

УДК 611.664:611.1.018.74

DOI: 10.34215/1609-1175-2021-4-26-33

## Механизмы и регуляторные факторы неоваскуляризации эндометрия

В.М. Черток, А.Е. Коцюба, И.А. Храмова

*Тихоокеанский государственный медицинский университет, г. Владивосток, Россия*

Клеточно-молекулярные механизмы и факторы, регулирующие новообразование кровеносных сосудов матки, относятся также к ключевым звеньям, обеспечивающим процессы репродукции. В ходе ангиогенеза эндотелий экспрессирует ряд рецепторов факторов роста и лигандов, которые контролируют основные этапы формирования клеточного состава стенки сосудов, что, в свою очередь, способствует пролиферации и репарации эндометрия на протяжении менструального цикла, обеспечивают его подготовку к имплантации и плацентации.

**Ключевые слова:** эндометрий, новообразование и ремоделирование капиллярных сетей

Поступила в редакцию 28.04.2021. Получена после доработки 16.05.2021. Принята к печати 22.08.2021.

**Для цитирования:** Черток В.М., Коцюба А.Е., Храмова И.А. Механизмы и регуляторные факторы неоваскуляризации эндометрия. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2021;4:26–33. doi: 10.34215/1609-1175-2021-4-26-33

**Для корреспонденции:** Черток Виктор Михайлович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии человека Тихоокеанского государственного медицинского университета (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2); ORCID: 0000-0002-1107-4561; e-mail: chertokv@mail.ru

## Mechanisms and regulatory factors of endometrial neovascularization

V.M. Chertok, A.E. Kotsyuba, I.A. Khramova

*Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia*

**Summary:** Cellular-molecular mechanisms and factors, regulating uterus vascularization are also a focal point ensuring reproduction processes. In the process of angiogenesis endothelium expresses a number of receptors of growth factors and ligands which control main stages of the cellular makeup during vascular walls formation process. It in turn supports proliferation and reparation of the endometrium during menstrual cycle and prepares for the implantation and placentation.

**Keywords:** endometrium, tumor and remodeling of the capillary network

Received 28 April 2021; Revised 16 May 2021; Accepted 22 August 2021

**For citation:** Chertok V.M., Kotsyuba A.E., Khramova I.A. Mechanisms and regulatory factors of endometrial neovascularization. *Pacific Medical Journal*. 2021; 4:26–33. doi: 10.34215/1609-1175-2021-4-26-33

**Corresponding author:** Victor M. Chertok, MD, PhD, professor, Head of Human Anatomy Department, Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-1107-4561; e-mail: chertokv@mail.ru

В отличие от большинства других органов в матке новообразование капилляров из уже существующих сосудов является естественным физиологическим процессом, проходящим в половозрелом возрасте. Нарушение этого процесса сопровождаются разнообразными и многочисленными заболеваниями матки: доброкачественные и злокачественные опухоли, эндометриоз, аномальные эндометриальные кровотечения, бесплодие и т.д. [1–4].

В новообразовании органной сосудистой сети участвуют два разных, но взаимосвязанных механизма: васкулогенез и ангиогенез. Васкулогенез направлен на дифференцировку и рост новых кровеносных сосудов из мезодермальных гемагиобластов. В течение васкулогенеза ангиобласты пролиферируют и сливаются, образуя примитивную сеть сосудов, известную как первичное капиллярное сплетение [2, 5]. Сеть эндотелиальных клеток, создаваемая в результате васкулогенеза, в дальнейшем служит каркасом для ангиогенеза. Ангиогенез отвечает за ремодулирование и экспансию этой сети.

Ангиогенез представляет собой многоступенчатый процесс образования новых кровеносных сосудов из предсуществующих капилляров посредством миграции и пролиферации зрелых эндотелиальных клеток. Ангиогенез включает в себя преимущественно два механизма: образование эндотелиальных сосудистых отростков (sprouting angiogenesis) и образование сосудов путем инвагинации (intussusceptive angiogenesis). В основе первого механизма лежат процессы миграции, пролиферации эндотелиальных клеток и образования отростков трубчатых структур, второго – инвагинация стенки сосуда, формирование тканевой складки и внутрисосудистой перегородки, а затем нового сосуда [5].

С ангиогенезом – образованием новых сосудов из уже существующих – тесно связаны все основные процессы репродуктивного цикла у женщин: менструация, овуляция, имплантация, плацентация [2, 4]. Недостаточная васкуляризация эндометрия может стать причиной бесплодия, в том числе за счет нарушения процесса имплантации [1, 3]. Ангиогенез

в матке обеспечивает пролиферацию и репарацию ее внутренней оболочки в течение менструального цикла, способствуя тем самым подготовке эндометрия к имплантации и плацентации. Ремоделирование внутриорганной кровеносной сети матки в процессе менструального цикла стимулируют превращение тонкого и плотного эндометрия в пролиферативную фазу в толстый и отечный секреторный эндометрий.

#### Клеточные механизмы ангиогенеза

Ангиогенез начинается с действия ангиогенного фактора на расположенный вблизи кровеносный сосуд, что приводит к деградации базальной мембраны капилляров, активации и митотическому делению эндотелиоцитов с их дальнейшей миграцией в строму и протеолитической деградацией экстрацеллюлярного матрикса [5–8]. На следующем этапе происходит организация эндотелия в трубчатую структуру и инициализация кровотока по вновь сформированному участку сосуда. Схематически эти процессы обычно представляют в виде 4 последовательных стадий: 1) активация эндотелиоцитов с протеолитическим разрушением базальной мембраны и межклеточного матрикса, 2) миграция и прикрепление эндотелиальных клеток, 3) их пролиферация, 4) формирование капиллярных трубок с новой базальной мембраной.

