

В.А. Бывальцев^{1,2,3,4}, И.А. Степанов¹, Е.Г. Белых², А.И. Яруллина^{1,4}

Молекулярные аспекты ангиогенеза в глиобластомах головного мозга

¹Иркутский государственный медицинский университет

²Иркутский научный центр хирургии и травматологии

³Дорожная клиническая больница на ст. Иркутск-Пассажирский

⁴Институт ядерной физики СО РАН

Процессы ангиогенеза играют важнейшую роль в росте и прогрессировании глиом головного мозга. Индуцирующими неоангиогенез факторами, в первую очередь, служат изменения, происходящие внутри самой опухоли: изменения структуры микроциркуляторного русла опухолевой ткани, усиление гипоксии, адаптация опухолевых клеток и синтез ангиогенных факторов клеточного роста. По причине аномального расположения кровеносных сосудов в ткани опухоли создается хаотичный поток крови, что приводит к выраженной гипоксии – ключевого индуцирующего фактора в процессе ангиогенеза. Гипоксией индуцируемый фактор 1 (HIF-1) является основной молекулой, которая регулирует рост и прогрессию глиальных опухолей. Клетки глиом, с присущими им свойствами стволовых клеток активно синтезируют HIF-1. Данную популяцию клеток называют «стволовые клетки глиомы», индуцирующие синтез фактора роста эндотелия сосудов (VEGF). Именно VEGF занимает центральное место в процессах ангиогенеза. Перспективным направлением таргетной терапии глиом головного мозга, является антиангиогенная терапия. Применение как прямых, так и непрямых ингибиторов ангиогенеза значительно улучшило прогноз пациентов с глиальными опухолями головного мозга. Комплексный подход к изучению микрососудистых нарушений, гипоксии, биологии и клеточного поведения «стволовых клеток глиомы», а также роли различных факторов клеточного роста в канцерогенезе глиом головного мозга позволит уже в недалеком будущем разработать новые и эффективные методы диагностики и лечения данного заболевания.

Ключевые слова: глиомы головного мозга, гипоксия, ангиогенез, глиальные стволовые клетки, фактор роста эндотелия сосудов, гипоксией индуцируемый фактор 1, антиангиогенная терапия

Глиомы представляют собой наиболее распространенную группу первичных опухолей центральной нервной системы (ЦНС). Самой

злокачественной формой глиальных опухолей является глиобластома (4 степень злокачественности по классификации ВОЗ), которая может быть результатом прогрессии глиом более низкой степени злокачественности (вторичная глиобластома) или развиваться в организме *de novo* (первичная глиобластома). Глиобластомы характеризуются высокой степенью активности процессов ангиогенеза с пролиферацией сосудов и эндотелиальной гиперплазией. Данная опухоль отличается предельно быстрым агрессивным ростом и способна занимать целую долю или даже полушарие головного мозга [41].

Рост и прогрессия глиобластомы – это процесс адаптации сосудистой сети опухоли, обусловленный возрастанием ее метаболических потребностей. На ранних стадиях развития глиом, метаболизм опухолевой ткани обеспечивается обширной микрососудистой сетью ЦНС. Однако, рост опухолевой ткани неизбежно приводит к резкому возрастанию потребности в питательных веществах, которая реализуется при формировании новой сосудистой сети [3,10]. Важно определить различия в понятиях ангиогенез и васкулогенез. Под термином ангиогенез принято понимать развитие новых сосудов из предшествующих структурно-функциональных единиц. Процесс формирования сосудистых элементов из гематопозитических ниш носит название васкулогенеза [16].

Ангиогенез представляет собой сложный процесс взаимодействия многих факторов, необходимый для дальнейшего роста и прогрессии опухолевой ткани [34]. Для начала развития новой сосудистой сети требуются экзогенные стимулы в виде гипоксии, возрастающих метаболических потребностей, а также самого роста опухоли. На сегодняшний день известно более 25 факторов клеточного роста и цитокинов, участвующих в процессах ангиогенеза [33,45]. Экспрессия проангиогенных факторов опухолевыми клетками является результатом генетических аномалий и усиления гипоксии в ткани опухоли.

Возникновение гипоксии связано с неправильным и хаотичным потоком крови, что приводит к снижению способности кровеносных сосудов доставить необходимый объем

кислорода в опухолевую ткань [7]. Тем самым гипоксия способствует активации «стволовых клеток глиомы» и индукции ими целого ряда факторов ангиогенеза: матриксных металлопротеиназ (MMP), ангиопоэтина-1, фосфоглицераткиназы (PGK), эритропоэтина (EPO) и фактора роста эндотелия сосудов типа A (VEGF-A) (табл.1) [46].

Накопление определенного уровня ангиогенных факторов и их взаимодействие с рецепторами, экспрессируемыми клетками, вовлеченными в опухолевый процесс приводит к включению процессов ангиогенеза, а следовательно и глиомогенеза (рис.1).

Некоторые из указанных факторов опосредуют свои эффекты через HIF-1. [35].

