

## Альтернативное кровоснабжение в костном мозге при онкогематологических заболеваниях

**А.А. Вартамян**

ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», Каширское ш., д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478

### РЕФЕРАТ

Неоангиогенез, или формирование новых микрососудов на основе уже существующей в ткани сети сосудов, является необходимым условием для роста опухоли. Долгое время неоангиогенез считали единственной возможностью доставки в опухоль питательных веществ и кислорода. В последние годы рассматриваются также альтернативные механизмы васкуляризации опухоли. Формирование высокоструктурированных васкулярных каналов из опухолевых клеток в отсутствие эндотелиальных и фибробластов, ограниченных базальной мембраной, или васкулогенная мимикрия (VM), сегодня рассматривается как дополнительная система кровоснабжения опухоли. VM обнаружена практически во всех опухолях, и ее появление ассоциируется с плохим прогнозом. В настоящем обзоре суммированы основные характеристики VM в солидных опухолях и при онкогематологических заболеваниях. Обсуждается также значение указанного феномена в диагностике опухолей и в прогнозировании их течения.

**Ключевые слова:** неоангиогенез, васкулогенная мимикрия, онкогематологические заболевания.

**Принято в печать:** 1 сентября 2014 г.

*Для переписки:* А.А. Вартамян, д-р биол. наук, ст. науч. сотрудник, Каширское ш., д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478; тел.: +7(499)324-10-65; e-mail: zhivotov57@mail.ru

*Для цитирования:* Вартамян А.А. Альтернативное кровоснабжение в костном мозге при онкогематологических заболеваниях. Клин. онкогематол. 2014; 7(4): 491–500.

## Supplemental Blood Circulation System in Hematologic Malignancies

**A.A. Vartanyan**

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478

### ABSTRACT

Neoangiogenesis, i.e. formation of new blood microvessels on the basis of already existing vascular network, is a prerequisite for tumor growth. For years, neoangiogenesis has been considered the only way for delivering oxygen and nutrients to the tumor. However, over the last years, other mechanism of tumor vascularization has been studied. Formation of highly structured vascular channels from tumor cells in the absence of endothelial cells and fibroblasts surrounded by basal membrane, or vasculogenic mimicry (VM) is considered a supplemental blood supply system. VM was found in almost all types of tumors and its occurrence is strongly associated with poor prognosis. This review summarizes basic VM characteristics in solid tumors and hematologic malignancies. It also discusses the clinical significance of the above mentioned phenomenon in diagnosing tumors and predicting their course.

**Keywords:** neoangiogenesis, vasculogenic mimicry, hematologic malignancies.

**Accepted:** September 1, 2014

*For correspondence:* A.A. Vartanyan, DSci, Senior scientific worker, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478; Tel: +7(499)324-10-65; e-mail: zhivotov57@mail.ru

*For citation:* Vartanyan A.A. Supplemental Blood Circulation System in Hematologic Malignancies. *Klin. Onkogematol.* 2014; 7(4): 491–500 (In Russ.).

### ВВЕДЕНИЕ

Развитие и рост нормальных тканей в эмбриональный и постнатальный периоды зависят от формирования новых

сосудов, необходимых для снабжения тканей кислородом и питательными веществами, а также для выведения продуктов метаболизма клеток. Формирование новых микрососудов реализуется тремя основными способами [1–3]:

1) ангиогенез, предполагающий формирование новых микрососудов на основе пролиферации эндотелиальных клеток (ЭК) посткапиллярных венул;

2) васкулогенез за счет формирования *in situ* новых микрососудов из ангиобластов, клеток-предшественниц ЭК;

3) ангиогенез путем инвагинации, без вставания в ткань, когда новые микрососуды формируются из капиллярных сплетений (рис. 1).

В период эмбрионального развития имеет место васкулогенез: новые ЭК дифференцируются из клеток-предшественниц, ангиобластов. У человека физиологические стимулы, активирующиеся при заживлении ран или других процессов, связанных с усилением кровоснабжения, стимулируют ангиогенез, тогда как васкулогенез в основном отсутствует.

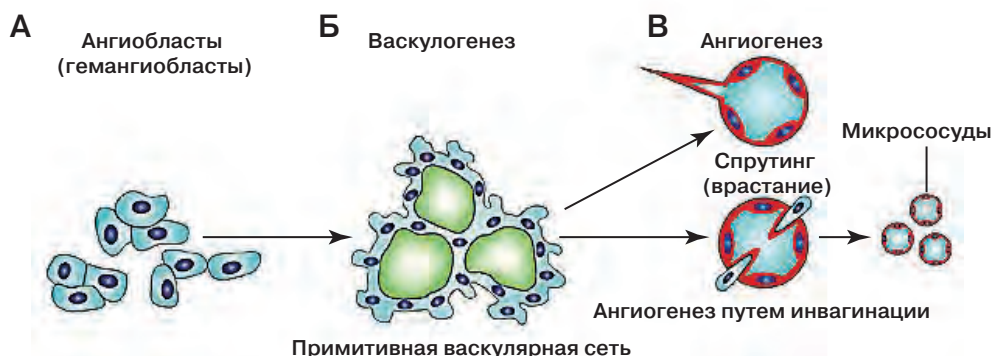
Концепция активации ангиогенеза как необходимого условия роста опухоли была предложена J. Folkman более 30 лет назад и сегодня принята практически всеми [4]. Увеличивающаяся в объеме опухоль, как и любая другая ткань организма, для поддержания своей жизнеспособности должна быть обеспечена кислородом и питательными веществами. Опухоли самых разных гистологических типов индуцируют ангиогенез для того, чтобы выжить. Используемые для этого ангиогенные пути по большей части не зависят от типа злокачественного новообразования. Для формирования сосудистой сети опухолевыми клетками (ОК) необходимо реализовать возможности, характерные для стадии эмбрионального развития: вырабатывать и секретировать проангиогенные вещества, стимулирующие начало ветвления сосудов. Возникновение и созревание новых сосудов представляют собой крайне сложные процессы, требующие последовательной активации целой серии рецепторов и множества лигандов. Результаты исследований последних лет дали возможность значительно продвинуться в понимании этих процессов. Опухоли возникают лишь в тех случаях, когда процесс злокачественной трансформации сопровождается не только самопроизвольным делением клеток, утратой их способности к апоптозу, инвазией, метастазированием, но и секрецией гуморальных стимуляторов ангиогенеза, обеспечивающих доставку питания и кислорода ко все увеличивающейся опухолевой массе. Эксперименты *in vivo*, иммуногистохимические и биохимические исследования различных опухолей человека неоднократно демонстрировали зависимость роста злокачественного новообразования и метастазирования от ангиогенной активности в первичном очаге.

Высокоангиогенные опухоли имеют больше возможностей индуцировать рост новых сосудов по сравнению с низкоангиогенными, метастазирующие клоны которых находятся в «дремлющем» состоянии.

В первичный очаг сосуды не прорастают, пока клетки эндотелия (внутреннего слоя) не получают от опухоли соответствующих сигналов. Секретируемый клетками опухолей эндотелиальный фактор роста сосудов (VEGF) связывается со своими рецепторами на поверхности клеток эндотелия сосудов и запускает сигнал пролиферации ЭК [5, 6]. Клетки начинают делиться и вставать в ткань опухоли, формируя в ней капиллярную сеть. В результате запускается активное кровоснабжение опухоли, а следовательно, снимается ограничение ее роста. Новые сосуды продолжают образовываться все время, пока растет опухоль. Таким образом, VEGF действует как ключевой медиатор опухолевого ангиогенеза, стимулируя рост новых кровеносных сосудов из близлежащих капилляров и давая опухоли доступ к кислороду и питательным веществам, в которых она нуждается для своего роста и метастазирования. Следует отметить, что при формировании нормальной кровеносной сети требуется кооперативная активность различных цитокинов и их ингибиторов, каждый из которых должен синтезироваться в определенном количестве и временном порядке. Кроме VEGF участвуют и другие члены этого семейства, например плацентарный фактор роста (PIGF), а также цитокины (трансформирующий фактор роста [TGF- $\beta$ ], тромбоцитарный фактор роста [PDGF], эфрины, фактор роста фибробластов [FGF], Ang-1 и -2) и их соответствующие рецепторы и ингибиторы [7–10].

Формирование сосудистого русла в опухоли происходит также путем васкулогенеза — формирования *in situ* кровеносных сосудов из предшественников ЭК (ПЭК). Первоначально полагали, что васкулогенез происходит только в эмбриональный период. Недавно ПЭК были выделены из крови и костного мозга онкологических больных; получены доказательства их участия в васкуляризации опухоли, что существенно изменило наши представления о кровоснабжении опухолевой ткани [11]. Следует отметить, что васкулогенез тесно связан с ангиогенезом и во многих опухолях является обязательной составляющей формирования новых сосудистых отростков.

