



# МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 $\beta$ И ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 НА ТРАНСПОРТНУЮ ФУНКЦИЮ ЛИМФАТИЧЕСКИХ СОСУДОВ И ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ

Унт Д.В.<sup>1</sup>, Лобов Г.И.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН  
Россия, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

<sup>2</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет  
им. акад. И.П. Павлова  
Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6-8  
dariaunth@yandex.ru

## Реферат

**Цель.** Изучить эффекты и механизмы действия интерлейкина-1 $\beta$  и интерлейкина-2 на сократительную функцию гладкомышечных клеток лимфатических сосудов и узлов.

**Материалы и методы.** Изучена сократительная активность гладкомышечных клеток изолированных препаратов брыжеечных лимфатических сосудов (37 препаратов) и капсулы брыжеечных лимфатических узлов быка (32 препарата). Для исследования механизмов действия интерлейкинов применяли ингибитор синтазы NO – L-NAME, ингибитор циклооксигеназы – индометацин, блокаторы Ca-зависимых K<sup>+</sup>-каналов: апамин и харибдотоксин, блокатор рецептора интерлейкин-1 $\beta$  – анакинра, интерлейкин-1 $\beta$ , интерлейкин-2, ингибитор фосфоинозитид-3-киназы – LY-294002, норадреналин.

**Результаты.** Установлено, что интерлейкин-1 $\beta$  ингибирует сократительную активность гладкомышечных клеток лимфатических сосудов и лимфатических узлов, стимулируя эндотелий, который производит NO, простаглицлин и эндотелиальный фактор гиперполяризации. Интерлейкин-2 приводит к повышению тонуса лимфатических сосудов и лимфатических узлов посредством стимуляции фосфоинозитидного сигнального пути в гладкомышечных клетках.

**Заключение.** Интерлейкин-1 $\beta$  ингибирует транспортную функцию лимфатических сосудов и лимфатических узлов посредством стимуляции эндотелия и образования им вазодилататоров. Интерлейкин-2 затрудняет транспорт лимфы по лимфатическим сосудам и узлам за счет выраженного повышения тонуса гладкомышечных клеток.

**Ключевые слова:** интерлейкин-1 $\beta$ , интерлейкин-2, лимфатические сосуды, лимфатические узлы, гладкомышечные клетки, эндотелий.

# MECHANISMS OF ACTION INTERLEUKIN-1 $\beta$ AND INTERLEUKIN-2 ON TRANSPORT FUNCTION OF LYMPHATIC VESSELS AND LYMPH NODES

Unt D.V.<sup>1</sup>, Lobov G.I.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>I.P. Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences  
6 Makarova emb., Saint-Petersburg, 199034, Russia

<sup>2</sup>I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University  
6-8 L. Tolstogo str., Saint-Petersburg, 197022, Russia  
dariaunth@yandex.ru

## Abstract

**Purpose.** To study the effects and mechanisms of action of interleukin-1 $\beta$  and interleukin-2 on the contractile function of lymphatic vessels and lymph nodes.

**Materials and methods.** The contractile activity of smooth muscle cells of isolated preparations of bovine mesenteric lymphatic vessels (37 preparations) and capsules of mesenteric lymph nodes (32 preparations) was studied. To investigate the mechanisms of the action of interleukins applied NO-L-NAME synthase inhibitor, an indomethacin inhibitor of cyclooxygenase, blockers of Ca-dependent K<sup>+</sup>-channels: apamin and charybdotoxin, anakinra – interleukin-1βR blocker, interleukin-1β, interleukin-2, phosphoinositide-3-kinase inhibitor – LY-294002, norepinephrine.

**Results.** Has been shown, interleukin-1β to inhibit the contractile activity of smooth muscle cells of lymphatic vessels and lymph nodes by the endothelial stimulation effect, which produces NO, prostacyclin and endothelial hyperpolarizing factor. Interleukin-2 increase in the tone of lymphatic vessels and lymph nodes by stimulating the phosphoinositide signaling pathway in smooth muscle cells.

