

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ  
ИССЛЕДОВАНИЯ

## Корреляция экспрессии транскрипционного фактора $RAR\alpha$ и генов $VEGFR3$ -зависимой сигнальной системы при множественной миеломе

Н.Н. Калитин, И.В. Буравцова

ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», Каширское ш., д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478

### РЕФЕРАТ

**Актуальность и цели.** Полностью транс-ретиноевая кислота (ATRA) — естественный метаболит витамина А, способный регулировать экспрессию генов за счет взаимодействия с различными типами ядерных рецепторов ретиноевой кислоты (RAR). Показано, что это может приводить как к торможению роста опухолевых клеток *in vivo* и *in vitro*, так и способствовать увеличению их выживаемости. Так, в ряде работ было продемонстрировано, что один из субтипов RAR —  $RAR\alpha$  — может изменять экспрессию эндотелиальных факторов роста сосудов (VEGF), главным образом VEGF-A. Вместе с тем точные механизмы, благодаря которым осуществляется  $RAR\alpha$ -опосредованная регуляция экспрессии VEGF, в особенности VEGF-C и VEGF-D, а также их рецептора VEGFR3, все еще практически не изучены.

**Методы.** В работе были исследованы изменения экспрессии мРНК генов  $VEGF-C$ ,  $VEGF-D$  и их рецептора  $VEGFR3$  у 17 больных множественной миеломой до и после лечения. В дальнейшем полученные данные были сопоставлены с изменениями экспрессии гена рецептора  $RAR\alpha$ .

**Результаты.** Обнаружено, что суммарные уровни экспрессии генов  $VEGF-C$ ,  $VEGF-D$  и  $VEGFR3$  были снижены в ответ на проведенную терапию. Изменения экспрессии этих генов коррелировали с изменениями экспрессии гена  $RAR\alpha$ .

**Заключение.** Корреляция между экспрессией генов  $VEGF-C$ ,  $VEGF-D$ ,  $VEGFR3$  и  $RAR\alpha$  может указывать на возможное участие белкового продукта гена  $RAR\alpha$ , транскрипционного фактора  $RAR\alpha$ , в регуляции экспрессии генов  $VEGFR3$ -зависимой сигнальной системы.

Полученные результаты, возможно, описывают новый механизм регуляции экспрессии генов  $VEGF-C$ ,  $VEGF-D$  и  $VEGFR3$  с помощью транскрипционного фактора  $RAR\alpha$ .

**Ключевые слова:** множественная миеломы, экспрессия генов,  $VEGFR3$ -зависимая система,  $RAR\alpha$ .

Получено: 27 августа 2014 г.

Принято в печать: 20 октября 2014 г.

EXPERIMENTAL  
STUDIES

## Correlation between Expression of $RAR\alpha$ Transcription Factor and Genes of $VEGFR3$ -Dependent Signaling System in Multiple Myeloma

NN Kalitin, IV Buravtsova

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478

### ABSTRACT

**Background & Aims.** All-trans retinoic acid (ATRA) is a natural metabolite of vitamin A, which can regulate the gene expression by means of interaction between different types of nuclear retinoic acid receptors (RARs). It has been demonstrated that it may lead to suppression of *in vivo* and *in vitro* tumor cell growth and can contribute to its survival. For example, in a number of studies, it has been demonstrated that one of RAR subtypes,  $RAR\alpha$ , modulates expression of a number of vascular endothelial growth factors (VEGFs), mainly VEGF-A. At the same time, the exact mechanisms regulating the  $RAR\alpha$ -mediated regulation of VEGF (especially VEGF-C and VEGF-D and their receptor VEGFR3) expression are still unclear.

**Methods.** Changes in expression of mRNAs of  $VEGF-C$ ,  $VEGF-D$  genes and their receptor  $VEGFR3$  in a group of 17 multiple myeloma patients before and after treatment were analyzed in the article. The obtained data were then compared with changes in gene expression of the  $RAR\alpha$  receptor.

**Results.** It has been found that overall levels of  $VEGF-C$ ,  $VEGF-D$  and  $VEGFR3$  gene expression were reduced in response to the therapy. Changes in expression of these genes correlated with the  $RAR\alpha$  expression.

