

ROLA DOMEN SPOKREWNIONYCH Z FIBRYNOGENEM W RÓŻNICOWANIU I MIGRACJI KOMÓREK NOWOTWOROWYCH

THE ROLE OF FIBRINOGEN-LIKE DOMAINS
IN DIFFERENTIATION AND MIGRATION OF NEOPLASTIC CELLS

Michał Błażej PONCZEK

Katedra Biochemii Ogólnej, Uniwersytet Łódzki

Streszczenie: C-końcowe sekwencje aminokwasowe, homologiczne do C-końców łańcuchów fibrynogeny, łącznie z tymi łańcuchami zebrane zostały w rodzinę domen FRED. Domeny FRED zaangażowane są w interakcje między białkami, np. w fibrynogenie i angiopoetynach, lub wiążą się z węglowodanami, np. w ficolinach ssaków. Domena FRED rozpowszechniła się w wymienionych białkach na skutek duplikacji i tasowania egzonów w przebiegu ewolucji zwierząt wielokomórkowych. W DNA człowieka znajduje się 24 genów, w których kodowana jest sekwencja charakterystyczna dla domeny FRED. Funkcje produktów niektórych z 24 genów, nadal nie są znane. Przebadane białka, mające domenę FRED, spełniają zróżnicowane role w organizmie. Fibrynogen odpowiada za krzepnięcie krwi, angiopoetyny regulują tworzenie nowych naczyń krwionośnych, fibroleukina i ficoliny odgrywają rolę w odpowiedzi immunologicznej, a tenascyna pośredniczy w interakcjach pomiędzy komórkami i macierzą zewnątrzkomórkową. Tym co większość z nich łączy, poza wspólną C-końcową domeną FRED, jest udział w różnicowaniu i migracji komórek nowotworowych. Wiele białek FRED może stać się potencjalnym znacznikiem w diagnostyce nowotworów. Nie można również wykluczyć możliwości zastosowania tych białek w terapii przeciwnowotworowej.

Słowa kluczowe: fibrynogen, tenascyna, ficolina, fibroleukina, domeny spokrewnione z fibrynogenem, komórki nowotworowe.

Summary: C-terminals of amino acid sequences that are homological to fibrinogen chains, together belong to family of FRED domains. FRED domains are engaged in protein – protein interactions, like in fibrinogen and angiopoietins or bind carbohydrate, like in mammal ficolins. FRED domain spread between mentioned proteins by gen duplications and exon shuffling during evolution of multicellular animals. There are 24 genes in human DNA in which characteristic for FRED sequence is coded. Functions of many products of 24 genes still are not known. Studied proteins, with FRED domain, play different roles in organism. Fibrinogen is responsible for blood clotting, angiopoietins regulate new blood vessels formation, fibroleukin and ficolins are important in immune system response, and tenascines intermediate in cell and matrix interactions. The common feature, besides FRED domain, is participation in differentiation and migration of neoplastic cells. Many of FRED proteins may be potential markers of neoplasm diagnostics and application in therapies also can not be excluded.

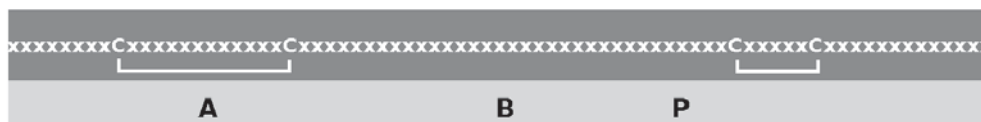
Keywords: fibrinogen, tenascin, ficolin, fibroleukin protein, fibrinogen-related domains, neoplastic cells.

WSTĘP

Fibrynogen, kluczowa glikoproteina krzepnięcia krwi jest heteroheksamerem zawierającym dwa zestawy trzech nieidentycznych łańcuchów polipeptydowych A alfa, B beta i gamma, połączonych ze sobą wiązaniami dwusiarczkowymi. C-końcowa część domen łańcuchów A alfa-E, B beta i gamma fibrynogenu zbudowane są z około 225 reszt aminokwasowych i ich funkcja polega na rozpoznawaniu i wiązaniu innych molekuł [6, 13, 26]. Podobne domeny C-końcowe występują także w innych białkach i zalicza się je do nadrodziny FRED (ang. *fibrinogen related domains*). Domeny FRED zaangażowane są w interakcje między białkami, jak w fibrynogenie i angiopoetynach, lub wiążą się z węglowodanami, jak w fikolinach ssaków lub tachylektynie 5A bezkręgowców [4, 6, 13, 23, 47, 52].

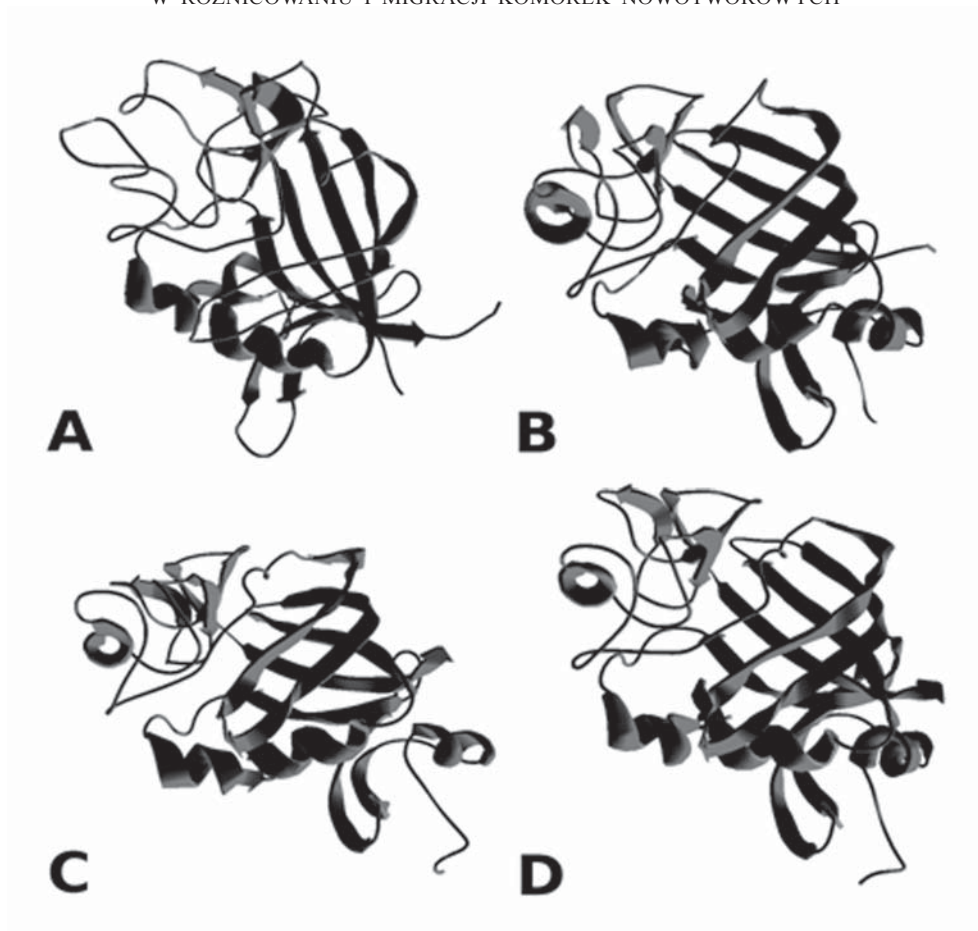
Domeny FRED zawierają cztery zachowane ewolucyjnie cysteiny zaangażowane w tworzenie dwóch mostków -S-S-. Struktura domeny składa się z trzech oddzielnych regionów (ryc. 1). Fragment N-końcowy, nazywany regionem A, tworzony jest przez alfa helisę i beta kartkę połączone razem przez pierwsze wiązanie dwusiarczkowe. Drugi fragment lub region B jest środkową częścią największą. Trzeci, zwany regionem P, tworzy długie obszary spiralne (ryc. 2) i zawiera drugie wiązanie dwusiarczkowe. Fragment ten jest najbardziej zróżnicowany ewolucyjnie (ryc. 3) i ma większość miejsc wiążących ligandy oraz zwykle także reszty zaangażowane w wiązanie Ca^{2+} [6, 13, 26].

