

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

Обухова Л.М., Медяник И.А., Конторщикова К.Н., Симагина С.А., Мусаэлян Л.Т., Конторщиков М.М., Веселова А.С.

## КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ АКТИВНОСТИ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ПРИ ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава РФ, 603950, Нижний Новгород, Россия

*Установлено, что не-нейрональная холинэргическая система имеет отношение к онкогенезу, что повышает значение ее компонентов как перспективных маркеров онкологических заболеваний. Цель данной работы – оценить клиническую значимость анализа активности ацетилхолинэстеразы в качестве нового маркера глиом. Активность ацетилхолинэстеразы оценивали фотокolorиметрически по методу Hestrin, пересчитывая активность фермента в ткани опухоли на 1 г белка, а в крови – на 0,1 г гемоглобина. Данные, полученные в первичных опухолях головного мозга (n=28), в ткани мозга лиц, погибших в результате травмы (n=6), в цельной крови больных глиомами (n=28) и практически здоровых людей (n=10) сопоставляли с применением ряда статистических программ. Выявлено значимое снижение активности ацетилхолинэстеразы в ткани опухоли и в цельной крови по мере увеличения степени анаплазии опухолей, начиная с Grade II. Впервые отмечена значимая прямая корреляция, показывающая согласованность между снижением активности ацетилхолинэстеразы в опухолевой ткани головного мозга и крови. Биоинформационный анализ показал связь фермента ацетилхолинэстеразы с белками сигнальных путей PI3K-AKT и Notch, обеспечивающих антиапоптотический и пролиферативный эффекты. Выявленные зависимости вносят вклад в понимание механизмов глиомогенеза и могут быть использованы для отбора новых диагностических маркеров опухолей головного мозга.*

**Ключевые слова:** глиомы; ацетилхолинэстераза.

**Для цитирования:** Обухова Л.М., Медяник И.А., Конторщикова К.Н., Симагина С.А., Мусаэлян Л.Т., Конторщиков М.М., Веселова А.С. Клиническая значимость активности ацетилхолинэстеразы при опухолях головного мозга. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (12): 718-721. DOI:https://dx.doi.org/ 10.51620/0869-2084-2021-66-12-718-721

**Для корреспонденции:** Обухова Лариса Михайловна, д-р биол. наук, доц., проф. каф. биохимии им. Г.Я. Городисской; e-mail: ObuhovaLM@yandex.ru

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 21.05.2021

Принята к печати 21.07.2021

Опубликовано 22.12.2021

*Obukhova L.M., Medyanik I.A., Kontorshchikova K.N., Simagina S.A., Musaelyan L.T., Kontorshchikov M.M., Veselova A.S.*

### CLINICAL SIGNIFICANCE OF ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY IN BRAIN TUMORS

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Privolzhsky Research Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation

*It has been established that the non-neuronal cholinergic system is related to the oncogenesis which increases the attractiveness of its components as the promising markers of oncologic diseases. The purpose of this work is to evaluate the clinical significance of the analysis of the activity of acetyl cholinesterase as a new marker of gliomas. The activity of acetyl cholinesterase was assessed by photo colorimetric analysis according to the Hestrin method recalculating the activity of the enzyme in the tumor tissue per 1 g of protein, and in the blood – by 0.1 g of hemoglobin. The data obtained in the primary tumors of the brain (28) in the tissue of the brain of persons who died as a result of injury (6) and in whole blood of patients with gliomas (28) and practically healthy people (10) were compared with the use of a number of statistical programs. A significant decrease in the activity of acetyl cholinesterase in tumor tissue and in whole blood is revealed as the degree of anaplasia of tumors increases, starting with Grade II. It is for the first time that a significant direct correlation was noted showing the consistency between the decrease in the activity of acetyl cholinesterase in the tumor tissue of the brain and blood. Bioinformatic analysis showed the connection of the enzyme of acetyl cholinesterase with proteins of the PI3K-AKT and Notch signaling pathways providing antiapoptotic and proliferative effects. The found dependences provide new insights into understanding of the mechanisms of gliomas genesis and can be used for selection of new diagnostic markers of brain tumors.*