Таблица 1 Основные рецепторы клеточных факторов роста, участвующих в процессах ангиогенеза

Рецептор	Лиганд рецептора	Локализация	Функция
VEGFR1 (рецептор к фактору роста эндотелия сосудов 1)	VEGF-A	Эндотелиоциты кровеносных сосудов	Поздняя стадия васкулогенеза, сосудистый нормотонус, построение эндотелиоцитов
VEGFR2 (рецептор к фактору роста эндотелия сосудов 2)			Ранняя стадия васкулогенеза, дифференцировка клеток эндотелия
NRP-1 (корцептор нейропиллин 1)			
Tie-1	Ангиопоэтины (Ang-1, Ang-2, Ang-3, Ang-4)	Эндотелиоциты кровеносных сосудов	Поздняя стадия васкулогенеза, формирование целостной сосудистой сети
Tie-2(Tek)			Поздняя стадия васкулогенеза, формирование сосудов различного диаметра, дифференцировка сосудов и их ветвление
EGFR (рецепторы к эпидермальному фактору роста)	EGF, TGF α (эпидермальный фактор роста) тромбоциты, фагоциты	Экспрессируются почти всеми клетками (за исключением клеток кроветворных органов, скелетной мускулатуры)	Миграция, адгезия, пролиферация, ускорение деления клетки (ускоренный митоз эндотелиоцитов)
PDGFR-A PDGFR-B (рецепторы к тромбоцитарному фактору роста)	PDGF	Фибробласты, гладкомышечные клетки кровеносного сосуда	Мезенхимальный ответ соединительной ткани, регенерация, стимуляция роста и пролиферации фибробластов и гладкомышечных клеток, входящих в состав сосудистой стенки, пролиферация и подвижность олигодендроцитов и астроцитов
FGFR (рецептор фактора роста фибробластов)	FGF	Экспрессируются в тканях мезодермального и нейроэктодермального происхождения	Пролиферация, дифференцировка, эмбриогенез, рост и организация эндотелия

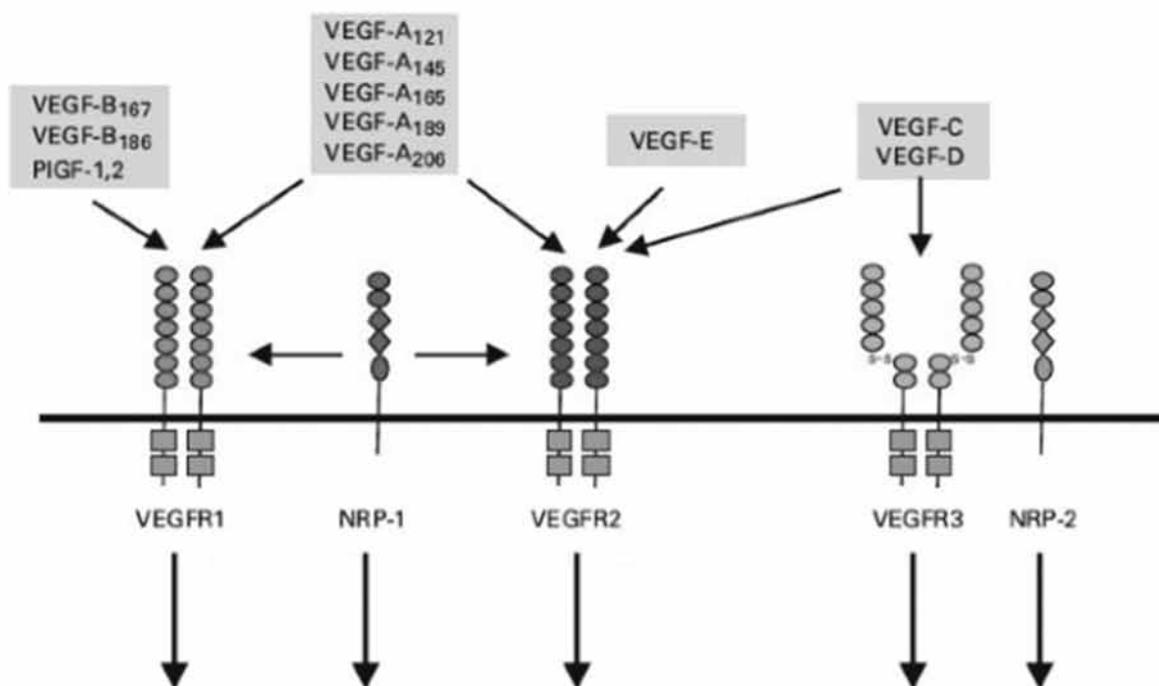


Рис. 1. Активация процессов ангиогенеза

Как уже было сказано, VEGF – это основная молекула, регулирующая процессы ангиогенеза в норме и патологии [13]. Свои эффекты VEGF оказывает через специфические рецепторы к фактору роста эндотелия сосудов (VEGFR) [14]. В ЦНС VEGF помимо активации неангиогенеза, оказывает нейротрофическую и нейропротекторную функции [40]. В нервной ткани синтез VEGF опосредуется через HIF-1. Недавние исследования доказали, что именно «стволовые клетки глиомы» играют главенствующую роль в опухолевой прогрессии за счет активации неангиогенеза через VEGF/HIF-1 эффекты [26,29]. Гипоксия способствует «естественному отбору» опухолевых клеток, изменяет их фенотип и повышает степень их пролиферативной и инфильтративной активности.

Цель настоящего обзора – анализ современных данных литературы об участии процессов ангиогенеза в росте глиом головного мозга.

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF)

В неангиогенезе участвует большое количество клеток: эндотелиоцитов, периэндотелиального микроокружения (перициты, гладкие миоциты) и межклеточного матрикса, с которыми взаимодействуют цитокины и факторы клеточного роста: HIF-1, VEGF (посредством взаимодействия с рецепторами VEGFR1, VEGFR2, эндотелиальными рецепторами тирозинкиназы tie-1 и tie-2), ангиопозтин и многие другие молекулы.

Семейство VEGF включает в себя семь типов факторов: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F, а также плацентарный фактор роста (PlGF) [13]. Наиболее распространенным видом является VEGF-A, который представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 45кДа. Гипоксия служит основным индуцирующим фактором синтеза VEGF-A. В свою очередь VEGF-A представлен пятью различными изоформами в виде VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF189 и VEGF206 (табл.2), которые экспрессируются клетками путем альтернативного сплайсинга.

