

УДК 61:615.03

## ЗНАЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ АНГИОГЕНЕЗА В РАЗРАБОТКЕ ТАРГЕТНОГО ЛЕЧЕНИЯ РАКА

<sup>1</sup>Барышев А.Н., <sup>1</sup>Киноян А.Л., <sup>1</sup>Волков А.Е., <sup>1,2</sup>Рева И.В.

<sup>1</sup>Школа Биомедицины, ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток,  
e-mail: baryshevalexey7@gmail.com;

<sup>2</sup>Международный медицинский научно-образовательный центр, Ниигата,  
e-mail: avers2@yandex.ru

На сегодняшний день одним из перспективных направлений является таргетная терапия канцерогенеза. В работе рассмотрены вопросы механизмов ангиогенеза, необходимые для разработки стратегии таргетной терапии раковых опухолей. Дана характеристика ангиогенеза в физиологической регенерации в различных структурах организма человека и при малигнизации тканей. Рассмотрен ключевой фактор таргетной терапии рака VEGF. Рассмотрены вопросы строения микроциркуляторного русла в ткани в норме и при формировании злокачественных опухолей. Таргетная терапия направлена на выключение механизмов патогенеза рака и нейтрализацию сигнальных молекул, ответственных за миграцию раковых клеток, нарушение их дифференцировки, разрушение тканей и последующее невыполнение нормальных функций в соответствии с физиологическими запросами организма. Преимущество целевого воздействия таргетной терапии – это разрушительное действие только на малигнизирующиеся клетки, а минус – это необходимость глубокого молекулярного и генетического обследования пациентов. Рассматривается связь между ангиогенезом и остеогенезом. Исследования, проводимые в последние десятилетия, доказали ключевую роль опухолево-ассоциированных кровеносных и лимфатических сосудов в метастазировании и в ингибировании иммунной защиты, опосредованной Т-клетками. Кроме того, опухолевому ангиогенезу и толерантности иммуноцитов к опухолевым клеткам способствует инактивация хемокинов и цитокинов. Терапевтические стратегии, направленные на ингибирование механизмов ангиогенеза, являются перспективными в разработке таргетных стратегий. Проведён анализ имеющихся в арсенале медицинских технологий перспективных направлений.

**Ключевые слова:** канцерогенез, ангиогенез, васкулогенез, малигнизация, опухоль, рак, таргетная терапия

## THE IMPORTANCE OF MECHANISMS OF ANGIOGENESIS IN THE DEVELOPMENT OF TARGET TREATMENT OF CANCER

<sup>1</sup>Baryshev A.N., <sup>1</sup>Kinoyan A.L., <sup>1</sup>Volkov A.E., <sup>1,2</sup>Reva I.V.

<sup>1</sup>Far Eastern Federal University, Vladivostok, e-mail: baryshevalexey7@gmail.com;

<sup>2</sup>International Medical Research and Educational Center, Niigata, e-mail: avers2@yandex.ru

Today, one of the promising areas is targeted therapy for carcinogenesis. The paper deals with the issues of angiogenesis mechanisms necessary for the development of a strategy for targeted therapy of cancer tumors. The characteristic of angiogenesis in the physiological regeneration in various structures of the human body and with the malignancy of tissues is given. The key factor of target therapy for VEGF cancer is considered. The questions of the structure of the microvasculature in the tissue in normal and during the formation of malignant tumors are considered. Targeted therapy is aimed at turning off the mechanisms of cancer pathogenesis and neutralizing the signaling molecules responsible for the migration of cancer cells, impairing their differentiation, tissue destruction and the subsequent failure of normal functions in accordance with the physiological needs of the organism. The advantage of targeting targeted therapy is the destructive effect only on the malignant cells, and the minus is the need for a deep molecular and genetic examination of patients. The relationship between angiogenesis and osteogenesis is considered. Studies conducted in recent decades have proven the key role of tumor-associated blood and lymphatic vessels in metastasis and in inhibiting T-cell-mediated immune defenses. In addition, inactivation of chemokines and cytokines contributes to tumor angiogenesis and tolerance of immunocytes to tumor cells. Therapeutic strategies aimed at inhibiting the mechanisms of angiogenesis are promising in the development of targeted strategies. The analysis of medical technologies available in the arsenal of promising areas.

