням до 83 балів на четвертому пасажі.

CD326 – трансмембранний глікопротеїн першого типу – маркер епітеліальних клітин. Клітини, що експресують даний маркер, мають знижену потребу в факторах росту, спостерігають збільшення їх метаболічної активності та здатності до формування колоній (Münz et al., 2004). Під час культивування нами відмічалось сповільнення утворення моношару та достовірне зменшення мітотичного індексу (Mazurkevich et al., 2006) з пасажами, що у свою чергу пояснює достовірне зменшення експресії CD326 від 97 до 37 балів з першого до четвертого пасажу відповідно.

Пан–кератин – входить до складу проміжних філаментів цитоскелета епітеліальних клітин (Chang and Goldman, 2004). Наявність позитивної реакції з даними антитілами свідчить про епітеліальне походження клітин (Moll et al., 1982). Під час дослідження відмічали достовірне зниження експресії від 279 (I пасаж) до 193 балів (IV пасаж).

Експресію маркерів CD10, CD54 впродовж всього терміну дослідження відносили до категорії «відсутність експресії».

Дослідження культури клітин показало, що експресія маркерів, характерних для гемопоетичних стовбурових клітин (CD34, CD38, CD45), в процесі культивування знижується. У той час маркери, характерні для епітеліальних клітин (CD66e, CD326), достовірно

збільшують інтенсивність своєї експресії з кожним пасажем. Дані, отримані від імунофенотипового аналізу культури клітин кісткового мозку щурів, підтверджуються зміною морфології моношару за рахунок фібробластоподібних клітин.

Отримані дані щодо зміни фенотипу культури клітин кісткового мозку щурів з першого до четвертого пасажу будуть використані як основна модель для подальшого дослідження вказаної культури як *in vitro* так і *in vivo* у інших видів тварин.

## Висновки

1. Первинна культура кісткового мозку щура характеризується гетерогенністю, відмічали невелику кількість клітин полігональної форми, оточених фібробластоподібними клітинами.
2. У процесі культивування культура клітин стає більш гомогенною за рахунок фібробластоподібних клітин.
3. Протягом культивування відмічали зміни експресії деяких поверхневих маркерів: достовірно збільшується CD48, CD66e, CD95; достовірно зменшується CD38, CD45, CD326, пан–кератин.
4. Маркери CD34, CD56, CD 227 експресуються на одному рівні з першого до четвертого пасажу.
5. Експресію маркерів CD10, CD54 впродовж всього терміну дослідження виявлено не було.

## Бібліографічні посилання

- Abdulkadyrov, K.M. (2004). Gematologija: Novejšij spravocnik [Hematology: The latest guide] M.: Sova (in Russian).
- Ningning, He, Lu, Zhang, Jian, Cui, et al (2014). Bone Marrow Vascular Niche: Home for Hematopoietic Stem Cells. Hindawi Publishing Corporation: Bone Marrow Research. Article ID 128436, 8 pages.
- Sukhikh, G.T., Malaytsev, V.V., Bogdanova, I.M. (2002). Mezenkhimal'naya stvolovaya kletka [Mesenchymal stem cells]. Byull. eksperim. biol. i med. – Bull. of Exp. Biol. and Med. 2, 124–131 (in Russian).
- Dorshkind, K. (2002). Stem cells and lineage plasticity: the challenge to existing paradigms. Immunological Reviews. 187, 5–8.
- Brodskiy, I.B., Bryantseva, I.A., Zharparova, O.N. et al (2011). Primeneniye mezenkhimal'nykh stvolovykh kletok dlya vosstanovleniya struktury i funktsii povrezhdennykh tkaney i organov [Use of mesenchymal stem cells for repair of damaged structure and function of tissues and organs]. Efferent. i fiz.–khim. med. – Efferent and phys.–chem. med. 1, 4–10 (in Russian).
- Masurkewitsch, A.J., Kowpak, V.V., Danilow, W.B. (2014). Klitinni tehnologii u veterinarnej meditsini. Nawtschal'nij pocibnik. [Cellular technologies in veterinary medicine. Study Guide]. Kyev: KOMPRINT (in Ukrainian).
- Uporov, A.V., Semihlazov, V.F., Pozharis, K.M. (2000) Immunohistokhymicheskoe vyvchennya klityn raku molochnoyi zalozy z vykorystannyam riznykh markeriv proliferatsiyi [Immunohistochemical study of breast cancer cells using a variety of proliferation