**Key words:** gliomas; acetylcholinesterase.

**For citation:** Obukhova L.M., Medyanik I.A., Kontorshchikova K.N., Simagina S.A., Musaelyan L.T., Kontorshchikov M.M., Veselova A.S. Clinical significance of acetylcholinesterase activity in brain tumors. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (12): 718-721 (in Russ.). DOI: https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-12-718-721

**For correspondence:** Obukhova Larisa Mikhailovna, Doctor of Biological Sciences, associate professor, professor of the Department of Biochemistry. G.Ya. Gorodissky; e-mail: ObuhovaLM@yandex.ru

#### Information about authors:

Obukhova L.M., <https://orcid.org/0000-0003-4064-9616>;  
Medyanik I.A., <https://orcid.org/0000-0002-7519-0959>;  
Kontorshchikova K.N., <https://orcid.org/0000-0001-8345-9359>;  
Simagina S.A., <https://orcid.org/0000-0002-5887-2739>;  
Musaelyan L.T., <https://orcid.org/0000-0002-8813-3312>;

Kontorshchikov M.M., <https://orcid.org/0000-0002-0262-5448>;  
Veselova A.S., <https://orcid.org/0000-0002-4927-6353>.

**Conflict of interest.** *The authors declare no conflict of interest.*

**Acknowledgment.** *The study had no sponsor support.*

Received 21.05.2021  
Accepted 21.07.2021  
Published 22.12.2021

**Введение.** Ацетилхолинэстераза (АХЭ) – фермент, который осуществляет гидролиз ацетилхолина в холинэргических синапсах, прекращая, таким образом, передачу нервного импульса. Относится к семейству ферментов класса гидролаз, субстратами которых являются сложные эфиры холина с уксусной, пропионовой или масляной кислотами [1]. Ацетилхолинэстераза выявляется преимущественно в синапсах, нейронах и эритроцитах. В головном мозге ацетилхолин действует как нейромедиатор, а не-нейрональный ацетилхолин функционирует как сигнальная молекула, регулируя основные функции клеток: иммунную, двигательную, организацию цитоскелета, секреторную активность, деление, пролиферацию, дифференциацию и апоптоз [2-4]. Именно поэтому не-нейрональная холинэргическая система выполняет важную роль в онкогенезе. АХЭ выступает опухолевым супрессором в культурах клеток опухолей даже при отсутствии ферментативной активности и может влиять на апоптоз раковых клеток негидролитическим путем [5]. Кроме того, экспрессия и активность холинэстераз в опухолевых тканях коррелирует с выживаемостью больных, и связана со степенью злокачественности опухоли [6].

Цель данной работы – оценить клиническую значимость анализа активности ацетилхолинэстеразы в качестве нового маркера глиом.

**Материал и методы.** Обследовали 28 первичных больных с глиомами в возрасте от 39 до 63 лет. У всех пациентов клинический диагноз подтвержден данными гистологического исследования опухоли в соответствии с классификацией ВОЗ опухолей ЦНС [7]. У 4 пациентов выявлены опухоли со степенью аномалии Grade I, у 6 – Grade II, у 9 – Grade III, у 9 – Grade IV. Исследования проведены в образцах гомогената послеоперационного материала первичных опухолей, а также в крови.

Контролем являлась ткань мозга лиц, погибших в результате травмы – 6 человек: 4 мужчины, 2 женщины (31-56 лет) и кровь практически здоровых людей, при выполнении МРТ опухоль мозга у которых не была выявлена (10 человек: 6 мужчин и 4 женщин, 32-58 лет). Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава РФ (протокол № 6 от 17.04.2019 г.).

**Анализ активности ацетилхолинэстеразы.** Определение активности ацетилхолинэстеразы проводили фотокolorиметрически по методу Hestrin, основанном на реакции ацетилхолина с щелочным раствором гидроксиламина, в результате чего образуется ацетилгидроксамовая кислота, которая в присутствии солей трёхвалентного железа даёт коричнево-красное окрашивание [8]. Активность АХЭ крови пересчитывали на 0,1 г гемоглобина, активность фермента в тканях пересчитывали на 1 г белка, содержание которого определяли по методу Лоури (ООО «Фирма Синтакон», Россия).