**Conclusion.** Interleukin-1β inhibits the transport function of lymphatic vessels and nodes by stimulating the endothelium and forming as vasodilators. Interleukin-2 increase in the tone of the smooth muscle cells and reduce the transport of lymph along the lymphatic vessels and nodes.

*Keywords:* interleukin-1β, interleukin-2, lymphatic vessels, lymph nodes, smooth muscle cells, endothelium.

## Введение

Клеточный и гуморальный иммунитет у человека и животных регулируется различными химическими веществами, синтезируемыми иммунными и неиммунными клетками. К настоящему времени выявлено и охарактеризовано значительное количество веществ, которые оказались неотъемлемыми модуляторами иммунного ответа [1]. Среди них особое место занимают цитокины, осуществляющие бесконтактную координацию межклеточных взаимодействий и взаимосвязь между специфическим иммунитетом и неспецифическими защитными реакциями организма, а также координирующие работу иммунной, нервной, эндокринной, кровяной и других систем [2, 3].

Эндогенные цитокины, представляя собой пептидные или гликопептидные молекулы с различной структурой и функцией, в большинстве своем продуцируются клетками иммунной системы. Интерлейкин-1β (IL-1β), являющийся провоспалительным цитокином с множеством функций, способен стимулировать многие типы лейкоцитов, одновременно он оказывает влияние на разнообразные клетки другого происхождения, в частности, на фибробласты и эндотелиальные клетки [1]. Интерлейкин-2 (IL-2) является плеiotропным цитокином, он оказывает влияние на механизмы врожденного иммунитета (NK-клетки и моноциты) и на адаптивный антиген-зависимый иммунный ответ, реализующийся через Т- и В-лимфоциты. В то же время он влияет на структурную целостность эндотелия и участвует в процессах ангиогенеза [4]. Он способен также изменять продукцию фосфоинозитола и активировать MAP-киназу в различных клетках.

Цитокиновые препараты широко используются в современной врачебной практике. Беталейкин, созданный на основе рекомбинантного IL-1β человека методами генной инженерии, используется как адъювант при вакцинации и в качестве стимулятора гемопоэза и продукции антител. Ронколейкин, являющийся полным структурным и функциональным аналогом эндогенного IL-2 человека, применяется в медицинской практике как компонент противоопухолевой терапии с целью повы-

шения функциональной активности естественных киллеров и специфических Т-лимфоцитов.

Интерлейкины, являясь полипептидами, не могут применяться перорально, в связи с чем вводятся подкожно или внутримышечно. При парентеральном введении молекулы интерлейкинов, имея большую молекулярную массу (17,5 кД), не могут поступать непосредственно в кровеносные капилляры. Они так же, как и другие высокомолекулярные соединения, всасываются в лимфатические капилляры и в дальнейшем транспортируются по лимфатическим сосудам (ЛС) и лимфатическим узлам (ЛУ), контактируя с эндотелиальными и гладкомышечными (ГМК) клетками.

К настоящему времени общепризнано, что определяющим фактором продвижения лимфы является ритмическая сократительная активность ГМК, входящих в состав стенки ЛС и капсулы ЛУ [5, 6]. ГМК ЛС и ЛУ реагируют на многие биологически активные вещества усилением или ослаблением сократительной функции. Несмотря на то, что интерлейкины IL-1 и IL-2 являются фармакопейными препаратами, входя в группу «Иммуномодуляторы», и достаточно широко применяются в медицинской практике в качестве иммуномодуляторов, их действие на активную транспортную функцию ЛС и ЛУ не изучено, что и послужило основанием для проведения данного исследования. Целью исследования было изучение эффектов и механизмов действия вышеуказанных интерлейкинов на сократительную функцию ГМК ЛС и ЛУ.