Наблюдения последних лет выявили также, что кровоснабжение опухолевой ткани может осуществляться и в результате тесного контакта опухоли с уже существующими сосудами. При этом опухоли растут на сосудах существующей микроциркуляции («vessel co-option») [12]. Необходимо отметить, что все описанные альтер-



**Рис. 1.** Схематическая модель организации кровоснабжения органа в норме (цит. по: [http://www.nature.com/nrc/journal/v3/n6/fig\\_tab/nrc1092\\_F1.html](http://www.nature.com/nrc/journal/v3/n6/fig_tab/nrc1092_F1.html); с изменениями)

нативные формы васкуляризации опухоли служат частью единой системы циркуляции крови в ней.

Недавно описан еще один путь формирования кровеносных сосудов в опухоли. Было показано, что клетки метастатической меланомы способны формировать васкулярные каналы, ограниченные базальной мембраной, без участия ЭК и фибробластов [13]. Образование микроваскулярных каналов опухолевыми клетками получило название *васкулогенной мимикрии* (ВМ), что подчеркивает образование таких каналов *de novo*, без участия ЭК, т. е. независимо от ангиогенеза. Образование подобных структур является уникальной особенностью клеток с высокозлокачественным фенотипом. Менее агрессивные ОК таких структур не формируют. Тот факт, что ВМ присутствует практически во всех злокачественных новообразованиях — при меланоме, раке молочной железы, простаты, яичников, почки, нейробластоме, говорит о том, что появилась новая характеристика агрессивности опухоли. Анализ экспрессии генов с использованием ДНК-микрочипов показал, что высокоагрессивные клетки меланомы по сравнению с низкоагрессивными экспрессируют гены, характерные для ЭК, эпителиальных, гемопоэтических, соединительнотканых, мышечных и стволовых клеток. Все это свидетельствует о частичной генетической реверсии агрессивных ОК в клетки с полипотентным фенотипом [14]. Высокоагрессивные ОК, способные формировать каналы ВМ, также экспрессируют матриксные металлопротеиназы MMP-1, -2, -9 и -14, модифицирующие внеклеточный матрикс, что необходимо для классического ангиогенеза. Таким образом, высокоагрессивные ОК в результате частичной трансдифференцировки в эндотелий-подобные клетки способны имитировать поведение ЭК и инициировать формирование васкулярных каналов в опухоли.

#### ВАСКУЛОГЕННАЯ МИМИКРИЯ ПРИ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЯХ

Любая опухоль — это в основном популяция собственно ОК и клеток стромы. Рост каждой из этих популяций может быть заблокирован селективными ингибиторами. Противоопухолевая терапия, направленная на ОК и ЭК, должна быть намного эффективнее, чем воздействие на каждую популяцию в отдельности. Казалось бы, в этом правиле не должно быть исключений. Но в реальности все оказалось иначе. Первые же клинические исследования препаратов, потенциально направленных на блокирование ангиогенеза, выявили, что не все опухоли отвечали на анти-VEGF-терапию. Более того, вторая линия антиангиогенной терапии не всегда оказывалась эффективной [15]. Успехи, достигнутые за последние годы в исследованиях сигнальных путей, вовлекаемых в кровоснабжение опухоли, частично разъясняют наблюдаемую картину. Необычайная сложность организации внутриклеточных коммуникативных систем, существование полифункциональности многих компонентов сигнального каскада объясняют многообразие клеточных реакций на сходные по природе стимулы или различные ответы на один и тот же стимул. Вычленение отдельного компонента (например, VEGF — нейтрализующими антителами) или даже локального участка сигнального пути (например, VEGFR2 — низкомолекулярными ингибиторами тирозинкиназы) не может контролировать работу всей системы в целом.

Впервые ВМ стала обсуждаться в конце 1999 г. В многочисленных исследованиях последних лет было показано,

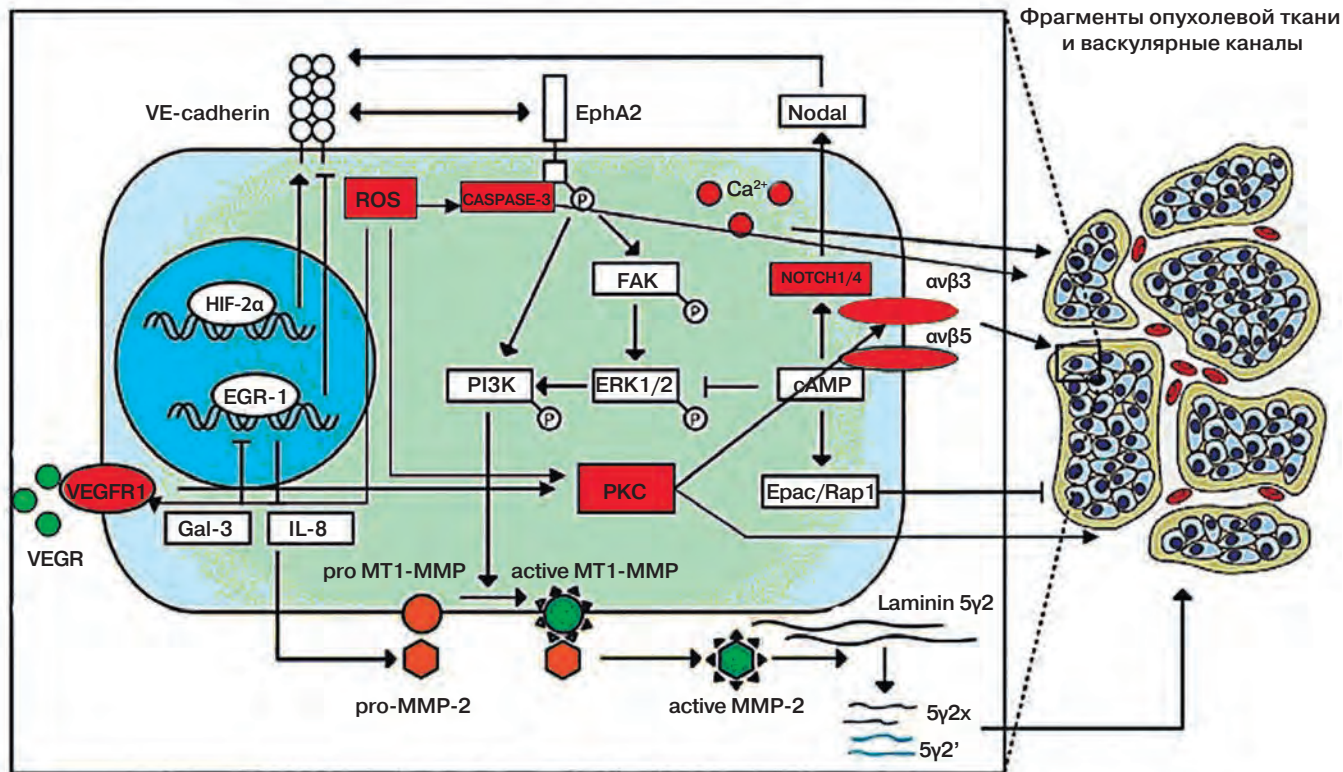
что присутствие каналов ВМ в опухолевой ткани больных коррелирует с быстрой прогрессией опухоли, активным ее метастазированием и, как следствие, короткой продолжительностью жизни больных [16–18]. Подобные наблюдения позволяют предположить, что каналы ВМ функционально активны, могут служить альтернативной, независимой от эндотелия системой циркуляции крови в опухоли. За прошедшие годы накоплен большой экспериментальный опыт, позволяющий идентифицировать сигнальные пути, участвующие в ВМ. Опубликовано много обзоров об участии VE-кадгерина, галектинов, сигнальных путей простагландин/COX, HIF-1 $\alpha$ /VEGF/VEGFR1, EphA2, FAK, cAMP, Ca<sup>2+</sup>, Notch, Wnt/catenin в этом процессе (рис. 2) [19–27].

