

ФАКТОР РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ И ЕГО РЕЦЕПТОРЫ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ

Д.Н. Кушлинский, И.В. Терешкина, кандидат медицинских наук, В.Г. Дегтярь, доктор химических наук, К.П. Лактионов, доктор медицинских наук, профессор, Л.В. Адамян, академик РАМН, профессор ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова», Москва

E-mail: biochimia@mtu-net.ru

Обзор литературы посвящен анализу клинической значимости ключевых факторов неоваскуляризации у больных раком яичников, их связи с основными клинико-морфологическими характеристиками заболевания, прогнозом, возможностями антиангиогенной терапии.

Ключевые слова: рак яичников, факторы ангиогенеза

ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR AND ITS RECEPTORS IN OVARIAN CANCER

D.N. Kushlinsky, I.V. Tereshkina, V.G. Degtiyar, K.P. Laktionov, L.V. Adamyanyan

Federal State Budgetary Institution «Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after V.I. Kulakov» of the Ministry of Healthcare, Moscow, Russian Federation

A literature review is devoted to the analysis of clinical significance of key factors of neoangiogenesis in ovarian cancer patients, their connection with the main clinical and morphological characteristics of the disease, prognosis, features an anti-angiogenic target therapy.

Key words: ovarian cancer, angiogenic factors

Основоположники молекулярной онкологии D. Hanahan и R. Weinberg [30] выделили несколько достаточно четких характеристик биологии опухолевого роста, и среди них – активацию процессов ангиогенеза в опухоли, направленную на удовлетворение повышенных потребностей быстроделющихся неопластических компонентов в оксигенации.

Неоваскуляризация – сложный и тонко регулируемый процесс образования новых сосудов, связан с активацией 82 генов, необходим для роста опухоли и развития метастазов [43]. Последовательность событий, приводящая к васкуляризации новообразований, может быть отражением этапов физиологического ангиогенеза при заживлении ран и циклическом росте сосудов в органах женской репродуктивной системы, включая развитие фолликула и желтого тела в яичнике, а в эндометрии – во время менструального цикла [55]. Известно, что степень васкуляризации фолликула нарастает в течение лютеиновой фазы менструального цикла, поддерживая уровень предшественников стероидов, что позволяет экспортировать активные стероидные гормоны в эндометрий [38]. Ключевую роль в процессах ангиогенеза играют фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), а также ингибиторы ангиогенеза, и среди них VEGF-Тгар, которые подавляют овуляцию [26, 29]. При этом концентрации белков семейства VEGF внутри фолликула и, в частности, VEGF-A достигают пика перед началом

лютеиновой фазы. При атрезии фолликула к концу лютеиновой фазы повышается уровень ангиогенных ингибиторов [55]. При этом выявлена тесная связь между экспрессией VEGFR-1, рецепторами эстрогенов (РЭ) и p53, что чрезвычайно важно для физиологии яичников [44]. Экспрессия VEGF и его рецепторов регулируется 2 генами, инактивация которых летальна для макроорганизма, так как у экспериментальных животных (с knockout VEGF или VEGF-R) не образуется сосудистая сеть [18], а продукты этих 2 генов не могут заменить какие-либо другие белки. При этом транскрипция мРНК VEGF индуцируется рядом цитокинов, и среди них: PDGF, EGF, фактор некроза опухоли- α (TNF α), TGF- β_1 , интерлейкин- β_1 (ИЛ β_1).

Предположено, что клетки развивающейся опухоли постепенно и безвозвратно приобретают гиперангиогенный фенотип в результате последовательной активации онкогенов [22]. Культивируемые клетки, трансформированные в злокачественные, становятся ангиогенными за несколько дискретных шагов и *in vitro*, и *in vivo*, включая изменение в секреции ингибиторов и увеличение продукции нескольких индукторов ангиогенеза [25].

Пристальный интерес исследователей к проблеме ангиогенеза при раке яичников (РЯ) связан с тем, что он способствует более свободной инвазии клеток в окружающие органы и ткани, облегчая этим процесс метастазирования. Метастазы, в свою очередь, также

могут быть островками активного неоангиогенеза, а следовательно, и опухолевой диссеминации.

Развитие большинства метастатических опухолей регулируется влиянием эндогенных ангиогенных факторов, секретируемых опухолевыми клетками, а также белками внеклеточного матрикса (ВКМ) [6, 24]. При этом развитие метастатической опухоли зависит от наличия рецепторов к индукторам ангиогенеза на поверхности как опухолевых клеток, так и клеток органа, куда метастазируют опухолевые клетки, а также от их протеолитической активности и неоваскуляризации опухоли. Повышенная потребность в кислороде быстро пролиферирующих опухолевых клеток при РЯ обеспечивается ангиогенезом. В определенном смысле опухолевый неоангиогенез можно рассматривать как приспособительный механизм, с помощью которого обеспечиваются метаболические процессы. Важным аспектом в изучении ангиогенеза при РЯ является использование этого показателя в качестве одного из маркеров прогноза болезни, а также такого перспективного направления в современной онкологии, как разработка антиангиогенных препаратов [54].

АНГИОГЕНЕЗ В ОПУХОЛЯХ

Наиболее заметные исследования в области опухолевого ангиогенеза осуществлены в 70-х годах XX века группой ученых под руководством J. Folkman. Исследователи показали, что опухоли, имплантированные в изолированные перфузированные органы, не развивались [23]. Однако, если эти опухоли были имплантированы в глазную камеру в пределах 6 мм от кровеносных сосудов радужной оболочки, в них развивался ангиогенез, они быстро росли и метастазировали [27]. Чтобы опухоль могла развиваться, на каждые 10–100 вновь образующихся опухолевых клеток должна появляться как минимум 1 эндотелиальная клетка (ЭК).

Ангиогенез — сложный морфогенетический процесс, включающий следующие основные стадии: 1) протеолитическое разрушение базальной мембраны сосудов и ВКМ вокруг капилляров; 2) миграция, прикрепление ЭК и их пролиферация; 3) формирование тубулярных структур и образование анастомозов с близлежащими кровеносными сосудами; 4) инициация течения крови по вновь сформированному капилляру [53].

Васкулогенез — процесс образования сосудистой системы из кровяных островков (на раннем этапе развития эмбриона), которые превращаются в эндотелиальную и гемопоэтическую системы. В последние годы стало известно, что низкодифференцированные, агрессивные по своему биологическому поведению опухоли способны к так называемой васкулогенной мимикрии — образованию высокоструктурированных васкулярных каналов, ограниченных

базальной мембраной, в отсутствие ЭК и фибробластов [3]. Существует также гломерулоидный тип васкуляризации; гломерулоидные тельца представляют собой сосудистые агрегаты и наблюдаются при различных опухолях [28].