## Материалы и методы исследования

Брыжеечные ЛС и ЛУ забирали у бычков черно-пестрой породы в возрасте 18-20 месяцев через 15 минут после забоя и в охлажденном до +4°C физиологическом солевом растворе доставляли в лабораторию. В ЛС вырезали кольца в средней части лимфангионов шириной 2 мм (37 препаратов от 12 животных). Из ЛУ вырезали полоски капсулы (32 полоски из 17 узлов от 10 животных) размером 15·2·0,2 мм в направлении от ворот узла к приносящим лимфатическим сосудам [5]. 7 колец ЛС и 8 полосок капсулы ЛУ перед экспериментами подвергали механической деэндотелизации. Качество



деэндотелизации проверяли в начале каждого эксперимента посредством пробы с ацетилхолином.

Эксперименты проводили при непрерывном протоке в рабочей камере физиологического солевого раствора следующего состава (в мМ): NaCl – 120,4; KCl – 5,9; CaCl<sub>2</sub> – 2,5; MgCl<sub>2</sub> – 1,2; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,2; NaHCO<sub>3</sub> – 15,5; глюкоза – 11,5. Раствор с целью оксигенации и поддержания стабильного pH (7,35-7,40) сатураировали газовой смесью, состоящей из 95% O<sub>2</sub> и 5% CO<sub>2</sub>. Температуру раствора поддерживали на уровне +37±0,2°C с помощью термостата ВТ-5-1 (Termex). Исходное натяжение полосок капсулы ЛУ и колец из ЛС соответствовало трансмуральному давлению величиной 4 см водн. ст. Регистрацию сокращений препаратов осуществляли с помощью тензодатчика FORT-10 (WPI, USA), работающего в изометрическом режиме. Тестовые вещества применяли через 30-40 минут после размещения препарата в камере с физиологическим раствором и установления стабильного уровня тонического напряжения. Запись данных осуществляли на компьютере через аналого-цифровой преобразователь MD-155 (Pavlov Institute of Physiology RAS) с помощью программы Labmaster (Pavlov Institute of Physiology RAS) непрерывно на протяжении всего эксперимента.

В исследовании применяли следующие вещества: IL-1β (беталейкин, НИИОЧБП, Санкт-Петербург, РФ) – 2-200 пг/мл; IL-2 (ронколейкин, ООО «НПК «БИОТЕХ» Санкт-Петербург, РФ) – 4-400 пг/мл; L-NAME, N<sup>ω</sup>-nitro-L-arginine methyl ester (ICN Biomedicals), 100 μM/л; индометацин (ICN Biomedicals), 10 μM/л; charybdotoxin (Sigma-Aldrich), 0,1 μM/л; aramin (Sigma-Aldrich), 0,5 μM/л; анакинра (Kineret) (Swedish Orphan Biovitrum) – 1 мг/мл; норадреналин (Sigma-Aldrich), 5·10<sup>-6</sup> M/л; LY-294002 (Sigma-Aldrich) – 0,1 μM/л. Индометацин предварительно растворяли в эквимольном растворе Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Все другие препараты были растворены в бидистиллированной воде. Тестовые растворы готовили непосредственно перед экспериментами путем разведения концентрированных растворов вышеуказанных веществ в физиологическом солевом растворе. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы StatSoft STATISTICA 6.1.478. Полученные данные соответствовали условиям нормального распределения

и представлены в виде средних значений с их стандартным отклонением (M±SE). Для установления достоверности различий использовали критерий t-Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при p < 0,05.