Таблица 2 Сравнительная характеристика основных изоформ VEGF-A

Изоформы VEGF	Кислотно-основные свойства	Локализация
VEGF121	Кислый полипептид	Свободно секретируется клетками
VEGF145	Основание	Расположен на поверхности клеточной цитоплазмы
VEGF165	–	Расположен на поверхности клеточной цитоплазмы
VEGF189	Основание	Расположен изолированно в цитоплазме эндотелиоцитов
VEGF206	Основание	Расположен изолированно во внеклеточном пространстве

Изначально, VEGF-A был обнаружен именно в опухолевой ткани, а рецепторы к нему (VEGFR1 и VEGFR2) преимущественно на поверхности эндотелиальных клеток [40].

VEGF-A обладает пролиферативным и антиапоптотическим действием на эндотелиоциты артерий, вен и лимфатических узлов. Эндотелий сосудов при постоянном воздействии на него VEGF-A начинает активно экспрессировать ферменты и биологически активные вещества, разрушающие внеклеточный матрикс и повышающие проницаемость сосудов. VEGF-A участвует в метаболизме и миграции эндотелиоцитов, а также поддерживает цитоархитектонику сосудистой стенки. Dvorak при изучении VEGF-A, назвал данный гликопротеин «фактором проницаемости сосудистой стенки», за свою способность значимо повышать проницаемость гемато-энцефалического барьера [11]. Helmlinger и соавт. доказали, что вазодилатация возможна только за счет действия VEGF-A, который способствует удлинению эндотелиальных клеток [21]. Важно отметить, что в процессе ангиогенеза VEGF-A работает в строгом синергизме и с другими факторами клеточного роста [46].

Многие клетки нашего организма способны синтезировать VEGF-A: нейроны, клетки глии, перициты, гладкие миоциты, макрофаги, клетки лимфоидной ткани, тромбоциты, фибробласты [10]. В опухолевой ткани синтез VEGF-A наблюдается как в клетках самой опухоли, так и эндотелиоцитах ее микрососудистого русла [14]. Экспрессия гена VEGF-A тесно связана с синтезом HIF-1 за счет близкого расположения участков в полинуклеотидной последовательности ДНК [25]. А потому, в условиях выраженной гипоксии повышается экспрессия не только HIF-1, но и VEGF-A. Интенсивный рост опухоли, приводит к нарушению кровоснабжения некоторых ее участков и возникновению гипоксии, что является индуцирующим фактором синтеза VEGF-A [30].

Глиомы головного мозга характеризуются высоким уровнем экспрессии VEGF-A [28]. Доказано, что повышенный уровень синтеза VEGF-A в глиальной опухоли значимо коррелирует со степенью ее васкуляризации, агрессивностью роста и степенью злокачественности, а, как следствие, и с неблагоприятным прогнозом для жизни пациента.

Рецепторы VEGF

Реализация биологического эффекта VEGF-A осуществляется через его взаимодействие со своими высокоаффинными рецепторами. В настоящее время известно два

таких рецептора: VEGFR1 и VEGFR2, образующих отдельную группу в суперсемействе рецепторных тирозинкиназ. К этой же группе относятся еще один рецептор – VEGFR4, взаимодействующий с VEGF-C и VEGF-D, но не с VEGF-A [18]. Эта группа рецепторов представляет собой трансмембранные белки со сходной структурой: их внеклеточная рецепторная часть состоит из 7 иммуноглобулиноподобных доменов, а во внутриклеточной области находится тирозинкиназный домен, разделенный на два участка короткой последовательностью, так называемой интеркиназной вставкой, специфичной для каждого рецептора [46]. В результате взаимодействия со своим лигандом происходит димеризация рецепторов с последующей активацией их каталитической активности, приводящей сначала к взаимному фосфорилированию самих рецепторов, а затем к фосфорилированию их цитоплазматических субстратов, осуществляющих дальнейшую передачу сигнала в клетке [18].

Рецепторы VEGF-A (VEGFR1 и VEGFR2) экспрессируются почти исключительно в клетках эндотелия кровеносных сосудов, преимущественно в сосудах, прилегающих к опухоли и проникающих в нее.

Реакция клеток может быть различной в зависимости от того, с каким из рецепторов свяжется VEGF-A. На это указывают, например, результаты опытов, где клетки эндотелия аорты свиньи, в которых отсутствуют эндогенные рецепторы VEGF-A, были трансфицированы векторами, экспрессирующими VEGFR1 и VEGFR2 [12]. При этом VEGF-A стимулировал хемотаксис и митогенез только в тех клетках, где был экспрессирован VEGFR2, но не VEGFR1. О функциональных различиях сигнальных путей, осуществляемых посредством передачи сигнала через рецепторы VEGFR1 и VEGFR2, свидетельствуют также данные, полученные на гомозиготных мышцах с поврежденным геном VEGFR1 или VEGFR2 [15]. В обоих случаях такие повреждения приводили к гибели эмбриона на 9-й день развития, однако в случае повреждения только гена VEGFR2 наблюдалось отсутствие васкулогенеза и дифференцировки клеток эндотелия, тогда как при повреждении VEGFR1 дифференцировка клеток происходила, но при этом наблюдалось расширение сосудов и дезорганизация сборки клеток эндотелия, т. е. нарушались более поздние стадии васкулогенеза.