Domena FRED rozpowszechniła się w wymienionych białkach na skutek duplikacji i tasowania kodującego jej DNA w przebiegu ewolucji zwierząt wielokomórkowych [14]. Za pomocą dopasowania sekwencji i przeszukania baz danych genomów z użyciem programu BLAST (ang. *Basic Local Alignment Search Tool*) można prześledzić występowanie domen FRED u prostszych organizmów [2]. Przynajmniej jedno białko zawierające domenę FRED występuje już u przedkankowców (*Parazoa*), gdyż ekspresję pojedynczego genu udało się uzyskać u gąbki *Suberites domuncula* [41]. Domena FRED jest zaledwie w 32% podobna do homologicznej części łańcucha gamma fibrynogenu człowieka. Białka odpowiadające domenom FRED są już dość liczne u tak prostych zwierząt, jak jamochłony (np. *Nematostella*



RYCINA 1. Schematyczne przedstawienie domeny FRED: C – zachowane cysteiny tworzące wiązania dwusiarczkowe; x – pozostałe reszty aminokwasowe; A, B, P – regiony w obrębie domeny

FIGURE. 1. Schematic representation of FRED domain: C – conserved cysteines involved in disulphide bonds; x – the other amino acid residues; A, B, P – regions within the domain



RYCINA 2. Porównanie struktury trójwymiarowej domeny FRED łańcucha beta fibrynogenu we fragmencie D (A), angiopoietyny 2 (B), fikoliny 1 (C), fikoliny 2 (D) opartej na koordynatach krystalograficznych odpowiednio: 1fza, 1z3s, 1jhm i 2jg1 z bazy RCS PDB (<http://www.rcsb.org/>), obrazy uzyskane w programie Swiss-PdbViewer DeepView v4.0 (<http://spdbv.vital-it.ch/>)

FIGURE. 2. Comparison of three dimensional structure of FRED domains from fibrinogen gamma chain (A); angiopoietin 2 (B), ficolin 1 (C), ficolin 2 (D) based on crystallographic coordinates respectively of 1fza, 1z3s, 1jhm and 2jg1 from RCS PDB data base (<http://www.rcsb.org/>). Images were prepared in Swiss-PdbViewer DeepView v4.0 program (<http://spdbv.vital-it.ch/>)

vectensis) [43]. Te ostatnie wykazują około 41% podobieństwa do domen występujących w białkach człowieka. Geny kodujące opisane białka charakteryzują się prostą jednodomenową budową. Oby mogły ukształtować się bardziej złożone łańcuchy polipeptydowe, charakterystyczne np. dla ssaków, poza duplikacjami w obrębie genomu, dochodziło do tasowania eksonów, co umożliwiło pozyskanie przez białka dodatkowych domen [40].

Poza wymienionymi już fibrynogenem, angiopoetynami i fikolinami innymi znanymi białkami ssaków, które zawierają domeny FRED, są tenascyny, fibroleukina oraz szereg białek określanych jako fibrynogeno- lub angiopoetynopodobnych (ang.

	hhhhh	sss	sssss	
FGB	VSGKECEEIIRKGGTSEMYLIQPDSSVKPYRVYCDMNTENGGWTVIQNRQDGSVDFGRK			60
ANGPT2	ISFRDCAEVFKSGHTTNGIYTLTFPNSTEEIKAYCDMEAGGGWTIIQRREDGSVDFQRT			60
FCN1	TGPRNCKDLLDRGYFLSGWHTIYLP-DCRPLTVLCDMDTDGGGWTVFQRRMDGSVDFYRD			59
FCN2	TGPRTCCKDLLDRGHFLSGWHTIYLP-DCRPLTVLCDMDTDGGGWTVFQRRVDFYRD			59
	. : * : : : * . : : * : : . * : : * * * * * *			
FGB	WDPYKQGFVGNVATNTDGKNYCGLPGEYWLGNDKISQLTRMGPTELLIEMEDWKGDKVKAH			120
ANGPT2	WKEYKVGFGNPS-----GEYWLGNFVSQLTNQRYVLKIHLKDWEGNEAYSL			108
FCN1	WAAYKQGFVGNVATNTDGKNYCGLPGEYWLGNFVSQLTNQRYVLKIHLKDWEGNEAYSL			107
FCN2	WATYKQGFVGNVATNTDGKNYCGLPGEYWLGNFVSQLTNQRYVLKIHLKDWEGNEAYSL			107
	* * * * * . * : : : * * * * * : * : : * : : : *			
				CCCCCCCC
FGB	YGGFTVQNEANKYQISVNKYRG-TAGNALMDGASQLMGENRTMTIHNGMFFSTYDRDNDG			179
ANGPT2	YEHFYLSSEELNRYIHLKGLTG-TAG--KISSISQPGND-----FSTKDGDNNDK			154
FCN1	YKSFKVADEAEKYKLVLGAFVGGSSAG---NSLTGHNNN-----FFSTKDQDNDV			153
FCN2	YRSFKVADEAEKYKLVLGAFVEGSAG---DSLTFHNNQ-----SFSTKDQDNDL			153
	* * : . * * : : : * * * * * . . : . : * * * * *			
				CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
FGB	WLTSDPRKQCSKEDGGGWYNRCHAANPNGRYYWGGQYTWDMAKHGTDDGVVWMNWKGSW			239
ANGPT2	CIC-----KCSQMLTGGWWFDACGPSNLNGMYYPQRQNTNKFN-----GIKWYWKGS			203
FCN1	SSS-----NCAEKFGQAWWYADCHASNGLYLMGPHE--YAN-----GINWSAAKGYK			201
FCN2	NTG-----NCAVMFQGAWWYKNCCHVSNLNGRYLRGTHGS--FAN-----GINWKS			201
	: * : * . * : * * * * : * : * * * * * * * * *			
FGB	YSMRKMSMKIRPF			252
ANGPT2	YSLKATMMIRPA			216
FCN1	YSYKVSEMKVRPA			214
FCN2	YSYKVSEMKVRPA			214
	** : * * * *			

RYCINA 3. Dopasowanie sekwencji aminokwasowych domen FRED łańcucha beta fibrynogenu (FGB), angiopoetyny 2 (ANGPT2), fikoliny 1 (FCN1), fikoliny 2 (FCN2). Alfa helisa – h (*helix*), beta kartka – s (*strand*), obszary spiralne – c (*coil*)

FIGURE 3. Amino acid alignment of FRED domains of fibrinogen gamma chain (FGB); angiopoietin 2 (ANGPT2), ficolin 1 (FCN1), ficolin 2 (FCN2). Alpha helix – h, beta strand – s, coil – c

fibrinogen-like, angiopoietin-like). Wiele z nich może mieć istotny wpływ na poszczególne etapy progresji nowotworów. Geny człowieka kodujące białka z domenami FRED przedstawione są w tabeli 1.