**Keywords:** carcinogenesis, angiogenesis, vasculogenesis, malignancy, tumor, cancer, targeted therapy

На современном этапе развития онкологии и разработки различных методов лечения, одним из самых перспективных направлений является таргетная терапия раков, основанная на конкретных убедительных данных ключевых звеньев патогенеза рака [1]. Одним из изучаемых механизмов малигнизации различных тканей является ангиогенез в опухолях различной локализации [2]. Часть методов мишеневой терапии рака в целом и ангиогенеза, в частности,

направлена на ингибирование прорастания сосудов в опухоль. В большей степени исследования выполняются на моделях экспериментальных животных, рыбках zebra fish, изучаются транскриптомные профили нейтрофилов, ассоциированные с опухолью, устанавливается значение и их роль в усилении ангиогенеза при малигнизации тканей [3].

В опухоли микроокружение, влияние гипоксии на раковые клетки и роль их ме-

таболитов в индукции ангиогенеза и васкуляризации опухоли остаются на современном этапе наименее изученными вопросами [4]. Результаты исследований Sun H 1, Jia J, Wang X, Ma B, Di L, Song G, Ren J. (2013) показали, что стволовые клетки рака молочной железы CD44+/CD24 обладают значительным проангиогенным потенциалом и активностью [5]. Это дает новые идеи для изучения при разработке таргетных методов лечения.

Исследование Alhawarat F.M., Hammad H.M., Hijawi M.S., (2019) показало, что хеморезистентные и миграционные свойства стволовых клеток крови (CSC) в определенной степени усиливаются при гипоксии. Микроокружение CSC НУР способствует ангиогенезу и миграции опухоли. Гипоксия является ключевым игроком в ангиогенезе опухоли, опосредованном CSC [6].

Морфологическими особенностями кровеносных сосудов в опухолях являются хаотические ветвящиеся структуры и пористые сосудистые люмены, что приводит к неравномерному поступлению кислорода в микроокружение опухоли. Высокая скорость метаболизма и пролиферации опухолевых клеток еще больше истощает местное снабжение кислородом. Поэтому, гипоксия – это общее явление в множественных опухолях различной локализации. Гипоксия индуцируемые факторы (HIFs) регулируют транскрипцию спектра генов, которые жизненно важны для адаптации опухолевых клеток при гипоксии, и формируют опухолевое микроокружение для более благоприятных условий для прогрессирования. HIFs включаются в почти каждое звено патогенеза рака через индукцию ангиогенеза, метаболического перепрограммирования, метастазов, трофическое обеспечение стволовых клеток рака, хеморезистенции, и иммунной толерантности.

По мнению Abakumova TV, Gening SO, Dolgova DR, (2018), антиангиогенная терапия требует поиска молекулярных маркеров ангиогенеза при раках различной локализации [7]. Диагностическая и прогностическая роль VEGFA в малигнизации на современном этапе противоречива. В цитоплазматической экспрессии VEGF-A авторы не нашли существенных различий в зависимости от реакции на химиотерапию. У 58% пациентов уровень мРНК VEGF был повышен. Не было установлено никакой корреляции между уровнями VEGF сыворотки и транскриптом в опухолевой ткани. Генотипирование показало, что сочетание генотипов CC/ GG снижает риск рецидива в 2,6 раза. Полученные авторами результаты позволили поставить под вопрос значе-

ние изучения сывороточного уровня VEGF для оценки чувствительности онкологических пациентов к антиангиогенным препаратам.

Более поздние исследования показали значимость VEGF в малигнизации тканей различной локализации и определило этот фактор одним из ключевых в таргетной терапии рака. Экспрессия маркеров активации CD69 и CD25 на Т-клетках с VEGFR2-экспрессирующими клетками составила 41% и 48%, а продукция IL-2 и IFN- $\gamma$ -470 пг/мл и 360 пг/мл соответственно. Экспрессия маркера дегрануляции CD107a составила 30%, а цитотоксическая активность Т-клеток достигла более 30% при соотношении Е:Т 9: 1. Анти-VEGFR2, но не Т-клетки опосредовали специфический лизис 293-KDR клеток, с экспрессией VEGFR2 и может рассматриваться в качестве кандидата на мишеневые структуры для Т-клеточной иммунотерапии твердых опухолей [8].

Твердые опухоли, которые ответственны за более чем 85% случаев смерти от рака, нуждаются в ангиогенезе для их роста и метастазирования. Среди антиангиогенных методов лечения перспективной стратегией было нацеливание на сосудистый эндотелиальный рецептор 2 фактора роста (VEGFR2), который чрезмерно выражен на опухолевых сосудах [9].