**Conclusion.** The correlation between  $VEGF-C$ ,  $VEGF-D$  and  $VEGFR3$  expression and  $RAR\alpha$  expression could indicate a possible involvement of  $RAR\alpha$  – protein in regulation of VEGFR3-associated signaling system gene expression.

These results may describe a possible mechanism of  $VEGF-C$ ,  $VEGF-D$  and  $VEGFR3$  expression by the  $RAR\alpha$  transcription factor.

**Keywords:** multiple myeloma, gene expression, VEGFR3-dependent system,  $RAR\alpha$ .

Received: August 27, 2014

Accepted: October 20, 2014

Для переписки: Николай Николаевич Калитин, канд. биол. наук, Каширское ш., д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478; тел.: +7(499)324-17-69; e-mail: f.oskolov@mail.ru

Для цитирования: Калитин Н.Н., Буравцова И.В. Корреляция экспрессии транскрипционного фактора RAR $\alpha$  и генов VEGFR3-зависимой сигнальной системы при множественной миеломе. Клиническая онкогематология. 2015;8(1):31–5.

DOI: 10.21320/2500-2139-2015-8-1-31-35

For correspondence: Nikolai Nikolaevich Kalitin, PhD, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478; Tel.: +7(499)324-17-69; e-mail: f.oskolov@mail.ru

For citation: Kalitin NN, Buravtsova IV. Correlation between Expression of RAR $\alpha$  Transcription Factor and Genes of VEGFR3-Dependent Signaling System in Multiple Myeloma. Clinical oncohematology. 2015;8(1):31–5 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2015-8-1-31-35

## ВВЕДЕНИЕ

Известно, что опухолевым клеткам в условиях интенсивного клонального роста и экспансии необходим адекватный уровень оксигенации. С этой целью в них активируются многоступенчатые реакции неангио- и лимфангиогенеза, т. е. образование новых кровеносных и лимфатических сосудов. Ключевыми модуляторами этих процессов являются факторы роста эндотелия сосудов из семейства VEGF и их рецепторы [1].

Экспрессия и функциональная активность VEGFR-ассоциированных сигнальных систем зависят от широкого спектра транскрипционных факторов<sup>1</sup>, многие из которых уже известны и установлены конкретные механизмы их действия [2, 3]. В то же время в связи со сложностью механизмов канцерогенеза и их неоднозначностью открываются как новые участники контроля генной экспрессии, так детализируются и расширяются представления об уже известных транскрипционных факторах. К их числу относится и ядерный рецептор ретиноевой кислоты (RAR $\alpha$ ).

RAR $\alpha$  (retinoic acid receptor  $\alpha$ ) принадлежит к суперсемейству ядерных рецепторов ретиноевой кислоты, к которому относятся и два других субтипа RAR ( $\beta$  и  $\gamma$ ), а также три аналогичных субтипа рецептора RXR (retinoid X receptor):  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$  [4].

Он функционирует как лигандзависимый гетеродимерный комплекс с RXR $\alpha$  и регулирует экспрессию таргетных генов, в промоторе<sup>2</sup> которых локализован респонсивный элемент<sup>3</sup> RARE, образованный из 2 гексамерных мотивов<sup>4</sup> PuG(G/T)TCA, разделенных, как правило, 5-членным спейсером<sup>5</sup> [5, 6].

Под действием естественных и синтетических дериватов витамина А, например ATRA (полностью транс-ретиноевая кислота), возможна как активация, так и репрессия таргетных генов, вовлеченных в процессы дифференцировки, апоптоза и пролиферации [7, 8]. Так,

<sup>1</sup> Транскрипционные факторы — белковые молекулы, контролирующие синтез информационной РНК (иРНК) на матрице ДНК благодаря связыванию со специфическими сайтами (респонсивными элементами), которые, как правило, локализованы в промоторном регионе таргетного гена.

<sup>2</sup> Промотор — нетранскрибируемый участок молекулы ДНК, связывающий РНК-полимеразу и ряд корегуляторных белков (транскрипционных факторов), необходимый для инициации транскрипции гена.