Активированные эндотелиоциты образуют новые кровеносные сосуды двумя путями. Они либо распространяются вдоль существующих сосудов в новом направлении, либо прорастают внутри существующих сосудов, образуя развилки. Ангиогенез в эндометрии происходит путем внутреннего распространения эндотелиоцитов и образования новых развилки [1]. Данный процесс требует тонкой клеточной регуляции, т.к. эндотелиоциты, потерявшие между собой контакт или обнаруживающие друг друга в несоответствующих условиях, подвергаются запрограммированной клеточной гибели. Сигнальными механизмами, посредством которых клетки общаются между собой, служат молекулы адгезии интегрины: кадгедрины сосудистых эндотелиоцитов, рецепторы сосудистых факторов роста, KDR (kinase insert domain-containing receptor), бета-катенин [9].

Материалы об участии кадгедрина в регуляции проницаемости капилляров репродуктивных органов получены совсем недавно [9, 10]. Дефект гена кадгедрина приводит к накоплению коллагеновых волокон вокруг капилляров (фиброз), достоверному увеличению межмембранного пространства между эндотелиальными клетками и, соответственно, повышению проницаемости капилляров [11]. Необходимым этапом ремоделирования сосудистой сети в женских репродуктивных органах на протяжении полового цикла является фосфорилирование тирозина в молекуле кадгедрина, поскольку только в этом случае в физиологических условиях проходит активация эндотелиальных клеток [10]. Фосфорилирование

тирозина кадгедрина – гормонально регулируемый процесс. Циклическая гормональная регуляция экспрессии сосудистых факторов роста приводит к жесткой регламентации процессов фосфорилирования тирозина. Поддержание постоянно низкого уровня фосфорилирования кадгедрина обеспечивает барьерную функцию эндотелия в течение эстрального цикла. Высокий его уровень, наоборот, усиливает разобщение межклеточных контактов в эндотелии во время эструса и увеличивает риск развития опухолевого процесса. Использование ингибиторов тирозинкиназы может мешать действию ФСГ во время эстрального цикла [10].

Эстроген и прогестерон играют заметную роль в формировании сосудистого русла, однако механизмы их воздействия до конца не понятны. Эстрогены стимулируют рост эндометрия, активируя образование новых сосудов и миграцию гладких миоцитов [12]. Повышение плотности сосудов в эндометрии обнаружено у женщин с гиперплазией эндометрия, связанной с гиперэстрогемией [13]. Прогестерон, индуцируя секреторные изменения и децидуализацию эндометрия, способствует расслаблению гладкой мускулатуры матки и кровеносных сосудов, а также индуцирует апоптоз эндотелиоцитов, угнетая ангиогенез [14]. Поскольку содержание половых стероидов у крыс в дневные и ночные часы значительно отличается, не исключена возможность внутрисуточных колебаний интенсивности ангиогенеза [15].

Первичной реакцией активированных эндотелиальных клеток при ангиогенезе является хемотоксическое вытягивание их отростков по направлению к источнику раздражения – спраунтинг, в результате чего происходит формирование капиллярных ростков [6, 7, 16]. Воздействие индукторов ангиогенеза приводит не только к активации эндотелия и появлению на его базальной поверхности большого числа отростков, но и к локальному расплавлению базальной мембраны сосудистого ствола на месте образования будущих капиллярных ростков, которое происходит в результате активизации матриксных металлопротеиназ, коллагеназ IV типа и активаторов плазминогена [8]. Указанные процессы дополняются миграцией эндотелиальных клеток из стенок сосудов через периваскулярную ткань и паренхиму по направлению к ангиогенному стимулу, репродукцией эндотелиоцитов позади фронта мигрирующих эндотелиальных клеток [17].

Отпочковывающийся сосуд представляет собой тяж эндотелиальных клеток с относительно высокой пролиферативной активностью (индекс ядер, меченных по ДНК, достигает 4%), что способствует удлинению почек роста [16]. Вначале рост клеток происходит в направлении, перпендикулярном существующему сосуду, ближе к его венозному отделу там, где выше митотическая активность эндотелиоцитов. Позднее в стенку формирующихся капилляров встраиваются перicytes, которые затем окутывает базальная

мембрана [18, 19]. В таяжах эндотелиальных клеток образуется просвет, и они превращаются в самостоятельные капиллярные трубки. Дальнейшие перестройки, проходящие в процессе формирования органических сосудистых сетей – ремоделирование, дифференцировка и специализация, находятся под контролем регуляторов ангиогенеза.

#### Молекулярные регуляторы ангиогенеза

В отличие от большинства других органов, в женской половой системе ангиогенез является естественным физиологическим процессом, проходящим в половозрелом возрасте. Для организма очень важно сбалансированное функционирование этой системы. Развитие патологических изменений в матке может проходить как при избыточном, так и недостаточном новообразовании кровеносных сосудов [13, 20, 21].

Ангиогенез находится под контролем множества различных регулирующих факторов. Среди них растворимые пептиды, факторы, связанные с мембраной клетки, осуществляющие межклеточные контакты и взаимодействие между клетками и матриксом. Регуляция ангиогенеза предполагает наличие таких механизмов, которые могут побуждать развитие и интеграцию сосудов, ускорять или подавлять их рост. Ангиогенная активность находится под контролем ростовых факторов, оказывающих на процессы ангиогенеза стимулирующее или ингибирующее действие. Нарушение баланса между стимуляторами и ингибиторами ангиогенеза приводит к трансформации клеток в ангиогенный фенотип. Этот феномен, известный как «ангиогенное переключение», лежит в основе развития опухолей, которые до этого события могут годами находиться в латентном состоянии [22].

Уникальная система функционирования эндометрия в течение полового цикла зависит как от циклической продукции стероидных гормонов, так и от факторов роста, обеспечивающих соответствующие преобразования его сосудистой сети. Матка экспрессирует все известные ростовые факторы, относящиеся к индукторам ангиогенеза, и большинство факторов, блокирующих ангиогенез [4, 23, 24]. Тем не менее до сих пор неизвестны тонкие механизмы взаимодействия этих факторов, приводящие к процессам развития или инволюции кровеносных сосудов эндометрия.