### Результаты исследования и их обсуждение

Спонтанная фазная сократительная активность регистрировалась в 29 полосках капсулы ЛУ (из 32) и 34 кольцах ЛС (из 37). Для последующего исследования использовали только препараты, обладающие спонтанной активностью. После установления стабилизации параметров (тонус, амплитуда и частота фазных сокращений) в рабочую камеру вводили физиологический раствор с IL-1β или IL-2 и на протяжении 30 минут регистрировали сократительную деятельность препаратов. IL-1β в концентрациях ниже 2 пг/мл не оказывал статистически значимых эффектов, тогда как в концентрациях выше 200 пг/мл приводил к подавлению фазной сократительной активности ЛС и ЛУ и снижению тонуса. Как правило, эффект IL-1β начинал проявляться на 4-5-ой минутах действия. Полностью действие IL-1β проявлялось к 10-12 минутам, поэтому в дальнейшем анализе использовали параметры сокращений, зарегистрированные до воздействия и в интервале 15-20 минуты действия IL-1β. Достаточно быстрое проявление эффекта IL-1β на ЛС и ЛУ позволило сделать заключение о том, что его действие реализуется через рецепторы мембраны ГМК и (или) эндотелиальных клеток ЛС и ЛУ. Ингибиторный эффект IL-1β на интактные препараты предотвращался при предварительном добавлении в физиологический раствор антагониста рецепторов интерлейкина-1β – анакинры.

В таблице 1 представлены данные, полученные при исследовании эффектов IL-1β и IL-2 на ЛС и ЛУ. IL-1β приводил к снижению всех показателей сократительной деятельности препаратов. При увеличении концентрации IL-1β ингибиторный эффект на ЛС и ЛУ возрастал. IL-2 приводил к повышению тонуса ГМК стенки ЛС и капсулы ЛУ, на другие параметры его эффект был слабо выраженным.

Реакции деэндотелизированных препаратов ЛС и ЛУ на IL-1β отличались от таковых по сравнению с интактными. Применение IL-1β в низких

Таблица 1

### Параметры сократительной деятельности лимфатических сосудов и лимфатических узлов на 15-й минуте действия интерлейкина-1β и интерлейкина-2

Интерлейкин	Лимфатические сосуды			Лимфатические узлы		
	Тонус	Амплитуда	Частота	Тонус	Амплитуда	Частота
IL-1β (20 пг/мл)	63,6±7,14	40,3±5,12	32,7±3,53	70,4±8,11	61,4±5,13	55,6±5,16
IL-2 (40 пг/мл)	119,2±9,63	96,8±7,48	105,5±6,06	124,6±11,02	95,3±8,43	104,8±9,22

Примечание. Результаты представлены в % от величины соответствующего параметра в физиологическом растворе.

концентрациях сопровождалось статистически недостоверными изменениями параметров сократительной активности ГМК. IL-1 $\beta$  в концентрации 20 пг/мл вызывал незначительное снижение тонуса ГМК, частоты и амплитуды фазных сокращений, составившее  $9,2 \pm 1,64\%$ ,  $7,4 \pm 1,58\%$  и  $11,5 \pm 2,47\%$  соответственно. Действие IL-2 в концентрации 40 пг/мл на деэндотелизированные полоски капсулы лимфатических узлов сопровождалось выраженным повышением тонуса ГМК по отношению к его исходному уровню (в среднем на  $24,2 \pm 3,77\%$ ), амплитуда и частота фазных сокращений при этом изменялись незначительно.

Ранее нами было показано, что реакции ЛС и ЛУ на различные эндогенные вещества и фармакологические препараты существенно модулируются эндотелиальными клетками посредством активации продукции ими NO или простаглицина [5, 7]. Поскольку реакции деэндотелизированных полосок капсулы ЛУ и колец ЛС на интерлейкины значительно отличались от реакций препаратов с интактным эндотелем, представляло интерес исследовать

механизмы действия интерлейкинов на ЛС и ЛУ.

Дальнейшие исследования проводили на препаратах, предварительно сокращенных норадреналином ( $5 \cdot 10^{-6}$  М/л). Норадреналин значительно повышал тонус ЛС и ЛУ, при этом фазные сокращения прекращались. Соответственно, анализировали только один параметр – величину тонического напряжения препаратов. В этой серии экспериментов за 15 минут до добавления в физиологический раствор IL-1 $\beta$  вводили один из ингибиторов.