Синтезирована серия новых ангиогенных препаратов, N 9-гетеробивалентных  $\beta$ -карболинов. Все новые соединения были проверены на их противораковую активность против шести опухолевых клеточных линий *in vitro*, часть из них показала сильный цитотоксический эффект. Были также оценены противоопухолевые эффективности смесей этих препаратов на моделях мышей, опухолевое ингибирование через ангиогенез ингибирующий эффект достигнуто в более, чем 40% в саркомах и раке лёгких Льюиса [10].

Результаты Wichaiyo S, Lax S, Montague SJ, Li Z, (2018) показали, что в отличие от дефектов коагуляции, кровотечения после потери целостности сосудов, вызванной дефицитом тромбоцитов CLEC-2 и GPVI, способствуют восстановлению сосудов, увеличивая отложение фибриногена, уменьшая воспаление и способствуя ангиогенезу [11].

Обычно таргетное лечение направлено на регресс опухолевого роста и появления метастазов. Благодаря блокировке процесса клеточного деления и остановке кровоснабжения с помощью таргетных препаратов нарушается нормальное развитие опухоли, что постепенно оборачивается ее естественным отмиранием. Несомненное преимущество целевого воздействия, которым об-

ладает таргетная терапия, разрушительное действие только на малигнизирующиеся клетки. Целенаправленность дает возможность угнетать развитие злокачественной онкологии легочной системы, почек, груди у женщин естественным путем и без побочных эффектов и последствий. Минусами таргетной терапии является необходимость глубокого молекулярного и генетического обследования пациентов для подбора максимально действенного средства.

Для разрушения сосудистой сети в опухоли используют авастин, что делает невозможным дальнейшую малигнизацию ткани. Препарат показал высокий эффект при почечной, легочной и молочножелезистой патологии. Герцептин останавливает малигнизацию, воздействуя на различные факторы данного процесса, улучшая прогноз на 30–45 %, что улучшает медиану выживаемости.

Быстрое развитие лекарственной противораковой индустрии ведёт к пополнению арсенала таргетной терапии, расширяющим диапазон применения в онкологии.

Derosa L, Bayar MA, Albiges L, Le Teuff G, Escudier B. (2019) считают, что одним из важнейших факторов риска и перспективных показателей выживаемости пациентов с раком различной локализации является степень развития микроциркуляторного русла в опухоли [12].

Росту аномальных кровеносных и лимфатических сосудов в опухоли способствуют условия гипоксии, низкая рН, и повышенное давление жидкости. Эти аномалии способствуют прогрессированию опухоли, иммуносупрессии и резистентности к лечению. В 2001 году была выдвинута новая гипотеза о том, что адекватное использование препаратов, подавляющих ангиогенез для репрессии трофики опухолей быстро нормализует сосуды опухоли и улучшает действие противоопухолевых препаратов, вводимых во время периода нормализации. В дополнение к предоставлению доклинических и клинических доказательств в поддержку этой гипотезы, были выявлены основные молекулярные механизмы их действия. Для использования различных стратегий нормализации трофики тканей следует учитывать также изменения матрикса ткани, изменяющих кровотоки в микроциркуляторном русле.

Суперсемейство рецепторов фактора некроза опухоли (ТНФ) включает остеопротегерин (ОПГ) и его лиганды, которые являются активаторами рецепторов ядерного фактора каппа-б лиганд (Ранкл) и связаны с ТНФ апоптоз-индуцирующим лигандом. Система OPG / RANKL / RANK играет активную роль в патологическом ангиогенезе

и воспалении, а также выживании клеток. Наличие перекрестных взаимодействий между эндотелиальными клетками и остеобластами в процессе остеогенеза свидетельствует о связи между ангиогенезом и остеогенезом. Система OPG / RANKL/RANK / TRAIL действует на определенные рецепторы поверхности клеток, которые затем могут передавать свои сигналы другим внутриклеточным компонентам и изменять экспрессию генов. Цитокиновая индукция рецепторов индуцирует механизмы активации моноцитов и нейтрофилов, а также эндотелиальных клеток. Полученные данные Rochette L, Meloux A, Rigal E, Zeller M, Cottin Y, Vergely C. (2019) подтверждают роль повышенного соотношения OPG / RANKL, как возможного маркера прогрессирования эндотелиальной дисфункции при метаболических нарушениях в соотношении с уровнем воспалительного маркера [13]. Мы рассматриваем роль триады OPG / RANKL / RANK в сосудистой функции, а также молекулярные механизмы, связанные с этиологией сосудистых заболеваний. Потенциальные терапевтические стратегии, направленные для ингибирования механизмов ангиогенеза, являются перспективными в разработке таргетных стратегий в будущем.