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ АНГИОГЕНЕЗА В ОПУХОЛЯХ

До недавнего времени основной характеристикой активности неоангиогенеза в опухолях была микроскопическая оценка плотности сосудов в опухолевой ткани с применением иммуногистохимического метода окраски сосудов специфическими маркерами ЭК. Наиболее чувствительным из доступных панэндотелиальных маркеров считается анти-CD31, так как он распознает больше микрососудов, чем другие маркеры (CD34, VIII фактор), хотя специфичность антител к CD31 тоже не абсолютна, поскольку они реагируют с плазматическими клетками [6]. Полуавтоматический подсчет внутриопухолевой плотности сосудов признается более точным методом, а применение компьютерной системы анализа изображения позволяет оценить такие дополнительные морфологические признаки, как количество сосудов внутри «горячего пятна», площадь просвета сосудов и ее периметр, процент иммуноокрашенных областей. Перспективным считается использование радиофармпрепаратов в оценке опухолевого ангиогенеза, а именно моноклональных антител к фибронектину (ED-B+) и лигандов интегрина $\alpha_v\beta_3$, меченных ^{18}F , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In , ^{90}Y . Большой интерес для практических онкологов представляет неинвазивный метод оценки васкуляризации опухолей яичников с помощью доплеровского УЗИ, однако васкуляризация первичной опухоли выше при распространенном и метастатическом РЯ, чем на ранних стадиях [10]. Предложен также метод динамического МРТ-контрастирования; его показатели коррелировали с ангиогенным статусом первичной опухоли и экспрессией VEGF [64]. Интерес вызвали предварительные данные по выявлению и изучению фокусов экспрессии VEGF и VEGFR-2 методом позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) [46].

Поскольку VEGF является ключевым активатором ангиогенеза, до настоящего времени не решен вопрос, где следует определять его содержание: в сыворотке или плазме крови, лейкоцитах, тромбоцитах, в перитонеальной жидкости, первичной опухоли у больных РЯ [39]. Самые высокие концентрации VEGF обнаружены в цитозолях опухолей [39].

МАРКЕРЫ АНГИОГЕНЕЗА

Продemonстрировано наличие ряда регуляторных эндогенных ангиогенных маркеров, среди которых наиболее значимыми считаются: VEGF, ангиопоэтины 1 и 2, ИЛ6, 8, PlGF, PD-ECGF, aFGF, TNF α ,

bFGF, TGF α , TGF β , GM-CSF, интегрин $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_1$, E-кадхерин, MMP, COX-2, хемокины, эфрины, uPA, tPA, а также эндогенные антиангиогенные факторы: VEGF-R1, sVEGF-R1, ангиопоэтин 2, тромбоспондин-1, -2, ангиостатин, кринглины плазминогена, эндостатин, вазостатин, TIMPs, гепарин, PAI-1, интерферон (ИФН) α , β , γ , IP-10, ИЛ4, 6, 12, 18, пролактин, динамический баланс которых обеспечивает формирование и распространение новых сосудов внутри опухоли [7]. Интерес у исследователей вызывает изучение экзогенных про- и антиангиогенных факторов [38].

Несмотря на то, что уровни сывороточного VEGF считаются независимым прогностическим маркером РЯ уже с конца XX столетия, в литературе представлен ряд генетических маркеров ангиогенеза, которые находятся на стадии исследования; среди них: 3 одновременно выявленных единичных нуклеотидных полиморфизма, связанных с повышенной продукцией VEGF и, как следствие, снижающих общую выживаемость пациенток при РЯ [32]; профиль 34 ангиогенных генов, предсказывающих продолжительность общей выживаемости больных РЯ [43]; высокая экспрессия ангиогенных маркеров *STC2*, *EGFL6*, *FZD10* ЭК в опухолях, что ассоциируется с низкими показателями безрецидивной выживаемости больных РЯ [15].

Представлены данные по использованию других биомаркеров ангиогенеза при РЯ. Так, высокое содержание сывороточного ИЛ6 позволяет рассматривать этот цитокин в качестве маркера агрессивного течения РЯ и планировать выбор объема хирургического вмешательства [1]. Чрезмерная секреция ИЛ6 наряду с TGF β подавляет иммунный ответ к опухолевым клеткам и усиливает формирование васкуляризированной стромы, без которой опухоль не может развиваться до клинически значительных размеров [35]. Предвестником рецидива после таргетной терапии больных РЯ может служить ИЛ8, который играет важную роль в механизмах ангиогенеза и туморогенеза независимо от VEGF [45]. Показано, что *ИЛ8 А-252Т* полиморфизм может служить молекулярным маркером базовой BEV химиотерапии больных РЯ [60], а *pAKT* – предиктором резистентности к иматинибу [61].

Известно, что микроокружение опухоли формируется гетерогенной популяцией клеток, а стимуляция эндотелия опухолевых сосудов ангиогенными факторами, продуцируемыми клетками самой опухоли, привлекает в опухолевое поле макрофаги, лимфоциты, тромбоциты, тучные клетки, участвующие в воспалительных реакциях. ЭК усиливают ангиогенный сигнал и сами продуцируют ряд цитокинов, которые способствуют митогенной стимуляции эндотелия [53]. ЭК вновь образованных сосудов внутри опухоли являются более зависимыми от VEGF как митогена на выживание по сравнению

с ЭК сосудов в других областях тела человека [36]. В результате продолжительной митогенной стимуляции ЭК сосудов опухоли приобретают ангиогенный фенотип и постепенно теряют чувствительность к антипролиферативным сигналам [9]. Важной особенностью сосудов, питающих опухоль, является их повышенная проницаемость. Причиной этого служит усиленная продукция опухолевыми клетками вазодилатора оксида азота (NO) на фоне гиперэкспрессии VEGF.

В процессах дезинтеграции базальной мембраны важную роль играют также MMP, секретирующиеся клетками опухоли и макрофагами, включая MMP-2, экспрессия которой активируется VEGF-A [69]. Наряду с активным протеолизом базальной мембраны происходит активная экспрессия опухолевыми клетками ангиопоэтинов, а ангиопоэтин-2 совместно с VEGF вызывают локальную деструкцию сосуда, что способствует активизации процесса васкулярного ремоделирования ткани и миграции пролиферирующих ЭК при участии секретируемых опухолью MMP [69]. Инвазия эндотелия в соединительнотканый матрикс сопровождается усиленной экспрессией ими трансмембранных белков-интегринов ($\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$), которые играют важную роль в васкулогенезе [63], а также таких факторов адгезии, как ICAM и VCAM. Факторы адгезии обеспечивают накопление мононуклеаров в васкулярной зоне, последние активируют пролиферацию и миграцию ЭК, а ICAM опосредуют прикрепление ЭК к ВКМ.