Установлено, что предварительная блокада эндотелиальной синтазы NO L-NAME приводила к существенному снижению ингибиторного эффекта IL-1 $\beta$ . После L-NAME и восстановления тонуса в раствор вводили индометацин, приводящий к подавлению синтеза простаглицина. Последующее добавление в раствор IL-1 $\beta$  сопровождалось незначительным снижением тонуса ЛС и ЛУ. Предварительное введение в раствор апамина и харибдотоксина значительно снижало ингибирующий эффект IL-1 $\beta$  в ЛС. Со стороны ЛУ проявлялся аналогичный эффект, но он был менее выраженным (рис.).

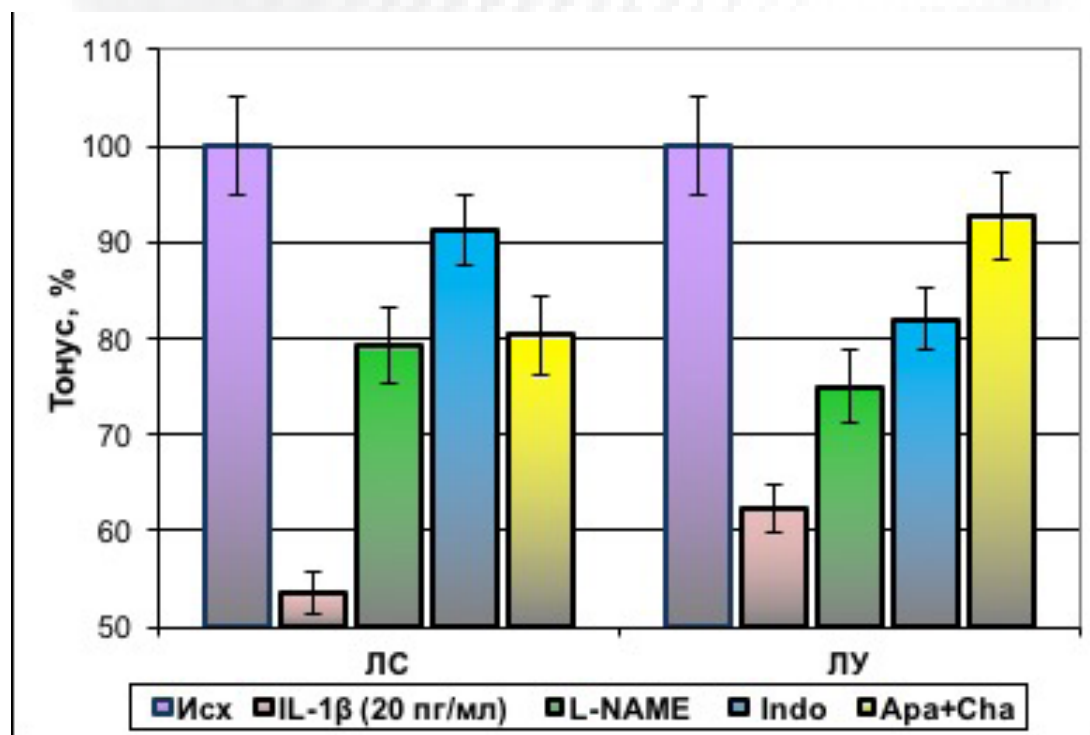


Рисунок. Тонус лимфатических сосудов и лимфатических узлов при действии интерлейкина-1 $\beta$  (20 пг/мл) на предварительно сокращенные норадреналином препараты.

Примечание. Исх – тонус под действием норадреналина в физиологическом растворе (принят за 100%), IL-1 $\beta$  (20 пг/мл) – тонус при действии IL-1 $\beta$ , L-NAME – тонус при действии IL-1 $\beta$  на фоне ингибитора синтазы NO; Indo – тонус при действии IL-1 $\beta$  на фоне индометацина, Ara+Cha – тонус при действии IL-1 $\beta$  на фоне апамина и харибдотоксина (в % от величины тонуса в растворе с норадреналином).

