

**М.В.Спринджук**

Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси

**Ключевые слова:** ангиогенез, неоваскуляризация, фактор роста эндотелия сосудов, метастазирование, рак, злокачественные опухоли, антиангиогенная фармакотерапия.

*Надійшла:* 12.08.2010

*Прийнята:* 05.09.2010

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2010.3.4-13>

УДК 591.41

### АНГИОГЕНЕЗ

*Работа выполнена в рамках национальных проектов Беларуси CRDF-4028 и МНТЦ-1682*

**Резюме.** Тема ангиогенеза - образования сосудов из уже существующих – сегодня является наиболее финансируемой и изучаемой медицинской научной темой в мире. Это связано с тем, что 500 000 000 жителей планеты нуждаются в терапевтической коррекции патологических процессов ангиогенеза. В статье – обзоре литературы – систематизированы только наиболее яркие источники литературы намеренно преимущественно отечественных авторов. Работа проиллюстрирована для доступного понимания. В статье рассматриваются вопросы биохимии и патологической физиологии ангиогенеза в непосредственной связи с современной фармакотерапией. Целью литературного обзора является предоставление читателю возможности ознакомиться с современной медицинской проблемой 21 века: патологическим кровоснабжением и связанными с этим феноменом вопросами.

**Морфологія.** – 2010. – Т. IV, № 3. – С. 4-13.

© М.В.Спринджук, 2010

#### **Sprindzuk M.V. The angiogenesis.**

**Summary.** The research theme of angiogenesis: the development of blood vessels from preexisting ones is one of the most financially supported medical scientific topics in the world. It is connected with the fact, that 500 000 000 people require the therapeutic correction of the pathological processes of angiogenesis. In the review article only the brightest research articles knowingly predominantly Russian are systematized. The paper is well illustrated, to provide the understandable educational resource. The biochemical and pathophysiological questions of angiogenesis are discussed in close relation to the modern angiogenic pharmacotherapy. The purpose of the article is to present to the reader an opportunity to discover the biomedical research challenge of the 21 century: the pathological blood supply, vascularization and the associated phenomena.

**Key words:** angiogenesis, neovascularization, vascular endothelial growth factor, metastasis, cancer, malignant tumors, anti-angiogenic pharmacotherapy.

#### **Определение ангиогенеза**

Ангиогенез (А) – процесс образования новых кровеносных сосудов в органе или ткани. В норме в организме процессы ангиогенеза протекают с умеренной интенсивностью и активизируются только при регенерации повреждённых тканей, канализации тромбов, ликвидации очагов воспаления, образовании рубца и тому подобных процессах восстановления, а также при росте и развитии организма. Отдельной областью изучения физиологического ангиогенеза является гинекология, так как А. является неотъемлемой частью циклических превращений в яичниках. Ангиогенез необходим для нормального роста эмбриональных и постнатальных тканей, пролиферации эндометрия, созревания в яичнике фолликула и желтого тела, заживления ран, коллатерализации, стимулированной ишемией (Петрова Л.В. и соавт., 2004). Установлено, что эндотелиальные клетки вырабатывают цитокины, которые стимулируют не только пролиферацию и миграцию самих эндотелиальных клеток, но и проли-

ферацию опухолевых клеток. Иногда эти аутокринные и паракринные факторы секретирует сама опухоль (Коган Е.А., 2002; Махачев С.М. и соавт., 2003; Соколов Д.И. и соавт., 2007).

#### **Особенности физиологического ангиогенеза**

Физиологический ангиогенез представляет собой тканевый ответ либо на гормональную стимуляцию (ангиогенез в репродуктивной системе), либо на изменение окружающей среды (ткань способна расширять сосудистую сеть в ответ на ишемию). Последние научные исследования подтвердили, что этот адапционный ответ наблюдается при гипоксии или острой гипогликемии. Учитывая, что фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF) это стрессиндуцированный белок, его регуляция сравнивается с другими кислород- и глюкозрегулируемыми белками, поэтому физиологический и ростовой ангиогенез можно рассматривать как адапционный ответ на дефицит кислорода. Для того чтобы кислород и питательные

вещества поступали в достаточном количестве, каждая клетка макроорганизма должна быть близко расположена к капилляру (Петрова Л.В. и соавт., 2004).



Рис. 1. (по Forough R., 2006).

#### **Особенности патологического и опухолевого ангиогенеза**

В последние годы благодаря достижениям в области молекулярной онкологии удалось расшифровать некоторые механизмы канцерогенеза и определить признаки злокачественного фенотипа: самодостаточность в отношении ростовых сигналов, нечувствительность к ростигибирующим сигналам, уклонение от программированной клеточной смерти (апоптоза), неограниченность репликативного потенциала, ангиогенез, тканевая инвазия и метастазирование.

Злокачественной опухоли требуются питательные вещества. Опухоль объемом более 1-2 мм<sup>3</sup> для продолжения своего роста нуждается в собственной системе кровоснабжения. Патологический ангиогенез наблюдается при ангиогенных заболеваниях, к которым, помимо опухолевого роста, метастазирования, атеросклероза, диабетической ретинопатии, эндометриоза, меноррагий, псориаза, относится и плоский лишай (Folkman J., 1990; Folkman J., 1995; Carmeliet P., Jain R., 2000; Folkman J., 2001; Carmeliet P., 2000;

Carmeliet P., 2003; Петрова Л.В. и соавт., 2004; Carmeliet P., 2005; Thornton A.D. et al., 2006; Прозоровский В., 2006).

Наиболее яркими примерами патологий, связанных с ангиогенезом, являются атеросклероз, язвенная болезнь и некоторые аутоиммунные заболевания. Существуют косвенные указания на нарушения нормальных процессов А. при ряде патологий развития и при опухолеобразовании (Прозоровский В., 2006).