<sup>3</sup> Респонсивный элемент — специфическая последовательность нуклеотидов в структуре регуляторных элементов гена (промотор, энхансер, сайленсер), отвечающая за взаимодействие с определенным белком или комплексом белковых молекул.

<sup>4</sup> Мотив — определенная последовательность нуклеотидов в нуклеиновых кислотах или аминокислот в полипептидах.

<sup>5</sup> Спейсер — нетранскрибируемый участок молекулы ДНК.

в опытах на клетках бронхоальвеолярного рака линии NCI-H322 было показано, что ATRA может индуцировать экспрессию VEGF-A посредством увеличения экспрессии RAR $\alpha$  и потенцирования его связывания с Sp-1 респонсивными сайтами в промоторе гена VEGF-A [9]. Относительно недавно было установлено непосредственное белок-белковое взаимодействие между RAR $\alpha$  и транскрипционным фактором GATA-2, невозможность образования тернарного комплекса<sup>6</sup> с участием RAR $\alpha$  [10]. Мутации в GATA2-связывающем сайте гена VEGFR2 полностью отменяли его активность в трансгенном репортерном эксперименте<sup>7</sup>, подтверждая, по сути, зависимость его экспрессии от активности трансфактора GATA-2<sup>8</sup> *in vivo* [11].

Несмотря на это, следует отметить, что возможное участие транскрипционного фактора RAR $\alpha$  в регуляции экспрессии генов семейства VEGF, прежде всего факторов роста VEGF-C, VEGF-D и их рецептора VEGFR3, остается практически неизученным.

**Цель работы** — изучить экспрессию мРНК генов VEGF-C, VEGF-D и VEGFR3 как показателя потенциальной функциональной активности VEGFR3-ассоциированной сигнальной системы и сопоставить эти данные с экспрессией транскрипционного фактора RAR $\alpha$  у больных множественной миеломой (ММ).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 17 пациентов (10 мужчин и 7 женщин) с впервые диагностированной ММ III стадии. Больные были в возрасте 37–75 лет. Диагноз устанавливался на основании плазмоклеточной инфильтрации костного мозга, иммунохимического исследования сыворотки и мочи, а также рентгенологических данных. Стадирование проводили по схеме B.G.M. Durie и S.E. Salmon [12].

Индукционное лечение включало 6–8 курсов цитостатической терапии по протоколу М2 (циклофосфамид, мелфалан, винкристин, преднизолон, препараты нитрозомочевины). Поддерживающую терапию проводили по протоколу М2 один раз в 3 мес. Лечение резистентных форм и рецидивов в дальнейшем осуществляли по программам на основе бортезомиба (Велкейд).

<sup>6</sup> Тернарный комплекс — комплекс, образованный из трех различных белковых молекул транскрипционных факторов и/или адаптерных белков, участвующих в контроле транскрипции определенного гена.

<sup>7</sup> Репортерный эксперимент — эксперимент, предполагающий наличие в структуре генно-инженерной конструкции репортерного гена, позволяющего по изменению его активности (флюоресцентной или люминесцентной) оценивать изменения в активности интересующего гена.

<sup>8</sup> Трансфактор — транскрипционный фактор.

### Выделение РНК

Из аспириатов костного мозга больных выделяли мононуклеарную фракцию клеток, содержащую плазмочиты. Для этого материал костного мозга насливали на 3 мл Ficoll («ПанЭко», Россия) и центрифугировали при скорости 1500 об./мин в течение 30 мин. Полученное после центрифугирования интерфазное кольцо отбирали в чистую пробирку с 10 мл раствора Хенкса и центрифугировали при скорости 1500 об./мин в течение 10 мин. Далее полученный осадок промывали дважды раствором Хенкса и пересаждали. Осадок лизировали в 1 мл реактива Trizol (Sigma, США). Процедуру выделения РНК проводили по стандартному протоколу. Качество полученной РНК оценивали путем сравнения полос рибосомной РНК после электрофореза исходной РНК в 1% агарозном геле. Концентрацию РНК определяли с помощью спектрофотометра (Biometra, Германия) при длине волны 260 нм. Образцы РНК хранили при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### Реакция обратной транскрипции