Данные о торможении опухолевого роста при ингибировании активности VEGF-A с помощью рекомбинантной растворимой формы другого рецептора – VEGFR2 были получены на клетках глиобластомы *in vivo* [26]. Рост глиобластомы, перевитой мышам, существенно подавлялся в

том случае, если опухолевые клетки вводились совместно с клетками, экспрессирующими доминантно-негативную мутантную форму VEGFR2, в которой отсутствовал тирозинкиназный домен [18].

Семейство рецепторов Tie

На поверхности клеток эндотелия сосудов экспрессируются еще 2 рецептора – Tie-1 и Tie-2/Тек, также принадлежащих к семейству рецепторных тирозинкиназ и образующих в нем подсемейство Tie (тирозинкиназы с иммуноглобулин- и EGF-гомологичными доменами) [17].

Аналогично рецепторам ростовых факторов семейства VEGF, экспрессия рецепторов Tie жизненно необходима для формирования эмбриональной сосудистой сети. Мыши, дефицитные по гену Tie-1, погибают на поздних этапах эмбрионального развития, имея дефекты целостности сосудов, приводящие к отеку и кровоизлияниям [20]. Мыши, у которых инактивирован ген Tie2, погибают в период между 9 и 10 днем после рождения, сосудистая сеть таких мышечей выглядит незрелой, нарушена типичная для нормальной сосудистой системы организация: сосудистая сеть представлена в основном расширенными кровеносными сосудами, мало различающимися по диаметру, при этом отсутствуют как крупные собирательные сосуды, так и мелкие капилляры [31]. Эти данные указывают на то, что рецепторы семейства Tie включаются в регуляцию ангиогенеза на более поздних стадиях, чем рецепторы ростового фактора VEGF-A.

В опухолевой ткани рецепторы к VEGF-A и Tie-рецепторы, очевидно воспроизводят те же роли, которые они играют во время реконструкции сосудов в нормальных тканях. В процессе индукции ангиогенеза в опухоли происходят как рост новых сосудов, так и их регрессия. Это продемонстрировано на ряде экспериментальных моделей перевиваемых опухолей при исследовании возникновения в опухолевой ткани сосудистой сети [5]. При этом оказалось, что представления о том, что большинство опухолей и метастазов возникает как лишенная сосудов масса клеток и лишь позднее благодаря индукции ангиогенеза в ней формируется поддерживающая развитие опухоли сосудистая сеть, не вполне справедливы. В начале в опухоли быстро развиваются уже существующие сосуды организма хозяина, образуя достаточно хорошо васкуляризованную опухолевую массу. В дальнейшем, возможно, в результате действия защитных механизмов организма, наблюдается значительная регрессия этих первичных кооптированных сосудов, приводящая

к вторичной невааскуляризованной опухоли и существенной потере клеток опухоли. Однако, оставшаяся часть опухоли в конце концов выживает за счет активно идущего ангиогенеза на периферии опухоли [48].

Гипоксия

При активном росте и инвазии глиом головного мозга микрососудистая сеть претерпевает значимые морфологические изменения. Сосуды имеют патологическую извитость, неполноценную эндотелиальную выстилку, места сужения просвета сосуда чередуются с участками расширения, имеет место повышенная проницаемость сосудистой стенки [22]. Морфофункциональная неполноценность сосудистой сети приводит к неадекватному кровоснабжению опухолевой ткани, следствием чего является возникновение очагов ишемии и гипоксии [3]. Доказано, что сосудистый коллапс имеет первоочередное значение в индукции развития нового сосудистого русла в глиомах головного мозга. Сосудистый коллапс приводит к гибели опухолевых клеток и формированию очагов некроза. Такие очаги некроза выступают в роли триггерного механизма запуска синтеза HIF-1, а значит и экспрессии VEGF-A, который запускает неоангиогенез [30].

Гипоксия – это важнейший предиктор состояния микросреды опухолевой ткани. Как правило, наличие очагов ишемии и гипоксии в глиомах головного мозга ассоциируется с неблагоприятным прогнозом для жизни пациента, агрессивным ростом опухоли, а также химио- и радиорезистентностью [24]. HIF-1, синтезируемый опухолевыми клетками в условиях гипоксии, участвует в экспрессии генов многих ангиогенных цитокинов, факторов клеточного роста и ферментов: VEGF, эндотелиальной NO-синтазы, ангиопоэтина, эфрина, гликолитических ферментов, транспортера глюкозы Glut-1, гемоксигеназы-1 и т.д. [38]. Кроме того, HIF-1 способен через определенные внутриклеточные каскады активировать экспрессию проонкогенных белков (EGFR) и заблокировать гены-онкосупрессоры (p53, PTEN) [27].

HIF-1 представляет собой гетеродимерный транскрипционный фактор, состоящий из двух субъединиц HIF-1 α и HIF-1 β . Экспрессия субъединицы HIF-1 β происходит постоянно, а синтез HIF-1 α субъединицы строго зависит от степени поступления кислорода в клетку. HIF-1 α субъединица была открыта и описана в 1988 году, как регулятор активности гена эритропоэтина (EPO). В свою очередь HIF-1 α субъединица имеет три изоформы: HIF1 α , HIF2 α (также известный как эндотелиальный белок PAS-домена 1, EPAS1), и

HIF3 α [47]. В последнее время именно HIF-1 α субъединице отводится главенствующая роль в регуляции апоптотических процессов опухолевых клеток.

Стволовые клетки глиомы

Как уже было сказано, гипоксия способствует дальнейшему росту и прогрессии опухоли [37]. Доказано, что HIF2 α субъединица содержится только в «стволовых клетках глиомы», а HIF-1 α – как в «стволовых клетках глиомы», так и в обычных опухолевых клетках [21].