**Биоинформационный анализ.** Для выявления белок-белковых взаимодействий использовали биоинформативный ресурс STRING. Это база данных для поис-

ка информации о функциональной взаимосвязи между двумя и более белками. Она содержит экспериментально известную и предсказанную информацию о белок-белковых взаимодействиях для более чем 9,5 миллионов белков. STRING обобщает информацию из различных источников: экспериментальные данные, литературные данные и предсказания *de novo*. По результатам поискового запроса взаимодействия заданного белка с другими белками представлены в виде графа, вершинами которого являются белки, а ребрами — различные типы доказательств функциональных взаимосвязей между этими белками. Вершины, соответствующие белкам, для которых расшифрована (или предсказана с определенной идентичностью) кристаллографическая структура, показаны более крупно. При клике на вершину во всплывающем окне доступны ссылки на сторонние ресурсы с информацией о данном белке, предпросмотр доменной архитектуры и кристаллографической структуры. Возможна кластеризация сети взаимодействий, добавление в сеть взаимодействий других белков при понижении порога достоверности функциональной взаимосвязи (и наоборот, удаление из сети взаимодействий белков при повышении порога), настройка допустимых типов доказательств функциональной взаимосвязи (например, можно оставить в сети взаимодействий только те белки, для взаимодействий которых есть экспериментальные доказательства), а также сохранение списка найденных белок-белковых взаимодействий в виде текстового файла и сохранение картинки сети взаимодействий. При этом список возможных функциональных взаимосвязей заданного белка содержит доказательства каждой взаимосвязи и ранжирован по уровню оцененной достоверности каждой взаимосвязи.

**Статистический анализ клинико-лабораторных данных.** Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета StatPlus6. Выбор основных характеристик и статистических критериев при их сравнении осуществляли после изучения распределения признака и его сравнения с распределением Гаусса по критериям Колмогорова-Смирнова/Лиллифорса, Шапиро-Уилка. Поскольку распределение данных отличалось от нормального, полученные результаты представляли в виде медианы, квартилей и применяли непараметрические методы сравнения. Достоверность полученных различий оценивали с применением непараметрических критериев (U-критерий Манна-Уитни, критерий Колмогорова-Смирнова). U-критерий Манна-Уитни используют для оценки различий между двумя независимыми выборками по уровню количественного признака, что позволяет выявлять различия в значении параметра между малыми выборками. Критерий Колмогорова-Смирнова позволяет проверить гипотезу о том, что данные в двух выборках являются частью одного распределения, и также может применяться для оценки достоверности различий между двумя независимыми выборками, однако, обладает меньшей статистической мощностью, чем

U-тест Манна-Уитни. Для всех статистических критериев значения  $p < 0,05$  считали статистически значимыми. Корреляционный анализ проводили по Спирмену для непараметрических данных с расчетом коэффициента корреляции и уровня его значимости.

**Результаты и обсуждение. Снижение активности ацетилхолинэстеразы в ткани опухолей головного мозга.** В табл. 1 представлены статистические характеристики активности ацетилхолинэстеразы в опухолевой ткани глиом в зависимости от степени анаплазии.

Как следует из данных, приведенных в табл. 1, медианы уровня активности ацетилхолинэстеразы в ткани опухоли при глиомах Grade II, III, IV были значимо ниже, чем в контроле: при Grade II- в 2,45 раз, при Grade III- в 11,55 раз, при Grade IV- более, чем в 70 раз. Однако при сравнении активности фермента в ткани опухоли при Grade I с контролем, значимых отличий выявлено не было (U-критерий Манна-Уитни,  $p=0,6325$ ; критерий Колмогорова-Смирнова,  $p=0,5561$ ).

**Снижение активности ацетилхолинэстеразы в крови пациентов с глиомами.** В табл. 2 представлены статистические характеристики активности ацетилхолинэстеразы в цельной крови в зависимости от степени анаплазии глиом.

Как следует из данных, приведенных в табл. 2, медианы уровня активности ацетилхолинэстеразы в крови при глиомах Grade II, III, IV были значимо ниже, чем в контроле: при Grade II- в 1,74 раз, при Grade III- в 3,66 раз, при Grade IV – в 8,37 раз. Однако при сравнении активности фермента в крови при Grade I с контролем значимых отличий выявлено не было.