Реакционная смесь для синтеза комплементарной ДНК (кДНК) факторов роста VEGF-C, VEGF-D и их рецептора VEGFR3, а также RAR $\alpha$  содержала 2 мкг тотальной РНК, 1 мкл праймеров Oligo-dT (МБИ Ферментас, Литва), 2,5 ммоль смеси dNTP (МБИ Ферментас, Литва), 2–4 ЕД ингибитора РНКаз (МБИ Ферментас, Литва), 100 ЕД обратной транскриптазы M-MuLV (МБИ Ферментас, Литва). Объем смеси составлял 25 мкл. Синтез проводили на амплификаторе «Терцик» («ДНК-технология», Россия) при температуре  $42^{\circ}\text{C}$  в течение 50 мин. Реакцию останавливали путем нагревания до  $70^{\circ}\text{C}$  в течение 10 мин.

### Полимеразная цепная реакция

Реакционная смесь для наработки продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР) содержала 1 мкл раствора кДНК, 20 пкмоль каждого из праймеров, 2,5 ммоль смеси dNTP (МБИ Ферментас, Литва), 2,5 мкл 10-кратного буфера с  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (МБИ Ферментас, Литва), 25 ммоль  $\text{MgCl}_2$ , 1 ЕД. Таq-полимеразы (МБИ Ферментас, Литва), 20 мкл минерального масла и воду до конечного объема 25 мкл. Нуклеотидные последовательности использованных специфических праймеров приведены в табл. 1. Реакцию амплификации проводили на амплификаторе «Терцик» («ДНК-технология», Россия) по следующей схеме: денатурация —  $94^{\circ}\text{C}$  в течение 10 с; отжиг праймеров —  $T_m$  в течение 10 с; синтез —  $72^{\circ}\text{C}$  в течение 20 с.

Значения температуры  $T_m$  и количество циклов ПЦР для каждого из генов приведены в табл. 1.

В качестве маркерного гена определяли экспрессию гена  $\beta_2M$ . Продукты реакции ПЦР анализировали с помощью электрофореза в 2% агарозном геле с добавлением 0,5 мкг/мл бромистого этидия. Размер фрагментов оценивали в соответствии с расположением полос маркерной ДНК. Гель фотографировали при ультрафиолетовом возбуждении с помощью цифровой камеры Samsung CCTV LENZ (Корея).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В целом ряде работ было показано, что плазматические клетки больных ММ способны синтезировать как лиганды, так и рецепторы из семейства VEGF [13, 14]. Таким образом, это подтверждает возможность аутокринной регуляции пролиферации миеломных клеток как одного из путей автономного контроля клеточного роста, не зависящего от рост-индуцирующих или рост-супрессирующих сигналов со стороны стромального микроокружения.

В связи с этим мы исследовали экспрессию генов VEGF-C, VEGF-D и VEGFR3, фактически отражающую степень функциональной активности VEGFR3-зависимой сигнальной системы и, соответственно, величину злокачественного потенциала, в группе 17 больных ММ до и после противоопухолевого лечения.

При анализе экспрессии генов VEGFR3-зависимой сигнальной системы у больных до начала лечения оказалось, что экспрессия мРНК фактора роста VEGF-C отмечалась у всех больных исследованной нами группы, в то время как ген VEGF-D экспрессировался лишь у 10 (58,8 %) из 17 больных. При этом экспрессия VEGFR3 обнаружена у 16 (94,1 %) из 17 пациентов. Полученные данные представлены на рис. 1.