Молекулярные механизмы, регулирующие рост, развитие и регрессию кровеносных сосудов, относятся к ключевым факторам, обеспечивающим процессы репродукции [3, 4]. Показано, что концентрация сосудистых факторов роста в течение секреторной фазы полового цикла увеличивается почти в три раза, достигая пика к моменту менструации [25]. Если имплантация не удастся, то эндометрий отторгается. Нарушения ангиогенеза сопровождаются разнообразными и многочисленными заболеваниями матки: доброкачественные и злокачественные опухоли, эндометриоз, аномальные эндометриальные кровотечения и т.д. [20, 21, 23].

В течение нормального менструального цикла рост сосудов эндометрия начинается во время пролиферативной фазы, заканчивается к концу секреторной фазы и подготовки матки к имплантации. Однако короткие прямые (базальные) артерии, осуществляющие кровоснабжение базальной трети эндометрия, практически не реагируют на гормональные изменения в ходе менструального цикла, поэтому кровоснабжение базального слоя остается стабильным [26]. Спиральные артерии проникают глубже в эндометрий, разветвляясь на мелкие терминальные артериолы и капилляры, обеспечивающие кровью функциональный слой эндометрия [27, 28].

Сосуды быстро восстанавливаются после отторжения двух третей эндометрия. Каждый раз при регенерации эндометрия в процессе менструального цикла в его сосудистой сети происходит увеличение длины, разветвленности и закрученности спиральных артерий [4]. Проллиферативная фаза цикла характеризуется элонгацией сосудов параллельно с ростом эндометрия. В это же время новые капиллярные трубочки, образованные из существующих сосудов, формируют обильное сплетение прямо под эпителием эндометрия. Параллельно образуются дренирующие вены. В супернатантах, полученных из культуры клеток эндометрия, обнаружены два пика миграционной активности эндотелиоцитов: в раннюю пролиферативную фазу, а также между средней и поздней пролиферативными фазами полового цикла [29].

Среди большого количества веществ, относящихся к стимуляторам ангиогенеза в матке, наибольший интерес у исследователей вызывают: семейство сосудистых эндотелиальных факторов роста (VEGFs), семейство факторов роста фибробластов (FGFs), трансформирующий фактор роста (TGF- $\beta$ ), фактор некроза опухоли (TNF $\alpha$ ) и некоторые другие растворимые полипептиды, которые оказались весьма эффективными регуляторами новообразования капилляров [1, 2, 3]. Приоритетное место среди указанных выше веществ принадлежит фактору роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor – VEGF), которому отводится ключевая роль в ангиогенезе. Его уровень повышен только в тех тканях, где активно протекает ангиогенез, а рецепторы экспрессируются преимущественно на эндотелиоцитах близлежащих кровеносных сосудов [30]. Каскад сигнализации, связанный с VEGF, оказывает непосредственное воздействие на клетки эндотелия, стимулируя их рост [31]. В физиологических условиях VEGF слабо вырабатывается клетками мезенхимного происхождения, его повышенная продукция отмечается лишь в органах репродуктивной системы, а во время беременности – в плаценте [32]. VEGF не индуцирует пролиферацию других клеток сосудов (перицитов, гладких миоцитов, фибробластов), хотя и усиливает миграцию гладкомышечных клеток.

Геном млекопитающих кодирует пять членов семейства VEGF, но наибольшее значение в образовании

кровеносных сосудов имеют VEGF-B и VEGF-A. Первый из них играет важную роль в миграции и пролиферации эндотелиальных клеток, второй – обычно в литературе обозначаемый как VEGF – в деградации внеклеточного матрикса, повышении проницаемости эндотелия [33]. VEGF действует через два рецептора семейства тирозинкиназ – VEGF-R1(Flt-1) и VEGF-R2 (KDR/Flk-1), которые являются мощными модуляторами сосудистого ремоделирования в эндометрии. VEGF-R2 – основной рецептор, связанный с повышением проницаемости эндотелия, выживаемости и собственно ростом сосуда, VEGF-R1 оказывает как про-, так и антиангиогенное действие [1]. Помимо VEGF-R1 и VEGF-R2 заметную роль в сигнальном процессе для ангиогенеза играет нейропиллин-1 (NRP-1). В пролиферативной фазе менструального цикла наблюдается относительно высокая экспрессия NRP-1, что, возможно, объясняется его участием в гормонально регулируемых изменениях эндометриального ангиогенеза, где он может выступать кофактором для VEGF, усиливающим ангиогенный стимул, оказывая тем самым влияние на преобразования сосудов для подготовки эндометрия к имплантации эмбриона [34].

Синтез VEGF при неоваскуляризации эндометрия – непрерывный процесс, нарастающий на поздних стадиях менструального цикла. Вместе с тем продукция VEGF увеличивается при гиперплазии эндометрия и эндометриозе [13, 21]. Поэтому использование антиангиогенных агентов представляет собой новый подход в таргетной терапии указанной патологии.

VEGF является основным фактором выживания эндотелия как *in vitro*, так и *in vivo*. В условиях *in vitro* он предотвращает апоптоз эндотелиальных клеток, индуцируя в них экспрессию антиапоптотических белков Bcl-2 и A1 [35]. При этом отмечена зависимость проходящих процессов от зрелости сосудов: подавление экспрессии VEGF приводит к апоптозу эндотелия большого числа капилляров у новорожденных мышей, но не вызывает соответствующих изменений сосудов после четырех недель жизни животных. По-видимому, одним из ключевых событий, приводящих к потере зависимости от VEGF в этом случае, является возникновение в стенке сосуда перicyтов и формированием контактов между ними и эндотелием [19].