ФАКТОР РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ

VEGF – гомодимерный, сильно гликированный белок с молекулярной массой 46–48 кД. Семейство VEGF включает 7 ростовых факторов: VEGF-A (более раннее обозначение – VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E и плацентарные ростовые факторы (PlGF-1, PlGF-2) [33]. Продукция указанных выше факторов в клетках опухолей зависит от их гистогенеза. По структуре VEGF представлен в 5 изоформах – VEGF(121), VEGF(145), VEGF(165), VEGF(189) и VEGF(206), которые различаются по длине полипептидной цепи, имеют сходную биологическую активность и отличаются по биологической доступности [51]. VEGF может становиться доступным для ЭК с помощью, по крайней мере, двух различных механизмов: как свободный, полностью растворимый белок – VEGF(121) и VEGF(165) – или в результате активации протеаз и расщепления более крупных изоформ. Основными растворимыми формами VEGF являются молекулы размером 121 и 165 аминокислотных остатков, они же являются и основными биологически активными формами VEGF, тогда как белки большого размера обычно остаются прикрепленными к поверхности клеток [51]. Считается, что в секретирующихся

VEGF нормальных и опухоль-трансформированных клетках основной изоформой VEGF является VEGF(165).

Обсуждается несколько механизмов, с помощью которых VEGF активирует неоангиогенез. Так, VEGF стимулирует пролиферацию ЭК, увеличивает их миграционную способность и частично активирует гены, участвующие в протеолизе [33]. В большинстве тканей человека эти эффекты могут синергично усиливаться другими ангиогенными факторами (например, bFGF). Выживаемость активированных ЭК и соответственно вновь сформированных микрососудов также является VEGF-зависимой, поскольку обладает способностью предотвращать апоптотическую гибель ЭК [11]. При искусственном снижении уровня VEGF происходит регрессия недавно образованных капилляров в опухоли, но не капилляров в неизменной ткани [13].

Транскрипция мРНК VEGF индуцируется различными факторами роста и цитокинами (PDGF, EGF, TNF α , TGF β_1 , ИЛ β_1) [11].

Многие злокачественные опухоли органов женской репродуктивной системы активно экспрессируют VEGF, и среди них рак молочной железы, яичников и эндометрия [2].

Показано, что VEGF усиливает проницаемость сосудов (перитонеальных капилляров), вызывая образование асцита при РЯ. В экспериментальных моделях РЯ показано, что блокада продукции VEGF ингибировала образование асцита и замедляла опухолевый рост [17]. Помимо VEGF, в клетках РЯ обнаружена экспрессия ряда полипептидных факторов роста, активно участвующих в механизмах неоангиогенеза (VEGF – у 43–67% больных, EGF – у 31–57%, TGF α – у 35–62%, TGF β – у 66–75%, IGF – у 33–100%) [52]. Авторы отмечали, что определение этих факторов роста у больных РЯ дает возможность судить о прогнозе и индивидуально подбирать лечебную тактику. Ретроспективные исследования у больных РЯ выявили экспрессию VEGF, VEGFR-2 и полиморфизм гена *VEGF* [32]. При этом повышенная продукция VEGF при РЯ служила независимым фактором неблагоприятного прогноза. Наряду с VEGF обнаружена повышенная продукция нейропилинов-1 и 2 – белков поверхности клеток РЯ, которые связывают в основном VEGF-A (VEGF-165) и могут действовать как корецепторы, усиливая сигнал VEGF через VEGFR-1.

РЕЦЕПТОРЫ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ

На поверхности ЭК обнаружено 3 рецептора для VEGF, являющихся типичными рецепторными тирозинкиназами [47]. Рецептор VEGF-1 (VEGFR-1) – продукт гена *flt-1*, рецептор VEGF-2 (VEGFR-2) получил название KDR и является человеческим гомологом продукта мышинового гена *flk-1*, рецептор

VEGF-3 (VEGFR-3) – продукт гена *flt-4*. VEGFR-3, в отличие от VEGFR-1 и VEGFR-2, взаимодействует не с классическим VEGF (VEGF-A), а с его гомологом (VEGF-C).

В исследованиях X. Trinh и соавт. [65] показан прямой эффект VEGF-A на пролиферацию клеток РЯ не только через VEGFR-2, но и путем вовлечения АКТ/mTOR сигнального пути. Кроме того, степень специфического связывания фактора роста – рецептор выше у VEGF-B, PlGF-1, PlGF-2 к VEGFR-1, тогда как VEGF-A связывается с обоими рецепторами VEGFR-1 и VEGFR-2. Несмотря на то, что связывающая способность VEGFR-1 в 10 раз выше к VEGF-A, активация этого рецептора менее важна в активации внутриклеточного сигнала, чем VEGFR-2. Стало быть, VEGFR-2 следует считать доминантным рецептором, медирующим проангиогенные функции VEGF-A, и этот путь считается приоритетным в развитии антиангиогенной терапии опухолей. VEGF-C и VEGF-D специфически связываются с VEGFR-3, который считают в большей степени рецептором активации лимфангиогенеза.

Показано, что *flt-1* и *flk-1* обладают разными способностями к передаче сигнала внутрь клетки. Так, образование комплекса *flk-1*/VEGF необходимо для активации всех механизмов действия VEGF в клетках, тогда как связывание VEGF с *flt-1*-рецептором не приводит к значимой стимуляции ЭК. Однако *flt-1* участвует в процессах миграции моноцитов в ответ на действие VEGF. VEGFR-1 обладает самым высоким сродством к VEGF, но (в отличие от VEGFR-2) слабой тирозинкиназной активностью и, следовательно, слабо генерирует сигнал трансдукции [47]. Образование комплекса VEGF/VEGFR-2 необходимо для активации всех механизмов действия VEGF в клетках (стимуляция пролиферации, миграция ЭК), тогда как связывание VEGF с VEGFR-1 не приводит к значимой стимуляции ЭК. Полагают, что VEGFR-1 экспрессируется в клетках при некоторых видах рака, где может играть роль при выживании, пролиферации и потенциальной миграции опухолей.