Суть всех обзоров можно свести к следующему: формирование васкулярных каналов с помощью ОК подчиняется в основном тем же закономерностям, что и формирование кровеносных сосудов с помощью ЭК. ОК, участвующие в сборке новых сосудов, активно синтезируют и секретируют матриксные металлопротеиназы MMP-1, -2, -9 и -14, способные модифицировать внеклеточный матрикс для роста новых капилляров. Простагландин, ингибирующий активацию тромбоцитов, и активатор плазминогена, инициирующий процессы лизиса фибрина (фибринолиз), препятствуют коагуляции крови в васкулярных каналах, сформированных ОК, так же как и в нормальных сосудах, высланных эндотелием [28]. На поверхности ОК, формирующих васкулярные каналы, обнаруживается VE-кадгерин — белок, участвующий в гомотипическом межклеточном взаимодействии ЭК [19]. Пожалуй, самой важной характеристикой ВМ является ее подконтрольность сигнальному пути VEGFA/VEGFR1 и отсутствие зависимости от тирозинкиназной активности VEGFR2, на блокировании которой базируется вся современная антиангиогенная терапия [22]. Недостаточно освещенным остается то, что из множества клеток опухоли в ВМ вовлекается только небольшая высокоагрессивная популяция. В следующей части обзора мы попытаемся ответить на вопрос, какими характеристиками должна быть наделена высокоагрессивная ОК, чтобы формировать каналы ВМ.

#### Какая опухолевая клетка формирует каналы васкулогенной мимикрии?

Накопленные к настоящему времени знания в области биологии ОК позволяют выдвинуть два возможных сценария происхождения агрессивной популяции, способной формировать васкулярные каналы. Опухоль для выживания и прогрессии может индуцировать дифференцировку стволовых клеток опухоли (СКО) в клетки с эндотелий-подобным фенотипом, позволяющим ей имитировать поведение ЭК и формировать васкулярные каналы. Второй вариант предполагает, что высокоагрессивные ОК, которые могут формировать каналы ВМ, в процессе дедифференцировки потеряли тканеспецифические функции и превратились в полипотентные клетки, экспрессирующие маркеры как стволовых клеток, так и ЭК [29, 30]. Мы остановимся более подробно на втором варианте ОК, которые участвуют в формировании каналов ВМ. Необходимость такого подхода продиктована исследованиями самых последних лет.

Концепция СКО предполагает, что только некоторые клетки опухоли способны давать начало опухолевому клону, а сами СКО могут быть выделены из общей популяции стволовых клеток на основе их фенотипа.



**Рис. 2.** Схематическая модель сигнальных путей, вовлекаемых в васкулогенную мимикрию. Гомотипическое связывание молекул VE-кадгерина близлежащих ОК ведет к перемещению EphA2 на плазматическую мембрану, где он, связываясь с трансмембранным белком эфрином A1, способствует (авто?)фосфорилированию EphA2. Трансдукция сигнала, активированного VE-кадгеринном и EphA2, может реализовываться двумя путями: через активацию FAK и PI3K. PI3K способствует переходу про-MMP-2 в активную форму MMP-2, которая расщепляет ламинин 5γ2 на два фрагмента: γ2' и γ2x. Накопление этих двух фрагментов во внеклеточной среде способствует миграции клеток и формированию васкулярных каналов ОК. Ингибирование COX-2 препятствует формированию васкулярных каналов. cAMP ингибирует BM через активацию Epac/Rap1. Блокирование активности BMP-4 ведет к снижению экспрессии VE-кадгерина и EphA2. Активация Nodal в ОК поддерживает BM через увеличение экспрессии VE-кадгерина. Гипоксия увеличивает экспрессию гена VEGF, который контролирует BM. Ингибирование TFPI-2 подавляет BM через супрессию активации MMP-2, а TFPI-1 осуществляет антикоагуляционную функцию в васкулярных каналах (цит. по: Y.W. Paulis. *Biochem Biophys Acta*. 2010; 1806(1): 18–28; с изменениями). Красным цветом отмечены сигнальные пути, идентифицированные нами

Однако J.M. Stewart и соавт. из асцитической жидкости у больных раком яичников выделили популяцию клеток CD133+. Это фенотип характерен для СКО, дающих начало опухолевому клону [31]. Исследователями была выделена из той же асцитической жидкости популяция клеток CD133-, которые также могли инициировать развитие опухоли [31]. Полученные J.M. Stewart и соавт. результаты указывали на то, что в инициации опухолевого клона участвуют не только СКО, но и низкодифференцированные ОК с высоким инвазивным потенциалом, которые в результате дедифференцировки превратились в полипотентные клетки. Конечно же, мы не исключаем происхождение агрессивных ОК из СКО, однако представляется более вероятным происхождение ОК, способных формировать васкулярные каналы, из низкодифференцированных клеток.

Следующая часть этого раздела будет посвящена анализу появления таких клеток в опухоли и выявлению возможных мишеней, на которые можно воздействовать с целью остановить процесс ВМ.

Выделяют две стадии развития агрессивных ОК: инициацию и становление злокачественного фенотипа. Изменения на стадии инициации носят обратимый характер. Нарушение же контроля нормального клеточного роста в результате инактивации генов-супрессоров опухолевого роста и/или активации онкогенов приводит в конечном итоге к злокачественной трансформации клеток. Только

от успеха репаративных процессов и полноценности системы контроля за состоянием собственного генома зависит дальнейшая судьба клетки. На этом этапе возможно несколько сценариев:

- 1) клетка, восстановив повреждения, продолжит репродуктивный цикл;
- 2) происходит необратимый (по крайней мере, длительный) арест ее деления;
- 3) активируется программа клеточной гибели с ее закономерным финалом.

Остановка клеточного деления, репарация повреждений и, в случае ее незавершенности, гибель характерны для нормальных, а также для трансформированных клеток высокой степени дифференцировки.

Однако по мере прогрессии опухоли в некоторых ОК генетически заложенная программа гибели может повреждаться. В такой ситуации при индукции невосстановимых повреждений в зависимости от уровня, на котором сигнальный путь заблокирован, механизм самоуничтожения клетки либо вовсе не может быть включен, либо не может быть доведен до конца — до формирования апоптотических телец. Подавление или ликвидация ОК собственных апоптогенных сигнальных путей приводят к возможности не самоликвидироваться в ответ на субнекротические повреждения. Таким образом, клетка ценой разрушения аппарата контроля и поддержания генетической стабильности приобретает селективное

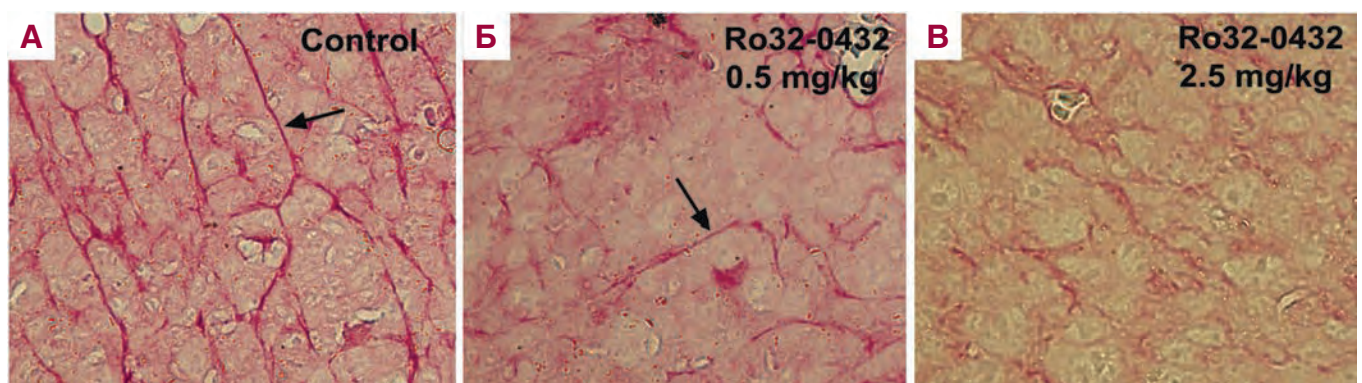
качество к агрессивному росту. В дальнейшем клетки с повреждениями в молекуле ДНК будут не способны к самоликвидации и послужат основой для формирования полиморфной опухолевой популяции. В результате постоянно возникают и отбираются все более и более автономные и агрессивные клетки.