VEGF принимает непосредственное участие в регуляции проницаемости сосудов. Контролирует экспрессию мембраносвязанных белков эндотелия – интегринов, кадгерин, синдеканов, эфринов, которые играют важную роль в проницаемости сосудов [9]. Способность увеличивать трансвакулярный транспорт молекул посредством активации эндотелиальной NO-синтазы, позволяет VEGF влиять на воспалительные и некоторые другие патологические процессы в матке, в которых задействован оксид азота [23]. Известно, что повышенной проницаемостью обладают сосуды опухоли с высоким уровнем экспрессии NO-синтазы, что способствует проникновению опухолевых клеток

в кровеносную систему и распространению метастазов [36]. Помимо оксида азота, во взаимодействие с VEGF вступают другие газотрансмиттеры – CO и H<sub>2</sub>S [37]. Совсем недавно было установлено влияние этих газов на внутриматочный кровоток [30, 37], а также выявлены особенности распределения гемоксигеназы и цистатинин-b-синтазы, участвующих в образовании, соответственно, CO и H<sub>2</sub>S в стенке мелких и крупных маточных артерий [27, 28].

Гипоксия – одна из главных причин усиления VEGF-сигнализации в матке [24, 30]. В этих условиях увеличивается содержание мРНК VEGF. Эндотелиоциты, перicyты, гладкомышечные клетки и клетки стромы имеют рецепторы, чувствительные к падению концентрации кислорода. При быстром нарастании тканевой составляющей функционального слоя в течение пролиферативной фазы развивается дефицит кровоснабжения эндометрия [38]. Клетки начинают испытывать недостаток кислорода, в результате чего запускается механизм активации ангиогенеза. Активация ангиогенеза происходит преимущественно путем пролиферации клеточных популяций спиральных артерий с последующим образованием трехмерной сосудистой сети ее терминальными ветвями [1].

При снижении концентрации кислорода в крови транскрипцию гена *vegf* и его рецепторов активирует индуцируемый гипоксией фактор-1 (HIF-1) – специфический регуляторный белок, обеспечивающий адаптацию клеток к условиям гипоксии [24, 39, 40]. HIF-1 принадлежит к семейству транскрипционных факторов bHLH (basic-helix-loop-helix) и состоит из двух субъединиц: HIF-1 $\beta$ , также называемой ARNT (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator), экспрессируемой в ядре конститутивно, и кислород-зависимой субъединицы HIF-1 $\alpha$ , находящейся в цитоплазме [41]. При снижении напряжения кислорода в тканях, HIF-1 $\alpha$  переходит в стабильное состояние, направляется в ядро, где в комплексе с HIF-1 $\beta$  воздействует на так называемые гипоксия-реакционные элементы (hypoxia response elements, HRE) генов-мишеней, активация которых приводит к синтезу защитных белков. HIF-1 $\alpha$  долгое время рассматривался в качестве главного медиатора адаптивных процессов при гипоксии, однако исследованиями последних лет было показано, что не менее важным регулятором этих процессов, по крайней мере при развитии артериальной гипертензии и некоторых видов опухолей, является HIF-2 $\alpha$  [40, 42]. У женщин с эндометриозом обнаружен низкий уровень HIF-1 $\alpha$  [21], поэтому его клиническое использование может стать альтернативой гормональной терапии.

При снижении содержания кислорода в тканях под регулирующее влияние VEGF попадает выработка ряда активаторов и ингибиторов плазминогена (PA-u, PA-t, PA1-1), запускается система протеолиза, связанная с ремоделированием внеклеточного матрикса, обеспечивается защита клеток от апоптоза, индуцированного фактором некроза опухоли- $\alpha$  (factor tumor

necrosis- $\alpha$  – TNF $\alpha$ ) [38]. Проангиогенные свойства солидных опухолей человека объясняются их способностью стимулировать выработку повышенного количества VEGF в условиях гипоксии, наличие которой характерно для опухолей, отличающихся высокой плотностью клеток [42]. Тем самым создаются условия для интенсивного развития сосудистой сети в ткани растущей опухоли. Значительное повышение экспрессии VEGF в эндотелии сосудов при гипоксии женских репродуктивных органов вызывают также эстрогены, разнообразные ростовые факторы, окись азота [21]. Эти данные указывают на возможность аутокринной или паракринной регуляции экспрессии VEGF в случае секреции клетками перечисленных выше факторов. Эстрогены и прогестерон увеличивают экспрессию VEGF стромальными клетками матки путем стабилизации HIF-1 $\alpha$  [24]. В то же время ряд препаратов, например RU-486, блокирует данный эффект.

Индукторы ангиогенеза способствуют активации эндотелиоцитов и усилению синтеза и выделения ангиогенных молекул, в первую очередь, HIF-1 $\alpha$ , гликопротеина MECA-32 (PVLAP-1 – plasmalemmal vesicle associated protein-1) и оксида азота, способствующих структурным и функциональным перестройкам эндотелия, характерным для начального этапа ангиогенеза [43]. Не так давно было установлено, что в реакции клеток на гипоксию важная роль принадлежит некоторым представителям семейства Rho ГТФ-азы и, прежде всего, Rac1 [44]. Под контролем Rac1 в эндотелиоцитах проходит ряд важных событий, во многом определяющих характер ответа этих клеток на гипоксию.

Эндотелиоциты обеспечивают выработку ряда веществ, стимулирующих дифференцировку примитивных мезенхимных клеток в сосудистые перicyты и гладкомышечные клетки [17]. В капиллярах таких клеток нет, поэтому ключевые взаимодействия происходят между эндотелиоцитами, перicyтами и внеклеточным матриксом. Эндотелиальные клетки секретируют белки межклеточных контактов, в результате чего в стенке сосудов формируются щелевидные контакты между эндотелием и перicyтами, действующие как своего рода регуляторный механизм, обеспечивающий резкое снижение митотической активности эндотелиоцитов и прекращающий их пролиферацию [19].