ROLA DOMEN FRED W CHOROBYCH NOWOTWOROWYCH

Fibrynogen

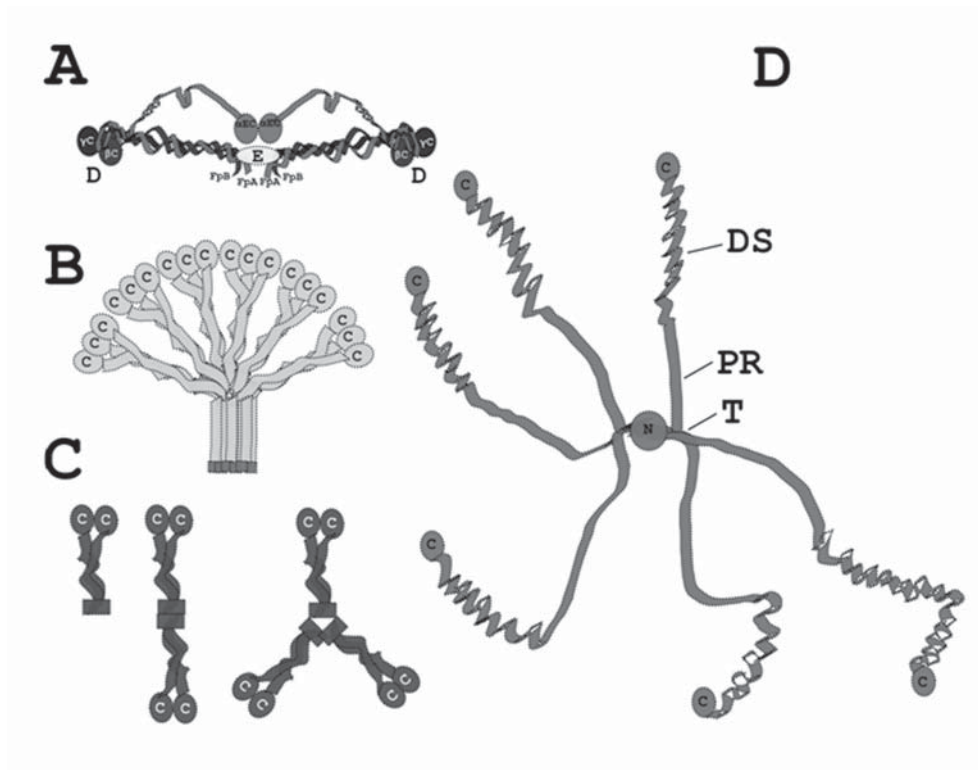
C-końcowe FRED łańcuchów B beta i gamma budują odpowiednio domeny beta C i gamma C dwóch terminalnych fragmentów D cząsteczki fibrynogenu (ryc. 4). N-końce dwóch trójek wymienionych łańcuchów zbiegają się w centralnej części całej cząsteczki tworząc fragment E [26]. Łańcuch A alfa w postaci izoformy II nie ma domeny FRED i jest powszechny w większościowej puli fibrynogenu człowieka o masie 340 kDa. Zawracając we fragmentach D łańcuchy A alfa zmierzają w kierunku fragmentu E, w pobliżu którego tworzą niepofałdowane domeny alfa C [13]. Obok izoformy II występuje izoforma I łańcucha A alfa-E, która

występuje w puli fibrynogenu 420 kDa stanowiącego około 4% całkowitego fibrynogenu [16, 17]. Obie formy powstają w wyniku alternatywnego splicingu wspólnego genu dla łańcucha A alfa. Izofর্মę I cechuje posiadanie domeny FRED homologicznej do domen łańcuchów B beta i gamma (α EC), jednakże jest ona przesunięta w stosunku do poddomen beta-C i gamma-C i podobnie jak w przypadku

TABELA 1. Geny białek człowieka zawierające domeny FRED wraz z lokalizacją na chromosomach (f – *forward*, r – *reverse*)
TABLE 1. Human genes of proteins with FRED domains with chromosomal localization (f – *forward*, r – *reverse*)

Nr	Symbol	Nazwa produktu białkowego	Chr.	Lokalizacja na chromosomie	Niść DNA
1	ANGPTL7	Angiopoetynopodobne 7	1	11249398-1125603	f
2	FCN3	Fikolina 3	1	827695603-27701315	r
3	ANGPTL3	Angiopoetynopodobne 3	1	63063158-63071830	r
4	TNN	Tenascyna N	1	175036994-17511720	f
5	TNR	Tenascyna R (restrikcyjna)	1	2175291935-175712906	r
6	ANGPTL1	Angiopoetynopodobne 1	1	178818840-178840187	r
7	FGB	Fibrynogen Bbeta	4	155484108-155492238	f
8	FGA	Fibrynogen Alfa-E i A alfa	4	155504278-155511918	r
9	FGG	Fibrynogen gamma	4	155525286-155534119	r
10	TNX	Tenascyna X	6	31976196-32083111	r
11	FGL2	Fibroleukina (fibrynogenopodobne 2)	7	76822688-76829143	r
12	ANGPT2	Angiopoetyna 2	8	6357172-6420930	r
13	FGL1	Fibrynogenopodobne 1	8	17721889-17767874	r
14	ANGPT1	Angiopoetyna 1	8	108261723-108510283	r
15	TNC	Tenascyna C	9	117782806-117880486	r
16	ANGPTL2	Angiopoetynopodobne 2	9	129849611-129885162	r
17	FIBCD1	ang. <i>Fibrinogen C domain containing 1</i>	9	133777825-133814673	r
18	FCN2	Fikolina 2 (hukolina)	9	137772654-137779924	f
19	FCN1	Fikolina 1	9	137801016-137809809	r
20	ANGPTL5	Angiopoetynopodobne 5	11	101761406-101787255	r
21	MFAP4	ang. <i>Microfibrillar-associated protein 4</i>	17	19286755-19290553	r
22	ANGPTL4	Angiopoetynopodobne 4	19	8429011-8439257	f
23	ANGPTL6	Angiopoetynopodobne 6	19	10203015-10213472	r
24	ANGPT4	Angiopoetyna 4	20	853296-896960	r

izofর্মę II znajduje się w pobliżu fragmentu E [16]. Łańcuchy B beta i gamma kodowane są przez odrębne geny. Wszystkie geny trzech łańcuchów fibrynogenu zlokalizowane są tuż koło siebie na chromosomie 4 u człowieka, przy czym gen dla łańcucha B beta znajduje się na nici DNA przeciwnej w stosunku do poprzednich dwóch genów [6]. Wskazuje to na prawdopodobną inwersję tego genu względem pozostałych, pod dwóch duplikacjach lokalnych prowadzących do wyodrębnienia 3 odrębnych genów ze wspólnego hipotetycznego przodka. Insercje w łańcuchu A alfa doprowadziły dodatkowo do przesunięcia domeny FRED względem homologicznych domen łańcuchów B beta i gamma [14]. Łańcuchy A alfa i B beta na N-końcach mają krótkie peptydy, odpowiednio A i B, które po przecięciu przez trombinę między arginina a glicyna zostają uwolnione i odsłaniają miejsca we fragmencie E komplementarne do miejsc w domenach FRED. Powstające po uwolnieniu fibrynopeptydów monomery fibryny polimeryzują tworząc najpierw protofibryle, a