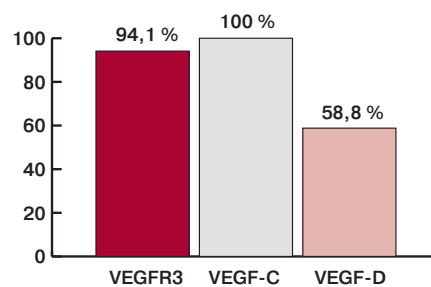


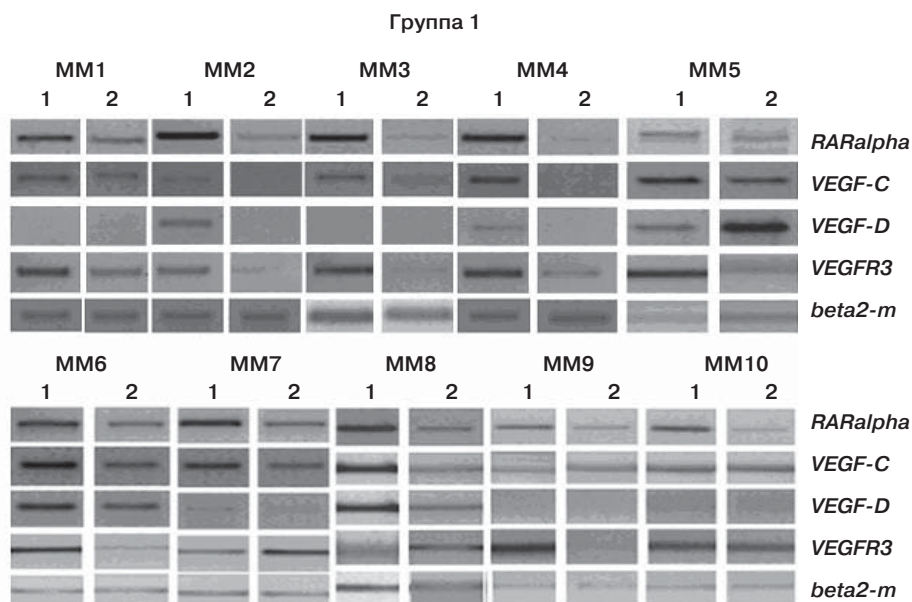
Рис. 1. Аддитивные показатели экспрессии генов VEGFR3-зависимой сигнальной системы у больных до начала противоопухолевого лечения

Fig. 1. Additive parameters of VEGFR3-associated signaling system gene expression in patients before initiation of antitumor treatment

Таблица 1. Последовательности праймеров полимеразной цепной реакции

Ген	Последовательность	Размер продукта, п.о.	Температура отжига	
			праймера, C	Количество циклов
VEGF-C	5'-CAGTTACGGTCTGTGCCAGTGTAG-3' 5'-GGACACACATGGAGGTTAAAGAAG-3'	300	60	30
VEGF-D	5'-TCCAGATCCCTGAAGAAGATCGCTG-3' 5'-ATGCTTGCACATGCTGTTTTGC-3'	387	61	34
VEGFR3	5'-CTTGTCGGTACCGGCGTCATC-3' 5'-GAGGATCTTGAGCTCCGACATCAG-3'	366	60	32
RAR $\alpha$	5'-GTGCCAAGCCCGAGTGTCTG-3' 5'-TGTGCATCTGGTCCGGTTCAG-3'	390	60	30
$\beta_2M$	5'-ACCCCACTGAAAAAGATGA-3' 5'-ATCTTCAAACCTCATGATG-3'	114	59	22

п.о. — пары оснований.



**Рис. 2.** Экспрессия мРНК генов *RARα*, *VEGF-C*, *VEGF-D* и *VEGFR3* у больных множественной миеломой до и после проведения противоопухолевого лечения. MM — условное обозначение и порядковый номер пациента; 1 — степень экспрессии до лечения, 2 — степень экспрессии после лечения

**Fig. 2.** Expression of mRNA of *RARα*, *VEGF-C*, *VEGF-D* и *VEGFR3* genes in patients with multiple myeloma before and after antitumor treatment. MM — patient's identification code and ordinary number; 1 — expression degree before treatment; 2 — expression degree after treatment

Из полученных данных можно сделать вывод о том, что у 16 из 17 больных, которые были включены в настоящее исследование, VEGFR3-зависимая сигнальная система гипотетически функционально активна, поскольку у 100 % больных экспрессируется лиганд VEGF-C, а его высокоселективный рецептор VEGFR3 экспрессировался в 94,1 % случаев.