Таким образом, по мере того как опухоль прогрессирует и приобретает более агрессивный фенотип, происходит постоянная селекция клеток, способных адаптироваться к быстро меняющемуся микроокружению: выживают те ОК, которые обладают преимуществом в прогрессировании. Анализ ДНК микрочипов показал, что высокоагрессивные ОК, которые могут формировать сосудистоподобные структуры, по сравнению с низкоагрессивными характеризуются высоким уровнем экспрессии генов, характерных для ЭК VEGF, VEGFR1, VEGFR2, Tie-1, Tie-2, EphA2, VE-кадгерина и MMP-2. Они необходимы ОК для приобретения эндотелий-подобных характеристик. С другой стороны, наблюдается также повышенная экспрессия компонентов Notch, Nodal и Wnt сигнальных путей, активация которых показана при дифференцировке эмбрионов [14]. Возможность частичной эндотелий-подобной трансдифференцировки в сочетании с высоким инвазивным, а следовательно, метастатическим потенциалом ряда клеток внутри опухоли позволяет им формировать сеть каналов, которая создает условия для выживания и дальнейшей пролиферации, предотвращая некроз внутри самой опухоли. В результате в ней появляется и развивается небольшая фракция клеток, способных к инвазивному росту, которая и может участвовать в формировании васкулярных каналов.

Однако не все высокоагрессивные ОК формируют васкулярные каналы, а только те, в которых может быть активирована каспаза-3, известная как центральный компонент в механизме клеточной гибели [32]. В то же время сегодня каспаза-3 рассматривается и как фермент, необходимый для нормальной жизнедеятельности клетки. В процессе дифференцировки активность каспазы требуется для неспецифической, так называемой неапоптотической функции [33]. Необходимость активации каспазы-3 при VM была впервые показана нами ранее [34]. Процесс, который мы наблюдаем при формировании васкулярных каналов, можно идентифицировать как частичную трансдифференцировку ОК в ЭК. Активация апоптоза, возможно, необходима для элиминации тех клеток, которые оказались не способными выполнять эндотелий-подобную функцию.

Другой важной детерминантой ОК, позволяющей им формировать каналы VM, считается высокий уровень активных форм кислорода (АФК) в них [35]. Важнейшей особенностью АФК является способность практически мгновенно реагировать с молекулами, контактирующими с ними. К таким молекулам относятся белки, мембранные липиды, углеводы, нуклеиновые кислоты. В этом случае АФК выступают в качестве основных медиаторов повреждения клетки [36]. АФК обладают не только цитотоксическими свойствами, но могут выступать и в качестве вторичных мессенджеров (молекул, передающих сигнал), участвуя в поддержании физико-химических свойств биологических мембран, регуляции состояния внутриклеточных редокс-систем окислительно-восстановительного потенциала, активности протеинкиназ, пролиферации, дифференцировки, апоптоза, а также ангиогенеза [37]. Молекулярные механизмы индукции ангиогенеза АФК не до конца изучены. Однако накоплен достаточно большой объем исследований, указывающий на значительное блокирование кровоснабжения опухоли антиоксидантами [38].

Нами впервые получены экспериментальные данные *in vitro* и подтвержденные *in vivo*, указывающие на то, что АФК — это тот чувствительный индикатор, который сигнализирует о способности ОК формировать каналы VM. Антиоксиданты красного вина (ресвератрол), зеленого чая (эпигалокатехин, N-ацетилцистеин и тролокс), водорастворимый витамин Е в наших экспериментах снижали уровень АФК и полностью блокировали возможность клеток меланомы участвовать в VM [35]. Когда мы начинали свою работу, посвященную роли VM в прогрессии злокачественных новообразований, идея разрушения каналов VM казалась нам практически нереализуемой. Каналы VM формируют метастатические клетки с высоким инвазивным потенциалом. Такие клетки, как правило, резистентны к лучевой и химиотерапии. Снижение плотности каналов VM в экспериментальной опухоли в ответ на ресвератрол было действительно неожиданным успехом. Кроме ресвератрола мы селективно ингибировали VM в экспериментальной модели меланомы хелаторами  $Ca^{2+}$  [39] и ингибитором протеинкиназы С (рис. 3) [24]. Во всех трех случаях ни объем, ни масса опухоли существенно не менялись на фоне достоверного уменьшения плотности каналов VM. Однако число метастазов в легких снижалось. Мы затрудняемся как-либо интерпретировать эти данные. Сегодня никто уже не сомневается, что именно наличие метастазов крайне ус-



**Рис. 3.** Ингибитор PKC $\alpha$  (Ro32-0432) дозозависимо снижает плотность каналов васкулогенной мимикрии в экспериментальной модели мышинной меланомы,  $\times 200$  [24]:

A — PAS-окрашивание гистологических срезов контрольной опухоли; B, B — PAS-окрашивание гистологических срезов экспериментальной меланомы после лечения Ro32-0432 в дозах 0,5 и 2,5 мг/кг массы тела

ложняет полное излечение от злокачественной опухоли. Становится очевидным, что идентификация маркеров, тесно связанных с метастатическим потенциалом каждой отдельной опухоли, необходима не только для рационального лечения онкологических больных, но и для его индивидуализации.

### **Клиническое значение васкулогенной мимикрии**

Вовлечение ВМ в микроциркуляцию крови в опухоли впервые было продемонстрировано группой японских ученых при использовании динамической магнитно-резонансной ангиографии, гистологического и иммуногистохимического исследований в экспериментальной опухоли молочной железы у мышей. Васкулогенный компонент присутствовал в основном внутри опухоли, тогда как неоангиогенез имел место преимущественно на периферических ее участках [40]. Более того, между участками неоангиогенеза и ВМ существовал ток крови: контрастирующий флуоресцентный агент окрашивал и периферические, и центральные участки опухоли. В опухолях без ВМ отсутствовало накопление контрастирующего агента в центральных областях. Сегодня уже никто не сомневается в том, что ангиогенез опухоли и ВМ — это две части единой системы циркуляции крови в опухоли.

На гистологических срезах ВМ представлена каналами между ОК, содержащими эритроциты и плазму. Эти каналы богаты ламинином и избирательно окрашиваются реактивом Шиффа (PAS-позитивные структуры) в малиновый цвет. Следует отметить, что PAS-реакция не всегда высокочувствительна для определения каналов ВМ. «Зона молчания» в случае PAS-окрашивания часто содержит множество мелких сосудов, определяемых другими методами (например, иммуногистохимическим). Для отделения васкулярных каналов, состоящих только из ОК, от нормальных сосудов опухоли был разработан специальный метод, включающий проведение двойного окрашивания на маркеры ЭК (CD31 и CD34) и последующей PAS-реакции. Сосуды опухоли, высланные только ЭК, являются CD31+/PAS+. Каналы ВМ характеризуются CD31-/PAS+. Двойное окрашивание на эндотелиальные маркеры (CD31 и CD34) с последующим проведением PAS-реакции позволило идентифицировать сайты (участки) соединения сосудов, высланных ЭК, с каналами ВМ. Тем не менее для выявления каналов ВМ в рутинной лабораторной практике чаще используется окрашивание только PAS-реагентом.

Рисунок PAS-позитивных структур на гистологических срезах имеет принципиальное значение для кровоснабжения опухоли. R. Folberg и соавт. в 2002 г. описали семь типов каналов ВМ, обнаруженных в гистологических срезах первичной меланомы глаза у 234 больных [41]:

- 1) прямые каналы, расположенные случайным образом, с отсутствием ветвлений и не соединенные между собой;
- 2) параллельные прямые каналы, идущие без ответвлений и пересечений;
- 3) параллельные каналы с пересечением;
- 4) арки, представляющие собой не полностью замкнутые петли;
- 5) арки с ветвлением (по типу ветвления деревьев);
- 6) петли, представляющие собой полностью замкнутые, округлые каналы;
- 7) сети, представляющие собой закрытые PAS-позитивные петли (как минимум, три).

У пациентов, в опухолевой ткани которых при сроке наблюдения не менее 10 лет отсутствовали параллельные с пересечением васкулярные каналы, петли и сети, показатели общей 5-летней выживаемости были значительно выше (91,7, 91,1 и 88,3 % соответственно) по сравнению с группой, в опухолевой ткани которых PAS-позитивные структуры присутствовали (56,9, 55,4 и 50,7 % соответственно;  $p = 0,0001$  для всех сравнений) [41]. Наряду с такими клиническими параметрами, как пол и возраст, сравнивались факторы, которые могут влиять на показатели выживаемости: размер опухоли, ее локализация, тип клеток по классификации Callender, наличие митозов, инфильтрации опухоли лимфоцитами, наличие или отсутствие PAS-позитивных структур. Выяснилось, что наличие PAS-позитивных сетей наиболее важно для оценки выживаемости ( $\chi^2 = 40,84$ ;  $p = 0,0001$ ). Указанные признаки были независимыми факторами прогноза [41].