RYCINA 4. Porównanie multimetrycznych struktur tworzonych przez łańcuchy polipeptydowe białek z domenami FRED: fibrynogen (A), fikolina 3 (B), angiopoetyna 1 (C), tenascyny (D), αEC , βC , γC – domeny FRED, fragmenty fibrynogeny: D i E, FpA – fibrynopeptyd A, FpB – fibrynopeptyd B, N – centralna część cząsteczki tenascyny, PR – cienki segment proksymalny, DS – gruby segment dystalny, T – skrzyżowanie T

FIGURE 4. The comparison of multimeric structures created by chains or proteins with FRED domains (A), ficolin 3 (B), angiotensin 1 (C), tenascin (D), αEC , βC , γC , C – FRED domains, fibrinogen fragments: D, E, FpA – fibrinopeptide A, FpB – fibrinopeptide B, N – a central knob of tenascin molecule, PR – a thin proximal segment, D – a thick distal segment, T – T-junction

następnie sieć włóknika. Główny enzym fibrynolizy plazmina degraduje włóknik do końcowych produktów, takich jak: fragment D o masie około 90 kDa, fragment E o masie około 60 kDa oraz polipeptydy. Jeśli włóknik zostanie poddany działaniu czynnika XIIIa, tworzą się wiązania kowalencyjne w obrębie łańcuchów alfa i gamma pomiędzy fragmentami D różnych monomerów fibryny. Po degradacji plazminowej włóknika stabilizowanego zamiast fragmentu D powstają fragmenty D-D (dimery D) [6].

Chorobom nowotworowym bardzo często towarzyszy nadmierna aktywacja procesów krzepnięcia i fibrynolizy. Zjawisko to jest integralnym mechanizmem rozwoju nowotworów, tworzenia naczyń w obrębie guza oraz przerzutów, a nie tylko powikłaniem występującym w chorobie. Już we wczesnych etapach rozwoju nowotworu dochodzi do tworzenia miejscowych złogów fibryny. Pozanaczyniowe

złogi fibryny powstają na skutek zwiększonego przechodzenia fibrynogenu i innych białek hemostazy z osocza do przestrzeni pozanaczyniowej oraz miejscowej aktywacji krzepnięcia przez wydzielany przez guz czynnik tkankowy (TF) i prokoagulant nowotworowy. Wokół nowotworu tworzy się żel włóknika, podobnie jak podczas gojenia rany. Pojawia się w ten sposób tymczasowe podłoże dla migrujących makrofagów, fibroblastów i komórek śródbłonka. Jest ono miejscem powstawania nowych naczyń krwionośnych, w którym kluczową rolę odgrywa aktywacja fibrynolizy. Produkty rozpadu fibrynogenu i fibryny są czynnikiem mitogennym dla komórek śródbłonka [46].

U pacjentek chorych na raka piersi stwierdzono zwiększenie stężenia D-D. Zwiększony poziom D-D został także wykryty w przypadku innych nowotworów: płuca, piersi, jelita grubego, jajnika. W nowotworach piersi poziom dimeru D koreluje ze stopniem zaawansowania choroby i liczbą przerzutów [31]. Związek ten może wynikać z aktywacji fibrynolizy w trakcie rozwoju metastazy, ale nie można wykluczyć bezpośredniej roli dimerów D. Wykazano, że domena gamma C fibrynogenu¹ hamowała wzrost guzów, rozrost naczyń włosowatych i przerzuty w modelu raka piersi Met-1 *in vitro* [1].

Angiopoetyny

Angiopoetyny to grupa białek zbudowanych z łańcuchów polipeptydowych składających się z N-końcowego odcinka spiralnego i C-końcowej domeny FRED [22, 23]. Angiopoetyny są czynnikami wzrostu swoistymi dla komórek śródbłonka podobnie jak VEGF. Angiopoetyny oraz VEGF działają w sposób skoordynowany i uzupełniają się w rozwoju naczyń krwionośnych. Receptory wzrostu tych czynników: Tie-1 i Tie-2 znajdują się tylko na komórkach śródbłonka i niektórych komórkach progenitorowych. Znane są trzy typy angiopoetyn (Ang-1, Ang-2, Ang-3), wiążące się z receptorem Tie-2, z których najlepiej poznano Ang-1 i Ang-2. Angiopoetyny i ich receptor Tie-2 pełnią ważną funkcję w formowaniu i utrzymaniu łożyska naczyniowego. Ligandy dla receptora Tie-1 pozostają nadal nieznanne [51].

Ang-1 i Ang-2 wykazują zwykle przeciwstawne działanie w stosunku do receptora Tie-2. Oba ligandy wydają się wiązać w tym samym miejscu receptora, za co odpowiedzialne są domeny FRED. Odmienność działania obu wersji wynikać może z różnej tendencji łańcuchów Ang-1 i Ang-2 do łączenia się w struktury czwartorzędowe. Ang-1 zwykle tworzy oligomery złożone z dwóch do sześciu identycznych łańcuchów polipeptydowych kodowanych przez gen *ANGPT1* (tab. 1), ale możliwe są także multimetry złożone z większej liczby łańcuchów (ryc. 4). Ang-2 tworzy głównie dimery łańcuchów kodowanych przez gen *ANGPT2*, choć istnieją doniesienia, że może tworzyć także większe kompleksy [24]. Oba geny zlokalizowane są blisko siebie na chromosomie 8 u człowieka i wykazują 62% podobieństwa w obrębie sekwencji aminokwasowej. Różnice w sekwencji N-końcowej prowadzą do formowania homooligomerów (Ang-1) lub homodimerów (Ang-2) i ta

¹Odpowiada ona domenie FRED łańcucha gamma i jest częścią fragmentu D.

odmienność odpowiada prawdopodobnie za antagonistyczne działanie Ang-2 w stosunku do Ang-1 [27].