Недавно G. Schafer и соавт. идентифицировали атипичный полусайт респонсивного элемента<sup>1</sup> *RARα* в промоторе гена *VEGF-D* и показали способности самого *RARα* и ряда других транскрипционных факторов взаимодействовать с указанным локусом [15].

Кроме того, ранее на модели клеточных культур MM человека линий RPMI1640, RPMI8226 и IM9 нами была выявлена способность транс-изомера ретиноевой кислоты (ATRA) модулировать экспрессию лигандов VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D и рецептора VEGFR1 [16].

Учитывая эти факты, далее мы изучили уровень экспрессии *RARα* у исследуемой группы больных, характер его изменения в ответ на проведенную полихимиотерапию, а также связанные с ним изменения экспрессии компонентов VEGFR3-зависимой системы.

Оказалось, что ген *RARα* экспрессировался в достаточно высокой степени у всех 17 больных как до лечения, так и после него, но направленность этих изменений была различной. В связи с этим исходная группа из 17 больных была подразделена нами на три другие в зависимости от характера изменений экспрессии гена *RARα*.

Как видно на рис. 2, в группу 1 включены больные, у которых в ответ на проведенную терапию уровень экспрессии гена *RARα* понизился.

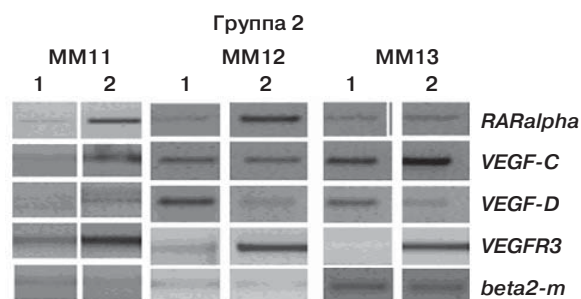
Из полученных методом ОТ-ПЦР данных следует, что у 10 (58,8 %) из 17 больных уровень экспрессии гена *RARα* до проведения лечения был значительно выше. Это может свидетельствовать о его частичном или практически

полном ингибировании (MM2, MM3, MM4 и MM10) в результате проведенной противоопухолевой терапии.

При сопоставлении этих результатов с изменениями экспрессии генов VEGFR3-зависимой системы оказалось, что у 8 (80 %) из 10 больных этой группы подобное снижение уровня экспрессии мРНК было зарегистрировано и для гена *VEGF-C*. Более того, у 3 из 4 больных (MM2, MM3 и MM4) с практически полной инактивацией экспрессии гена *RARα* выявлялись аналогичные изменения экспрессии гена *VEGF-C*. Сходные результаты были выявлены в отношении конкордантности изменений экспрессии генов *RARα* и *VEGF-D*. Характерно, что снижение экспрессии ключевого компонента исследуемой сигнальной системы — гена *VEGFR3* — было отмечено у 7 (70 %) из 10 больных, также прослеживалась определенная корреляция этих изменений с изменениями экспрессии гена *RARα* (см. рис. 2).

В группу 2 было включено 3 больных, у которых в ответ на лечение уровень экспрессии гена *RARα* повысился (рис. 3).

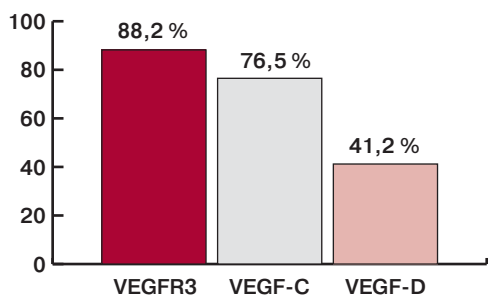
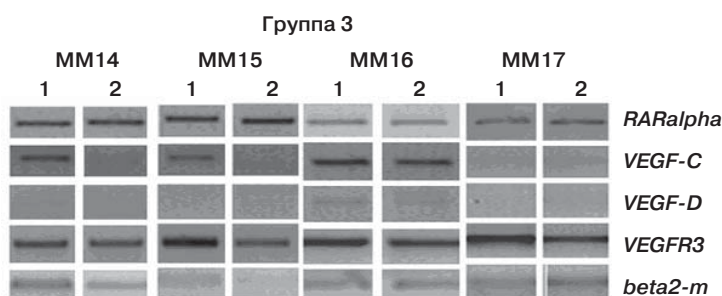
Как и в случае больных из группы 1, в этой группе наблюдалось резкое увеличение экспрессии мРНК гена *VEGFR3*, конкордантное изменениям в экспрессии гена *RARα*. У 2 больных отмечалось менее резкое увеличение