Недавние исследования в области глиомогенеза показали, что существует определенная зависимость между уровнем экспрессии HIF-1 и миграционной способностью опухолевых стволовых клеток [29]. Кроме того, в эксперименте на ткани глиобластомы продемонстрирована связь между уровнем содержания кислорода и количеством опухолевых стволовых клеток [44]. Предполагается, что именно данная популяция клеток, именуемая «стволовыми клетками глиомы», отвечает за агрессивный рост и инвазию глиальных опухолей в вещество головного мозга. Существует большое количество сообщений о прямой связи между степенью злокачественности и активностью процессов ангиогенеза в глиомах. В настоящее время «стволовым клеткам глиомы» отводится немаловажная роль в активации неоангиогенеза через HIF-1/VEGF-эффекты [8,9].

«Стволовые клетки глиомы» – это перспективная мишень современной таргетной терапии глиом головного мозга. Серьезной проблемой противоопухолевой терапии является обнаружение опухолевых стволовых клеток. На сегодняшний день типированы лишь некоторые маркеры стволовых клеток: CD 133/проминин-1, нестин, Musashi-1, Sox-2, GFAP, Map-2, нейрональный тубулин, нейрофиламенты O4, Noggin и CD15 [2]. В глиобластоме «стволовые клетки» обнаруживаются по экспрессии маркера CD 133, что ассоциируется с плохим прогнозом для жизни больного [49].

Противоангиогенная терапия глиальных опухолей

Зависимость роста и прогрессии злокачественных опухолей от степени васкуляризации стала идейной основой для создания противоангиогенной терапии (ПАТ) [19]. ПАТ принципиально отличается от цитотоксической терапии как по клеточным мишеням, так и по целям, которые перед ней стоят. Центральной клеточной мишенью ПАТ является не опухолевые клетки, а эндотелиальная клетка, как основная струк-

турная единица васкулярной сети [4]. Основная цель ПАТ – не «убить» эндотелиоциты, а ингибировать их пролиферацию, и/или миграцию, и/или дифференциацию. Реализация именно этих функций эндотелиоцитов приводит к формированию новых кровеносных сосудов. Еще одной важной отличительной особенностью ПАТ (по сравнению с цитотоксической терапией) является существование большого количества других клеточных мишеней [45]. Это связано с тем, что эндотелиоцит – нормальная клетка, с присущей ей нормальной функциональной реактивностью. В отличие от опухолевых клеток, для которых характерна функциональная индифферентность по отношению к регуляторным механизмам организма, эндотелий хорошо откликается на сигналы, формирующиеся в процессе взаимодействий между клетками, растворимыми факторами и/или компонентами внеклеточного матрикса. Такое свойство эндотелия создает возможность ингибировать его клеточные функции, влияя на другие клеточные системы (перициты, макрофаги и т. п.).

Большое количество клеточных мишеней ПАТ предполагает участие широкого спектра эндогенных медиаторов ангиогенеза, каждый из которых может представлять молекулярную мишень для терапевтического воздействия. Одним из основных преимуществ ПАТ является высокая специфичность действия по сравнению с традиционной цитотоксической терапией. Такая специфичность в первую очередь обусловлена тем, что в отличие от нормальных тканей, в которых процессы неоваскуляризации или отсутствуют или ограничены медленно протекающими процессами репарации сосудистой системы, злокачественные новообразования являются постоянными индукторами ангиогенеза, активно протекающего внутри опухоли. С этой точки зрения (и не только) опухоль выглядит в организме как «незаживающая рана» – старая концепция, которая с развитием исследований в области опухолевого неангиогенеза получила новые подтверждения. Вторым важным фактором, усиливающим специфичность противоопухолевого действия ПАТ, является ее низкая токсичность (в первую очередь цитотоксичность) в отношении нормальных тканей и органов. Низкий уровень повреждений клеточного состава нормальных органов и тканей на фоне ПАТ обусловлен как высокой биодоступностью ингибиторов ангиогенеза при их системном введении, так и высокой чувствительностью эндотелиальных клеток к действию ингибиторов. Также следует добавить, что ПАТ направлена преимущественно не на уничтожение эндотелия сосудов, а на ингибирование их клеточных функций, что может быть достигнуто при значительно более

низких (по сравнению с цитотоксическими) концентрациях и, соответственно, дозах антиангиогенных препаратов.

К преимуществам ПАТ следует отнести и низкий риск формирования лекарственной резистентности эндотелиальных клеток. Известно, что в основе лекарственной резистентности к действию повреждающих агентов лежит генетическая неустойчивость клеток-мишеней. Основной мишенью ПАТ являются эндотелиоциты, с характерной для нормальной клетки высокой устойчивостью генома. В случае же цитотоксической терапии мишенями являются опухолевые клетки с присущей им значительной геномной нестабильностью и как следствие – с крайне высоким риском формирования лекарственной резистентности. Важным преимуществом ПАТ является также перспективность этой терапии при лечении опухолей резистентных к действию цитотоксических препаратов [1]. Блокирование процесса неоваскулогенеза в опухоли и, как следствие, перекрытие потока питательных субстратов внутрь опухолевых масс, необходимых для поддержания жизнеспособности опухолевых клеток, существенным образом не зависит от степени чувствительности самих опухолевых клеток к действию традиционных цитотоксических агентов.

Рассмотрим некоторые препараты, которые используются в качестве таргетной терапии у пациентов с глиомами головного мозга. Авастин (бевацизумаб) – химерное человеческое рекомбинантное антитело против рецепторов VEGF. Используется как препарат первой, так и второй линии. Способен распознавать все изоформы VEGF. В начальной фазе клинических исследований использовался для лечения рецидива глиобластом и применялся в комбинации с иринотеканом (ингибитор топоизомеразы I). Частота радиографического ответа составила 57% по сравнению с таковым при употреблении темозоломида после первого рецидива, который составил 5% [32].