Этими же авторами впервые было подтверждено, что PAS-позитивные структуры в ткани увеальной меланомы действительно являются функционально активными. Исходили они из следующих экспериментальных наблюдений:

1) в ткани меланомы глаза, размер которой превышал 1 см, отсутствовал некроз, что может свидетельствовать о хорошей васкуляризации опухоли;

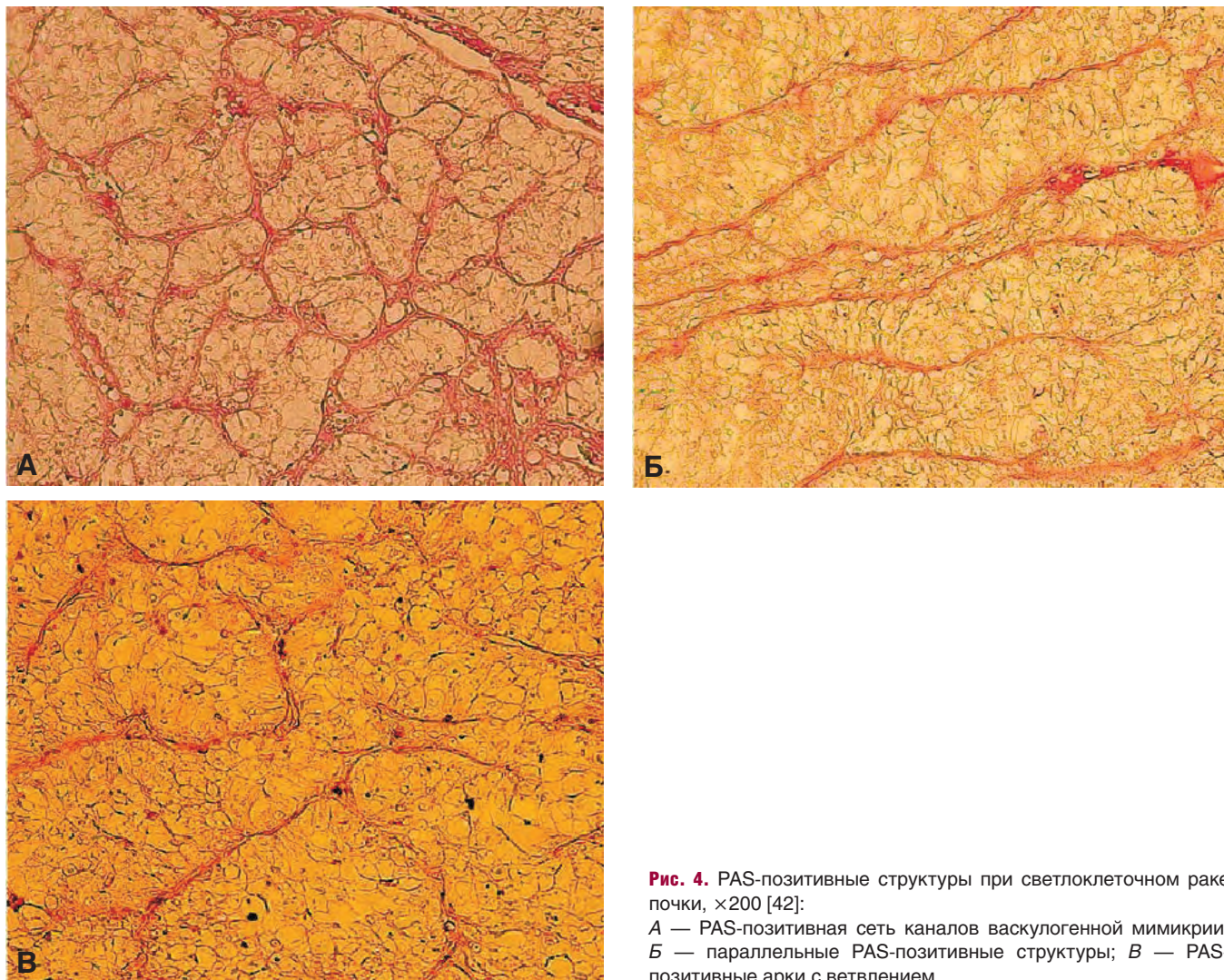
2) внутри PAS-позитивных структур часто обнаруживались неповрежденные эритроциты;

3) введение контрастного вещества — индоцианина зеленого — в локтевую вену с последующим ангиографическим определением петлевых структур до удаления глазного яблока коррелировало с выявлением PAS-позитивных петлевых структур на гистологических срезах.

Прогностическое значение рисунка PAS-позитивных структур при светлоклеточном раке почки было показано нами ранее [42]. В исследование было включено 45 пациентов (27 мужчин и 18 женщин) с диагнозом светлоклеточного рака почки, проходивших лечение в ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина». Анализ опухолевой ткани у больных светлоклеточным раком почки показал присутствие каналов ВМ. Двойное окрашивание анти-CD31-антителами и PAS-реагентом не только подтвердило эти результаты, но и наглядно продемонстрировало сайты (участки) сообщения сосудов, высланных ЭК и каналами ВМ. Двойное окрашивание анти-CD31-антителами и PAS-реагентом также показало, что 30–35 % васкуляризации опухоли осуществляются через каналы ВМ. В образцах опухоли были обнаружены различные структуры: арки, параллельные каналы и сеть каналов (рис. 4).

Изучение кривых выживаемости по Каплану—Мейеру при каждом типе PAS-позитивных структур показало, что только обнаружение сети каналов ВМ в образцах опухоли служит независимым прогностическим фактором, определяющим течение заболевания без рецидивов ( $\chi^2 = 7,813$ ;  $p = 0,005$ ). Больные с наличием сети каналов ВМ имели значительно более низкие показатели безрецидивной выживаемости в сравнении с больными, в опухолевой ткани которых определялись параллельные каналы ВМ или арки.

Нами также была исследована прогностическая значимость PAS-позитивных структур при диссеминированной меланоме кожи [43]. В исследование было включено 46 больных. В опухолевой ткани меланомы



**Рис. 4.** PAS-позитивные структуры при светлоклеточном раке почки,  $\times 200$  [42]:

**А** — PAS-позитивная сеть каналов васкулогенной мимикрии; **Б** — параллельные PAS-позитивные структуры; **В** — PAS-позитивные арки с ветвлением

кожи были идентифицированы PAS-структуры следующих типов: прямые каналы, параллельные каналы, параллельные с пересечением каналы, арки, петли, сети. Данные структуры были характерны для 77 % исследуемых образцов меланомы кожи человека. В случае определения в опухолевой ткани параллельных с пересечением PAS-позитивных структур наблюдалось прогрессирование процесса в течение 10 мес. по сравнению с 30 мес. при отсутствии в опухолевой ткани таковых ( $p = 0,057$ ).

Особо следует остановиться на экспериментальном наблюдении: PAS-позитивные структуры в образцах диссеминированной меланомы статистически значимо определялись в тех участках опухоли, где плотность сосудов, высланных ЭК, была минимальной.

Прогностическая значимость ВМ показана также при HER2/неу-позитивном метастатическом раке молочной железы, тройном негативном раке молочной железы, раке яичников, мезотелиальной саркоме, рабдомиосаркоме, гепатоцеллюлярном раке, глиобластоме, раке области головы и шеи, легкого, простаты [44–54]. Полученные результаты позволяют поднять вопрос об определении ВМ в опухоли не только как диагностического маркера, но и как мишени для таргетной терапии агрессивной опухоли. В пользу этой гипотезы косвенно указывает решение FDA (Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США) в 2013 г. о лечении больных с тройным негативным

раком молочной железы авастинном — моноклональными антителами к VEGF [55]. Современная антиангиогенная терапия опухоли основана на блокировании сигнального пути VEGFA/VEGFR2 в ЭК. В клинике широко используются препараты, действие которых направлено как на связывание VEGF, так и на ингибирование киназной активности VEGFR2. Мы предполагаем, что положительный эффект бевацизумаба (а не низкомолекулярных ингибиторов тирозинкиназ) при лечении опухолей может быть частично связан с появлением компонента ВМ, которая так же, как и ангиогенез опухоли, контролируется VEGF. Другим подтверждением такого вывода служат результаты недавно закончившегося рандомизированного исследования AVAST-M в Великобритании по лечению больных диссеминированной меланомой бевацизумабом [56]. Исследование включало 1343 пациентов и продолжалось в течение года. Отмечено значительное увеличение безрецидивной выживаемости ( $p = 0,03$ ) больных при использовании бевацизумаба. Анализ исследований последних 10 лет, посвященных изучению механизмов развития меланомы и ее васкуляризации, дает основание заключить, что это опухоль, резистентная к химио- и лучевой терапии. Меланома также резистентна к антиангиогенным препаратам: низкомолекулярные ингибиторы тирозинкиназы VEGFR2 неэффективны. Одной из причин низких показателей выживаемости больных в ответ на бевацизумаб может быть тот факт, что значительный вклад ( $> 60\%$ ) в кровоснабжение метаста-

тической меланомы происходит через каналы ВМ (наши неопубликованные результаты), формирование которых запускается VEGF. Представленные данные позволяют открыть новую страницу в оценке патофизиологического значения неоангиогенеза и учета васкулогенного компонента в микроциркуляции крови в опухоли.