Związanie angiopoetyny 1 przez receptor Tie-2 prowadzi do jego aktywacji przez autofosforylację reszt tyrozylowych [24]. Ang-1 jest w ten sposób zaangażowana w rozwój śródbłonna, działając później i niezależnie od VEGF. VEGF przez receptor Flk-1 promuje proliferację i różnicowanie komórek śródbłonna oraz tworzenie niedojrzałych naczyń. Ang-1 natomiast przez receptor Tie-2 powoduje przebudowę młodych naczyń oraz utrzymuje i stabilizuje dojrzałe naczynia, promując interakcję pomiędzy komórkami śródbłonna a otaczającą macierzą pozakomórkową. Pośrednictwo Ang-1 w dojrzewaniu naczyń krwionośnych może mieć znaczenie terapeutyczne w specyficznym hamowaniu unaczynienia nowotworów. Angiopoetyna 1 ulega ekspresji głównie w fibroblastach, perycytach i komórkach mięśni gładkich, na komórki śródbłonna działa w sposób parakryny, a regulacja ekspresji odbywa się z udziałem HIF- α i VEGF [27].

Angiopoetyna 2 jest antagonistą Ang-1 i wiążąc się z receptorem Tie-2 przeciwdziała tworzeniu naczyń krwionośnych pobudzanych przez angiopoetynę 1. Przy braku VEGF, Ang-2 może indukować apoptozę komórek śródbłonna prowadząc do zmniejszenia unaczynienia. W obecności VEGF może ułatwiać migrację i proliferację komórek śródbłonna. U dorosłych ekspresję Ang-2 stwierdza się w miejscach przebudowy naczyń, gdzie, jak się uważa, blokuje ona stabilizującą rolę Ang-1. Okazuje się, że efekt działania Ang-2 jest zależny od rodzaju komórek. O ile w komórkach śródbłonna działa raczej jako antagonist receptoru Tie-2, to w innych typach komórek, np. fibroblastach jako jego induktor [32]. Co więcej wykazano, że długotrwała stymulacja ligandem Ang-2 może prowadzić do fosforylacji receptora Tie-2 nawet w komórkach śródbłonna [49]. Zatem Ang-2 w zależności od warunków może być antagonistą lub agonistą receptora Tie-2.

Wyniki badań zarówno *in vitro*, jak i klinicznych co do roli Ang-1 i Ang-2 w regulacji angiogenezy nowotworowej są niejednoznaczne. Badania eksperymentalne wykazały, że Ang-1 może być zarówno czynnikiem proangiogennym, jak i anty-angiogennym [27]. Wszczepienie myszom komórek (HeLa) ludzkiego raka szyjki macicy transfekowanych Ang-1 promowało wzrost guza, poprzez indukcję angiogenezy nowotworowej i zahamowanie apoptozy komórek nowotworowych. Z kolei w innych badaniach wykazano, że nadekspresja Ang-1 w komórkach raka płaskonabłonkowego A431 prowadziła do inhibicji wzrostu guza. Co więcej, wszczepienie do wątroby myszy komórek raka jelita grubego (HT29) transfekowanych Ang-1 powodowało, że wielkość guza, liczba naczyń krwionośnych i proliferujących komórek nowotworowych były mniejsze niż w grupie kontrolnej. Jeszcze inne badania wykazały, że guz, który rozwinął się po wszczepieniu komórek HT29 z Ang-2 był większy niż guz z Ang-1 i większa była również liczba naczyń krwionośnych [27].

Sprzeczne okazały się także wyniki badań dotyczących Ang-2. Egzogenne wywołana nadekspresja Ang-2 hamowała wzrost i przerzutowanie komórek nowotworowych LLC (ang. *Lewis lung carcinoma*) i TA3 (ang. *murine mammary carcinoma*). Nadekspresja Ang-2 prowadziła także do masywnej regresji naczyń (nawet bez zahamowania VEGF), aktywacji apoptozy i zahamowania wzrostu guza [9]. Z drugiej strony sugerowano, że ekspresja Ang2 może być istotna dla

remodelowania naczyń krwionośnych w raku wątrobowokomórkowym zezwalając na stymulację odpowiedzi naczyniowej przez dodatkowe induktory angiogenezy [35]. Co więcej, zablokowanie Ang-2 za pomocą przeciwciał prowadziło do zahamowania proliferacji komórek śródbłonna i wzrostu guza u myszy [27].

Być może przyczyną tak rozbieżnych wyników badań jest różny poziom ekspresji angiopoetyn i stan oligomeryzacji, a także stosunek Ang-1 do Ang-2 w układach eksperymentalnych. Sugeruje się, że zaburzenie równowagi między Ang-1 a Ang-2, na korzyść Ang-2, może skutkować nasileniem angiogenezy nowotworowej i wzrostem guza [27].

W badaniach klinicznych zwykle wykazywano ekspresję angiopoetyn w komórkach nowotworowych glejaka, zwojaka zarodkowego współczulnego, wątroby i raka jelita grubego [12, 27, 36, 44], a także zwiększone ich stężenie w osoczu krwi w raku piersi, prostaty i płuca [27, 38, 39].

Zwiększoną ekspresję Ang-2 stwierdzono w komórkach nowo utworzonych naczyń wielu guzów nowotworowych [27]. Wykazano związek pomiędzy ekspresją i stężeniem Ang-2 a progresją choroby nowotworowej w raku piersi, prostaty, jelita grubego, w glejaku i w zwojaku współczulnym [22, 25, 27, 29, 36]. Stwierdzono także związek z czasem przeżycia bezobjawowego i całkowitego w raku piersi, prostaty i płuca [27, 29, 39]. Osoczową Ang-2 rozważa się jako kliniczny znacznik raka płuc [39], a Ang-1 za potencjalny znacznik w przewidywaniu przeżycia pooperacyjnego i reemisji u pacjentów na wczesnym etapie raka niedrobnokomórkowego płuca [38]. W niektórych przypadkach po zastosowanym leczeniu choroby nowotworowej w osoczu zmniejszało się stężenie angiopoetyn [7, 8].

Tenascyny

Tenascyny to rodzina wielodomenowych glikoprotein macierzy zewnątrzkomórkowej, zbudowanych z licznych domen EGF (czynnika wzrostu naskórka) i FN3 (fibronektyny typu trzeciego) oraz C-końcowej domeny FRED. Te oligomeryczne białka są homoheksamerami złożonymi z dwóch homotrimerów stabilizowanych przez wiązania -S-S-. Dwie trójramienne połówki łączą się w centralnej części cząsteczki. Cała struktura została nazwana heksabranchem ze względu na sześć długich ramion. Cechą charakterystyczną jest terminalny węzeł domeny FRED na każdym ramieniu, gruby segment dystalny, cienki segment proksymalny, skrzyżowanie T, gdzie trzy ramiona łączą się w trimer i węzeł centralny, gdzie dwa trimery łączą się w heksametr (ryc. 4). U człowieka znane są cztery geny tenascyn: *C*, *X*, *R* i *N* [10, 11]. Geny kodujące poszczególne typy łańcuchów tenascyn ulegają ekspresji w różnych etapach życia płodowego i poporodowego w różnych tkankach, a w bardzo ograniczonym stopniu w tkankach dojrzałych, ulegając ekspresji przeważnie w różnorodnych nowotworach. Białka te mogą umożliwiać migrację komórek nowotworowych i nowotworzenie naczyń przyczyniając się do wzrostu guza. Zwiększoną ekspresję tenascyn opisano w licznych schorzeniach nowotworowych, między innymi w rakach płaskonabłonkowych jamy ustnej i gardła, w guzach zębopochodnych i zawiązkach zębowych, w raku trzustki, raku piersi i raku szyjki macicy i w nowotworach mózgu [15, 19].