#### **Метастазирование и ангиогенез**

Метастазирование- это процесс, при помощи которого раковые клетки могут менять своё положение в организме.

Большинство связанных с раком смертей вызвано метастазированием первоначальных раковых клеток.

Для того чтобы разрушать в организме барьеры, метастазирующие раковые клетки должны секретировать смесь переваривающих ферментов.

Для перемещения и осаждения в подходящей части тела, раковые клетки могут использовать кровеносную систему.

Метастазирование – это очень неэффективный процесс. Большинство раковых клеток гибнет после того, как они покидают первоначальную опухоль. Усиленный А. в опухоли является одним из механизмов её быстрого метастазирования, так как опухолевые клетки имеют свойство метастазировать по ходу кровеносных сосудов (вдоль стенок) или разносятся по всему организму с током крови.

Сосуды питают опухоль и позволяют ей метастазировать (Прозоровский В., 2006).

Иногда уже на самых ранних стадиях развития опухоли в ней появляются субпопуляции клеток с высокой способностью к метастазированию. Установлено, что рак молочной железы способен метастазировать сразу после разрастания в опухоли сосудов, когда ее размеры еще не превышают 0,125 кв. см. Полагают, что поздно метастазирующие опухоли недостаточно васкуляризованы (Прозоровский В., 2006).

#### **Лимфатическое метастазирование**

Для метастазирования раковые клетки могут использовать как кровеносную, так и лимфатическую систему.

Перемещение раковых клеток в лимфатические узлы посредством лимфатической системы используется при определении метастатического заболевания и стадии опухоли.

Метастазы опухолей в местные и регионарные лимфоузлы, куда опухолевые клетки попадают по лимфатическим сосудам, представляют собой ранний этап метастазирования (рис. 2). В ряде исследований было показано, что VEGF индуцирует как лимфангиогенез, так и распространение опухолевых клеток в регионарные лимфатические узлы. Ученые высказали предпо-

ложение, что экспрессия ростовых факторов типа VEGF может определять способность опухоли к метастазированию. VEGF оказывает более широкие эффекты и на другие клетки, помимо эндотелия сосудов, и на другие процессы, помимо А.:

- Связываясь с рецептором VEGFR2 и стимулируя его, VEGF способствует формированию

лимфатических сосудов.

- VEGF оказывает не полностью изученное действие на иммунные функции, в том числе:

- подавляет образование дендритных клеток, необходимых для осуществления клеточного иммунного ответа
- стимулирует хемотаксис моноцитов.

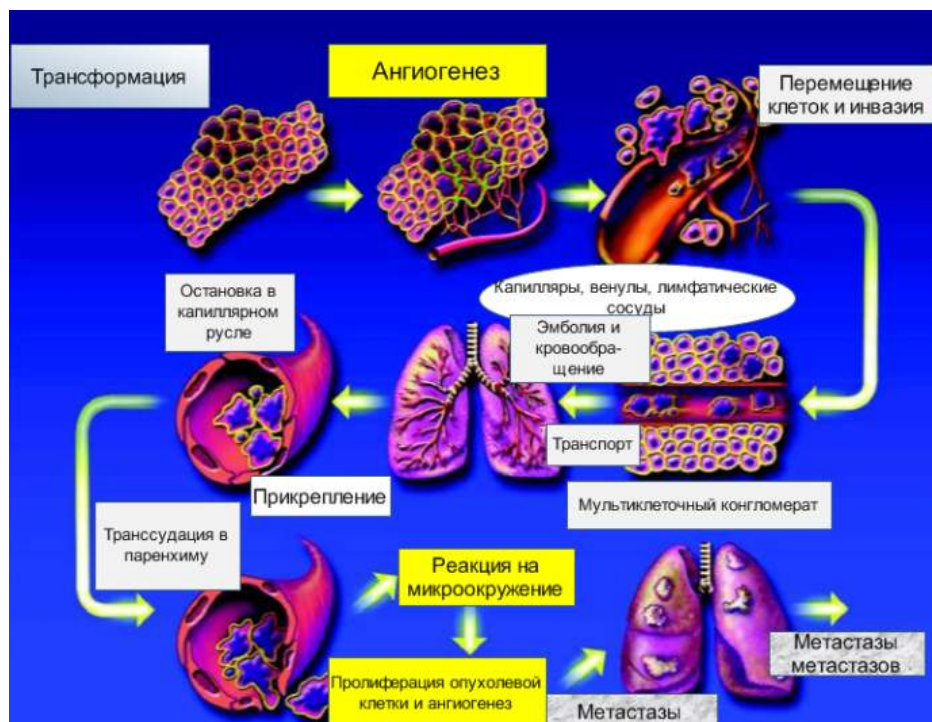


Рис. 2. Ангиогенез и развитие злокачественной опухоли (по Cooke R., 2001).

### Фактор роста эндотелия сосудов

Фактор роста эндотелия сосудов (или фактор проницаемости сосудов) является основным регулятором А. Его важнейшая роль подтверждается тем, что мыши, имеющие всего один аллель нормального VEGF-A, погибают внутриутробно. В большинстве опухолей человека концентрация VEGF повышается, что сопровождается усилением инвазивности, склонностью к рецидивам и худшим прогнозом (Thornton A.D. et al., 2006).

VEGF - гомодимерный, сильно гликозилированный белок, митогенный только для эндотелиальных клеток. Его рецепторы экспрессируются на эндотелиальных клетках-мишенях в близлежащих кровеносных сосудах. Основными биологически активными формами являются молекулы размером 121 и 165 а.о., в тканях же основной изоформой считается - 165 а.о. В 1989 г. несколько независимых групп ученых получили данные в пользу индукции VEGF гипоксией и гипогликемией. По данным ряда авторов, VEGF функционирует в динамическом сочетании с цитокинами, их растворимыми рецепторами и ан-

тагонистами, протеолитическими ферментами, регулирующими их освобождение из внеклеточного матрикса (Петрова Л.В. и соавт., 2004).