### ВАСКУЛОГЕННАЯ МИМИКРИЯ ПРИ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

В патогенезе лейкозов, лимфом, парапротеинемических опухолей существенную роль играет взаимодействие ОК с микроокружением. В этом сложном процессе вклад ангиогенных факторов стал оцениваться только в последние годы. Практически все лейкозные и лимфоидные клетки секретируют VEGF и экспрессируют по крайней мере один из рецепторов VEGF. Способность ОК экспрессировать не только VEGFA, но и VEGFR сегодня связывают с активацией их пролиферации. В этом процессе VEGFA отводится роль аутокринного фактора роста ОК [57]. VEGF также является основным цитокином, запускающим ангиогенез в костном мозге [58]. В многочисленных работах последних лет было показано, что экспрессия VEGF коррелирует с плохим прогнозом, короткой выживаемостью больных или резистентностью к проводимому лечению [59]. Современная терапия онкогематологических заболеваний направлена на ингибирование пролиферации и/или индукцию апоптоза в ОК. Несмотря на большие успехи в этой области, в частности в лечении впервые выявленных больных, терапия рефрактерных форм заболевания и рецидивов требует разработки новых методов. Идея анти-VEGF-терапии привлекает все большее число сторонников и представляется оптимистическим подходом к лечению онкогематологических заболеваний. В настоящее время завершены клинические исследования I–II фазы антиангиогенных препаратов [60–62]. О важности полученных результатов свидетельствует тот факт, что медиана общей выживаемости больных множественной миеломой увеличивается почти в 2 раза после терапии антиангиогенными препаратами [60].

#### **Особенности циркуляции крови в костном мозге при онкогематологических заболеваниях**

В костном мозге, как и в любом другом органе, ангиогенез обычно ограничивается эволюционными фазами запрограммированного роста ткани, но может повторно активироваться на стадии восстановления и тканевой регенерации, а также при неопластических заболеваниях. Следует отметить, что кровеносная система костного мозга существенно отличается от кровоснабжения других органов. Поскольку у млекопитающих кроветворение происходит между синусами — во внесосудистом пространстве, следовательно, для выхода в кровяное русло образующимся в костном мозге клеткам крови необходимо пройти через стенку синуса. В связи с этим стенка микроваскулярной сети капилляров состоит из одного слоя ЭК и капилляры не стабилизированы перицитами. Второе отличительное качество кровеносной системы костного мозга (несмотря на широко разветвленную кровеносную сеть) — это гипоксия. И наконец, в отличие от солидных опухолей микроокружение в гематологических опухолях крайне динамично. Костный мозг человека содержит две отдельные популяции стволовых клеток: ге-

мопоэтические стволовые клетки (ГСК), ответственные за поддержание и продукцию клеток крови в течение всей жизни, и мезенхимные стволовые клетки (МСК), способные дифференцироваться в клетки соединительной, жировой, костной и хрящевой тканей [63].

В костном мозге выделяют три основных компартамента (области): «остеогенная ниша», которая находится в непосредственной близости к кости и поддерживает пул долгоживущих стволовых клеток, «васкулярная ниша», где происходит пролиферация короткоживущих ГСК, и центральная область, где находятся клетки-предшественницы на различных стадиях дифференцировки. Таким образом, микроанатомическое разделение стволовых клеток способствует их самоподдержанию в «остеогенной нише» и пролиферации в «васкулярной нише» [64, 65].

Молекулярная основа перехода ангиогенной фазы роста («angiogenic switch») в «жидкую» гематологическую опухоль («liquid tumor») изучена слабо. Накопленный экспериментальный материал свидетельствует о том, что ангиогенез костного мозга активируется после инфильтрации последнего ОК миелоидного и лимфоидного происхождения.

Повышение числа микроваскулярных сосудов на единицу площади (microvessel density — MVD) в костном мозге, фактора, служащего критерием интенсивности васкуляризации, было показано для острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), хронического миелолейкоза (ХМЛ), острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) и множественной миеломы (ММ) [66]. При ОМЛ высокое MVD коррелирует с рецидивами. При ХМЛ анализ Кокса подтвердил, что MVD служит независимым прогностическим параметром, влияющим на показатели общей выживаемости больных. При ОЛЛ также MVD было статистически значимо выше, чем в контроле. MVD снижалось при достижении ремиссии ОЛЛ. При ХЛЛ наблюдалось высокое MVD, которое коррелировало с высоким риском рецидива. Было показано, что антиангиогенные препараты, с одной стороны, закрывают доступ к аутокринному пулу VEGF и наблюдается снижение пролиферации миелоидных и лимфоидных клеток. Эффект этот связывают с ангиогенез-независимой функцией VEGF. С другой стороны, снижается формирование кровеносных сосудов, выстланных ЭК. Однако антиангиогенная терапия не всегда оказывается эффективной. Одной из причин выживания ОК может быть существование альтернативной системы циркуляции крови в костном мозге.

#### **Альтернативная система кровоснабжения костного мозга при онкогематологических заболеваниях**

Формирование сосудов в костном мозге при онкогематологических заболеваниях происходит на фоне неконтролируемой митогенной стимуляции и измененного внеклеточного матрикса. Это приводит к развитию кровеносных сосудов, нередко имеющих нарушенную эндотелиальную выстилку. Эндотелий может замещаться клетками микроокружения костного мозга, а иногда и вовсе отсутствовать. Термин «васкулогенная мимикрия» был введен в 1999 г., и под ним подразумевалось формирование васкулярных каналов опухолевыми клетками. Сегодня это понятие несколько расширилось, ВМ рассматривается как феномен формирования альтернативной системы циркуляции крови неэндотелиальными клетками.



Недавно группой итальянских ученых на основе анализа биоптатов было показано, что в кровоснабжении костного мозга при ММ участвуют васкулярные каналы, сформированные тучными клетками, и эти каналы сообщаются с сосудами, высланными ЭК [67]. Тучные клетки в васкулярных каналах сохраняли свой фенотип, частичной трансдифференцировки этих клеток в эндотелий-подобные клетки не происходило. Несколько позже этими же авторами было подтверждено участие макрофагов в формировании васкулярных каналов в костном мозге у больных ММ в активной фазе [68]. Эксперименты *in vitro* показали, что формирование васкулярных каналов зависит от уровня VEGF и bFGF. Авторы поднимают вопрос о необходимости учитывать возможность взаимодействия между ЭК, ПЭК и клетками микроокружения в индукции гиперваскуляризации костного мозга при ММ.

Аналогичные результаты были получены французскими учеными. Показано, что в кровоснабжении костного мозга при ОМЛ участвуют васкулярные каналы, сформированные МСК костного мозга, процесс этот не зависел ни от уровня VEGF, ни от уровня bFGF, а контролировался IGF (инсулиноподобным фактором роста) [69]. Этот вывод объясняет неэффективность лечения пациентов с рефрактерными лейкозами бевацизумабом — моноклональными антителами к VEGF. Единственно разумным объяснением этих результатов может быть допущение факта, что ОК способна «организовывать» и «обучать» микроокружение с целью создать благоприятные условия для роста опухоли. «Обучение», по всей видимости, происходит посредством рилизинг-факторов.

Становление ВМ — сложный биологический процесс, в котором задействовано несколько сигнальных путей. И если за прошедшие 15 лет наметились основные закономерности формирования васкулярных каналов ОК, то совершенно непонятным остается механизм гомотипического узнавания близлежащих клеток в васкулярном канале, сформированном тучными клетками, макрофагами и МСК без VE-кадгерина, без трансдифференцировки этих клеток в эндотелий-подобные. Остается неясным вопрос, какими стимулами индуцируется пролиферация клеток, формирующих васкулярные каналы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая очевидный факт, что наличие кровоснабжения необходимо для любых опухолей, индуцированный ангиогенез представляется весьма перспективной мишенью для противоопухолевой терапии. Однако первые шаги на пути реализации этого направления в клинике оказались не столь впечатляющими и во многом противоречащими теоретическим предпосылкам. Допустимым толкованием наблюдаемых неудач может быть наличие альтернативных (кроме VEGF) путей стимуляции ангиогенеза в опухоли, например PDGF, bFGF. Нечувствительность многих типов опухоли к антиангиогенной терапии можно объяснить также появлением в ней васкулярной сети, сформированной неэндотелиальными клетками. Многие проясняет опубликованная в 2014 г. статья о том, что аутофагия обеспечивает выживание ОК и прогрессию опухоли посредством активации ВМ [70].