Во второй фазе использовалась монотерапия с авастинном: шестимесячный безрецидивный период наблюдался в 29% случаев, общая выживаемость в течение 6 месяцев – 57%. Также отмечено уменьшение перифокального отека у половины пациентов [34].

Как препарат первой линии авастин использовался в комбинации с лучевой терапией и темозоломидом. За время наблюдения (9 месяцев) у 81% пациентов прогрессирования не отмечалось.

В рандомизированном исследовании BRAIN при применении бевацизумаба в качестве монотерапии при рецидиве глиобластомы шестимесячный безрецидивный период составил 43%,

а общая выживаемость – 9,2 месяца. У 17 из 22 пациентов, которые прошли все 6 курсов авастина в комбинации с темозоломидом или иринотеканом, отсутствовали признаки опухолевого процесса по данным позитронно-эмиссионной томографии [12,32]. Данный препарат относится к группе прямых ингибиторов неангиогенеза.

К группе не прямых ингибиторов неангиогенеза относятся ингибиторы тирозинкиназ, такие, как сорафениб, цедираниб, семаксаниб (semaksanib). Ингибиторы тирозинкиназ и прямые ингибиторы ангиогенеза могут применяться в комплексе, потому как оказывают различные эффекты на клетки эндотелия: прямые ингибиторы ангиогенеза действуют за счет снижения синтеза простагландинов и оксида азота, а то время, как не прямые ингибиторы ангиогенеза снижают перфузию в опухоли после единичного их приема [34].

Цедираниб является ингибитором тирозинкиназ VEGFR2, PDGF рецепторов α и β и рецепторов фактора роста стволовых клеток. Во второй фазе исследования у 56% пациентов с рецидивом глиобластомы был получен радиологический ответ, длительность безрецидивного периода составила 17 недель, а общая выживаемость – 32 недели. Клинические исследования в отношении данного препарата продолжаются [32].

Семаксаниб является высокоселективным блокаторм рецепторов VEGF 2-го типа (VEGFR2). Препарат проходит клинические испытания при лечении колоректального рака, рака легкого, молочной железы, а также опухолей центральной нервной системы [23].

Сорафениб – мультикиназный ингибитор, снижает скорость роста опухоли путем подавления рецепторных тирозинкиназ c-RAF, VEGFR2, VEGFR3, PDGFR и др. В первой и второй фазах клинических исследований препарат показал противоопухолевую активность в отношении нескольких видов солидных опухолей. *In vitro* сорафениб ингибировал пролиферацию клеток глиобластомы вне зависимости от их p53- и PTEN-статуса. В экспериментах на животных была доказана индукция апоптоза и супрессия ангиогенеза [39]. В первую фазу клинических испытаний сорафениб был использован совместно с традиционным лечением у пациентов как с впервые выявленной глиобластомой, так и с рецидивом. Общая выживаемость составила в среднем 18 месяцев и препарат был рекомендован для проведения второй фазы исследований [43].

Несмотря на значительные трудности, которые возникли при создании ангиогенез-опосредованных противоопухолевых препаратов,

именно с антиангиогенной терапией связывают сейчас надежды на повышение эффективности лечения не только больных с глиомами головного мозга, но и всех пациентов онкологического профиля[45].

Заключение

Таким образом, активный рост и прогрессирование глиом головного мозга невозможны без процессов ангиогенеза. Среди клеточных популяций важнейшая роль в процессе ангиогенеза отводится «стволовым клеткам глиомы» и эндотелию сосудов опухоли. Что же касается цитокинов и белковых факторов, то ключевое значение в индукции неангиогенеза выполняют HIF-1 и VEGF. «Стволовые клетки глиомы» синтезируют оба вещества в большом количестве. Гипоксия способствует переходу стволовых клеток опухоли в активное состояние, результатом чего является экспрессия HIF-1 и VEGF и формирование новой сосудистой сети. Таким образом одним из факторов развития глиомы и ее агрессивного роста является сформированная сосудистая сеть.

Лечение пациентов с глиальными опухолями по-прежнему остается предельно актуальной проблемой современной нейроонкологии. Выживаемость больных с глиомами высокой степени злокачественности остается крайне низкой. Однако, открытие и введение в широкую клиническую практику новых групп препаратов, направленных на ингибирование процессов ангиогенеза, позволило по-новому взглянуть на данную проблему. Антиангиогенные лекарственные средства отличаются от традиционных цитотоксических препаратов тем, что воздействуют на нормальные эндотелиоциты, а не на опухолевые клетки. Рост и регрессия кровеносных капилляров определяется несколькими ключевыми механизмами. Комбинированное воздействие одновременно на несколько механизмов, модулирующих ангиогенез, возможно будет более эффективным способом лечения пациентов. Учитывая тот факт, что первые результаты применения антиангиогенных препаратов в клинической практике далеки от идеальных, большое количество новых экспериментальных лекарственных средств поступает на этапы клинических исследований. Бесспорно, комплексный подход к изучению процессов неангиогенеза, биологии «стволовых клеток глиомы», роли факторов клеточного роста, а также продолжение фундаментальных и клинических исследований позволят уже в ближайшем будущем открыть новые механизмы глиомогенеза и разработать современные эффективные методы лечения не только глиальных, но и других опухолей.