**Взаимосвязь активности ацетилхолинэстеразы ткани опухоли и крови.** При проведении анализа корреляционных зависимостей выявлена статистически высоко значимая прямая корреляционная зависимость

между активностью ацетилхолинэстеразы в опухолевой ткани головного мозга и крови ( $r_s = 0,632$ ).

**Биоинформационный анализ белок-белковых взаимодействий ацетилхолинэстеразы.** Сигнальные пути, регулирующие пролиферацию и эмбриогенез (PI3K-АКТ, каскад митогенактивируемых протеинкиназ Ras-Raf-МЕК-ERK, TGF- $\beta$ -Smad, Wnt, Notch, Hedgehog), задействованы в глиоматогенезе [9-12]. Был проведен анализ белок-белковых взаимодействий между АХЭ и белками TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3, а также белками PI3K/АКТ/mTOR, Ras-Raf-МЕК-ERK, Sonic Hedgehog/Patched, Notch, Wnt/ $\beta$ -катенин сигнальных путей.

Проведенный биоинформационный анализ белок-белковых взаимодействий показал, что наиболее значимые взаимодействия с ацетилхолинэстеразой наблюдаются для белков PI3K-АКТ сигнального пути и белком Пресенилин-1, который участвует в сигнальных каскадах Notch, Wnt, в том числе регулируя уровень  $\beta$ -катенина [13,14].

АХЭ входит в кластер из 27 белков, биологически связанных с белками PI3K-АКТ сигнального пути. При этом, средний коэффициент локальной кластеризации равен 0,609. Такой уровень кластеризации может указывать на значимую биологическую связь АХЭ с данными белками. АХЭ напрямую взаимодействует с киназой АКТ1, которая фосфорилирует белки, отвечающие за выживание и рост клеток (MDM2, BAD, p21<sup>CIP1</sup>, p27<sup>KIP1</sup>, mTOR и др.) [15].

Снижение активности АХЭ приводит к увеличению концентрации ацетилхолина, который активирует мускариновый ацетилхолиновый рецептор M3R, что ведет к высвобождению эпидермального фактора роста EGF, активирующий рецепторы эпидермального фактора роста EGFR [16]. В результате запускается сигнальный путь PI3K/Akt, активируя пролиферацию клеток.

АХЭ входит в кластер из 6 белков, биологически связанных с белками Notch сигнального пути. Средний

Таблица 1

Активность ацетилхолинэстеразы (мг/мл/час/1 г белка) в гомогенатах опухолевой ткани глиом

Степень анаплазии	АХЭ, мг/мл/час/1 г белка		U-критерий Манна-Уитни	Критерий Колмогорова-Смирнова
	Медиана; квартили	Пределы; 95%ДИ		
Контроль, n=6	35,12; 34,96-35,28	34,8-35,43		
Grade I, n=4	33,40; 30,92-34,12	28,43-34,83	$p=0,6325$	$p=0,5561$
Grade II, n=6	14,3; 8,79-21,36	7,50-23,12	$p=0,0091$	$p=0,0465$
Grade III, n=9	3,04; 2,48-3,41	2,12-4,93	$p=0,0011$	$p=0,0020$
Grade IV, n=9	0,51; 0,23-1,11	0,12-2,25	$p=0,0006$	$p=0,0008$

Примечание. Здесь и в табл. 2: n – число наблюдений.

Таблица 2

Активность ацетилхолинэстеразы (мг/мл/час/0,1г гемоглобина) в крови при глиомах разной степени анаплазии

Степень анаплазии	АХЭ, мг/мл/час/0,1 г гемоглобина		U-критерий Манна-Уитни	Критерий Колмогорова-Смирнова
	Медиана; квартили	Пределы; 95%ДИ		
Контроль, n=6	26,30; 23,25-30,56	19,25- 33,78		
Grade I, n=4	26,91; 25,16-28,24	20,55- 31,60	$p=0,5224$	$p=0,4353$
Grade II, n=6	15,15; 14,17- 17,56	12,81-19,68	$p=0,0163$	$p=0,0766$
Grade III, n=9	7,19; 6,69-8,43	4,66-13,12	$p=0,0024$	$p=0,0035$
Grade IV, n=9	3,14; 3,01-4,65	2,17-5,79	$p=0,0015$	$p=0,0022$

коэффициент локальной кластеризации равен 0,933, что свидетельствует о высокозначимой биологической взаимосвязи ацетилхолинэстеразы с данными белками, опосредованной через белок Пресенилин-1.