Аутофагия представляет собой процесс, посредством которого ликвидируются поврежденные органеллы клетки, внутриклеточные патогены, «отработавшие» части цито-

плазмы, а также долгоживущие, аномальные или агрегированные белки [71]. Аутофагия происходит в клетках постоянно и может стимулироваться различными стрессовыми обстоятельствами. В добавление к гомеостатическим функциям расщепления макромолекул с образованием низкомолекулярных компонентов, используемых клеткой для своих нужд, а также очистки их от неправильно свернутых белков и поврежденных органелл аутофагия абсолютно необходима при различных физиологических и патологических состояниях (таких, как раннее эмбриональное развитие, деградация белков, способных к агрегации или образовавших сшивки, освобождение от бактерий). Аутофагия, как известно, в ОК имеет патологически повышенную активность и представляет собой основной или как минимум один из основных механизмов, за счет которого поддерживается постоянная готовность ОК к делению [72]. В отсутствие аутофагии или в случае, если она неполноценна, в ОК накапливаются дисфункциональные митохондрии и другие повреждения, несовместимые с жизнью. В связи с этим кратковременное «отключение» аутофагии в таких клетках улучшает результаты лечения онкологических больных. Было показано, что клетки, в которых ингибировалась аутофагия, не формировали ВМ [72]. ОК также теряли способность к инвазии.

Накопленный на сегодня экспериментальный материал о клиническом значении ВМ в солидных и «жидких» (гематологических) опухолях позволяет высказать следующую гипотезу. ВМ является органической характеристикой злокачественной опухоли наравне с самодостаточностью деления клеток, утратой их способности к апоптозу, инвазией, метастазированием, секрецией гуморальных стимуляторов ангиогенеза. Изучение молекулярных механизмов становления ВМ позволит не только лучше понять взаимодействие между опухолевой клеткой, ее микроокружением, переходом опухоли в агрессивную фазу роста, но и предложить новый подход к диагностике и лечению злокачественных опухолей.

## КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Автор подтверждает отсутствие скрытых конфликтов интересов.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Persson A., Buschmann I. Vascular growth in health and disease. *Front. Mol. Neurosci.* 2011; 24: 14–8.
2. Balaji S., King A., Crombleholme T. et al. The Role of Endothelial Progenitor Cells in Postnatal Vasculogenesis: Implications for Therapeutic Neovascularization and Wound Healing. *Adv. Wound Care (New Rochelle)*. 2013; 2(6): 283–95.
3. LeBlanc A.J., Krishnan L., Sullivan C.J. et al. Microvascular repair: post-angiogenesis vascular dynamics. *Microcirculation*. 2012; 19(8): 676–95.
4. Folkman J. New perspectives in clinical oncology from angiogenesis research. *Eur. J. Cancer*. 1996; 32A(14): 2534–9.
5. Shibuya M. VEGF-VEGFR Signals in Health and Disease. *Biomol. Ther.* 2014; 22(1): 1–9.
6. Vempati P., Popel A.S., MacGabhann S. Extracellular regulation of VEGF: isoforms, proteolysis, and vascular patterning. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2014; 25(1): 1–19.
7. De Falco S. The discovery of placenta growth factor and its biological activity. *Exp. Mol. Med.* 2012; 44(1): 1–9.
8. Lieu C., Heymach J., Overman M. et al. Beyond VEGF: inhibition of the fibroblast growth factor pathway and antiangiogenesis. *Clin. Cancer Res.* 2011; 17(19): 6130–9.
9. Hellberg C., Ostman A., Heldin C.H. PDGF and vessel maturation. *Recent Results Cancer Res.* 2010; 180: 103–14.
10. Fajiani E., Christofori G. Angiopoietins in angiogenesis. *Cancer Lett.* 2013; 328(1): 18–26.
11. Moschetta M., Mishima Y., Sahin I. et al. Role of endothelial progenitor cells in cancer progression. *Biochim. Biophys. Acta.* 2014; 1846(1): 26–39.