В настоящее время установлено порядка четырех десятков веществ с выраженными антиангиогенными свойствами. Продукция ингибиторов ангиогенеза рассматривается в качестве защитного механизма, предупреждающего неконтролируемое образование сосудов. Наиболее изученными среди данного ряда веществ оказались тромбоспондин, ангиостатин, ангиопоэтин-2, эндостатин, тромбоцитарный фактор IV, протамин, вазостатин, рестин [24, 45], а также некоторые цитокины и гормоны (интерфероны, интерлейкины, пролактин, кортизол) [46]. Одним из наиболее активных ингибиторов ангиогенеза в последние годы рассматривается фактор пигментного эпителия

(pigment epithelium-derived factor, PEDF) – белок, ранее выявленный в клетках пигментного эпителия сетчатки, и как оказалось, содержится в высоких концентрациях в репродуктивных органах, оказывая мощный антиангиогенный эффект [47].

Экспериментально установлено, что все антиангиогенные вещества в той или иной степени подавляют адгезию, миграцию или пролиферацию эндотелиальных клеток капилляров, однако механизмы, посредством которых реализуется их действие, не всегда ясны. Некоторые из этих веществ связываются с гепарином и противодействуют механизмам реализации эффектов фактора роста фибробластов [31, 48]. К их числу относится эндостатин – гепарин-связывающийся фрагмент, специфически ингибирующий пролиферацию эндотелиоцитов и рост опухолей. Эндостатин воздействует на выживание эндотелиальных клеток через индукцию нарушения равновесия между антиапоптотическими белками Bcl-2 и Bcl-XL и проапоптотическим белком Bax [49]. Ангиостатин ингибирует рост эндотелиальных клеток сосудов, тем самым останавливая рост опухоли.

Но не все клетки эндотелия одновременно и в равной степени реагируют на ангиогенный стимул, что позволяет упорядочить процесс ангиогенеза. В фазу пролиферации к моменту образования первичной тубулярной структуры сосудов эндометрия среди активированных эндотелиальных клеток выявляются так называемые «ведущие эндотелиальные клетки» (ВЭК), известные в англоязычной литературе как «tip cell», которые при образовании новых сосудов занимают лидирующие позиции [7, 50]. У этих клеток на поверхности появляются характерные цитоплазматические отростки, которые вытягиваются в направлении ангиогенного стимула, благодаря чему они способны к миграции и митозу. Кроме того, модифицируется их молекулярный профиль: увеличивается плотность молекул адгезии, изменяется соотношение рецепторов к VEGF в сторону преобладания R2.

ВЭК занимают особое положение в образовании новых сосудов и обеспечивают продвижение растущего капилляра благодаря тому, что обладают свойством тонко реагировать на градиент VEGF-R2, задающий направление их миграции. У ВЭК кардинально изменяется фенотип: они приобретают два важных свойства – инвазивность и способность к перемещению [50]. Одновременно разрушаются контактные взаимодействия между ВЭК и окружающими клетками эндотелия. У ВЭК появляются филоподии, активируются протеазы, вызывающие частичную деструкцию базальной мембраны. В этих процессах принимает участие Rac1, который повышает активность SDF-1 – одного из наиболее мощных ангиогенных цитокинов, опосредующих миграцию, созревание эндотелиоцитов, восстановление поврежденного эндотелия [51].

Установлен механизм, с помощью которого для новообразования капилляров отбираются лишь некоторые из многочисленных клеток эндотелия.

Экспериментальным путем было доказано, что данный процесс контролируется рецепторами из семейства Notch и их трансмембранными лигандами Dll4 (delta like ligand 4) и Jagged-1 (Jag-1), которые синтезируются в эндотелиоцитах и после связывания с рецепторами могут влиять на транскрипцию в лигандэкспрессирующих клетках и рост кровеносных сосудов [52]. Dll4 и Jag-1 являются важными участниками в Notch-пути, которые в ангиогенезе выполняют противоположную функцию: Dll4-Notch-сигнализация действует в качестве выключателя ангиогенеза путем снижения чувствительности эндотелиоцитов к VEGF, Jag-1 активируют синтез Notch в клетках [53]. Экспрессия Jag-1 и Notch1 в той части сосуда, где происходит активация ангиогенеза, распределена между клетками эндотелия мозаично, а характеристики, свойственные ВЭК, приобретают в основном те клетки эндотелия, у которых отсутствует экспрессия Notch1.

VEGF непосредственно связан с передачей внутриклеточного сигнала в эндотелии, индуцируя экспрессию Dll4 и его рецепторов Notch1, что в свою очередь обеспечивает различное поведение клеток эндотелия, подвергшихся воздействию ангиогенных стимулов [35, 52]. После того как произошел отбор, и началась миграция ВЭК, формирование капилляров осуществляется за счет пролиферации и продвижения других эндотелиальных клеток. Пролиферация клеток, находящихся в новом тяжёлом капилляре, стимулируется воздействием VEGF на внутриклеточные сигнальные рецепторы VEGF-R2, которые, кроме того, вовлечены в процессы выживания эндотелиальных клеток и апоптоз [35]. В клетках эндотелия, вырабатывающих Notch1, активация лигандом Dll4-зависимой сигнализации, связанной с этим рецептором, предотвращает переход клеток в активное состояние, тем самым ограничивая появление избыточного количества ВЭК [52]. Подавление активного состояния клеток эндотелия в результате стимуляции Dll4-Notch-ассоциированной передачи внутриклеточного сигнала происходит, по-видимому, за счет уменьшения их чувствительности к воздействию VEGF. Понижение продукции Dll4 или блокирование Notch-зависимой сигнализации интенсифицируют процесс образования ВЭК, часть из которых превращаются в так называемые «stalk-клетки», которые располагаются позади ВЭК и формируют эндотелиальную выстилку вновь образованных кровеносных сосудов, что приводит, в конечном итоге, к ветвлению и значительному уплотнению органной сосудистой сети [54].