Весьма вероятно, что не только разные типы опухолей могут экспрессировать по-разному VEGFR-1 и VEGFR-2, но это может быть и в разных клетках одного типа опухолей. По крайней мере РЯ, вероятно, относится к такому типу опухолей. Так, на клеточных линиях РЯ человека показано, что некоторые линии клеток экспрессируют только 1 тип рецепторов VEGF [62]. Более того, авторы четко дифференцировали биопсийные образцы РЯ человека по уровню экспрессии в них 2 типов рецепторов VEGF: в 85% образцов РЯ обнаружен средний или очень высокий уровень экспрессии рецепторов VEGFR-2 и только в 15% образцов – средний или очень высокий уровень экспрессии VEGFR-1 [62]. Не менее интересен тот факт, что

в нормальных ЭК яичника VEGFR-2 отсутствовал или выявлялся в незначительных количествах, в то время как в 75% образцов инвазивного РЯ обнаружен этот тип рецепторов [62]. Следовательно, РЯ можно отнести к специфическому типу злокачественных новообразований, в клетках которых имеется (или появляется?) механизм дифференцированного контроля экспрессии VEGFR-1 и VEGFR-2, что открывает новые возможности терапии этих больных.

Многочисленными исследованиями показано, что синтез 3 рецепторов VEGF находится под контролем нескольких факторов, центральным из которых является гипоксия. Зависимая от гипоксии активация гена *VEGF* происходит опосредованно при участии транскрипционного фактора HIF-1, запускающего активационные каскады основных проангиогенных факторов в опухолях [47]. HIF-1-зависимые процессы связаны с увеличением синтеза гликолитических ферментов и факторов роста, стимулирующих ангиогенез. В регуляции биосинтеза рецепторов VEGF активное участие принимает глюкоза: при недостатке глюкозы в среде культуры клеток РЯ в клетках значительно повышаются синтез и секреция VEGF, но резко снижаются синтез и гликирование VEGFR-2 [58]. Такие изменения в синтезе рецепторов VEGF должны приводить к ингибированию процессов неоангиогенеза.

При патологическом неоангиогенезе в яичниках ключевую роль, по-видимому, играет соотношение в клетках яичника VEGF и растворимой формы его рецептора sVEGFR-1 [12]. Не обнаружено различий в концентрациях VEGF и sVEGFR-1 в сыворотке крови у пациенток с серозными кистами яичника, эндометриозом яичника III–IV стадии и РЯ IIIВ–IIIС стадии [12]. Однако авторы показали, что в перитонеальной жидкости уровень VEGF, sVEGFR-1 и их соотношение значительно выше у больных РЯ.

Следовательно, как экспериментальные, так и клинические данные свидетельствуют о возможном участии VEGFR-1 и VEGFR-2 в поддержании роста клеток опухолей, предположительно, через активацию аутокринных сигнальных путей в опухолевых клетках, однако для РЯ большее значение, по-видимому, имеют VEGFR-2.

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ АНГИОГЕНЕЗА В ОПУХОЛЯХ БОЛЬНЫХ РЯ

Остается много нерешенных вопросов, касающихся роли ангиогенных факторов и их ингибиторов в прогрессировании и метастазировании РЯ. При этом известно, что наиболее часто метастазы РЯ поражают брюшную полость и значительно реже развиваются в других органах. Не случайно считают, что РЯ — это «болезнь брюшной полости». Механизмы избыточного метастазирования РЯ до сих пор не изучены. Вместе с тем большинство исследователей счита-

ют VEGF основным ангиогенным фактором при РЯ и указывают, что гиперэкспрессия этого фактора роста тесно связана с развитием метастазов и прогрессированием опухоли. При этом высокие показатели экспрессии VEGF чаще наблюдали на поздних стадиях и у больных, у которых выявлены клетки опухоли в асцитической жидкости.

S. Yamamoto и соавт. [68] установили высокий уровень экспрессии VEGF в карциномах яичников, но не в цистаденомах, при этом экспрессию VEGF выявляли не только в клетках РЯ, но также в клетках стромы и метастазов.

Кроме того, в кровеносных сосудах РЯ обнаружены рецепторы VEGF — Flk-1 и Flt-1, что значительно увеличивает возможность аутокринной стимуляции роста этих новообразований [8].

По данным [4], у преобладающего большинства больных РЯ в III–IV стадиях (78,1%) в первичной опухоли выявлена экспрессия двух и более стимуляторов неоангиогенеза и только в 4,2% случаев отсутствовала экспрессия всех изученных активаторов ангиогенеза (VEGF, bFGF, тимидинфосфорилаза, COX-2). Экспрессия указанных выше ангиогенных активаторов обнаружена не только в клетках опухоли, но и в ЭК.

Японские исследователи провели анализ экспрессии генов VEGF с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в опухоли 178 больных РЯ и показали, что ее уровень не влиял на прогноз для всей когорты пациенток [31]. Но однофакторный регрессионный анализ Кокса выявил тенденцию к ухудшению прогноза при III–IV стадиях РЯ и высокой экспрессии генов VEGF. Более того, развитие резидуальной опухоли яичника также находилось в прямой связи с экспрессией генов VEGF у больных с III–IV стадией РЯ. Авторы полагают, что пациенты с макроскопической резидуальной опухолью и высокой экспрессией генов VEGF могут быть потенциальными кандидатами для анти-VEGF-терапии бевацизумабом.

Многофакторный анализ, проведенный М.М. Высоцким и соавт. [1], позволил доказать, что злокачественный потенциал РЯ тесно связан с продукцией VEGF, и это необходимо учитывать при выборе объема хирургического вмешательства и последующей тактики лечения. Авторы полагают, что у пациенток в репродуктивном возрасте с новообразованиями яичников показаны консервативные органосохраняющие операции лапароскопическим доступом при уровне сывороточного VEGF <600 пг/мл, что указывает на низкий злокачественный потенциал данной опухоли. Высокая онкологическая настороженность необходима в отношении больных с показателями VEGF в сыворотке крови >600 пг/мл, при этом выбор оптимального объема хирургического вмешательства необходимо решать интраоперационно по результатам экспресс-диагностики

макропрепарата. В то же время наличие новообразований яичников у пациенток в постменопаузе следует считать абсолютным показанием (независимо от показателей онкомаркеров и небольших размеров опухоли) к хирургическому лечению на основании повышенного уровня VEGF, что свидетельствует о высоком злокачественном потенциале этих опухолей. У пациенток репродуктивного возраста с пограничными опухолями яичников при высоких значениях сывороточного VEGF (>600 пг/мл) на первом этапе допустима односторонняя аднексэктомия с биопсией контрлатерального яичника и резекцией большого сальника. Кроме того, определение уровня sFas, FasL, эндостатина, ИЛ6, наряду с VEGF в сыворотке крови больных с новообразованиями яичников в сочетании с другими клинико-морфологическими критериями, позволяет дифференцированно подходить к выбору адекватных методов лечения этой категории пациенток.