Полученные данные дали основание сделать определенные выводы о механизмах ингибиторного эффекта IL-1 $\beta$  на сократительную активность ГМК ЛС и ЛУ. Поскольку анакинра – антагонист рецепторов интерлейкина-1 $\beta$  I типа, практически полностью предотвращала ингибиторный эффект IL-1 $\beta$  в интактных препаратах, есть основание полагать, что действие IL-1 $\beta$  реализуется посред-

ством связывания с мембранными рецепторами IL-1 I типа [8]. Поскольку деэндотелизированные препараты ЛС и ЛУ слабо реагировали на IL-1 $\beta$  и учитывая, что на мембране эндотелиальных клеток располагается значительное количество рецепторов IL-1 I типа [9], мы полагаем, что IL-1 $\beta$  взаимодействует с рецепторами на мембране эндотелиальных клеток ЛС и ЛУ.



Результаты применения ингибиторов нескольких сигнальных путей позволяют сделать заключение о том, что комплекс IL-1 $\beta$ -рецептор активирует в эндотелиоцитах несколько сигнальных механизмов. Первый из них — активация конститутивной синтазы NO. Увеличение продукции эндотелиоцитами NO сопровождается снижением всех параметров сократительной активности ГМК ЛС и ЛУ. Как уже указывалось ранее, эта часть ингибирующего эффекта IL-1 $\beta$  предотвращается добавлением в раствор ингибитора синтазы NO — L-NAME [10]. Второй механизм — активация эндотелийзависимой гиперполяризации, приводящей к расслаблению ГМК ЛС и ЛУ. Эта часть ингибирующего эффекта IL-1 $\beta$  предотвращалась как при предварительном введении в физиологический раствор ингибиторов Са-зависимых K<sup>+</sup>-каналов малой и средней проводимости — апамина и харибдотоксина, так и при добавлении этих ингибиторов на фоне действия IL-1 $\beta$  [11]. Роль простаглицина в развитии ингибиторного эффекта IL-1 $\beta$  значительно меньше и в ЛС, и в ЛУ. Есть основания полагать, что на мембране ГМК ЛС и ЛУ нет (или мало) рецепторов к IL-1 $\beta$ , и они не играют значимой роли в реакции ЛС и ЛУ на IL-1 $\beta$ .

IL-2 в концентрации 4 пг/мл не приводил к достоверным изменениям сократительной активности ГМУ ЛС и ЛУ. При повышении концентрации IL-2 в растворе до 40 пг/мл на протяжении 10–15 минут происходило медленное повышение тонуса ГМК ЛС и ЛУ. При непрерывном протоке раствора с IL-2 на протяжении 1-го часа тонус препаратов сохранялся повышенным по отношению к исходному (на 22,3 $\pm$ 2,37% в ЛС и на 19,7 $\pm$ 1,74% в ЛУ) и восстанавливался до исходного уровня через 20–25 минут после удаления из раствора IL-2. Достоверных различий между реакциями на IL-2 интактных и деэндотелизированных ЛС и ЛУ выявлено не было. Повышение концентрации IL-2 до 400 пг/мл приводило к еще большему повышению тонуса ЛС и ЛУ.

В литературе отсутствуют сведения о наличии рецепторов к IL-2 на эндотелиальных клетках или ГМК ЛС и ЛУ [12]. В то же время показано, что в стенке кровеносных сосудов в ряде случаев является достаточно высокая концентрация IL-2. Имеются данные о том, что IL-2 активирует в клетках, как минимум, три внутриклеточных сигнальных пути, в т.ч. стимулирует фосфоинозитидный механизм, эффективно функционирующий в ГМК [13]. С целью оценки возможной роли этого сигнального пути в повышении тонуса ГМК ЛС и ЛУ нами была проведена серия опытов с применением LY-294002, являющегося ингибитором фосфоинозитид-3-киназы [14]. Показано, что IL-2 в концентрациях 40–400 пг/мл на фоне блокады фосфоинозитид-3-киназы не приводил к статистически достоверным изменениям параметров сократительной деятельности ГМК ЛС и ЛУ.