**Рис. 3.** Экспрессия мРНК генов *RARα*, *VEGF-C*, *VEGF-D* и *VEGFR3* у больных множественной миеломой до и после проведения противоопухолевого лечения. MM — условное обозначение и порядковый номер пациента; 1 — степень экспрессии до лечения, 2 — степень экспрессии после лечения

**Fig. 3.** Expression of mRNA of *RARα*, *VEGF-C*, *VEGF-D* и *VEGFR3* genes in patients with multiple myeloma before and after antitumor treatment. MM — patient's identification code and ordinary number; 1 — expression degree before treatment; 2 — expression degree after treatment

<sup>1</sup> Полусайт респонсивного элемента — определенная последовательность нуклеотидов в структуре двухчленного респонсивного элемента, полусайты которого разделены п-членным спейсером. Атипичный полусайт респонсивного элемента — полусайт респонсивного элемента, структура которого отличается от канонического типа качественным и/или количественным составом входящих в него нуклеотидов.



**Рис. 5.** Аддитивные показатели экспрессии генов VEGFR3-зависимой сигнальной системы у больных после проведения противоопухолевого лечения

**Fig. 5.** Additive parameters of VEGFR3-associated signaling system gene expression in patients before initiation of antitumor treatment

экспрессии гена *VEGF-C*, а экспрессия гена *VEGF-D* носила переменный характер.

Наконец, в группу 3 были включено 4 (23,5 %) из 17 больных, у которых не было сколько-нибудь значительных, визуально определяемых колебаний экспрессии гена *RAR $\alpha$* , при этом у них наблюдались почти идентичные показания и относительно уровня экспрессии генов *VEGF-C*, *VEGF-D* и *VEGFR3* (рис. 4).

После проведенного лечения оказалось, что суммарный показатель экспрессии гена *VEGFR3* снизился до 88,2 %, гена *VEGF-C* — до 76,5 %, а гена *VEGF-D* — до 41,2 %, что может свидетельствовать об инактивации VEGFR3-зависимой сигнальной системы, а также эффективности выбранной схемы противоопухолевой терапии у больных ММ исследованной нами группы (рис. 5).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в представленной работе в группе из 17 больных ММ впервые показано, что изменения экспрессии генов *VEGFR3*, *VEGF-C* и *VEGF-D*, а следовательно, и функциональная активность VEGFR3-зависимой сигнальной системы, возможно, происходят конкордантно с изменениями в экспрессии гена *RAR $\alpha$* .

Показано, что наблюдается определенная корреляция между изменениями экспрессии компонентов VEGFR3-зависимой сигнальной системы и экспрессией транскрипционного фактора *RAR $\alpha$* , что может свидетельствовать о его гипотетической вовлеченности в регуляцию экспрессии генов этой системы.

## КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликтов интересов.

**Рис. 4.** Экспрессия мРНК генов *RAR $\alpha$* , *VEGF-C*, *VEGF-D* и *VEGFR3* у больных множественной миеломой до и после проведения противоопухолевого лечения. ММ — условное обозначение и порядковый номер пациента; 1 — степень экспрессии до лечения, 2 — степень экспрессии после лечения

**Fig. 4.** Expression of mRNA of *RAR $\alpha$* , *VEGF-C*, *VEGF-D* и *VEGFR3* genes in patients with multiple myeloma before and after antitumor treatment. MM — patient's identification code and ordinary number; 1 — expression degree before treatment; 2 — expression degree after treatment

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа частично поддержана Российским фондом фундаментальных исследований, грант № 10-04-00626.