По данным [5], содержание VEGF в сыворотке крови у практически здоровых женщин, а также с доброкачественными новообразованиями и РЯ составило соответственно $179,7 \pm 13,4$; $267,7 \pm 27,9$ и $597,4 \pm 37,1$ пг/мл, причем у больных РЯ уровень маркера достоверно выше, чем в 2 других группах. Отмечено также, что содержание VEGF достоверно повышалось у пациенток с доброкачественными новообразованиями яичников при увеличении возраста.

Показано, что иммуногистохимическая (ИГХ) оценка микрососудистой плотности в опухоли при РЯ с использованием маркера эндотелиальных клеток CD34 коррелировала с неблагоприятным прогнозом заболевания [50]. По данным [56], ретроспективный ИГХ-анализ РЯ после стандартной неoadъювантной химиотерапии выявил гиперэкспрессию VEGF в 48% опухолей и показал, что этот фактор роста может быть использован как независимый маркер неблагоприятного прогноза заболевания.

Однако в недавнем исследовании (участвовали 339 пациенток с первичным РЯ) экспрессия VEGF выявлена только в 7% опухолей, что можно объяснить использованием авторами различных антител к VEGF, несовершенством системы подсчета и рядом других методических особенностей ИГХ-метода изучения ангиогенеза. Авторы полагают, что антиангиогенная терапия должна использоваться только у небольшого числа больных РЯ [20].

W. Schoell и соавт. [59] подтвердили полученные ранее данные о зависимости длительности общей выживаемости больных РЯ от активности неоангиогенеза, при этом повышенная васкуляризация опухоли ухудшала исход болезни. Эти результаты подтверждены в более раннем исследовании Н. Hollingsworth и соавт. [34], которые показали, что неоваскуляризация имеет существенное значение для прогноза безрецидивного периода и длительности общей выживаемости больных РЯ.

АНТИАНГИОГЕННАЯ ТЕРАПИЯ РЯ

С середины 80-х годов прошлого столетия ведется активный поиск ингибиторов ангиогенеза в лечении различных опухолей, в том числе и РЯ. Однако предклинические испытания большого числа таких соединений продолжаются до настоящего времени. При этом известно, что многие соединения ингибируют ангиогенез, но не имеют противоопухолевого эффекта, хотя некоторые из них вызывают и регрессию опухоли. Вместе с тем многие авторы полагают, что целенаправленное подавление экспрессии VEGF и(или) его эффектов может стать перспективным подходом при разработке новых схем адъювантной терапии рака.

Известно, что при антиангиогенной терапии риск побочных эффектов ниже, чем при химиотерапии. Кроме того, для ингибиторов ангиогенеза, в отличие от химиопрепаратов, не характерно развитие в короткие сроки резистентности опухоли [7]. Последнее расширяет терапевтические возможности антиангиогенных препаратов, позволяет варьировать их дозы и длительность приема без потери эффективности их противоопухолевого действия. Клинические наблюдения показали, что противоопухолевый эффект антиангиогенных препаратов у человека в большинстве случаев выражается в стабилизации опухолевого процесса, что сопровождается прекращением или значительным замедлением роста первичных опухолей и подавлением их метастатической активности [57]. Сочетание 2 принципиально разных подходов, используемых в терапии злокачественных опухолей, основанных как на прямом цитотоксическом воздействии на опухолевые клетки, так и опосредованном (через подавление кровоснабжения опухолевой ткани), возможно, позволит существенно повысить эффективность противоопухолевого лечения.

В отличие от традиционных противоопухолевых препаратов, мишенью которых являются различные клетки (в том числе и опухолевые), действие большинства антиангиогенных препаратов избирательно направлено на подавление пролиферации ЭК сосудов опухоли. Мишенью таргетных антиангиогенных препаратов являются VEGF-лиганд, ингибиторы тирозинкиназ – рецепторы VEGF и растворимые формы рецепторов VEGF [42, 48].

Среди ингибиторов ангиогенеза отмечены также регуляторы иммунитета и, в частности, ИФНа, γ , ИЛ12, хемокины – GRO- β , MIG, белок, индуцирующий экспрессию ИФН γ (IP-10), тромбоцитарный фактор 4 (PF4). Антиангиогенные свойства проявили компоненты ВКМ – гепарин, глюкуроновая кислота, хондроитинсульфат. К физиологическим ингибиторам ангиогенеза относят sVEGFR и sFGFR, которые способны конкурентно ингибировать взаимодействие ангиогенных факторов роста с рецепторами на поверхности ЭК. В соответствии

с классификацией J. Folkman эти препараты следует относить к прямым ингибиторам ангиогенеза, непосредственно влияющим на ЭК.

Среди физиологических ингибиторов ангиогенеза выделяют ангиостатин и эндостатин. Оба ингибитора представляют собой пептидные фрагменты физиологических белков организма. Генная терапия – один из перспективных подходов, позволяющих использовать ренатурированные и гликированные ангиостатин и эндостатин непосредственно в опухолевой ткани. Однако проблема гликирования является опухолеспецифической и должна рассматриваться в каждом конкретном случае. Кроме того, характер и степень гликирования ангиостатина оказывает большое влияние на время полужизни белка в крови и его биологические функции, что во многом определяет эффективность лечения.

Мощным физиологическим ингибитором ангиогенеза является эндостатин – полипептид, являющийся протеолитическим фрагментом коллагена XVIII [49]. Ингибирующее действие эндостатина на ЭК связано с подавлением экспрессии белков, ингибирующих апоптоз (Bcl-2 и Bcl-x1), что в итоге приводит к гибели клетки [49]. Кроме того, антиангиогенное и противоопухолевое действие эндостатина связано с подавлением активности MMP. В экспериментах показано, что эндостатин оказывает более выраженное и стабильное действие в отношении подавления опухолевого роста ряда опухолей, в том числе и РЯ. Механизм проявления противоопухолевого действия эндостатина выражается в опосредованной индукции апоптоза опухолевых клеток.

Однако использовать физиологические ингибиторы ангиогенеза в качестве противоопухолевых препаратов небезопасно, так как они могут быть ингибиторами важных физиологических функций в организме человека. С учетом изложенного пристальное внимание исследователей привлекают различные синтетические ингибиторы ангиогенных процессов, которые обладают способностью к подавлению факторов, активирующих ЭК, или подавляют пролиферацию самих ЭК. Это TNP-470 (AGM1470) – индуктор апоптоза ЭК путем ингибирования циклинзависимых киназ; скволамин – подавляет пролиферацию и миграцию ЭК; комбрета-статин А-4 – подавляет пролиферацию ЭК путем нарушения актинтубулиновых взаимодействий; талидомид – подавляет экспрессию молекул клеточной адгезии (VCAM-1, E-селектинов, $\alpha_v\beta_3$ -, $\alpha_v\beta_5$ -интегринов) ЭК [7].