### Семейство VEGF

Семейство VEGF включает прототипную молекулу VEGF-A, а также VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, вирусный гомолог VEGF-E и плацентарный фактор роста (PlGF). VEGF-A повышает сосудистую проницаемость и способствует А.; VEGF-B, как полагают, играет роль в регуляции деградации внеклеточного матрикса, клеточной адгезии и миграции, а VEGF-C и VEGF-D участвуют, главным образом, в лимфангиогенезе. PlGF в большом количестве экспрессируется трофобластом, модулируя развитие сосудистой сети в плаценте (рис. 3).

Связывание VEGF с рецептором VEGFR-2 ведет к активации каскада различных сигнальных путей. Примеры двух из них изображены на рисунке. Такое взаимодействие приводит к включению генов, вовлекаемых в опосредование процессов пролиферации и миграции клеток эндотелия, и обеспечивает клеточное выживание, а также сосудистую проницаемость. Например,



связывание - VEGF с рецептором VEGFR-2 приводит к димеризации рецептора, за которым следует активация PLC–PKC–Raf–MEK–митоген-активированной протеин киназы (МАРК) и последующая инициация синтеза ДНК и роста клеток, тогда как активация фосфатидилинозитол 3'-киназа (PI3K)–Akt пути приводит к увеличению роста эндотелиальных клеток. Активация гена Src может повлечь изменения актина цитоскелета и индуцировать миграцию клеток. Рецепторы VEGF локализованы на поверхности клеток эндотелия, однако, могут присутствовать также и внутриклеточные ("интракритинные") VEGF-сигнальные рецепторы (VEGFR-2). Они вовлекаются в процессы обеспечения выживания эндотелиальных клеток. Детальная структура внутриклеточного VEGFR-2 до сих пор неизвестна, но на рисунке он показан как полноразмерный рецептор, который в норме прикреплен к поверхности клетки. Связывание VEGF-C с VEGFR-3 опосредует лимфангиогенез. VEGF может присоединяться к рецепторам нейропиллина (NRP), которые могут действовать как корецепторы с VEGFR-2 (горизонтальная стрелка) и осуществлять регуляцию А.

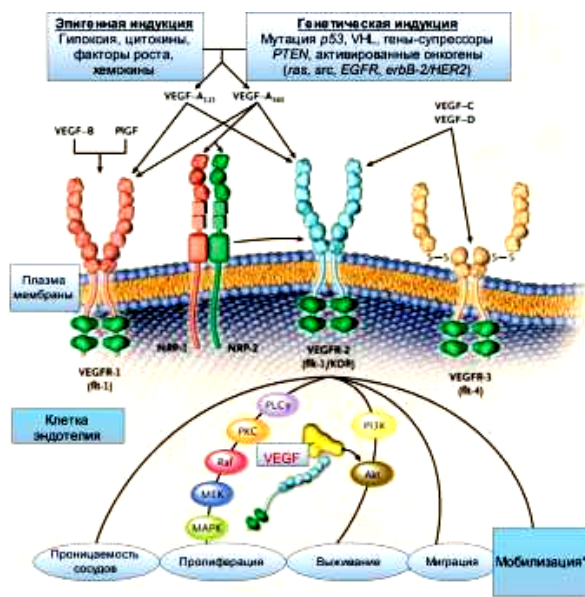


Рис. 3. Семейство молекул и рецепторов VEGF (более подробные объяснения см. в тексте) (по Kerbel R.S., 2008).

- KDR - kinase-insert domain-containing receptor - рецептор, имеющий в составе домен, содержащий киназу.
- flk-1 - fetal liver kinase 1 - киназа печени плода.
- EGFR - epidermal growth factor receptor, фактор роста эпидермиса.
- flt-1 - fms-like tyrosine kinase 1, fms - подобная триозин-киназа 1.
- PlGF - placental growth factor, плацентарный фактор роста.
- PTEN - phosphatase and tensin homologue, гомолог фосфатазы и тензина.
- S-S - disulfide bond, дисульфидная связь.
- VHL - von Hippel-Lindau, фон Гиппель-Ландау.

### Изоформы VEGF

У человека выделены 4 изоформы VEGF-A - VEGF121, VEGF165, VEGF189 и VEGF206, которые образуются в результате альтернативного сплайсинга мРНК.

Изоформы которые имеют сходную биологическую активность, но сильно различаются по биодоступности, определяющейся размером молекулы и регулирующей на генетическом уровне при альтернативном сплайсинге мРНК [сплайсинг протеинов - это внутримолекулярная реакция отдельного протеина, при которой внутренний сегмент протеина (называемый интеин) удаляется из протеина-предшественника одновременно с лигацией - отщеплением С-терминальных и N-терминальных наружных протеинов (называемых экстеинами) с обеих сторон (encyclopedia.thefreedictionary.com) и протеолитическом расщеплении синтезированных молекул с участием системы активации плазминогена (Петрова Л.В. и соавт., 2004).

Более крупные формы VEGF связаны с матриксом через гепаринсвязывающие домены, в то время как VEGF165, наиболее распространенная и значимая изоформа, и VEGF121 находятся в состоянии, способном к диффузии. Более крупные изоформы находятся в латентном состоянии во внеклеточном матриксе до того момента, как они высвобождаются под действием протеолитических ферментов, таких как плазмин или ММП-9. Этот процесс повышает местные концентрации VEGF-A в процессе роста и перестройки тканей и участвует в активации ангиогенного включения в некоторых опухолях. Как описывалось выше, VEGF-A также играет важную роль в удержании эндотелиальных клеток новообразованных кровеносных сосудов до момента присоединения к ним перicyтов. Новообразованные сосуды, у которых еще нет перicyтов, зависят от VEGF-A, препятствующего апоптозу эндотелиальных клеток и обратному развитию незрелых сосудов (Thornton A.D. et al., 2006).