Новообразованные сосуды отличаются высоким уровнем проницаемости и обмена веществ, что способствует пролиферации окружающих тканей, стимулирует рост и ремоделирование сосудов. По мере их созревания проницаемость эндотелия уменьшается, и связь между стенкой сосудов и окружающими тканями ослабляется, подавляя появление новых сосудов [45]. В процессе новообразования капилляров эндотелий экспрессирует ряд рецепторов факторов

роста и лигандов, которые контролируют основные этапы формирования клеточного состава стенки сосудов.

Взаимодействия между эндотелиоцитами и перicyтами в стенке вновь формирующегося сосуда устанавливаются очень рано. Роль перicyтов на начальном этапе образования нового сосуда заключается в укреплении нежных и весьма ранимых почек роста [19]. Перicyты предупреждают также выход в соединительную ткань клеточных элементов и плазмы крови, оказывают стабилизирующее действие на вновь образованные сосуды и останавливают их рост. Появление перicyтов и накопление в базальной мембране белков внеклеточного матрикса приводит к ингибированию пролиферации и миграции клеток эндотелия, способствуют ускорению созревания сосуда и его переходу в покоящееся состояние [19].

В позднюю фазу секреции менструального цикла в базальной мембране капилляров наблюдаются дегенеративные изменения, а количество межклеточных контактов между эндотелиоцитами и перicyтами быстро сокращается, вследствие чего перicyты перестают оказывать тормозящее влияние на эндотелиоциты, приводя к их активации [55]. Вновь образующаяся эндотелиальная выстилка стабилизируется благодаря возросшему числу контактов с перicyтами. Перicyты начинают синтезировать TGF- $\beta$ , который тормозит деление эндотелиальных клеток.

Кроме того, в образовании сосудистой стенки принимают также участие активаторы плазминогена, урокиназного и тканевого типов, которые индуцируют матриксные металлопротеиназы, вызывающие деградацию белков внеклеточного матрикса (коллаген, фибронектин, ламинин) [8]. Матриксные металлопротеиназы способствуют высвобождению адгезивных молекул (интегринов, ICAM-1, VCAM-1, селектинов, каттеринов) [9], действие которых направлено на обеспечение структурной целостности вновь сформированных капиллярных сетей матки.

**Конфликт интересов:** авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования:** авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

#### Литература / References

1. Girling JE, Rogers PA. Regulation of endometrial vascular remodelling: role of the vascular endothelial growth factor family and the angiopoietin-TIE signalling system. *Reproduction*. 2009;138(6):883–93.
2. Kilarski WW, Petersson L, Fuchs PF, Zielinski MS, Gerwins P. An in vivo neovascularization assay for screening regulators of angiogenesis and assessing their effects on pre-existing vessels. *Angiogenesis*. 2012; 15(4):643–55.
3. Marshall SA, Ng L, Unemori EN, Girling JE, Parry LJ. Relaxin deficiency results in increased expression of angiogenesis- and remodelling-related genes in the uterus of early pregnant mice but does not affect endometrial angiogenesis prior to implantation. *Reprod Biol Endocrinol*. 2016;14:11–9.