Исследования, проводимые в последние десятилетия, убедительно доказали ключевую роль опухолево-ассоциированных кровеносных и лимфатических сосудов в метастазировании и в ингибировании иммунной защиты, опосредованной Т-клетками. Доказано, что рост опухоли и кровеносных сосудов частично регулируется иммунной системой с участием инфилтративных врожденных, а также адаптивных иммунных клеток, обеспечивающих как иммуносупрессивные, так и различные ангиогенные сигналы. Опухолевому ангиогенезу и толерантности иммуноцитов к опухолевым клеткам способствует инактивация хемокинов и цитокинов. Регуляция врожденных и адаптивных иммунных клеток в регуляции ангиогенеза при прогрессировании опухоли и метастазах зависит от новых терапевтических подходов, которые будут мишеневе направлены не только на сосудистую систему опухоли, но и на иммунную составляющую для поддержания и улучшения консервативной терапевтической эффективности при раке.

Селективное ингибирование мутантного белка BRAF является перспективным терапевтическим подходом для пациентов с меланомой, ассоциированной с мутацией BRAF. Несмотря на замечательный клинический ответ, организм большинства пациентов проявляет сопротивление ингибитору BRAF

на молекулярном уровне. Были созданы четыре лекарственно стойких клеточных линий меланомы из парных первичных метастатических клеточных линий с использованием аналога препарата vemurafenib PLX4720. Три из устойчивых клеточных линий показали снижение роста после отмены препарата, но клеточная линия (WM278) прогрессивно пролиферировала. Кроме того, наблюдалось противоположная ожидаемой реакция, когда препарат способствовал опухолевой прогрессии. При использовании геномного и протеомного подходов, обнаружено значительное изменение между чувствительными и устойчивыми клеточными линиями, о некоторых из которых ранее не сообщалось. В дополнение к нескольким другим изменениям, увеличение количества копий наблюдалось во всех устойчивых клеточных линиях на 8q24.11–q24.12 и 8q21.2. Анализ экспрессии генов показал, что большинство генов, регулирующих устойчивость клеточных линий, были связаны с миграционной активностью клеток и ангиогенезом. Повышенная экспрессия шести белков (ANGPT1, EGFR, Endoglin, FGF2, SerpinE1 and VCAM-1) и снижение экспрессии двух белков (osteopontin and survivin) наблюдались последовательно во всех устойчивых клеточных линиях. Таким образом, новые геномные изменения и модели экспрессии белка связаны с устойчивым фенотипом.

Vasconcelos R.A.T., Guimarães Coscarelli P., Vieira T.M., с соавторами (2019), изучая злокачественные опухоли периферических нервных оболочек (MPNSTs) – редкие и агрессивные саркомы мягких тканей с ранним метастазированием и неясным патогенезом, исследуя плотность тучных клеток (MCD), и микрососудов (MVD), а также индекс пролиферации (Ki-67) в MPNST, сделали вывод, что различные распределения тучных клеток и микрососудов свидетельствуют о том, что ангиогенез в MPNST происходит независимо. Роль тучных клеток в опухолевой прогрессии, по мнению авторов, неясна и не имеет прогностического значения [14]. Это ошибочное заключение, по-нашему мнению, так как тучные клетки являются регуляторами местного гомеостаза. Влияя на проницаемость сосудистой стенки и изменение межклеточного матрикса, способствуя миграции из сосудистого русла лейкоцитарного пула, вызывая отёк ткани вокруг сосудов, с одной стороны, уменьшают трофическое обеспечение структур, а с другой, выделяют множество провоспалительных факторов.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке в рамках государственного задания РФФИ 2014/36 от 03.02.2014 -17.574 0/2017/6.7.*