### Лиганд - VEGF

VEGF - один из членов семейства структурно близких между собой белков, которые являются лигандами для семейства рецепторов VEGF [лиганд - ион, молекула или их группа, которые связываются с другой химической структурой, формируя более крупный комплекс (encyclopedia.thefreedictionary.com)]. VEGF влияет на развитие новых кровеносных сосудов (А.) и выживание незрелых кровеносных сосудов (сосудистая поддержка), связываясь с двумя близкими по строению мембранными тирозинкиназными рецепторами (VEGFR1 и VEGFR2) и активируя их [рецептор - молекула белка, которая получает сигнал: нейромедиатор, гормон или другой, и отвечает на него (encyclopedia.thefreedictionary.com)]. Эти рецеп-

торы экспрессируются клетками эндотелия стенки кровеносных сосудов.

VEGF лиганд запускает сигнальный каскад, который в конечном итоге стимулирует рост эндотелиальных клеток сосуда, их выживание и пролиферацию. Эндотелиальные клетки участвуют в таких разнообразных процессах, как ва-

зоконстрикция и вазодилатация, презентация антигенов, а также служат очень важными элементами всех кровеносных сосудов - как капилляров, так и вен или артерий. Таким образом, стимулируя эндотелиальные клетки, VEGF играет центральную роль в процессе А. (Прозоровский В., 2006; www.roche.ru).

Таблица 2

Рецепторная специфичность лигандов VEGF и их биологические эффекты (www.roche.ru)

Лиганд	Рецептор	Функция
VEGF (VEGF-A)	Рецепторы-1, -2, VEGFR, нейропиплин-1	Ангиогенез, сосудистая поддержка
VEGF-B	VEGFR-1	Не известна
VEGF-C	VEGFR-2, VEGFR-3	Лимфангиогенез
VEGF-D	VEGFR-2, VEGFR-3	Лимфангиогенез
VEGF-E (Вирусный фактор)	VEGFR-2	Ангиогенез
ПлФР	VEGFR-1, нейропиплин-1	Ангиогенез и воспаление

Примечание: ПлФР - плацентарный фактор роста

**Рецепторы сосудистого эндотелиального ростового фактора**

Точка приложения действия бевацизумаба (медикамент, который рассматривается в последней части статьи) - VEGF-A - связывается с соответствующими тирозинкиназными рецепторами VEGF 1 (flt-1) и 2 (flk-1). Гипоксия в сочетании с возросшими местными концентрациями VEGF-A усиливает экспрессию как VEGFR-1, так и VEGFR-2 на эндотелиальных клетках опухоли. Интересно, что рецепторы VEGF также экспрессируются опухолевыми клетками, в том числе VEGFR-1 обнаруживается в раковых клетках. Это позволяет предположить, что анти-VEGF-терапия может оказывать и другие эффекты, помимо подавления А.

Связывание VEGF-A с VEGFR-2 необходимо для нормального А. и гемопоза, и основные эффекты VEGF-A опосредованы через этот рецептор (рис. 1). Связывание VEGF-A ведет к образованию димеров VEGFR2, что запускает процесс фосфорилирования тирозинкиназы. Это, в свою очередь, индуцирует фосфорилирование нескольких цитоплазматических сигнальных белков и начало соответствующих сигнальных каскадов, таких как каскад фосфолипазы C, фосфатидилинозитол-3-киназы, Ras и Src (Ribatti D., 2009). VEGF-C и VEGF-D тоже связываются с VEGFR-2, а также с VEGFR-3 (flt-4). Следовательно, если VEGF-A, доминирующий внутри опухоли, будет нейтрализован действием бевацизумаба, сигнальные пути, опосредованные VEGFR-2, могут быть активными в том случае, если опухоль продуцирует значительное количество VEGF-C и VEGF-D. Действительно, уровни экспрессии VEGF-C и VEGFR-2 в первичных опухолях ободочной кишки и метастазах в лимфатические узлы позволяют предположить нали-

чие сигнального пути VEGF-C (Thornton A.D. et al., 2006).

Препараты, точкой приложения действия которых являются все эти три члена семейства VEGF (VEGF-A, -C и -D) или рецепторы VEGF (в частности, VEGFR-2), также могут быть эффективными средствами лечения. VEGF рецептор-1 связывается с VEGF-A, VEGF-B и PlGF, но его точные функции не ясны. Помимо мембрано-связанной формы, существуют также четыре растворимые изоформы, блокирующие VEGF-A путем конкурентного связывания, и тем самым предотвращающие взаимодействие с VEGFR-1 и VEGFR-2. Лиганд, связывающийся с мембрано-связанной формой VEGFR-1, вызывает лишь слабое аутофосфорилирование тирозинкиназы. По этой причине предположили, что VEGFR-1 является рецептором-ловушкой, участвующим в отрицательной регуляции митогенного сигнала как в мембрано-связанной, так и в растворимой формах. Дальнейшие доказательства такой роли были получены при добавлении PlGF, который конкурирует с VEGF-A за VEGFR-1 и потенцирует эффекты VEGF-A. Присутствие PlGF повышает доступность VEGF-A для связывания с VEGFR-2, в результате чего возникает сильный митогенный сигнал. Однако для VEGF опосредованной миграции моноцитов, активации предшественников эндотелиальных клеток и индукции активности ММП необходим интактный сигнальный каскад VEGFR-1. Другие данные указывают на роль сигнального пути VEGFR-1 в перичитах.