4. Shimizu T, Hoshino Y, Miyazaki H, Sato E. Angiogenesis and microvasculature in the female reproductive organs: physiological and pathological implications. *Curr Pharm Des.* 2012; 18(3): 303–9.
5. Kurzyk A. Angiogenesis – possibilities, problems and perspectives. *Postepy Biochem.* 2015;61(1):25–34.
6. Черток В.М., Захарчук Н.В., Черток А.Г. Клеточно-молекулярные механизмы регуляции ангиогенеза в головном мозге. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2017;117(8-2): 43–55. [Chertok VM, Zakharchuk NV, Chertok AG. The cellular and molecular mechanisms of angiogenesis regulation in the brain. *Zh Nevrol Psikhiatr Im. SS Korsakova.* 2017;117(8-2):43–55 (In Russ).].
7. Черток В.М., Черток А.Г., Зенкина В.Г. Эндотелиозависимая регуляция ангиогенеза // *Цитология.* 2017; 59(4): 243–258. [Chertok V.M., Chertok A.G., Zenkina V.G. Endothelial-dependent of the regulation of angiogenesis // *Cytology.* 2017; 59(4): 243–258 (In Russ).].
8. Patel-Hett S, D'Amore PA. Signal transduction in vasculogenesis and developmental angiogenesis. *Int J Dev Biol.* 2011;55(4–5): 353–63.
9. Sidibé A, Polena H, Pernet-Gallay K, Razanajatovo J, Manic T, Chaumontel N, Bama S, Maréchal I, Huber P, Gulino-Debrac D, Bouillet L, Vilgrain I. VE-cadherin Y685F knock-in mouse is sensitive to vascular permeability in recurrent angiogenic organs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2014;307(3): H455–63.
10. Polena H, Creuzet J, Dufies M, Sidibé A, Khalil-Mgharbel A, Salomon A, Deroux A, Quesada JL, Roelants C, Filhol O, Cochet C, Blanc E, Ferlay-Segura C, Borchellini D, Ferrero JM., Escudier B, Négrier S, Pages G., Vilgrain I. The tyrosine-kinase inhibitor sunitinib targets vascular endothelial (VE)-cadherin: a marker of response to antitumoural treatment in metastatic renal cell carcinoma. *Br J Cancer.* 2018;118(9):1179–88.
11. Gnecco JS, Pensabene V, Li DJ, Ding T, Hui EE, Bruner-Tran KL, Osteen KG. Compartmentalized Culture of Perivascular Stroma and Endothelial Cells in a Microfluidic Model of the Human Endometrium. *Ann Biomed. Eng.* 2017;8(7): 1758–69.
12. Babischkin JS, Bonagura TW, Udoff LC, Vergara CO, Johnson HW, Atlas RO, Pepe GJ, Albrecht ED. Estrogen stimulates the human endometrium to express a factor(s) that promotes vascular smooth muscle cell migration as an early step in microvessel remodeling. *Endocrine.* 2009;35(1):81–8.
13. Elfayomy AK, Almasry SM, Attia GM, Habib FA. Enhanced expression of vascular endothelial growth factor and increased microvascular density in women with endometrial hyperplasia: a possible relationship with uterine natural killer cells. *Romanian Journal of Morphology and Embryology.* 2015; 56(2):725–34.
14. Kaya HS, Hantak AM, Stubbs LJ, Taylor RN, Bagchi IC, Bagchi MK. Roles of progesterone receptor A and B isoforms during human endometrial decidualization. *Mol Endocrinol.* 2015;29(6):882–95.
15. Каргалова Е.П., Коцюба А.Е., Черток В.М., Момот Л.Н., Храмова И.А. Влияние эстрадиола на временную организацию микроциркуляторного русла яичников крыс. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2019;1:41–5. [Kargalova EP, Kotsyuba AE, Chertok VM, Momot LN, Khramova IA. The effect of estradiol on the temporary organization of the rat ovarian microvasculature. *Pacific Medical Journal.* 2019;1:41–5 (In Russ).].
16. Jensen LD, Cao Y. Clock controls angiogenesis. *Cell Cycle.* 2013;12(3):405–8.
17. Stapor PC, Sweat RS, Dashti DC, Betancourt AM, Murfee WL. Pericyte dynamics during angiogenesis: new insights from new identities. *J Vasc Res.* 2014;51(3):163–74.
18. Черток В.М., Черток А.Г. Регуляторный потенциал капилляров мозга. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2016;2:72–80. [Chertok VM, Chertok AG. Regulatory capacity of the brain capillaries. *Pacific State Medical University.* 2016;2: 72–80 (In Russ).].
19. Simonavivius N, Ashenden M, van Weverwijk A, Lax S, Huso DL, Buckley CD, Huijbers IJ, Yarwood H, Isacke CM. Pericytes promote selective vessel regression to regulate vascular patterning. *Blood.* 2012;120:1516–27.
20. Gogacz M, Gałczyński K, Romanek-Piva K, Winkler I, Rechnerberger T, Adamiak-Godlewska A. Concentration of selected angiogenic factors in serum and peritoneal fluid of women with endometriosis. *Ginekolog Pol.* 2015; 86(3):188–92.
21. Zhang F, Liu XL, Wang W, Dong HL, Xia YF, Ruan LP, Liu LP. Expression of MMIF, HIF-1 $\alpha$  and VEGF in Serum and Endometrial Tissues of Patients with Endometriosis. *Curr Med Sci.* 2018;38(3):499–504.
22. Ferrara N, Kerbel RS. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature.* 2005;438(7070):967–74.
23. Rafi A, Ramakrishna D, Sabitha K, Mohanty S, Rao P. Serum Copper and Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF-A) in Dysfunctional Uterine Bleeding. *Amer J Biochem Molecul Biol.* 2011;1(3):284–290.
24. Tsuzuki T, Okada H, Cho H, Tsuji S, Nishigaki A, Yasuda K, Kanzaki H. Hypoxic stress simultaneously stimulates vascular endothelial growth factor via hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and inhibits stromal cell-derived factor-1 in human endometrial stromal cells. *Hum Reprod.* 2012;27(2):523–30.
25. Galeati G, Spinaci M, Govoni N, Zannoni A, Fantinati P, Sereni E, Tamanini C. Stimulatory effects of fasting on vascular endothelial growth factor (VEGF) production by growing pig ovarian follicles. *Reproduction.* 2003;126(5):647–52.
26. Санькова И.В., Каплунова О.А., Соколов В.В. Морфофункциональные особенности внутриорганных артериальных сосудов матки в возрастном аспекте. *Медицинский вестник Юга России.* 2011;3:49–53. [Sankova IV, Kaplunova OA, Sokolov VV. Angiography of arterial bed of the uterine in age aspect. *Medicinskij vestnik Uga Rossii.* 2011;3:49–53 (In Russ).].
27. Храмова И.А., Черток В.М., Коцюба А.Е., Черток А.Г. Структурная организация кровеносной системы матки. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2018;3:13–3. [Khramova IA, Chertok VM, Kotsyuba AE, Chertok AG. Structural organization of the uterus circulatory system. *Pacific State Medical University.* 2018;3:13–3 (In Russ).].
28. Черток В.М., Немков Ю.К., Черток А.Г. *Внутриорганный кровеносный русло матки.* Владивосток: Медицина ДВ; 2018. [Chertok VM, Nemkov YuK, Chertok AG. *Intraorgan blood vessels of the uterus.* Vladivostok: Medicina DV; 2018 (In Russ).].
29. Goodger AM, Rogers PAW. Endometrial endothelial cell proliferation during the menstrual cycle. *Hum Reprod.* 1994;9: 399–405.
30. Zhang HH, Chen JC, Sheibani L, Lechuga TJ, Chen DB. Pregnancy Augments VEGF-Stimulated In Vitro Angiogenesis and Vasodilator (NO and H2S). Production in Human Uterine Artery Endothelial Cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(7):2382–93.
31. Gaengel K, Genové G, Armulik A, Betsholtz C. Endothelial-mural cell signaling in vascular development and angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29(5):630–8.
32. Vera C, Tapia V, Vega M, Romero C. Role of nerve growth factor and its TRKA receptor in normal ovarian and epithelial ovarian cancer angiogenesis. *J Ovarian Res.* 2014;10(7): 82–94.
33. Navarro-Sobrino M, Rosell A, Hernandez-Guillamon M, Penalba A, Ribó M, Alvarez-Sabín J, Montaner J. Mobilization, endothelial differentiation and functional capacity of endothelial progenitor cells after ischemic stroke. *Microvasc Res.* 2010;80:317–23.
34. Hess AP, Schanz A, Baston-Buest DM, Hirchenhain J, Stoff-Khalili MA, Bielfeld P, Krussel JS. Expression of the vascular endothelial growth factor receptor neuropilin-1 in the human endometrium. *J Reprod Immunol.* 2009;79(2):129–36.
35. Liu S, Kong X, Ge D, Wang S, Zhao J, Su L, Zhang S, Zhao B, Miao J. Identification of New Small Molecules as Apop-