*Исследование выполнено за счет гранта
Российского научного фонда (проект № 14-32-
00006)*

ЛИТЕРАТУРА

1. Коновалов А.Н., А.А. Потапов, В.А. Лошаков и др. Стандарты, рекомендации и опции в лечении глиальных опухолей головного мозга у взрослых // Журнал вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. – 2006. – №2. – С.3-1.
2. Albani P. Dell' Stem cell markers in gliomas // Neurochemical Research. – 2008. – Vol.33. – P.2407–2415.
3. Baeriswyl V., Christofori G. The angiogenic switch in carcinogenesis // Seminars in Cancer Biology. – 2009. – Vol.19. – P.329–337.
4. Baluk P., Hashizume H. Cellular abnormalities of blood vessels as targets in cancer // Current Opinion in Genetics and Development. – 2005. – Vol.15. – P.102–111.
5. Beniashvili D.S., Anisimov V.N. Morphology of experimentally induced tumors of the sympathetic nervous system in rats // Experimental and Toxicologic Pathology. – 2004. – Vol.56. – P.53–58.
6. Bergers G., Benjamin L.E. Tumorigenesis and the angiogenic switch // Nature Reviews Cancer. – 2013. – Vol.3. – P.401–410.
7. Blouw B., Song H., Tihan T. et al. The hypoxic response of tumors is dependent on their microenvironment // Cancer Cell. – 2003. – Vol.4. – P.133–146.
8. Bulnes S., Bengoetxea H., Ortuzar N. et al. Endogenous experimental glioma model, links between glioma stem cells and angiogenesis // Glioma— Exploring Its Biology and Practical Relevance. – «InTech». – 2011.
9. Bulnes S., García-Blanco A., Bengoetxea H. et al. Glial stem cells and their relationship with tumour angiogenesis process // Revista de Neurologia. – 2011. – Vol.52. – P.743–750.
10. Carmeliet P., Jain R.K. Angiogenesis in cancer and other diseases // Nature. – 2010. – Vol.407. – P.249–257.
11. Dvorak H.F. Discovery of vascular permeability factor (VPF) // Experimental Cell Research. – 2006. – Vol.312. – P.522–526.
12. Ferrara N. The biology of VEGF and its receptors // Nature Medicine. – 2003. – Vol.9. – P.669–676.
13. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress // Endocrine Reviews. – 2004. – Vol.25. – P.581–611.
14. Ferrara N. The role of VEGF in the regulation of physiological and pathological angiogenesis // EXS. – 2005. – Vol.94. – P.209–231.
15. Ferrara N. Binding to the extracellular matrix and proteolytic processing: two key mechanisms regulating vascular endothelial growth factor action // Molecular Biology of the Cell. – 2010. – Vol.21. – P.687–690.
16. Folkman C., Shaked Y., Man S. et al. Glioma tumor stem-like cells promote tumor angiogenesis and vasculogenesis via vascular endothelial growth factor and stromal-derived factor 1 // Cancer Research. – 2009. – Vol.69. – P.7243–7251.
17. Folkman J., Angiogenesis // Annual Review of Medicine. – 2006. – Vol.5. – P.1–18.
18. Grunewald F.S., Prota A.E., Giese A. et al. Structure-function analysis of VEGF receptor activation and the role of coreceptors in angiogenic signaling // Biochimica et Biophysica Acta. – 2010. – Vol.18. – P.567–580.
19. Hadjipanayis C.G., Van Meir E.G. Brain cancer propagating cells: biology, genetics and targeted therapies // Trends in Molecular Medicine. – 2009. – Vol.15. – P.519–530.
20. Hashizume H., Baluk P., Morikawa S. et al. Openings between defective endothelial cells explain tumor vessel leakiness // American Journal of Pathology. – 2000. – Vol.156. – P.1363–1380.
21. Helmlinger J.M., Li Z., Lathia J.D. Hypoxia inducible factors in cancer stem cells // British Journal of Cancer. – 2010. – Vol.102. – P.789–795.
22. Holash, J., Maisonpierre, P.C., Compton D. et al. Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF // Science. – 1999. – Vol.284. – P.1994–1998.
23. Jagannathan J., Prevedello D. M., Aaron S. et al. Cellular signaling molecules as therapeutic targets in glioblastoma multiforme // Neurosurg. Focus. – 2006. – Vol.20. – №4. – P.4-9.
24. Jensen R.L. Hypoxia in the tumorigenesis of gliomas and as a potential target for therapeutic measures // Neurosurgical Focus. – Vol.20. – P. E24.
25. Jin K.L., Mao X.O., Nagayama T. et al. Induction of vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible factor-1 α by global ischemia in rat brain // Neuroscience. – 2000. – Vol.99. – P.577–585.
26. Jin K., Zhu Y., Sun Y. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates neurogenesis in vitro and in vivo // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2002. – Vol.99. – P.11946–11950.
27. Kaur B., Khwaja F.W., Severson E.A. et al. Hypoxia and the hypoxia-inducible-factor pathway in glioma growth and angiogenesis // Neuro-Oncology. – 2005. – Vol.7. – P.134–153.
28. Ke L.D., Shi Y.X., Im S.A. et al. The relevance of cell proliferation, vascular endothelial growth factor, and basic fibroblast growth factor production to angiogenesis and tumorigenicity in human glioma cell lines // Clinical Cancer Research. – 2000. – Vol.6. – P.2562–2572.
29. Li Z., Bao S., Wu Q. et al. Hypoxia-inducible factors regulate tumorigenic capacity of glioma stem cells // Cancer Cell. – 2009. – Vol.15. – P.501–513.
30. Marti H.J.H., Bernaudin M., Bellail A. et al. Hypoxia induced vascular endothelial growth factor expression precedes neovascularization after cerebral ischemia // American Journal of Pathology. – 2000. – Vol.156. – P.965–976.
31. Ment L.R., Stewart W.B., Fronc R. et al. Vascular endothelial growth factor mediates reactive angiogenesis in the postnatal developing brain // Developmental Brain Research. – 1997. – Vol.100. – P.52–61.
32. Mikkelsen T., Reardon D.A. Antiangiogenic therapy for glioblastoma: new directions // The Angiogenesis Foundation. – 2010. – P.1-5.
33. Plate, K.H. Mechanisms of angiogenesis in the brain // Journal of Neuropathology and Experimental Neurology. – 1999. – Vol.58. – P.313–320.
34. Popescu A.M., Purcaru S.O., Stoleru B. et al. Angiogenesis and vascular endothelial growth factor in malignant gliomas // Current health sciences journal. – 2013. – Vol.39. – N1. – P. 5-10.
35. Risau W. Mechanisms of angiogenesis // Nature. – Vol.38. – P.671–674.
36. Rosenstein J.M., Krum J.M. New roles for VEGF in nervous tissue—beyond blood vessels // Experimental Neurology. – 2004. – Vol.187. – N2. – P.246–253.