Третий рецептор VEGF - VEGFR-3, не связывается с VEGF-A и обнаруживается, главным образом, в лимфатическом эндотелии. VEGFR-3 связывается с VEGF-C и VEGF-D и участвует, в основном, в лимфангиогенезе (Thornton A.D. et

al., 2006).

#### **Значение VEGF для онтогенеза**

VEGF чрезвычайно важен для формирования адекватной функционирующей сосудистой системы в ходе эмбриогенеза и в раннем постнатальном периоде, однако у взрослых его физиологическая активность ограничена. Эксперименты на мышах показали следующее:

- Целенаправленное повреждение одной или двух аллелей гена VEGF приводит к гибели эмбриона.

- Инактивация VEGF в период раннего постнатального развития также ведет к летальному исходу.

- Повреждение VEGF у взрослых мышей не сопровождается какими-либо явными аномалиями, поскольку его роль ограничена развитием фолликулов, заживлением ран и репродуктивным циклом у самок.

Ограниченное значение А. у взрослых означает, что подавление активности VEGF представляет собой выполнимую терапевтическую задачу (MEDI.RU).

#### **Воздействие VEGF на незрелые сосуды**

Незрелые кровеносные сосуды существуют преимущественно на этапе развития, а у взрослых индивидуумов - лишь в некоторых ситуациях, например, в процессе заживления ран или заболеваний, характеризующихся аномальным А., таких как онкологические. В отсутствие ростовых сигналов эндотелиальные клетки этих незрелых кровеносных сосудов подвергаются про-

граммированной клеточной гибели (апоптозу). VEGF препятствует апоптозу эндотелиальных клеток в незрелых кровеносных сосудах, тем самым сохраняя их жизнеспособность. В отличие от этого, зрелые кровеносные сосуды, из которых сформирована сосудистая система взрослого, больше не нуждаются в VEGF для своего выживания и поэтому вряд ли будут страдать от подавления активности VEGF (MEDI.RU).

#### **Влияние VEGF на иммунный ответ**

Опухоли обладают рядом механизмов, которые позволяют им избежать иммунного ответа организма хозяина. Один из этих механизмов подразумевает ингибирование дендритных клеток – антигенпрезентирующих клеток, которые стимулируют В- и Т-лимфоциты. VEGF препятствует функциональному созреванию дендритных клеток из их гемопоэтических клеток-предшественников. Таким образом, секреция VEGF опухолью может иметь большое значение в подавлении иммунного противоопухолевого ответа (MEDI.RU).

#### **Корреляция степени экспрессии VEGF опухолью с неблагоприятным прогнозом**

При целом ряде онкологических заболеваний у человека экспрессия VEGF усиливается (таблица 2). Несколько исследований также продемонстрировали усиление экспрессии VEGF в стромальных клетках, ассоциированных с опухолью; возможно, в них экспрессия усиливается под влиянием факторов окружающей микросреды, созданных самой опухолью.

Таблица 1

В опухолях усиливается экспрессия VEGF, что коррелирует с прогнозом

Тип опухоли	% опухолей с избыточной экспрессией	Корреляция
Немелкоклеточный рак легкого	45-90	Рецидивы, выживаемость
Колоректальный рак	40-60	Рецидивы/выживаемость
Рак молочной железы	30-60	Плотность сосудов, выживаемость
Почечноклеточная карцинома	30-100	Плотность сосудов, стадия опухоли, степень, злокачественности
Рак поджелудочной железы	75-90	Выживаемость
Мультиформная глиобластома	65-85	Выживаемость
Рак предстательной железы	30-80	Плотность сосудов, безрецидивная выживаемость

При многих видах опухолей усиление экспрессии VEGF коррелирует с неблагоприятным прогнозом, в том числе с агрессивным ростом опухоли, рецидивами, метастазированием и уменьшением выживаемости. Кроме того, экспрессия VEGF коррелирует с повышением плотности микрососудистой сети в опухоли, что само по себе служит индикатором прогноза при различных онкологических заболеваниях (MEDI.RU; www.roche.ru).

#### **Этапы ангиогенеза**

А. был впервые описан Hunter в конце 18

века (Ribatti D., 2009), является комплексным процессом, включающим, по крайней мере, четыре стадии: протеолитическое разрушение базальной мембраны сосудов и межклеточного матрикса, миграцию и прикрепление эндотелиальных клеток, их пролиферацию и, наконец, формирование тубулярных структур (Петрова Л.В. и соавт., 2004).

#### **Включение ангиогенеза**

Недостаточное кровоснабжение ведет к гипоксии вследствие уменьшения диффузии кислорода. Гипоксия - главный стимул А. Проис-

ходит активация метаболических путей, регулируемых такими белками, как индуцируемый гипоксией фактор 1, что ведет к увеличению экспрессии проангиогенных факторов, включая VEGF и факторы роста фибробластов. Опухоли также снижают экспрессию антиангиогенных факторов, таких как тромбоспондин-1. В тот момент, когда действие проангиогенных факторов превышает действие антиангиогенных, эндотелиальные клетки переходят из обычного дремлющего состояния в активное. Этот момент называется "включением ангиогенеза".