### Заключение

Результаты проведенного исследования показывают, что применяемые в практике медицины интерлейкины оказывают выраженное влияние на транспортную функцию лимфатических сосудов и лимфатических узлов. При этом IL-1 $\beta$  ингибирует сократительную активность ЛС и ЛУ посредством стимуляции эндотелиоцитов и продукции ими NO, простаглицина и эндотелиального фактора гиперполяризации. В ЛС ингибирующее влияние оказывают в основном NO и эндотелиальный фактор гиперполяризации, роль простаглицина минимальна. В ЛУ расслабление ГМК осуществляется преимущественно за счет образования эндотелиоцитами NO и простаглицина. IL-2 снижает также транспортную функцию ЛС и ЛУ за счет повышения тонуса ГМК и увеличения гидродинамического сопротивления ЛС и ЛУ. Механизм действия IL-2 заключается в активации в ГМК фосфоинозитид-3-киназы. IL-2 не оказывает влияния на эндотелиальные клетки.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Кетлинский С.А., Симбирцев С.С., Воробьев А.А. Эндогенные иммуномодуляторы. СПб: Гиппократ; 1992.
2. Showalter A, Limaye A, Oyer JL, Igarashi R, Kittipatarin C, Copik AJ, et al. Cytokines in immunogenic cell death: Applications for cancer immunotherapy. *Cytokine*. 2017; 97: 123–132.
3. Kulkarni OP, Lichtnekert J, Anders HJ, Mulay SR. The Immune System in Tissue Environments Regaining Homeostasis after Injury: Is «Inflammation» Always Inflammation? *Mediators Inflamm*. 2016; 2016: 2856213. doi: 10.1155/2016/2856213.
4. Пальцев М.А., Иванов А.А. Межклеточные взаимодействия. М.: Медицина; 1995.
5. Лобов Г.И., Панькова М.Н. Транспорт лимфы по лимфатическим узлам: механизмы регуляции. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2012; 98(11): 1350–1361.
6. Лобов Г.И., Панькова М.Н. Действие гистамина на сократительную активность гладких мышц брыжеечных лимфатических узлов быка. *Бюллетень экспериментальной биологии*. 2011; 152(10): 384–386.
7. Панькова М.Н., Лобов Г.И. Ингибиторный эффект интерлейкина-1 $\beta$  на сократительную деятельность гладких мышц капсулы лимфатических узлов. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2013; 12(3): 53–56.
8. Vallejo S, Palacios E, Romacho T, Villalobos L, Peiró C, Sánchez-Ferrer CF. The interleukin-1 receptor antagonist anakinra improves endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol*. 2014; 13: 158.
9. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции. *Цитокины и воспаление*. 2004; 3 2): 16–22.
10. Quan A, Ward ME, Kulandavelu S, Adamson SL, Langille BL. Endothelium-independent flow-induced dilation in the mouse carotid artery. *J Vasc Res*. 2006; 43(4): 383–391.
11. Dong Y, Watabe H, Cui J, Abe S, Sato N, Ishikawa H et al. Reduced effects of endothelium-derived hyperpolarizing factor in ocular ciliary arteries from spontaneous hypertensive rats. *Exp. Eye Res*. 2010; 90(2): 324–329.
12. Doersch KM, DelloStritto DJ, Newell-Rogers MK. The contribution of interleukin-2 to effective wound healing. *Exp Biol Med* (Maywood). 2017; 242(4): 384–396.
13. Miller JD, Clabaugh SE, Smith DR, Stevens RB, Wrenshall LE. Interleukin-2 is present in human blood vessels and released in biologically active form by heparanase. *Immunol Cell Biol*. 2012; 90(2): 159–167.
14. Hong DH, Choi IW, Son YK, Kim DJ, Na SH, Jung WK et al. The effect of PI3 kinase inhibitor LY294002 on voltage-dependent K<sup>(+)</sup> channels in rabbit coronary arterial smooth muscle cells. *Life Sci*. 2013; 92(17–19): 916–922.