Tenascyna-C (TNC) występuje w ośrodkowym układzie nerwowym i uczestniczy w prowadzeniu migracji neuronów oraz w rozwoju aksonów w czasie wzrostu organizmu. Jest ważna dla zapewnienia plastyczności połączeń synaptycznych i w regeneracji układu nerwowego. W większości w pełni wykształconych narządów białko to nie występuje lub jego ilość jest silnie zredukowana. Dopiero w procesach, takich jak: gojenie ran, regeneracja neuronów i innych komórek oraz w stanach patologicznych, takich jak: choroby naczyniowe, infekcje, czy nowotworzenie, dochodzi do znacznej ekspresji genów tego białka. Obecność TNC stwierdza się w wielu rodzajach guzów mózgu i innych narządów (także w raku piersi, ust, krtani, tkanki kostnej i chrzęstnej), a poziom ekspresji jest skorelowany ze stopniem złośliwości nowotworów mózgu. Im większy poziom akumulacji tego białka, tym gorsze rokowania dla pacjenta. Zwiększona ekspresja tenascyny-C w tkance łącznej otaczającej guzy, w ranach i w tkankach objętych stanem zapalnym może świadczyć o roli w aktywacji i regulacji międzykomórkowych szlaków sygnalizacyjnych, wpływając w ten sposób na morfologię, wzrost i migrację komórek. TNC występująca w macierzy zewnątrzkomórkowej guzów może być wydzielana przez same komórki nowotworowe lub też komórki guza jedynie indukują jej syntezę przez komórki mezenchymy. Łańcuchy polipeptydowe budujące TNC mogą występować w wielu izoformach na skutek alternatywnego składowania pierwotnego transkryptu genu dla TNC. Większość prowadzonych badań nie uwzględnia różnic pomiędzy alternatywnie składanymi wariantami TNC. Pewne izoformy mogą być bardziej powszechne w guzach nowotworowych niż w normalnych tkankach. Przy uwzględnieniu zróżnicowania, TNC może być wykorzystana w precyzyjnej diagnostyce nowotworów mózgu i być może także jako cząsteczka docelowa dla terapii przeciwnowotworowej [15, 42].

Tenascyna-X (TNX) pośredniczy w interakcjach pomiędzy komórkami i macierzą zewnątrzkomórkową w mięśniach, skórze i układzie nerwowym. Hamuje migracje komórek i przyspiesza tworzenie włókien kolagenowych. Ulega ekspresji w skórze, mięśniach i stawach. Ekspresja białka u dorosłych jest znacznie niższa niż u młodych osobników.

Tenascyna-R (TNR) jest charakterystyczna wyłącznie dla macierzy zewnątrzkomórkowej tkanki nerwowej. Odgrywa rolę w oddziaływaniach pomiędzy różnego rodzaju komórkami i składnikami macierzy, co wpływa na zachowanie komórek poprzez ich stabilną adhezję, rozprzestrzenianie i różnicowanie się lub zahamowanie wzrostu neurytów [19].

Tenascyna-N (TNN) została wykryta najpóźniej i jest najslabiej poznana. Wiadomo, że może być zaangażowana w odrost neurytów i migrację komórek [50].

Fibroleukina

Fibroleukina (FGL2), inaczej białko podobne do fibrynogenu 2 (ang. *fibrinogen like protein 2*), składa się 439 aminokwasowych polipeptydów. Łańcuchy FGL2 formują tetramery stabilizowane przez mostki S-S. FGL2 występuje w postaci związanej z błoną makrofagów i komórek śródbłonna lub może być wydzielana w postaci rozpuszczalnej przez limfocyty T typu CD4 i CD8. Białko okazało się być ważnym regulatorem nieswoistej i swoistej odpowiedzi immunologicznej [33].

Fibroleukina związana z błoną wykazuje zdolność aktywacji fibrynogenu do fibryny, co prowadzi do zakrzepicy naczyniowej i stanu zapalnego w obrębie dotkniętych tkanek [18], w ten sposób wpływając na patogenezę wirusowego zapalenia wątroby [45]. Z drugiej strony rozpuszczalna forma białka, wydzielana przez limfocyty T, odgrywa rolę w negatywnej regulacji odpowiedzi immunologicznej. Fibroleukina w tej formie ma zdolność hamowania proliferacji limfocytów T stymulowanych alloantygenem. Dodatkowo, rozpuszczalna fibroleukina może hamować dojrzewanie komórek dendrytycznych, przez zapobieganie przeniesieniu czynnika NF κ B do jądra komórkowego i w konsekwencji ekspresji czynników CD80 i głównego kompleksu zgodności tkankowej klasy II [20]. Za aktywność hamowania odpowiedzi immunologicznej odpowiada domena FRED, gdyż właściwości immunosupresyjne są znoszone przez przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko właśnie tej domenie [33]. Fibroleukina odgrywając rolę w patogenezie wirusowego zapalenia wątroby, jest potencjalnym znacznikiem nowotworów wątroby, tym bardziej że podwyższoną ekspresję tego białka wykryto w raku wątrobowokomórkowym człowieka [47].

Fikoliny

Białka z rodziny fikolin charakteryzują się obecnością fragmentu kolagenopodobnego pomiędzy N-końcowym peptydem wiodącym a C-końcową domeną FRED. Pod tym względem przypominają lektyny wiążące mannozę oraz składnik C1q dopełniacza. Dwa lub trzy identyczne łańcuchy fikolin tworzą strukturalną podjednostkę białka. Takie podjednostki mogą formować oligomeryczne struktury wyższego rzędu (ryc. 4), dochodzące nawet do 24 podjednostek [48]. U człowieka występują trzy typy fikolin: fikolina 1 lub M (FCN1 lub FCNM), fikolina 2 lub L (FCN2 lub FCNL) i fikolina 3 lub H (FCN3 lub FCNH) [21]. Fikoliny cechują się właściwościami GlcNAc lektyn, ponieważ mają zdolność wiązania N-acetyloglukozaminy [30]. Zdolność do wiązania reszt cukrowych nadaje białku domena FRED i jest ona zależna od jonów wapnia [28].

Fikoliny biorą udział w nieswoistej odpowiedzi odpornościowej rozpoznając charakterystyczne dla patogenów ugrupowania węglowodanowe. Rola fikolin polegać może na udziale w lektynowym szlaku aktywacji dopełniacza oraz opsonizacji i fagocytozie [34].

Wszystkie trzy fikoliny człowieka są obecne w niewielkich ilościach we krwi. FCN1 ulega ekspresji w monocytach/makrofagach oraz w płucach, FCN2 w wątrobie, a FCN3 w wątrobie i płucach [21]. Zwiększoną zawartość fikolin stwierdzono w surowicy osób z rakiem płuc lub rakiem jajników [3, 37].