Рецепторы Notch на наружной поверхности клеточной мембраны гидролизуются пресенилинзависимым комплексом  $\gamma$ -секретазы. В результате внутриклеточный домен NICD (Notch intracellular domain) высвобождается, а затем транслоцируется в ядро, что в конечном итоге приводит к активации транскрипции [17]. Сигнал Notch регулирует p27cip1 / waf1, циклин D1, c-Мус, p21, апоптотический белок сурвивин, транскрипционные факторы Slug и Nanog, а также активирует путь ядерного фактора-каппа B [18]. Сигнал Notch, в первую очередь, является онкогенным для многих клеток (лимфобластная лейкемия, нейробластома, рак молочной и предстательной желез) [19]. При глиобластомах выявлена активация сигнального пути Notch, который поддерживает потентность опухолевых стволовых клеток, обеспечивая их пролиферацию [10].

**Заключение.** В представленном исследовании изучена активность ацетилхолинэстеразы в 28 первичных опухолях головного мозга, в 6 образцах головного мозга лиц, погибших в результате травмы, 28 образцах цельной крови больных глиомами и 10 образцах цельной крови практически здоровых людей. По мере увеличения степени анаплазии опухолей, начиная с Grade II, активность ацетилхолинэстеразы значительно снижалась, как в ткани опухоли, так и в цельной крови. Впервые отмечена значимая прямая корреляция, показывающая согласованность между снижением активности ацетилхолинэстеразы в опухолевой ткани головного мозга и крови. С помощью биоинформационного анализа показана взаимосвязь фермента ацетилхолинэстеразы с белками сигнальных путей PI3K-AKT и Notch, обеспечивающих антиапоптотический и пролиферативный эффекты. Можно предположить, что высокая активность ацетилхолинэстеразы выступает в качестве супрессора опухолевого роста не только благодаря своей ферментативной активности (осуществляя гидролиз ацетилхолина), но и по специфическому некаталитическому механизму, за счет образования комплексов с различными белками. Полученные нами результаты углубляют понимание механизмов глиоматоза и могут быть использованы для отбора новых диагностических маркеров опухолей головного мозга.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-5, 7, 9-16, 18, 19 см. REFERENCES)

- Петров К. А., Харламова А. Д., Никольский Е. Е. Холинэстеразы: взгляд нейрофизиолога. *Гены и клетки*. 2014; 3(9): 160-7.
- Хрусталева Д.А., Доведова Е.Л., Ещенко Н.Д. Влияние амфетамина на активность ферментов обмена нейромедиаторов в структурах головного мозга крыс линий Вистар и Август. *Вестник СПбГУ*. 2004; 3: 55-9.
- Куликова К.В., Кибардин А.В., Гнучев Н.В., Георгиев Г.П., Ларин С.С. Новикова М.В. и др. Роль белков Notch в процессах канцерогенеза. *Успехи молекулярной онкологии*. 2015; 2: 30-42.

## REFERENCES

- Silman I., Sussman J. L. Acetylcholinesterase: how is structure related to function? *Chemico-biological interactions*. 2008; 175(1-3): 3-10. DOI: 10.1016/j.cbi.2008.05.035.