Одним из направлений в исследовании синтетических ингибиторов ангиогенеза являются препараты, способные ингибировать протеолитическую активность компонентов ВКМ. Среди них выделяют ингибиторы MMP: маримастат и приномастат, которые проходят клинические испытания у больных РЯ [19].

Уже есть публикации об успешном применении антиангиогенной терапии в комбинации с традиционными видами лечения опухолей (такими, как радио-, иммуно- и химиотерапия).

Успешное изучение эффективности антител к VEGF в терапии экспериментальных опухолей послужили основанием для их исследования в клинике [66]. В настоящее время наиболее изученным таргетным антиангиогенным препаратом считается бевацизумаб, который представляет собой рекомбинантные гуманизированные моноклональные антитела к VEGF-лиганду и используется, как правило, в комбинациях с химиопрепаратами при лечении РЯ. По данным Американского общества клинической онкологии (ASCO, Gynecologic Oncology Group), несмотря на то, что комбинация карбоплатина и паклитаксела остается на протяжении последнего десятилетия стандартом терапии при распространенном РЯ, добавление бевацизумаба к этой схеме помогло значительно увеличить выживаемость без прогрессирования [37]. По мнению специалистов ASCO, это является крупным достижением в области клинической онкологии за 2010 г. Так, при III–IV стадии РЯ стандартная химиотерапия (карбоплатин и паклитаксел) + бевацизумаб с последующей поддерживающей терапией бевацизумабом позволила увеличить медиану времени до прогрессирования по сравнению с таковой при стандартной химиотерапии (карбоплатин + паклитаксел соответственно 14,1 и 10,3 мес) [16].

В последние годы интерес представляет оральный антиангиогенный ингибитор цедираниб, который используется в лечении резистентного РЯ и ингибирует VEGFR-1, VEGFR-2, PDGFRB и c-kit [67].

Использование препаратов, блокирующих ангиогенез при РЯ, – наиболее эффективный путь, позволяющий избежать внутрибрюшинной диссеминации опухоли. Такая терапия может быть особенно эффективна при дифференцированном влиянии на ангиогенез с использованием препаратов, которые избирательно блокируют VEGF-R2 и могут действовать предположительно не только как антиангиогенные, но и как прямые противоопухолевые средства [62]. Например, в качестве терапии РЯ предложено использовать антиангиогенный препарат алемтузумаб, действие которого основано на подавлении проангиогенного эффекта популяции миелоидных клеток, в первую очередь, васкулярных лейкоцитов и моноцитов [54].

Большой интерес химиотерапевтов привлекает антиангиогенный препарат иматиниб в лечении больных РЯ. Терапевтический эффект иматиниба связан с ингибированием роста клеток РЯ посредством инактивации PDGFR- α [40] и снижением секреции VEGF эпителиальными клетками опухоли. Однако результаты, полученные авторами, неоднозначны. Так, у 16 больных РЯ с резистентностью к

проведенной ранее полихимиотерапии таксанами и препаратами платины никакого эффекта при введении только иматиниба не отмечено [20]. Вместе с тем исследования монотерапии иматинибом продолжают в группе больных с рецидивом РЯ на фоне терапии таксанами и платиной, опухоли которых экспрессируют c-kit, PDGFR или ABL. Большинство исследователей полагают, что иматиниб в комбинации с химиопрепаратами может быть более эффективен у больных РЯ, так как ингибирует апоптоз ЭК [41].

Несмотря на то, что антиангиогенную терапию применяют при многих опухолях у человека, возможно развитие резистентности к антиангиогенным препаратам [14]. Авторы связывают это с прогрессией опухоли на поздних стадиях болезни и, возможно, генетическим фенотипом хозяина. Кроме того, появи-