- toxis Inhibitors in Vascular Endothelial Cells. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2016;67(4):312–8.
36. Gavalas NG, Lontos M, Trachana SP, Bagratuni T, Arapinis C, Liacos C, Dimopoulos MA, Bamias A. Angiogenesis-related pathways in the pathogenesis of ovarian cancer. *Int J Mol Sci.* 2013;14(8):15885–909.
37. Němeček D, Dvořáková M, Sedmíková M. Heme oxygenase/carbon monoxide in the female reproductive system: an overlooked signalling pathway. *Int J Biochem Mol Biol.* 2017;8(1):1–12.
38. Morfoisse F, Renaud E, Hantelys F, Prats AC, Garmy-Susini B. Role of hypoxia and vascular endothelial growth factors in lymphangio genesis. *Mol Cell Oncol.* 2015;2(4):e1024821.
39. Черток В.М., Невзорова В.А., Захарчук Н.В. Сравнительное изучение HIF-1  $\alpha$  и HIF-2  $\alpha$ -иммунопозитивных нейронов и капилляров в коре головного мозга крыс при тканевой гипоксии. *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* 2018;165(4):513–7. [Chertok VM, Nevzorova VA, Zakharchuk NV. Comparative Study of HIF-1 $\alpha$ - and HIF-2 $\alpha$ -Immunopositive Neurons and Capillaries in Rat Cortex under Conditions of Tissue Hypoxia. *Bull Exp Biol Med.* 2018;165(4):513–7 (In Russ).].
40. Черток В.М., Невзорова В.А., Захарчук Н.В., Черток А.Г. Сравнительная характеристика нейронов, содержащих индуцируемые гипоксией факторы 1 $\alpha$  и 2 $\alpha$ , в головном мозге крыс при артериальной гипертензии. *Цитология.* 2018;60(11):883–8. Chertok VM, Nevzorova VA, Zakharchuk NV, Chertok AG. The comparative characteristic of the neurons containing the hypoxia-inducible factor 1  $\alpha$  and 2 $\alpha$  in the brain of rats at hypertension. *Cytology.* 2018;60(11):883–8 (In Russ).].
41. Brill C, Scheuer T, Bühner C, Endesfelder S, Schmitz T. Oxygen impairs oligodendroglial development via oxidative stress and reduced expression of HIF-1 $\alpha$ . *Sci. Rep.* 2017;7:43–56.
42. Triner D, Xue X, Schwartz AJ, Jung I, Colacino JA, Shah YM. Epithelial Hypoxia-Inducible Factor 2 $\alpha$  Facilitates the Progression of Colon Tumors through Recruiting Neutrophils. *Mol Cell Biol.* 2016;37(5):e00481–16.
43. Herrnberger L, Ebner K, Junglas B, Tamm ER. The role of plasmalemma vesicle-associated protein (PLVAP) in endothelial cells of Schlemm's canal and ocular capillaries. *Exp Eye Res.* 2012;105:27–33.
44. Racchetti G, D'Alessandro R, Meldolesi J. Astrocyte stellation, a process dependent on Rac1 is sustained by the regulated exocytosis of enlargosomes. *Glia.* 2012;60(3):465–75.
45. Jensen LD, Cao Y. Clock controls angiogenesis. *Cell Cycle.* 2013;12(3):405–8.
46. Alexander MR, Murgai M, Moehle CW, Owens GK. Interleukin-1 $\beta$  modulates smooth muscle cell phenotype to a distinct inflammatory state relative to PDGF-DD via NF- $\kappa$ B-dependent mechanisms. *Physiol Genomics.* 2012;44(7): 417–29.
47. Chuderland D, Ben-Ami I, Bar-Joseph H, Shalgi R. Role of pigment epithelium-derived factor in the reproductive system. *Reproduction.* 2014;148(4):53–61.
48. Herbert SP, Stainier DY. Molecular control of endothelial cell behaviour during blood vessel morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2011;12:551–64.
49. Javaherian K, Lee TY, Tjin Tham Sjin RM, Parris GE, Hlatky L. Two Endogenous Antiangiogenic Inhibitors, Endostatin and Angiostatin, Demonstrate Biphasic Curves in their Antitumor Profiles. *Dose Response.* 2011; 9(3):369–76.
50. Gerhardt H, Betsholtz C. Endothelial-pericyte interactions in angiogenesis. *Cell Tissue Res.* 2003;314(1):15–23.
51. Potente M, Gerhardt H, Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis. *Cell.* 2011;146(6):873–87.
52. Hale AT, Tian H, Anih E, Recio FO, Shatat MA, Johnson T, Liao X, Ramirez-Bergeron DL, Proweller A, Ishikawa M, Hamik A. Endothelial Kruppel-like factor 4 regulates angiogenesis and the Notch signaling pathway. *J Biol Chem.* 2014;289(17): 12016–28.
53. Thomas JL, Baker K, Han J, Calvo C, Nurmi H, Eichmann AC, Alitalo K. Interactions between VEGFR and Notch signaling pathways in endothelial and neural cells. *Cell Mol Life Sci.* 2013;70(10):1779–92.
54. Noguera-Troise I, Daly C, Papadopoulos NJ, Coetzee S, Bolland P, Gale NW, Lin HC, Yancopoulos GD, Thurston G. Blockade of Dll4 inhibits tumour growth by promoting non-productive angiogenesis. *Nature.* 2006; 444(7122): 1032–7.
55. Roberts DK, Parmley TH, Walker NJ, Horbelt DV. Ultrastructure of the microvasculature in the human endometrium throughout the normal menstrual cycle. *Amer J Obstetrics Gynecol.* 1992;166(5):1393–406.