37. Schiffer D., Annovazzi L., Caldera V. On the origin and growth of gliomas // *Anticancer Research*. – 2010. – Vol.30. – P.1977–1998.
38. Semenza G.L. Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics // *Oncogene*. – 2010. – Vol.29. – P.625–634.
39. Siegelin M. D., Raskett C. M., Gilbert C. A. et al. Sorafenib exerts anti-glioma activity in vitro and in vivo // *Neurosci Lett*. – 2010. – Vol. 478. – N.3. – P.165–170.
40. Storkebaum E., Lambrechts D., Carmeliet P. VEGF: once regarded as a specific angiogenic factor, now implicated in neuroprotection // *BioEssays*. –2004. – Vol.26. – P.943–954.
41. Tate M.C., Aghi M.K. Biology of Angiogenesis and Invasion in Glioma // *Neurotherapeutics*. – 2009. – Vol.6. – P.447–457.
42. Vajkoczy P., Farhadi M., Gaumann A. et al. Microtumor growth initiates angiogenic sprouting with simultaneous expression of VEGF, VEGF receptor-2, and angiopoietin-2 // *The Journal of Clinical Investigation*. – 2002. – Vol.109. – P.777–785.
43. Wang H., Xu T., Jiang Y. et al. The Challenges and the Promise of Molecular Targeted Therapy in Malignant Gliomas // *Neoplasia*. – 2015. – Vol.17. – P.239–255.
44. Wenger R.H., Gassmann M. Oxygen(es) and the hypoxia-inducible factor // *Oncogene*. – 2011. – Vol.31. – P.624–634.
45. Wong M. L. H., Prawira A., Kaye A.H. Tumour angiogenesis: its mechanism and therapeutic implications in malignant gliomas // *Journal of Clinical Neuroscience*. – Vol.16. – P.1119–1130.
46. Yancopoulos G.D., Davis S., Gale N. W. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation // *Nature*. – Vol. 40. – P.242–248.
47. Yang M. H., Wu K.J. TWIST activation by hypoxia inducible factor-1 (HIF-1): implications in metastasis and development // *Cell Cycle*. – 2008. – Vol.7. – P.2090–2096.
48. Zagzag D., Friedlander D.R., Margolis B. et al. Molecular events implicated in brain tumor angiogenesis and invasion // *Pediatric Neurosurgery*. – 2000. – Vol.33. – P.49–55.
49. Zeppernick F., Ahmadi R., Campos B. et al. Stem cell marker CD133 affects clinical outcome in glioma patients // *Clinical Cancer Research*. – 2008. – Vol.14. – P.123–129.

*V.A. Byvaltsev^{1,2,3,4}, I.A.Stepanov¹, E.G.Belykh²,
A.I.Yarullina^{1,4}*

Molecular aspects of angiogenesis in brain glioblastomas

¹ Irkutsk State Medical University

² Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology

³ Clinical Hospital on the Irkutsk-Passazhirsky Railway Station

⁴ Budker Institute of Nuclear Physics, Novosibirsk

It is known that angiogenesis plays a critical role in the growth and progression of brain gliomas. Inducing factor in neoangiogenesis are changes primarily occur within the intratumoral events: changing the structure of the microvasculature of tumor tissue, increased hypoxia adaptation of tumor cells and the synthesis of angiogenic factors, cell growth. Due to the location of abnormal blood vessels in the tumor tissue generated chaotic flow of blood, which leads to severe hypoxia – as a key factor in inducing the angiogenesis process. Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) is the main molecule that regulates the growth and progression of glial tumors. Glioma cells, with their inherent properties of stem cells actively synthesized HIF-1. This population of cells called – “glioma stem cells” inducing synthesis of vascular endothelial growth factor (VEGF). It VEGF is central to the process of angiogenesis. A promising area of targeted therapy of brain gliomas is the anti-angiogenic therapy. Applications, both direct and indirect angiogenesis inhibitors, significantly improved the prognosis of patients with glial brain tumors. Undoubtedly an integrated approach to the study of microvascular disturbances, hypoxia, biology and cell behavior of “glioma stem cells” and the role of various factors of cell growth in the tumorigenesis of brain gliomas of the brain allows us to develop new and effective methods of diagnosis and treatment of this disease in the near future.

Key words: brain gliomas, hypoxia, angiogenesis, glioma stem cells, vascular endothelial growth factor, hypoxia-inducible factor 1, antiangiogenic therapy

Поступила в редакцию 17.05.2016 г.