лись сообщения о том, что антиангиогенная терапия может ускорять метастазирование опухолей [21].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фундаментальная и клиническая значимость маркеров, регулирующих ангиогенез в физиологических и патологических процессах в клетке, продолжает интенсивно изучаться. Исследование факторов, регулирующих ангиогенез в опухолях яичников, несомненно, поможет расширить наши представления о патогенезе этих новообразований. Максимально точное знание роли, которую играют активаторы и ингибиторы этого процесса на разных этапах blastomagenesis яичников, дает ключ к открытию новых диагностических маркеров, мишеней направленной терапии, разработке патогенетических методов лечения и прогностических факторов при РЯ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Высоцкий М.М., Дигаева М.А., Крюк Ю.В. и др. Сывороточные маркеры у больных новообразованиями яичников / *Мат. XVII Российского национального конгресса «Человек и лекарство»* (Москва, 12–16 апреля 2010 г.). – М., 2010. – С. 70.
2. Герштейн Е.С. Молекулярные маркеры опухолей в клинике – история, настоящее и будущее / *Мат. конгресса «Национальные дни лабораторной медицины России»* (4–6 октября 2011 г.) // *Клин. лаб. диагностика*. – 2011; 9: 14.
3. Григорьева И.Н., Соломко Э.Ш., Степанова Е.В. и др. Ингибирование васкулогенной мимикрии – новый подход к противоопухолевой антиангиогенной терапии с использованием нанопрепаратов // *Российский биотерапевт. журн.* – 2010; 9 (3): 9.
4. Дбар Ж.Н. Экспрессия ангиогенных факторов при раке яичников III–IV стадии. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – М., 2003.
5. Дигаева М.А., Бахоева К.А., Крюк Ю.В. и др. Фактор роста эндотелия сосудов и растворимый Fas в сыворотке крови больных новообразованиями яичников / *Мат. Международной конференции «Молекулярная медицина и биобезопасность»* (Москва, 10–11 ноября 2009 г.). – М., ММА им. И.М. Сеченова, 2009. – С. 81–2.
6. Иванцов А.О., Мацко Д.Е. Возможности иммуногистохимического исследования в диагностике опухолей // *Практ. онкол.* – 2011; 12 (4): 185–93.
7. Луценко С.В., Киселев С.М., Фельдман Н.Б. и др. Молекулярные механизмы ангиогенеза в физиологических и патологических процессах / *В кн.: Введение в молекулярную медицину под ред. М.А. Пальцева*. – М., Медицина, 2004. – С. 446–95.
8. Полушкина И.Н., Степанова Е.В., Дбар Ж.Н. Молекулярно-биологические маркеры, характеризующие апоптоз, пролиферацию и ангиогенез при раке яичников // *Вест. РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН*. – 2004; 4: 60–4.
9. Степанова Е.В., Полушкина И.Н., Дбар Ж.Н. и др. Молекулярно-биологические маркеры рака яичников // *Росс. биотерапевт. журн.* – 2002; 4: 14–20.
10. Alc'azar J. Tumor angiogenesis assessed by threedimensional power Doppler ultrasound in early, advanced and metastatic ovarian cancer: a preliminary study // *Ultrasound in Obstetrics and Gynecol.* – 2006; 28 (3): 325–9.
11. Alon T., Hemo I., Iftin A. et al. Vascular endothelial growth factor acts as a survival factor for newly formed retinal vessels and has implications for retinopathy of prematurity // *Nat. Med.* – 1995; 1: 1024–8.
12. Artini P., Ruggiero M., Monteleone P. et al. Vascular endothelial growth factor and its soluble receptor in benign and malignant ovarian tumors // *Pharmacother.* – 2008; (62): 373–7.
13. Benjamine L., Keshet E. Conditional switching of vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in tumors: induction of endothelial cell shedding and regression of hemangioblastoma-like vessels by VEGF withdrawal // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1977; 94: 8761–6.
14. Bergers G., Hanagan D. Models of resistance to anti-angiogenic therapy // *Nat. Rev. Cancer*. – 2008; 8: 592–603.
15. Buckanovich R., Sasaroli D., O'Brien-Jenkins A. et al. Tumor vascular proteins as biomarkers in ovarian cancer // *J. Clin. Oncol.* – 2007; 25 (7): 852–61.
16. Burger R., Brady M., Bookman M. et al. Phase III trial of bevacizumab (BEV) in the primary treatment of advanced epithelial ovarian cancer (EOC), primary peritoneal cancer (PPC), or fallopian tube cancer (FTC): A Gynecologic Oncology Group Study // *J. Clin. Oncol.* – 2010. – 285s (Suppl; abstr. LBA 1).
17. Byrne A., Ross L., Holash J. et al. Vascular endothelial growth factor-trap decreases tumor burden, inhibits ascites, and causes dramatic vascular remodeling in an ovarian cancer model // *Clin. Cancer Res.* – 2003; 9: 5721–8.
18. Carmeliet P., Ferreira V., Breier G. et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele // *Nature*. – 1996; 380: 435–9.
19. Curran S., Murray G. Matrix metalloproteinases: molecular aspects of their roles in tumour invasion and metastasis // *Eur. J. Cancer*. – 2000; 36 (13): 1621–30.
20. Duncan T., Al-Attar A., Rolland P. et al. Vascular endothelial growth factor expression in ovarian cancer: a model for targeted use of novel therapies? // *Clin. Cancer Res.* – 2008; 14 (10): 3030–5.
21. Ebos J., Lee C., Cruz-Munoz W. et al. Accelerated metastasis after short-term treatment with a potent inhibitor of tumor angiogenesis // *Cancer Cell*. – 2009; 15: 232–9.
22. Ferrara N. The role of vascular endothelial growth factor in pathological angiogenesis // *Breast Cancer Res. Treat.* – 1995; 36 (2): 127–37.
23. Folkman J., Long D., Becker F. Growth and metastasis of tumor in organ culture // *Cancer*. – 1963; 453–67.
24. Folkman J. Tumor angiogenesis // *Adv. Cancer Res.* – 1985; 43: 175–230.
25. Folkman J. What is the evidence that tumours are angiogenesis dependent? // *J. Natl. Cancer Inst.* – 1990; 82: 4–6.
26. Fraser H., Wilson H., Rudge J. et al. Single injections of vascular endothelial growth factor trap block ovulation in the macaque and produce a prolonged, dose-related suppression of ovarian function // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2005; 90: 1114–22.
27. Gimbrone M., Leapman S., Cotran R. et al. Tumor angiogenesis: iris neovascularization at a distance from experimental intraocular tumors // *J. Natl. Cancer Inst.* – 1973; 50: 219–28.
28. Gordon M., Mendelson D., Kato G. Tumor angiogenesis and novel antiangiogenic strategies // *Int. J. Cancer*. – 2009; 126 (8): 1777–87.
29. Gospodarowicz D., Abraham J., Schilling J. Isolation and characterization of a vascular endothelial cell mitogen produced by pituitary-derived folliculo-stellate cells // *Proc. Natl. Sci. USA*. – 1989; 86: 7311–5.
30. Hanahan D. Emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis // *Cell*. – 1996; 86: 353–64.
31. Hata K., Watanabe Y., Nakai H. et al. Экспрессия гена фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) при эпителиальном раке яичника: подходы к анти-VEGF терапии // *Int. J. Cancer Res. Treat.* – 2011; 31: 731–8.