PODSUMOWANIE

Na podstawie analizy kompletnego ludzkiego genomu można stwierdzić (na przykład za pomocą przeglądarki genomów ENSEMBL – <http://www.ensembl.org/>), że w DNA człowieka są 24 geny, w których kodowana jest sekwencja charakterystyczna dla domeny FRED, znajdujące się w chromosomach 1, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 17 19 i 20 (tab.

1) [5]. Białka mające domenę FRED spełniają zróżnicowane funkcje w organizmie. Fibrinogen odpowiada za krzepnięcie krwi, angiopoetyny regulują tworzenie nowych naczyń krwionośnych, fibroleukina i fikoliny odgrywają rolę w odpowiedzi immunologicznej, a tenascyny pośredniczą w interakcjach pomiędzy komórkami i macierzą zewnątrzkomórkową. Funkcja produktów niektórych z 24 genów, często nadal nie jest znana. Tym co większość z nich łączy, poza wspólną C-kończową domeną FRED, jest udział w progresji nowotworów. Wiele białek FRED może stać się potencjalnym znacznikiem w diagnostyce nowotworów. Nie można również wykluczyć możliwości zastosowania tych białek w terapii przeciwnowotworowej. Konieczne są dalsze badania podstawowe i kliniczne białek z domenami z rodziny FRED, które powinny przyczynić się do poszerzenia wiedzy na ich temat i umożliwić praktyczne jej zastosowania.

PIŚMIENNICTWO

- [1] AKAKURAN, HOOGLAND C, TAKADA YK, SAEGUSA J, YE X, LIU FT, CHEUNG AT, TAKADA Y. The COOH-terminal globular domain of fibrinogen gamma chain suppresses angiogenesis and tumor growth. *Cancer Res* 2006; **66**: 9691–9697.
- [2] ALTSCHUL SF, GISH W, MILLER W, MYERS EW, LIPMAN DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 1990; **215**: 403–410.
- [3] ANDERSEN JD, BOYLAN KL, XUE FS, ANDERSON LB, WITTHUHN BA, MARKOWSKI TW, HIGGINS L, SKUBITZ AP. Identification of candidate biomarkers in ovarian cancer serum by depletion of highly abundant proteins and differential in-gel electrophoresis. *Electrophoresis* 2010; **31**: 599–610.
- [4] BARTON WA, TZVETKOVA-ROBEVD, MIRANDA EP, KOLEV MV, RAJASHANKAR KR, HIMANEN JP, NIKOLOV DB. Crystal structures of the Tie2 receptor ectodomain and the angiopoietin-2-Tie2 complex. *Nat Struct Mol Biol* 2006; **13**: 524–532.
- [5] BIRNEY E, ANDREWS TD, BEVAN P et al. An overview of ENSEMBL. *Genome Res* 2004; **14**: 925–928.
- [6] BLOMBÄCK B. Fibrinogen and fibrin – proteins with complex roles in hemostasis and thrombosis. *Thromb Res* 1996; **83**: 1–75.
- [7] CAINE GJ, RYAN P, LIP GY, BLANN AD. Significant decrease in angiopoietin-1 and angiopoietin-2 after radical prostatectomy in prostate cancer patients. *Cancer Lett* 2007; **251**: 296–301.
- [8] CAINE GJ, STONELAKE PS, LIP GY, BLANN AD. Changes in plasma vascular endothelial growth factor, angiopoietins, and their receptors following surgery for breast cancer. *Cancer Lett* 2007; **248**: 131–136.
- [9] CAO Y, SONVEAUX P, LIU S et al. Systemic overexpression of angiopoietin-2 promotes tumor microvessel regression and inhibits angiogenesis and tumor growth. *Cancer Res* 2007; **67**: 3835–3844.
- [10] CHIQUET-EHRISMANN R, CHIQUET M. Tenascins: regulation and putative functions during pathological stress. *J Pathol* 2003; **200**: 488–499.
- [11] CHIQUET-EHRISMANN R. Tenascins. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; **36**: 986–990.
- [12] CHUNG YC, HOU YC, CHANG CN, HSEU TH. Expression and prognostic significance of angiopoietin in colorectal carcinoma. *J Surg Oncol* 2006; **94**: 631–638.
- [13] DOOLITTLE RF, KOLLMAN JM. Natively unfolded regions of the vertebrate fibrinogen molecule. *Proteins* 2006; **63**: 391–397.
- [14] DOOLITTLE RF, SPRAGGON, G, EVERSE SJ. Evolution of vertebrate fibrin formation and the process of its dissolution. *Ciba Found Symp* 1997; **212**: 4–17.
- [15] DRETKIEWICZ K, WYSZKO E, ROLLE K, NOWAK S, ŻUKIEL R, BARCISZEWSKI J. Rola tenascyny-C w patogenezie. *Neuroskop* 2006; **7**: 19–26.
- [16] FU Y, GRIENINGER G. Fib420: a normal human variant of fibrinogen with two extended alpha chains. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; **91**: 2625–2628.
- [17] FU Y, WEISSBACH L, PLANT PW et al. Carboxy-terminal-extended variant of the human fibrinogen alpha subunit: a novel exon conferring marked homology to beta and gamma subunits. *Biochemistry* 1992; **31**: 11968–11972.