- Lazarevic-Pasti T., Leskovic A., Momic T., Petrovic S., Vasic V. Modulators of acetylcholinesterase activity: From Alzheimer's disease to anti-cancer drugs. *Current medicinal chemistry*. 2017; 24(30): 3283-3309. DOI: 10.2174/0929867324666170705123509.
- Jiang H., Zhang X.J. Acetylcholinesterase and apoptosis. A novel perspective for an old enzyme. *FEBS J*. 2008; 275(4): 612-7. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2007.06236.x.
- Fujii T., Mashimo M., Moriwaki Y., Misawa H., Ono S., Horiguchi K. et al. Physiological functions of the cholinergic system in immune cells. *Journal of pharmacological sciences*: 2017; 134(1):1-21. DOI:10.1016/j.jpsh.2017.05.002.
- Campoy F. J., Vidal C.J., Munoz-Delgado E., Montenegro M.F., Cabezas-Herrera J., Nieto-Ceron S. Cholinergic system and cell proliferation. *Chemico-biological interactions*. 2016; 259: 257-65. DOI: 10.1016/j.cbi.2016.04.014.
- Petrov K. A., Harlamova A. D., Nikol'skij E. E. Cholinesterase: a neurophysiologist's view. *Geny i клетки*. 2014; 3(9): 160-7. (in Russian)
- Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D., Cavenee W.K. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System (4th ed.). Lyon: IARC; 2016.
- Khrustalev D.A., Dovedova E.L., Eshchenko N.D. Effect of amphetamine on activity of enzymes of metabolism of neurotransmitters in the structures of the head brains of rats of Wistar and August lines. *Vestnik SPBGU*. 2004; 3: 55-9. (in Russian)
- Bazzoni R., Bentivegna A. Role of Notch Signaling Pathway in Glioblastoma Pathogenesis. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(3):292-317. doi: 10.3390/cancers11030292.
- Saito N., Hirai N., Aoki K., Suzuki R., Fujita S., Nakayama H. et al. The Oncogene Addiction Switch from NOTCH to PI3K Requires Simultaneous Targeting of NOTCH and PI3K Pathway Inhibition in Glioblastoma. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(1):121-33. DOI: 10.3390/cancers11010121.
- Mondal S., Bhattacharya K., Mandal C. Nutritional stress reprograms dedifferentiation in glioblastoma multiforme driven by PTEN/Wnt/Hedgehog axis: a stochastic model of cancer stem cells. *Cell Death. Discov*. 2018; 4: 110-26. DOI: 10.1038/s41420-018-0126-6. eCollection 2018.
- Nanta R., Shrivastava A., Sharma J., Shankar S., Srivastava R.K. Inhibition of sonic hedgehog and PI3K/Akt/mTOR pathways cooperate in suppressing survival, self-renewal and tumorigenic potential of glioblastoma-initiating cells. *Mol. Cell Biochem*. 2019; 454(1-2):11-23. DOI: 10.1007/s11010-018-3448-z.
- Teo J. L. Ma H., Nguyen C., Lam C., Kahn M. Specific inhibition of CBP/ $\beta$ -catenin interaction rescues defects in neuronal differentiation caused by a presenilin-1 mutation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005; 102(34):12171-6. DOI: 10.1073/pnas.0504600102.
- Komiyama Y., Habas R. Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis*. 2008; 4(2): 68-75. DOI: 10.4161/org.4.2.5851.
- Hers I., Vincent E. E., Tavaré J. M. Akt signalling in health and disease. *Cell Signal*. 2011;23(10):1515-27. DOI: 10.1016/j.celsig.2011.05.004.
- Hoogduijn M.J., Cheng A., Genever P.G. Functional nicotinic and muscarinic receptors on mesenchymal stem cells. *Stem cells and development*. 2009;18(1):103-12. DOI:10.1089/scd.2008.0032.
- Kulikova K.V., Kibardin A.V., Gnuchev N.V., Georgiev G.P., Larin S.S., Novikova M.V. et al. The role of Notch proteins in carcinogenesis. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii*. 2015; 2: 30-42. (in Russian)
- Niessen K., Fu Y., Chang L., Hoodless P.A., McFadden D., Karosan A., Slug is a direct Notch target required for initiation of cardiac cushion cellularization. *J. Cell Biol*. 2008; 182: 315-25. DOI:10.1083/jcb.200710067/.
- Fabbri G., Rasi S., Rossi D., Trifonov V., Khiabanian H., Ma J. et al. Analysis of the chronic lymphocytic leukemia coding genome: role of NOTCH1 mutational activation. *J. Exp. Med*. 2011; 208(7):1389-401. DOI: 10.1084/jem.20110921.