После включения А. происходит разрыв базальных мембран и внеклеточного матрикса (ВКМ), главным образом, в результате повышения активности матриксных металлопротеиназ (ММП). Эти изменения матрикса способствуют миграции эндотелиальных клеток во внесосудистое пространство, где они начинают размножаться. Затем клетки организуются в трубочки с просветом, образуя новую капиллярную сеть. По ходу этого процесса привлекаются перициты, которые прикрепляются к новым сосудам и стабилизируют их. До этой точки созревания целостность и выживание эндотелиальных клеток зависят от VEGF. Несмотря на сходство процессов А. в опухоли образуется сосудистая сеть, которая сильно отличается от сосудов здоровых тканей. Сосудистое русло опухоли, с морфологической точки зрения, является крайне атипичным и составляет значительную часть опухолевой стромы. Системы артериол, капилляров и венул, присущей большинству здоровых органов, там нет. Макроскопически обнаруживаются два общих типа периферической и центральной сосудистой перфузии. В центре опухолей с периферической сосудистой сетью имеются крупные участки некроза, в опухолях с центральным типом сосудистого русла - наоборот. Однако эти фенотипы внутри опухоли во многом перекрываются, причем в одной части опухоли может быть любой из этих двух типов кровоснабжения. Кроме того, многие сосуды опухоли находятся в спавшемся состоянии из-за недостаточной механической поддержки окружающей их стромы. Микроскопически сосуды выглядят расширенными, извитыми, выявляется наличие слепых петель и выростов, шунтов и немногочисленных анастомозов. Эти структурные различия влияют на внутриопухолевый кровоток; кровь проходит через опухоли непредсказуемым образом, что оказывает неизбежное отрицательное влияние на доставку лекарственных препаратов (Thornton A.D. et al., 2006; UroWeb.ru).

Опухолевые кровеносные сосуды не выстланы обычным монослоем эндотелиальных клеток, являются дезорганизованными, рыхлыми и беспорядочно связанными друг с другом. Во многих кровеносных сосудах опухоли также имеются эндотелиальные выросты из просвета,

которые проникают глубоко в периваскулярную строму. Поскольку клетки эндотелия не образуют нормального монослоя, они не могут выполнять обычную барьерную функцию эндотелия, что играет роль в аномально высокой проницаемости этой сосудистой сети и ее склонности к кровотечениям. Далее, стабилизирующая связь перицитов с эндотелием слабеет, а большие концентрации VEGF являются мощным фактором, повышающим проницаемость (Thornton A.D. et al., 2006).

#### ***Вопросы контроля баланса регуляции ангиогенеза***

Еще совсем недавно основным показателем активности А. в опухолях являлась микроскопическая оценка плотности сосудов в ткани самой опухоли, но за последнее десятилетие в результате исследования молекулярных механизмов опухолевого А. была выявлена группа регуляторных ангиогенных и антиангиогенных факторов, обеспечивающих формирование новых сосудов внутри опухоли (Thornton A.D. et al., 2006). Еще один путь экспрессии - происходит через вовлечение воспалительных клеток, секретирующих цитокины ФНО- $\alpha$  (фактор некроза опухолей альфа) и ИЛ-1, которые в свою очередь индуцируют продукцию нормальными клетками. Процесс роста капилляров продолжается пока не будет достигнута достаточная близость с клеткой. Затем А. вступает в фазу покоя (за исключением ангиогенных циклов в женской репродуктивной системе). Каждое увеличение тканевой массы сопровождается неоваскуляризацией, что поддерживает адекватную сосудистую плотность. Таким образом, А. индуцируется тогда, когда метаболические потребности превышают перфузионную способность существующих сосудов. По-видимому, механизм этого адаптивного ответа в том, что относительный недостаток кислорода приводит к повышению ангиогенных стимулов. Паракринный механизм влияния заключается в действии на рост сосудов в тканях с низким уровнем перфузии. Существует ряд клеток, способных повышать уровень VEGF *in vitro* во время гипоксии, к которым относятся фибробласты, миоциты гладкой и поперечнополосатой мускулатуры, пигментный эпителий сетчатки, астроциты и эндотелиальные клетки, а также некоторые опухолевые клетки. Таким образом, VEGF индуцируется гипоксией в большинстве, если не во всех клетках *in vitro*. Острое лишение глюкозы - VEGF еще одно последствие сосудистой недостаточности, также активирует экспрессию VEGF. Эксперименты, проведенные в клеточных монослоях, показали, что VEGF может быть независимо индуцирован гипоксией или гипогликемией. Интересен факт, что не происходит индукции VEGF в культивируемых клетках глиомы, лишенных кислорода, и глюкозы. Повышение экспрессии VEGF требует



синтеза белка, который не может идти при двойном стрессе. Способность реагировать на гипоксию и гипогликемию дает преимущество в ситуации, когда существует дефицит только одного из метаболитов. Неясно, однако, проходят ли эти два ответа через два разных пути, или они вырабатывают общий медиатор, действующий как проксимальный индуктор VEGF. Исследования

разных метаболитов, накапливаемых во время гипоксии и гипогликемии по отношению к их способности непосредственно индуцировать VEGF, не дали убедительных результатов. Показано, что VEGF индуцируется аденозином, а также ионами кобальта. Это свидетельствует о том, что белок гема может быть вовлечен в этот процесс (Thornton A.D. et al., 2006).