12. Donnem T., Hu J., Ferguson M. et al. Vessel co-option in primary human tumors and metastases: an obstacle to effective anti-angiogenic treatment? *Cancer Med.* 2013; 2(4): 427–36.
13. Maniatis A.J., Folberg R., Hess A. et al. Vascular channel formation by human melanoma cells in vivo and in vitro: vasculogenic mimicry. *Am. J. Pathol.* 1999; 155(3): 739–52.
14. Hendrix M.J., Seflor E.A., Hess A.R. et al. Molecular plasticity of human melanoma cells. *Oncogene.* 2003; 22(20): 3070–5.
15. Welti J., Loges S., Dimmeler S., Carmeliet P. Recent molecular discoveries in angiogenesis and antiangiogenic therapies in cancer. *J. Clin. Invest.* 2013; 123(8): 3190–200.
16. Cao Z., Bao M., Miele L., Sarkar F.H., Wang Z., Zhou Q. Tumour vasculogenic mimicry is associated with poor prognosis of human cancer patients: a systemic review and meta-analysis. *Eur. J. Cancer.* 2013; 49(18): 3914–23.
17. Seflor R.E., Hess A.R., Seflor E.A. et al. Tumor cell vasculogenic mimicry: from controversy to therapeutic promise. *Am. J. Pathol.* 2012; 181(4): 1115–25.
18. Fan Y.Z., Sun W. Molecular regulation of vasculogenic mimicry in tumors and potential tumor-target therapy. *World J. Gastrointest. Surg.* 2010; 2(4): 117–27.
19. Hess A.R., Seflor E.A., Gruman L.M. et al. VE-cadherin regulates EphA2 in aggressive melanoma cells through a novel signaling pathway: implications for vasculogenic mimicry. *Cancer Biol. Ther.* 2006; 5(2): 228–33.
20. Mourad-Zeidan A.A., Melnikova V.O., Grigorieva I. et al. Expression profiling of Galectin-3-depleted melanoma cells reveals its major role in melanoma cell plasticity and vasculogenic mimicry. *Am. J. Pathol.* 2008; 173(6): 1839–52.
21. Basu G.D., Pathangey L.B., Tindler T.L. Mechanisms underlying the growth inhibitory effects of the cyclo-oxygenase-2 inhibitor celecoxib in human breast cancer cells. *Breast Cancer Res.* 2005; 7(4): R422–35.
22. Vartanian A., Gatsina G., Grigorieva I. et al. The involvement of Notch signaling in melanoma vasculogenic mimicry. *Clin. Exp. Med.* 2013; 13(3): 201–9.
23. Vartanian A., Stepanova E., Grigorieva I. et al. Melanoma vasculogenic mimicry capillary-like structure formation depends on integrin and calcium signaling. *Microcirculation.* 2011; 18(5): 390–9.
24. Vartanian A., Stepanova E., Grigorieva I. VEGFR1 and PKC $\alpha$  signaling control melanoma vasculogenic mimicry in a VEGFR2 kinase-independent manner. *Melanoma Res.* 2011; 21(2): 91–8.
25. Lissitzky J.C., Parriaux D., Ristorcelli E. Cyclic AMP signaling as a mediator of vasculogenic mimicry in aggressive human melanoma cells in vitro. *Cancer Res.* 2009; 69(3): 802–9.
26. Xi Y., Nakajima G., Hamil T. Association of insulin-like growth factor binding protein-3 expression with melanoma progression. *Mol. Cancer Ther.* 2006; 5(12): 3078–84.
27. Hess A.R., Hendrix M.J. Focal adhesion kinase signaling and the aggressive melanoma phenotype. *Cell Cycle.* 2006; 5(5): 478–80.
28. Ruf W., Seflor E.A., Petrovan R.J. et al. Differential role of tissue factor pathway inhibitors 1 and 2 in melanoma vasculogenic mimicry. *Cancer Res.* 2003; 63(17): 5381–9.
29. Ciurea M.E., Georgescu A.M., Purcaru S.O. Cancer stem cells: biological functions and therapeutically targeting. *Int. J. Mol. Sci.* 2014; 15(5): 8169–85.
30. Friedmann-Morvinski D., Verma I.M. Dedifferentiation and reprogramming: origins of cancer stem cells. *EMBO Rep.* 2014; 15(3): 244–53.
31. Stewart J.M., Shaw P.A., Geyde C. et al. Phenotypic heterogeneity and instability of human ovarian tumor-initiating cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011; 108(16): 6468–73.
32. Meier P., Finch A., Evan G. Apoptosis in development. *Nature.* 2000; 407(6805): 796–801.
33. Tait S.W., Ichim G., Green D.R. Die another way — non-apoptotic mechanisms of cell death. *J. Cell Sci.* 2014; 127(Pt. 10): 2135–44.
34. Vartanian A., Burova O., Stepanova E. et al. The involvement of apoptosis in melanoma vasculogenic mimicry. *Mel Res.* 2007; 1: 1–8.
35. Vartanian A., Burova O., Stepanova E. et al. Melanoma vasculogenic mimicry is strongly related to reactive oxygen species level. *Mel. Res.* 2007; 17(6): 370–9.
36. Narendhirakannan R.T., Hannah M.A. Oxidative Stress and Skin Cancer: An Overview. *Indian J. Clin. Biochem.* 2013; 28(2): 110–5.
37. Holmstrom K.M., Finkel T. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2014; 15(6): 411–21.
38. Brakenhielm E., Cao R., Cao Y. et al. Suppression of angiogenesis, tumor growth, and wound healing by resveratrol, a natural compound from red wine and grapes. *FASEB J.* 2001; 15: 1798–800.
39. Vartanian A., Stepanova E., Grigorieva I. et al. Melanoma vasculogenic mimicry capillary-like structure formation depends on integrin and calcium signaling. *Microcirculation.* 2011; 18(5): 390–9.
40. Shirakawa K., Kobayashi H., Heike Y. et al. Hemodynamics in vasculogenic mimicry and angiogenesis of inflammatory breast cancer xenograft. *Cancer Res.* 2002; 62(2): 560–6.
41. Folberg R., Rummel V., Ginderdeuren R. et al. The prognostic value of tumor blood vessel morphology in primary uveal melanoma. *Ophthalmology.* 1993; 100: 1389–98.
42. Vartanian A., Stepanova E., Baryshnikov A. et al. Prognostic significance of Periodic Acid-Schiff-positive patterns in clear cell renal cell carcinoma. *Canad. J. Urol.* 2009; 16(4): 4726–31.
43. Григорьева И.Н., Вишневецкая Я.В., Абрамов М.Е. и др. Особенности васкуляризации меланомы кожи человека. *Забайкальский медицинский вестник.* 2011; 2: 12–8.
- [Grigor'eva I.N., Vishnevskaya Ya.V., Abramov M.E. et al. Peculiarities of vascularization of human skin melanoma. *Zabaikal'skii meditsinskii vestnik.* 2011; 2: 12–8. (In Russ.)]
44. Wang S.Y., Ke Y.Q., Lu G.H. et al. Vasculogenic mimicry is a prognostic factor for postoperative survival in patients with glioblastoma. *J. Neurooncol.* 2013; 112(3): 339–45.
45. Lin P., Wang W., Sun B.C. et al. Vasculogenic mimicry is a key prognostic factor for laryngeal squamous cell carcinoma: a new pattern of blood supply. *Chin. Med. J. (Engl.)* 2012; 125(19): 3445–9.
46. Liu R., Yang K., Meng C. Vasculogenic mimicry is a marker of poor prognosis in prostate cancer. *Cancer Biol. Ther.* 2012; 13(7): 527–33.
47. Wang S.Y., Yu L., Ling G.Q. et al. Vasculogenic mimicry and its clinical significance in medulloblastoma. *Cancer Biol. Ther.* 2012; 13(5): 341–8.
48. Liu X.M., Zhang Q.P., Mu Y.G. et al. Clinical significance of vasculogenic mimicry in human gliomas. *J. Neurooncol.* 2011; 105(2): 173–9.
49. Liu W.B., Xu G.L., Jia W.D. et al. Prognostic significance and mechanisms of patterned matrix vasculogenic mimicry in hepatocellular carcinoma. *Med. Oncol.* 2011; 28: S228–38.
50. Li M., Gu Y., Zhang Z. et al. Vasculogenic mimicry: a new prognostic sign of gastric adenocarcinoma. *Pathol. Oncol. Res.* 2010; 16(2): 259–66.
51. Baeten C.I., Hillen F., Pauwels P. et al. Prognostic role of vasculogenic mimicry in colorectal cancer. *Dis. Colon Rectum.* 2009; 52(12): 2028–35.
52. Sood A.K., Fletcher M.S., Zahn C.M. et al. The clinical significance of tumor cell-lined vasculature in ovarian carcinoma: implications for anti-vasculogenic therapy. *Cancer Biol. Ther.* 2002; 1(6): 661–4.
53. Sun B., Zhang S., Zhao X. et al. Vasculogenic mimicry is associated with poor survival in patients with mesothelial sarcomas and alveolar rhabdomyosarcomas. *Int. J. Oncol.* 2004; 25(6): 1609–14.
54. Wu S., Yu L., Wang D. et al. Aberrant expression of CD133 in non-small cell lung cancer and its relationship to vasculogenic mimicry. *BMC Cancer.* 2012; 12: 535–8.
55. Cameron D., Brown J., Dent R. et al. Adjuvant bevacizumab-containing therapy in triple-negative breast cancer (BEATRICE): primary results of a randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2013; 14(10): 933–42.
56. Corrie P.G., Marshall A., Dunn J.A. et al. Adjuvant bevacizumab in patients with melanoma at high risk of recurrence (AVAST-M): preplanned interim results from a multicentre, open-label, randomised controlled phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2014; 15(6): 620–30.
57. Dias S., Hattori K., Zhu Z. et al. Autocrine stimulation of VEGFR-2 activates human leukemic cell growth and migration. *J. Clin. Invest.* 2000; 106: 511–21.
58. Li W.W., Hutnik M., Gehr G. Antiangiogenesis in haematological malignancies. *Br. J. Haematol.* 2008; 143(5): 622–31.
59. Grosicki S., Grosicka A., Holowiecki J. Clinical importance of angiogenesis and angiogenic factors in oncohematology. *Wiad. Lek.* 2007; 60(1–2): 39–46.
60. Dimopoulos M.A., Delimpasi S., Katodritou E. et al. Significant improvement in the survival of patients with multiple myeloma presenting with severe renal impairment after the introduction of novel agents. *Ann. Oncol.* 2014; 25(1): 195–200.
61. Song G., Li Y., Jiang G. Role of VEGF/VEGFR in the pathogenesis of leukemias and as treatment targets. *Oncol. Rep.* 2012; 28(6): 1935–44.
62. Ruan J. Antiangiogenic therapies in non-Hodgkin's lymphoma. *Curr. Cancer Drug Targets.* 2011; 11(9): 1030–43.
63. Gong J.K. Endosteal marrow: a rich source of hematopoietic stem cells. *Science.* 1978; 199: 1443–45.
64. Yin T., Li L. The stem cell niches in bone. *J. Clin. Invest.* 2006; 116(5): 1195–201.
65. Bradford G.B., Williams B., Rossi R. et al. Quiescence, cycling and turnover in the hematopoietic stem cell compartment. *Exp. Hematol.* 1997; 25(5): 445–53.
66. Вартанян А. Основные закономерности ангиогенеза при онкогематологических заболеваниях. *Клин. онкогематол.* 2013; 6(4): 343–54.
- [Vartanyan A. Basic principles of angiogenesis in hematological malignancies. *Klin. Onkogematol.* 2013; 6(4): 343–54. (In Russ.)]
67. Nico B., Margieri D., Crivellato E. et al. Mast cells contribute to vasculogenic mimicry in multiple myeloma. *Stem Cell Dev.* 2008; 17(1): 19–22.
68. Scavelli C., Nico B., Cirulli T. et al. Vasculogenic mimicry by bone marrow macrophages in patients with multiple myeloma. *Oncogene.* 2008; 27(5): 663–74.
69. Mirshahi P., Raffi A., Vincent J. et al. Vasculogenic mimicry of acute leukemic bone marrow stromal cells. *Leukemia.* 2009; 23: 1039–48.
70. Ding Y.P., Yang X.D., Wu Y. et al. Autophagy promotes the survival and development of tumors by participating in the formation of vasculogenic mimicry. *Oncol. Rep.* 2014; 31(5): 2321–7.
71. Mizushima N., Levine B., Cuervo A.M. et al. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature.* 2008; 451: 1069–75.
72. Shimizu S., Yoshida T., Tsujioka M. et al. Autophagic cell death and cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2014; 15(2): 3145–53.