## ВКЛАД АВТОРОВ

**Концепция и дизайн:** Н.Н. Калитин.

**Сбор и обработка данных:** Н.Н. Калитин, И.В. Буравцова.

**Предоставление материалов исследования:** И.В. Буравцова.

**Анализ и интерпретация данных:** Н.Н. Калитин.

**Подготовка рукописи:** Н.Н. Калитин.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Neufeld G. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J.* 1999;13(1):9–22.
- Pugh CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nat Med.* 2003;9(6):677–84. doi: 10.1038/nm0603-677.
- Ristimaki A, Narko K, Enholm B, et al. Proinflammatory cytokines regulate expression of the lymphatic endothelial mitogen vascular endothelial growth factor-C. *J Biol Chem.* 1998;273(14):8413–8.
- Chambon P. A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *FASEB J.* 1996;10(9):940–54.
- Leid M, Kastner P, Chambon P. Multiplicity generates diversity in the retinoic acid signalling pathways. *Trends Biochem Sci.* 1992;17(10):427–33. doi: 10.1016/0968-0004(92)90014-z.
- Mangelsdorf DJ, Evans RM. The RXR heterodimers and orphan receptors. *Cell.* 1995;83(6):841–50. doi: 10.1016/0092-8674(95)90200-7.
- Delacroix L, Moutier E, Altobelli G, et al. Cell-specific interaction of retinoic acid receptors with target genes in mouse embryonic fibroblasts and embryonic stem cells. *Mol Cell Biol.* 2010;30(1):231–44. doi: 10.1128/mcb.00756-09.
- Eifert C, Sangster-Guity N, Yu LM, et al. Global gene expression profiles associated with retinoic acid-induced differentiation of embryonal carcinoma cells. *Mol Reprod Dev.* 2006;73(7):796–824. doi: 10.1002/mrd.20444.
- Maeno T, Tanaka T, Sando Y, et al. Stimulation of vascular endothelial growth factor gene transcription by all trans retinoic acid through Sp1 and Sp3 sites in human bronchioloalveolar carcinoma cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2002;26(2):246–53. doi: 10.1165/ajrcmb.26.2.4509.
- Tsuzuki S, Kitajima K, Nakano T, et al. Cross talk between retinoic acid signaling and transcription factor GATA-2. *Mol Cell Biol.* 2004;24(15):6824–36. doi: 10.1128/mcb.24.15.6824-6836.2004.
- Kappel A, Schlaeger TM, Flamme I, et al. Role of SCL/Tal-1, GATA, and its transcription factor binding sites for the regulation of flk-1 expression during murine vascular development. *Blood.* 2000;96(9):3078–85.
- Durie BGM, Salmon SE. A clinical staging system for multiple myeloma. *Cancer.* 1975;36(3):842–54. doi: 10.1002/1097-0142(197509)36:3<842::aid-cncr28203603003>3.0.co;2-u.
- Rajkumar SV, Leong T, Roche PC, et al. Prognostic value of bone marrow angiogenesis in multiple myeloma. *Clin Cancer Res.* 2000;6(8):3111–6.
- Vacca A, Ribatti D, Presta M, et al. Bone marrow neovascularization, plasma cell angiogenic potential, and matrix metalloproteinase-2 secretion parallel progression of human multiple myeloma. *Blood.* 1999;93(9):3064–73.
- Schafer G, Wissmann C, Hertel J, et al. Regulation of vascular endothelial growth factor D by orphan receptors hepatocyte nuclear factor-4A and chicken ovalbumin upstream promoter transcription factors 1 and 2. *Cancer Res.* 2008;68(2):457–66. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5136.
- Калитин Н.Н., Каклакова Е.С., Карамышева А.Ф. Влияние ретиноевой кислоты на экспрессию мРНК генов факторов роста эндотелия сосудов VEGF и рецептора VEGFR1 в культурах клеток множественной миеломы человека. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2012;10:64–8. [Kalitin NN, Kakpakova ES, Karamysheva AF. Effect of retinoid acid on expression of mRNA in genes of vascular endothelial growth factor VEGF and VEGFR1 receptor in cultures of human multiple myeloma cells. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii.* 2012;10:64–8. (In Russ)]