- markers]. *Arkh patolohiyi – Arch. of pathology.* 2, 26–30 (in Russian).
- Krause, D.S., Fackler, M.J., Civin, C.I. et al (1996). CD34: structure, biology, and clinical utility. *Blood*, 87(1), 1–13.
- Alessio, M., Roggero, S., Funaro, A. et al (1990). CD38 molecule: structural and biochemical analysis on human T lymphocytes, thymocytes, and plasma. *Immunol.* 3, 878–884.
- Malavasi, F., Funaro, A., Roggero, S. et al (1994) Human CD38: a glycoprotein in search of a function. *Immunol. Today.* 3, 95–97.
- Terstappen, L.W., Huang, S., Safford, M. (1991). Sequential generations of hematopoietic colonies derived from single nonlineage-committed CD34+CD38– progenitor cells. *Blood.* 77(6), 1218–1227.
- Trowbridge, I.S., Thomas, M.L. (1994). CD45: an emerging role as a protein tyrosine phosphatase required for lymphocyte activation and development. *Annu. Rev. Immunol.* 12, 85–116.
- Shin, J.S., Abraham, S.N. (2001) Glycosylphosphatidylinositol-anchored receptor-mediated bacterial endocytosis. *FEMS Microbiol Lett.* 197 (2), 131–138.
- Hammarström, S. (1999). The carcinoembryonic antigen (CEA) family: structures, suggested functions and expression in normal and malignant tissues. *Semin. Cancer. Biol.* 9, 67–81.
- Zhang, G., Liu, T., Chen, Y.H., Chen, Y., et al (2009). Tissue specific cytotoxicity of colon cancer cells mediated by nanoparticle-delivered suicide gene in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res.* 15 (1), 201–207.
- Blumenthal, R.D., Hansen, H.J., Goldenberg, D.M. (2005) Inhibition of adhesion, invasion, and metastasis by antibodies targeting CEACAM6 (NCA-90) and CEACAM5 (Carcinoembryonic Antigen). *Cancer. Res.* 65(19), 8809–8817.
- Yonehara, S., Ishii, A., Yonehara, M. (1989). A cell-killing monoclonal antibody (anti-Fas) to a cell surface antigen co-downregulated with the receptor of tumor necrosis factor. *Exp. Med.* 169(5), 1747–1756.
- Mazurkevich, A.Y., Kovpak, V.V., Kovapak, O.S. et al (2016). Tsitogenetichniy analiz mezenkhímal'nikh stovburovikh klitin shchuriv na ríznikh pasazhakh [Cytogenetic analysis of mesenchymal stem cells of rats at different passages]. *Veterinara biotekhnologíya – Veterinary Biotechnology.* 28, 165–172 (in Ukrainian).
- Inagaki, Y., Xu, H., Nakata, M., et al. (2009). Clinicopathology of sialomucin: MUC1, particularly KL-6 mucin, in gastrointestinal, hepatic and pancreatic cancers. *Biosci. Trends.* 6, 220–232.
- Raina, D., Kharbanda, S., Kufe, D. (2004). The MUC1 oncoprotein activates the anti-apoptotic phosphoinositide 3-kinase/Akt and Bcl-xL pathways in rat 3Y1 fibroblasts. *Biol. Chem.* 279(20), 20607–20612.
- Münz M., Kieu C., Mack B., Schmitt B., et al (2004) The carcinoma-associated antigen EpCAM upregulates c-myc and induces cell proliferation. *Oncogene.* 23(24), 5748–5758.
- Chang, L., Goldman, R.D. (2004). Intermediate filaments mediate cytoskeletal crosstalk. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 5(8), 601–613.
- Moll, R., Franke, W.W., Schiller D.L., et al (1982). The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell.* 31(1), 11–24.

Стаття надійшла до редакції 5.09.2016