## Список литературы

1. Martin J.D., Seano G., Jain R.K. Normalizing Function of Tumor Vessels: Progress, Opportunities, and Challenges. *Annu. Rev. Physiol.* – 2019. – V. 81. P. 505–534. DOI: 10.1146/annurev-physiol-020518-114700.
2. Mazzone M., Bergers G. Regulation of Blood and Lymphatic Vessels by Immune Cells in Tumors and Metastasis. *Annu. Rev. Physiol.* – 2019. – V. 81. – P. 535–560. DOI: 10.1146/annurev-physiol-020518-114721.
3. Huo X., Li H., Li Z., Yan C., Agrawal I., Mathavan S., Liu J., Gong Z. Transcriptomic profiles of tumor-associated neutrophils reveal prominent roles in enhancing angiogenesis in liver tumorigenesis in zebrafish. *Sci. Rep.* – 2019. – V. 9(1). – P. 1509. DOI: 10.1038/s41598-018-36605-8.
4. Chiu D.K., Zhang M.S., Tse A.P., Wong C.C. Assessment of Stabilization and Activity of the HIFs Important for Hypoxia-Induced Signalling in Cancer Cells. *Methods Mol. Biol.* – 2019. – V. 1928. – P. 77–99. DOI: 10.1007/978-1-4939-9027-6\_6.
5. Sun H., Jia J., Wang X., Ma B., Di L., Song G., Ren J. CD44+/CD24– breast cancer cells isolated from MCF-7 cultures exhibit enhanced angiogenic properties. *Clin. Transl. Oncol.* 2013. V. 15(1). P. 46–54. DOI: 10.1007/s12094-012-0891-2.
6. Alhawarat F.M., Hammad H.M., Hijawi M.S., Sharab A.S., Abuarqoub D.A., Al Shhab M.A., Zihlif M.A. The effect of cycling hypoxia on MCF-7 cancer stem cells and the impact of their microenvironment on angiogenesis using human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) as a model // *Peer. J.* – 2019. – V. 7. P. e5990. DOI: 10.7717/peerj.5990.
7. Abakumova T.V., Gening S.O., Dolgova D.R., Gening T.P., Antoneeva I.I., Poludnyakova L.V., Kuznetsova T.I., Dergunova Y.A., Panchenko E.G. The vascular endothelial growth factor in patients with advanced ovarian cancer on the background of chemotherapy according to the AP scheme // *Klin. Lab. Diagn.* – 2018. – V. 63(9). – P. 543–548. DOI: 10.18821/0869-2084-2018-63-9-543-548.
8. Hajari Taheri F., Hassani M., Sharifzadeh Z., Behdani M., Arashkia A., Abolhassani M. T cell engineered with a novel nanobody-based chimeric antigen receptor against VEGFR2 as a candidate for immunotherapy. *IUBMB Life.* 2019. Feb 6. DOI: 10.1002/iub.2019.
9. Szász I., Koroknai V., Kiss T., Vizkeleti L., Ádány R., Balázs M. Molecular alterations associated with acquired resistance to BRAFV600E targeted therapy in melanoma cells. *Melanoma Res.* 2019. Feb 6. DOI: 10.1097/CMR.0000000000000588.
10. Guo L., Ma Q., Chen W., Fan W., Zhang J., Dai B. Synthesis and biological evaluation of novel N9–heterobivalent  $\beta$ -carboline as inhibitors // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* – 2019. V. 34(1). – P. 375–387. DOI: 10.1080/14756366.2018.1497619.
11. Wichaiyo S., Lax S., Montague S.J., Li Z., Grygielska B., Pike J.A., Haining E.J., Brill A., Watson S.P., Rayes J. Platelet glycoprotein VI and C-type lectin-like receptor 2 deficiency accelerates wound healing by impairing vascular integrity in mice. *Haematologica.* 2019. Feb 7. pii: haematol.2018.208363. DOI: 10.3324/haematol.2018.208363.
12. Derosa L., Bayar M.A., Albiges .L., Le Teuff G., Escudier B. A new prognostic model for survival in second line for metastatic renal cell carcinoma: development and external validation // *Angiogenesis.* 2019. Feb 9. DOI: 10.1007/s10456-019-09664-2.
13. Rochette L., Meloux A., Rigal E., Zeller M., Cottin Y., Vergely C. The Role of Osteoprotegerin and Its Ligands in Vascular Function // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – V. 20(3). pii: E705. DOI: 10.3390/ijms20030705.
14. Vasconcelos R.A.T., Guimarães Coscarelli P., Vieira T.M., Nogueira W.S., Rapozo D.C.M., Acioly M.A. Prognostic significance of mast cell and microvascular densities in malignant peripheral nerve sheath with and without neurofibromatosis type 1. *Cancer Med.*, 2019. Feb 8. DOI: 10.1002/cam4.1977.