32. Hefler L., Mustea A., Konsgen D. et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms are associated with prognosis in ovarian cancer // *Clin. Cancer Res.* – 2007; 13: 898–901.
33. Hicklin D., Ellis L. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis // *J. Clin. Oncol.* – 2005; 23 (5): 1011–27.
34. Hollingsworth H., Kohn E., Steinberg S. et al. Tumor angiogenesis in advanced stage ovarian carcinoma // *Am. J. Pathol.* – 1995; 147 (1): 33–41.
35. Honoki K., Tsujiuchi T., Sasaki Y. et al. Differential expression of cytokines in rat osteosarcoma and malignant fibrous histiocytoma cell lines induced by 4-(hydroxyamino) quinoline -1-oxide // *Mol. Carcinog.* – 2002; 33 (2): 81–7.
36. Kamba T., Tam B., Hashizume H. et al. VEGF-dependent plasticity of fenestrated capillaries in the normal adult microvasculature // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2006; 290: 560–76.
37. Kris M., Benowitz S., Adams S. et al. Успехи клинической онкологии 2010: наиболее значимые достижения в лечении, профилактике и скрининге онкологических заболеваний. Сообщение Американского общества клинической онкологии (ASCO) // *J. Clin. Oncol.* – 2011; 5 (1): 80–101.
38. Kumaran G., Jayson G., Clamp A. Antiangiogenic drugs in ovarian cancer // *Br. J. Cancer.* – 2009; 100: 107.
39. Kut C., Mac Gabhann F., Popel A. Where is VEGF in the body? A meta-analysis of VEGF distribution in cancer // *Br. J. Cancer.* – 2007; 97: 978–85.
40. Matei D., Chang D., Jeng M.-H. Imatinib mesylate (Gleevec) inhibits ovarian cancer cell growth through a mechanism dependent on platelet-derived growth factor receptor α and Akt inactivation // *Clin. Cancer Res.* – 2004; 10 (2): 681–90.
41. Matei D., Emerson R., Schilder J. et al. Imatinib mesylate in combination with docetaxel for the treatment of patients with advanced, platinum-resistant ovarian cancer and primary peritoneal carcinomatosis: a Hoosier Oncology Group trial // *Cancer.* – 2008; 113 (4): 723–32.
42. Matulis U., Berlin S., Ivy P. et al. Cediranib, an oral inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor kinases, is an active drug in recurrent epithelial ovarian, fallopian tube and peritoneal cancer // *J. Clin. Oncol.* – 2009; 27 (33): 5601–6.
43. Mendiola M., Barriuso J., Redondo A. et al. Angiogenesis-related gene expression profile with independent prognostic value in advanced ovarian carcinoma // *PLoS ONE.* – 2008; 3: P. (on line) e4051.
44. Menendez D., Inga A., Snipe J. et al. A single-nucleotide polymorphism in a half-binding site creates p53 and estrogen receptor control of vascular endothelial growth factor receptor 1 // *Mol. Cell Biol.* – 2007; 27: 2590–600.
45. Mizukami Y., Jo W., Duerr E. et al. Induction of interleukin-8 preserves the angiogenic response in HIF-1 α -deficient colon cancer cells // *Nature Medicine.* – 2005; 11 (9): 992–7.
46. Nagengast W., de Vries E., Hospers G. et al. In vivo VEGF imaging with radiolabeled bevacizumab in a human ovarian tumor xenograft // *J. Nuclear Medicine.* – 2007; 48 (8): 1313–9.
47. Neufeld G., Cohen T., Gengrinovitch S. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors // *FASEB J.* – 1999; 13: 9–22.
48. Nimeiri H., Oza A., Morgan R. et al. Efficacy and safety of bevacizumab plus erlotinib for patients with recurrent ovarian, primary peritoneal, and fallopian tube cancer: a trial of the Chicago, PMH, and California Phase II Consortia // *Gynecol. Oncol.* – 2008; 110 (1): 49–55.
49. O'Reilly M., Holmgren L., Shing Y. et al. Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma // *Cell.* – 1994; 79: 315–28.
50. Palmer J., Sant Cassia L., Irwin C. et al. Prognostic value of measurements of angiogenesis in serous carcinoma of the ovary // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2007; 26 (4): 395–403.
51. Park J., Keller G., Ferrara N. The vascular endothelial growth factor (VEGF) isoforms: differential deposition into the subepithelial extracellular matrix and bioactivity of ECM-bound VEGF // *Mol. Biol. Cell.* – 1993; 4: 1317–26.
52. Piccino R., Puopolo M., Rigault De Longrais I. et al. Fattori di crescita e carcinoma epiteliale ovarico // *Minerva Ginecol.* – 2002; 54 (1): 33–52.
53. Pintucci G., Bikfalvi A., Klein S. et al. Angiogenesis and the fibrinolytic system // *Semin. Thromb. Hemost.* – 1996; 22 (6): 517–24.
54. Pulaski H., Spahlinger G., Silva I. et al. Identifying alemtuzumab as an antimyeloid cell antiangiogenic therapy for the treatment of ovarian cancer // *J. Transl. Med.* – 2009; 7: 49 (Published online 2009, June 19).
55. Ramakrishnan S., Subramanian I., Yokoyama Y. et al. Angiogenesis in normal and neoplastic ovaries // *Angiogenesis.* – 2005; 8: 169–82.
56. Raspollini M., Amunni G., Villanucci A. et al. Prognostic significance of microvessel density and vascular endothelial growth factor expression in advanced ovarian serous carcinoma // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2004; 14 (5): 815–23.
57. Rosen L. Antiangiogenic strategies and agents in clinical trials // *The Oncologist.* – 2000; 5: 20–7.
58. Schmidt M., Kammerer U., Seeger S. et al. Glucose metabolism and angiogenesis in granulosa cell tumors of the ovary: activation of Akt, expression of M2PK, TKL1 and VEGF // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2008; 139: 72–8.
59. Schoell W., Pieber D., Reich O. et al. Tumor of angiogenesis as a prognostic factor in ovarian carcinoma: quantification of endothelial immunoreactivity by image analysis // *Cancer.* – 1997; 80: 2257–62.
60. Schultheis A., Lurje G., Rhodes K. et al. Polymorphisms and clinical outcome in recurrent ovarian cancer treated with cyclophosphamide and bevacizumab // *Clin. Cancer Res.* – 2008; 14 (22): 7554–63.
61. Shaw T., Vanderhyden B. AKT mediates the prosurvival effects of KIT in ovarian cancer cells and is a determinant of sensitivity to imatinib mesylate // *Gynecol. Oncol.* – 2007; 105 (1): 122–31.
62. Spannuth W., Nick A., Jennings N. et al. Functional significance of VEGFR-2 on ovarian cancer cells // *Int. J. Cancer.* – 2009; 124: 1045–53.
63. Takada Y., Ye X., Simon S. The integrins // *Genome Biol.* – 2007; 8: 215.
64. Thomassin-Naggara I., Bazof M., Darai E. et al. Epithelial ovarian tumors: value of dynamic contrast-enhanced MR imaging and correlation with tumor angiogenesis // *Radiology.* – 2008; 248 (1): 148–59.
65. Trinh X., Tjalma W., Vermeulen P. et al. The VEGF pathway and the AKT/mTOR/p70S6K1 signalling pathway in human epithelial ovarian cancer // *Br. J. Cancer.* – 2009; 100 (6): 971–8.
66. Wedge S., Ogilvie D., Dukes M. et al. ZD4190: an orally active inhibitor of vascular endothelial growth factor signaling with broad-spectrum anti-tumor efficacy // *Cancer Res.* – 2000; 60 (4): 970–5.
67. Willmott L., Fruehauf J. Targeted Therapy in Ovarian Cancer // *J. Oncol.* – 2009; 2010: 1–9.
68. Yamamoto S., Konishi I. et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in epithelial ovarian neoplasms: correlation with clinico-pathology and patient survival, and analysis of serum VEGF levels // *Br. J. Cancer.* – 1997; 76: 1221–7.
69. Zhang A., Meng L., Wang Q. et al. Enhanced in vitro invasiveness of ovarian cancer cells through upregulation of VEGF and induction of MMP-2 // *Oncology Reports.* – 2006; 15 (4): 831–6.