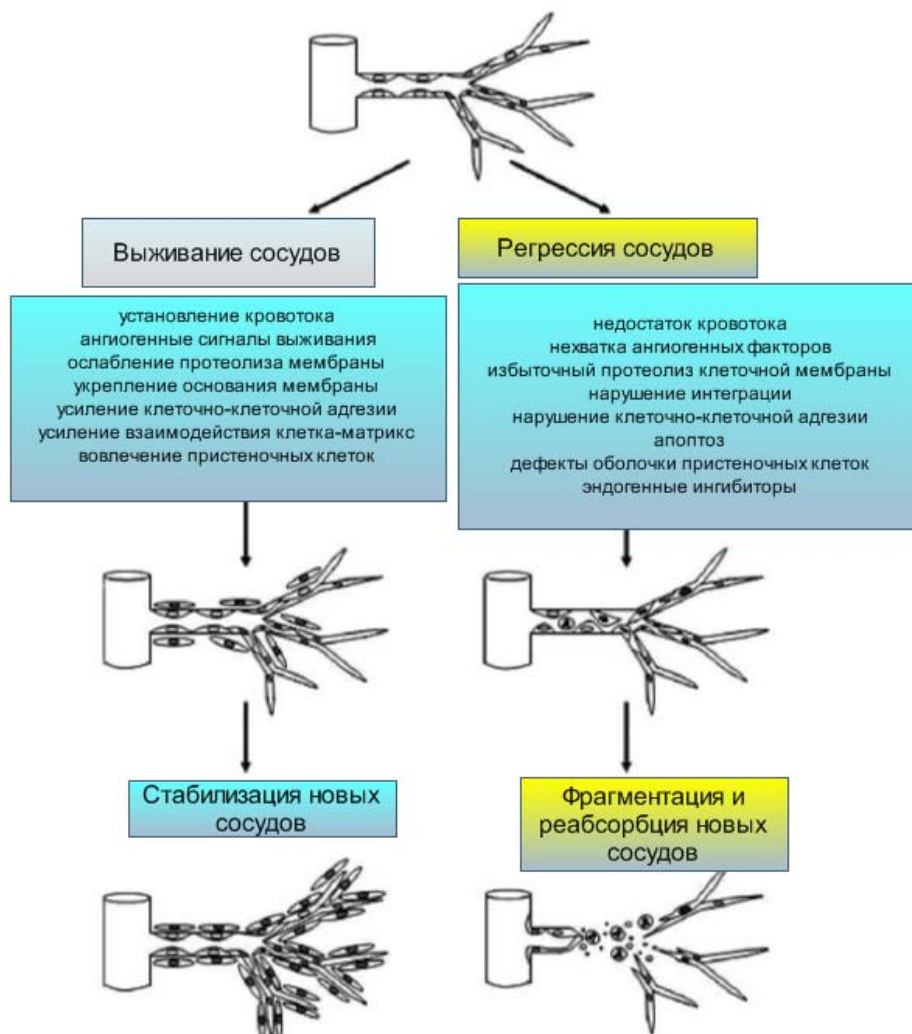


Рис. 4. Схема факторов развития ангиогенеза. (по Forough R., 2006).

#### **Роль стромы в патогенезе ангиогенеза**

Наряду с факторами роста в А. имеет большое значение состав экстрацеллюлярного матрикса стромы опухоли. Благоприятным является содержание в нем компонентов базальных мембран - ламинина, фибронектина и коллагена IV типа (Коган Е. А., 2002).

Формирование сосудов в опухолях происходит на фоне извращенной митогенетической стимуляции и измененного экстрацеллюлярного матрикса. Это приводит к развитию неполноценных сосудов преимущественно капиллярного типа, имеющих нередко прерывистую базальную мембрану и нарушенную эндотелиальную вы-

стилку. Эндотелий может замещаться опухолевыми клетками, а иногда и вовсе отсутствовать (Коган Е. А., 2002).

#### **Роль эфринов в патогенезе ангиогенеза**

Роль эфринов в А. была впервые продемонстрирована Pandey A. с соавторами. Исследователи обнаружили, что эфрин А1 принимает участие в развитии кровеносных сосудов роговицы глаза, он стимулирует А. in vivo и способствует хемотаксису эндотелиальных клеток in vitro. В дальнейшем в экспериментах in vitro было показано, что и другие белки семейства эфринов (эфрин В1, эфрин В2, эфрин В3) способствуют росту капилляров и "сборке" эндотелиальных



клеток внутри сосуда, т. е. стимулируют морфогенез и А., а также участвуют в процессах ремоделирования сосудов (medbiol.ru).

Полученные результаты были подтверждены исследованиями *in vivo* в экспериментах на животных. У эмбрионов мыши с "выключением" гена EFNB2 эфрина В2 наблюдается нарушение кровоснабжения формирующихся органов и тканей, вызванное повреждением кровеносных сосудов. В исследовании Adams R.H. с соавторами была также показана роль эфрина В3 в процессах А. и ремоделирования сосудов (medbiol.ru).

#### **Антиангиогенная фармакотерапия**

Способность индуцировать и поддерживать А. - важнейший этап развития опухоли. А. лежит в основе разработки методов целенаправленного воздействия на этот процесс как средства терапии рака. В плане возможной разработки препаратов идентифицировано несколько молекулярных мишеней и клеточных путей. Одной из таких мишеней является VEGF (Thornton A.D. et al., 2006).

Благодаря расшифровке некоторых молекулярных механизмов канцерогенеза, лечение онкологических больных переходит на принципиально новый уровень — воздействие на молекулярные мишени, ответственные за процесс пролиферации злокачественной клетки, гиперэкспрессирующиеся преимущественно в опухоли и являющиеся доступными для идентификации рутинными способами. Результаты внедрения в клиническую практику первых таргетных препаратов, блокирующих ростовые факторы, доказало перспективность данного направления, способного значительно повысить эффективность медикаментозного лечения злокачественных опухолей.

Ингибиторы А. имеют два преимущества над другими лекарствами:

- Они должны быть менее токсичны, чем используемые при обычной химиотерапии лекарства.

- Так как их мишенью являются нормальные клетки, а не непосредственно раковые клетки, гораздо меньше вероятность, что они приведут к отбору устойчивых к лекарству опухолей.

С учетом выше описанных характеристик VEGF становится ясно, что ингибирование VEGF представляет собой новаторский подход к противоопухолевой терапии, который может:

- Привести к обратному развитию незре-

лых кровеносных сосудов, типичных для опухолей.

- Снизить проницаемость сосудов и, тем самым, внутриопухолевое давление.

- Уменьшить вероятность метастазирования опухоли (medi.ru; www.roche.ru).