- [18] GHANEKAR A, MENDICINO M, LIU H et al. Endothelial induction of fg12 contributes to thrombosis during acute vascular xenograft rejection. *J Immunol* 2004; **172**: 5693–5701.
- [19] GRODECKA J, KOBOS J, ZIELIŃSKA-KAŻMIERSKA B, MANOWSKA B. Ocena ekspresji białek podścieliska – tenascyny i fibronektyny – w torbielach i nowotworach zębopochodnych części twarzowej czaszki. *Wsp Onkol* 2009; **13**: 22–27.
- [20] HANCOCK WW, SZABA FM, BERGGREN KN et al. Intact type 1 immunity and immune-associated coagulative responses in mice lacking IFN gamma-inducible fibrinogen-like protein 2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 3005–3010.
- [21] HONORÉ C, RØRVIG S, MUNTHE-FOG L, HUMMELSHØJ T, MADSEN HO, BORREGAARD N, GARRED P. The innate pattern recognition molecule Ficolin-1 is secreted by monocytes/macrophages and is circulating in human plasma. *Mol Immunol* 2008; **45**: 2782–2789.
- [22] IMANISHI Y, HU B, JARZYŃKA MJ, GUO P, ELISHAEV E, BAR-JOSEPHI, CHENG SY. Angiopoietin-2 stimulates breast cancer metastasis through the alpha (5) beta (1) integrin-mediated pathway. *Cancer Res* 2007; **67**: 4254–4263.
- [23] KAIRIES N, BEISEL HG, FUENTES-PRIOR P et al. The 2.0-A crystal structure of tachylectin 5A provides evidence for the common origin of the innate immunity and the blood coagulation systems. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; **98**: 13519–13524.
- [24] KIM KT, CHOI HH, STEINMETZ MO et al. Oligomerization and multimerization are critical for angiopoietin-1 to bind and phosphorylate Tie2. *J Biol Chem* 2005; **280**: 20126–20131.
- [25] KOGA K, TODAKA T, MORIOKA M et al. Expression of angiopoietin-2 in human glioma cells and its role for angiogenesis. *Cancer Res* 2001; **61**: 6248–6254.
- [26] KOLLMAN JM, PANDI L, SAWAYA MR, RILEY M, DOOLITTLE RF. Crystal structure of human fibrinogen. *Biochemistry* 2009; **48**: 3877–3886.
- [27] KOPCZYŃSKA E, MAKAREWICZ R, TYRAKOWSKI T. Rola angiopoetyn 1 i 2 w regulacji angiogenezy nowotworowej. *Wsp Onkol* 2007; **11**: 350–354.
- [28] KRARUP A, THIEL S, HANSEN A, FUJITA T, JENSENIUS JC. L-ficolin is a pattern recognition molecule specific for acetyl groups. *J Biol Chem* 2004; **279**: 47513–47519.
- [29] LIND AJ, WIKSTROM P, GRANFORS T, EGEVAD L, STATTIN P, BERGH A. Angiopoietin-2 expression is related to histological grade, vascular density, metastases, and outcome in prostate cancer. *Prostate* 2005; **62**: 394–399.
- [30] LIU Y, ENDO Y, IWAKI D et al. Human M-ficolin is a secretory protein that activates the lectin complement pathway. *J Immunol* 2005; **175**: 3150–3156.
- [31] ŁOJKO A, ZAWILSKA K, GRODECKA-GAZDECKA S, KOMARNICKI M. Zaburzenia hemostazy a nasilenie procesu neoangiogenezy u chorych na raka piersi. *Wsp Onkol* 2006; **10**: 515–520.
- [32] MAISONPIERRE PC, SURI C, JONES PF et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts *in vivo* angiogenesis. *Science* 1997; **277**: 55–60.
- [33] MARAZZI S, BLUM S, HARTMANN R et al. Characterization of human fibroleukine, a fibrinogen-like protein secreted by T lymphocytes. *J Immunol* 1998; **161**: 138–147.
- [34] MATSUSHITA M, ENDO Y, TAIRA S, SATO Y, FUJITA T, ICHIKAWA N, NAKATA M, MIZUOCHI T. A novel human serum lectin with collagen- and fibrinogen-like domains that functions as an opsonin. *J Biol Chem* 1996; **271**: 2448–2454.
- [35] MOON WS, RHYU KH, KANG MJ, LEE DG, YU HC, YEUM JH, KOH GY, TARNAWSKI AS. Overexpression of VEGF and angiopoietin 2: a key to high vascularity of hepatocellular carcinoma? *Mod Pathol* 2003; **16**: 552–557.
- [36] NAKAYAMA T, HATACHI G, WEN CHY, YOSHIZAKI A, YAMAZUMI K, NIINO D, SEKINE I. Expression and significance of Tie-1 and Tie-2 receptors, and angiopoietins-1, 2 and 4 in colorectal adenocarcinoma: Immunohistochemical analysis and correlation with clinicopathological factors. *World J Gastroenterol* 2005; **11**: 964–969.
- [37] OKANO T, KONDO T, KAKISAKA T et al. Plasma proteomics of lung cancer by a linkage of multi-dimensional liquid chromatography and two-dimensional difference gel electrophoresis. *Proteomics* 2006; **6**: 3938–3948.
- [38] PARK JH, CHOI H, KIM YB et al. Serum angiopoietin-1 as a prognostic marker in resected early stage lung cancer. *Lung Cancer* 2009; **66**: 359–364.
- [39] PARK JH, PARK KJ, KIM YS, SHEEN SS, LEE KS, LEE HN, OH YJ, HWANG SC. Serum angiopoietin-2 as a clinical marker for lung cancer. *Chest* 2007; **132**: 200–206.
- [40] PATTHY L. Genome evolution and the evolution of exon-shuffling – a review. *Gene* 1999; **238**: 103–114.

- [41] PEROVIĆ-OTTSTADT S, ADELL T, PROKSCH P, WIENS M, KORZHEV M, GAMULIN V, MÜLLER IM, MÜLLER WE. A (1->3)-beta-D-glucan recognition protein from the sponge *Suberites domuncula*. Mediated activation of fibrinogen-like protein and epidermal growth factor gene expression. *Eur J Biochem* 2004; **271**: 1924–1937.
- [42] PIETRZENIEWICZ R, ŻUKIEL R, NOWAK S, WYSZKO E, ROLLE K, NOWAK M, BARCISZEWSKI J. Zastosowanie interferencji RNA w leczeniu wznów wysoko złośliwych glejaków mózgu. *Neurol Neurochir Pol* 2008; **42**: 138–142.
- [43] PUTNAM NH, SRIVASTAVA M, HELLSTEN U et al. Sea anemone genome reveals ancestral eumetazoan gene repertoire and genomic organization. *Science* 2007; **317**: 86–94.
- [44] REISS Y, MACHEIN MR, PLATE KH. The role of angiogenesis during angiogenesis in gliomas. *Brain Pathol* 2005; **15**: 311–317.
- [45] SHALEV I, WONG KM, FOERSTER K et al. The novel CD4+CD25+ regulatory T cell effector molecule fibrinogen-like protein 2 contributes to the outcome of murine fulminant viral hepatitis. *Hepatology* 2009; **49**: 387–397.
- [46] STATON CA, BROWN NJ, LEWIS CE. The role of fibrinogen and related fragments in tumour angiogenesis and metastasis. *Expert Opin Biol Ther* 2003; **3**: 1105–1120.
- [47] SU K, CHEN F, YAN WM et al. Fibrinogen-like protein 2/fibroleukin prothrombinase contributes to tumor hypercoagulability via IL-2 and IFN-gamma. *World J Gastroenterol* 2008; **14**: 5980–5989.
- [48] TANIO M, KONDO S, SUGIO S, KOHNO T. Trivalent recognition unit of innate immunity system: crystal structure of trimeric human M-ficolin fibrinogen-like domain. *J Biol Chem* 2007; **282**: 3889–3895.
- [49] TEICHERT-KULISZEWSKA K, MAISONPIERRE PC, JONES N et al. Biological action of angiotensin-2 in a fibrin matrix model of angiotensin is associated with activation of Tie2. *Cardiovasc Res* 2001; **49**: 659–670.
- [50] TUCKER RP, DRABIKOWSKI K, HESS JF, FERRALLI J, CHIQUET-EHRISMANN R, ADAMS JC. Phylogenetic analysis of the tenascin gene family: evidence of origin early in the chordate lineage. *BMC Evol Biol* 2006; **6**: 60.
- [51] XU X, DOOLITTLE RF. Presence of a vertebrate fibrinogen-like sequence in an echinoderm. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; **87**: 2097–2101.
- [52] ZIELONKA T. Angiogeneza. Część II. Czynniki modulujące proces powstawania nowych naczyń krwionośnych. *Alergia Astma Immunol* 2004; **9**: 25–31.

Redaktor prowadzący – M. Nowicki

Otrzymano: 04.03. 2009 r.

Przyjęto: 08.04. 2010 r.

Michał Błażej Ponczek

Katedra Biochemii Ogólnej, Uniwersytet Łódzki

ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

e-mail: mponczek@biol.uni.lodz.pl