Можно ожидать, что эти эффекты блокады VEGF на сосудистую сеть опухоли не повлияют на нормальные, зрелые, сосуды, выживание которых не зависит от VEGF. Кроме того, ингибирование VEGF дополнило бы современные методы лечения, в частности, химиотерапию и противоопухолевую биотерапию, увеличив проникновение препаратов в опухолевые клетки благодаря обратному развитию аномального сосудистого русла опухоли и снижению внутриопухолевого давления. Эти наблюдения позволяют предполагать, что подавление активности VEGF может стать обоснованным принципом терапии целого ряда опухолей (medi.ru).

Целенаправленное воздействие на VEGF препаратом бевацизумаб (Авастин, "Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд.", Базель, Швейцария), гуманизированным моноклональным антителом класса IgG, в комбинации с известными режимами химиотерапии показало эффективность при лечении раков различной локализации.

Как уже упоминалось, А. играет важную роль в процессе заживления ран, поэтому высказываются опасения, что бевацизумаб может вызвать увеличение осложнений у пациентов, требующих оперативного лечения. Хотя в целом препарат хорошо переносится, примерно у 2% больных описаны серьезные проявления токсичности, включая перфорацию желудочно-кишечного тракта и ухудшение заживления ран, несмотря на то, что после операции препарат вводили с отсрочкой не менее 28 дней. Эти осложнения чаще возникают у тех пациентов, которые были оперированы на фоне терапии бевацизумабом, что имеет очевидные последствия для хирургической практики. Тем не менее, значительное улучшение выживаемости, которое можно получить с помощью бевацизумаба, означает высокую вероятность его широкого применения (Thornton A.D. et al., 2006).

#### **Заключение**

Тема нуждается в дальнейших исследованиях, так как высокоэффективная ангиогенная терапия рака ещё не разработана, а количество людей, в ней нуждающихся, не уменьшается.

### **Литературные источники**

Коган Е. А. Автономный рост и прогрессия опухолей / Коган Е. А. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2002. – Т. 12, № 4. – С. 45-49.

Махачев С. М. Механическое стимулирова-

ние ангиогенеза / С. М. Махачев, А. О. Османов, М. Р. Рамазанов. – М. : Медицина, 2003. – 160 с.

Прозоровский В. Кровеносные сосуды и рак / В. Прозоровский // Наука и жизнь. – 2006. – № 9. – С. 9-14.

Роль ангиогенеза в развитии наружного генитального эндометриоза / Д. И. Соколов, П. Г. Кондратьева, В. Л. Розломий [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т. 6, № 2. – С. 10-17.

Фактор роста эндотелия сосудов как показатель гипоксии тканей, его возможная роль в патогенезе плоского лишая слизистой оболочки рта / Л. В. Петрова, Н. Е. Кушлинский, Л. В. Ильина // Вестник дерматологии и венерологии. – 2004. – № 5. – С. 7-8.

Angiogenesis inhibition with bevacizumab and the surgical management of colorectal cancer / A. D. Thornton, P. Ravn, M. Winslet, K. Chester // British Journal of Surgery Society Ltd. – 2006. – Vol. 93, № 12. – P. 1456-6.

Carmeliet P. Angiogenesis in cancer and other disease / P. Carmeliet, R. Jain // Nature. – 2000. – Vol. 407. – P. 249-257.

Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease / Carmeliet P. // Nature medicine. – 2003. – Vol. 9. – P. 653-660.

Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine / Carmeliet P. // Nature. – 2005. – Vol. 438. – P. 932-936.

Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and

arteriogenesis / Carmeliet P. // Nature medicine. – 2000. – Vol. 6, № 4. – P. 389-395.

Cooke R. Dr. Folkman's war angiogenesis and the struggle to defeat cancer / R. Cooke // New York : Random House, 2001. – 366 p.

Folkman J. A new link in ovarian cancer angiogenesis: lysophosphatidic acid and vascular endothelial growth factor expression / Folkman J. // J. Natl. Cancer Inst. – 2001. – Vol. 93, № 10. – P. 734-735.

Folkman J. Clinical applications of research on angiogenesis / Folkman J. // New England Journal of Medicine. – 1995. – Vol. 333, № 26. – P. 1757-1763.

Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? / J. Folkman // J. Natl. Cancer Inst. – 1990. – Vol. 82, № 1. – P. 4-6.

Forough R. New Frontiers in Angiogenesis / R. Forough. – Netherlands : Springer, 2006. – 203 p.

Kerbel R. S. Tumor Angiogenesis / Robert S. Kerbel // N. Engl. J. Med. – 2008. – Vol. 358. – P. 2039-2049.

Ribatti D. History of research on tumor angiogenesis / D. Ribatti // Netherlands : Springer, 2009. – 125 p.

### **Спрінджук М.В. Ангіогенез.**

**Резюме.** Тема ангіогенезу - утворення судин з вже існуючих, сьогодні є медичною науковою темою, що найбільш фінансується і вивчається в світі. Це пов'язано з тим, що 500 000 000 жителів планети потребує терапевтичної корекції патологічних процесів ангіогенезу. У статті – огляді літератури систематизовані лише найбільш яскраві джерела літератури навмисно переважно вітчизняних авторів. Робота проілюстрована для доступного розуміння. У статті розглядаються питання біохімії і патологічної фізіології ангіогенезу в безпосередньому зв'язку з сучасною фармакотерапією. Метою огляду літератури є надання читачеві можливості ознайомитися з сучасною медичною проблемою 21 століття: патологічним кровопостачанням і пов'язаними з цим феноменом питаннями.

**Ключові слова:** ангіогенез, неоваскуляризація, фактор росту ендотелію судин, метастазування, рак, злоякісні пухлини, антиангіогенна фармакотерапія.