

РОЛЬ СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА (VEGF) И ГИПОКСИЯ-ИНДУЦИБЕЛЬНОГО ФАКТОРА (HIF) В ОПУХОЛЕВОМ АНГИОГЕНЕЗЕ

Нефедова Н.А.¹, Давыдова С.Ю.¹

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва, e-mail: ale_x_05@mail.ru

Ангиогенез – многоступенчатый процесс образования новых кровеносных сосудов, который имеет место как в норме, так и при патологии, в том числе при опухолях. Существование любой злокачественной опухоли невозможно без доставки к ней кислорода и питательных веществ, поэтому опухолевый ангиогенез является одним из ключевых механизмов в ее развитии, инвазии и формировании метастазов. Этот процесс стимулируют гипоксия и ангиогенные факторы, такие как сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор роста фибробластов (FGF), ангиогенин, трансформирующий фактор роста бета (TGF-β), гипоксия-индуцибельный фактор (HIF) и другие. В обзоре приводится классификация семейства VEGF и HIF, рассматривается роль каждого из факторов в опухолевом ангиогенезе при различных локализациях и типах опухолей.

Ключевые слова: опухолевый ангиогенез, лимфангиогенез, сосудистый эндотелиальный фактор роста, гипоксия-индуцибельный фактор, тромбоцитарный фактор роста.

THE ROLE OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR AND HIPOXIA-INDUCIBLE FACTOR IN TUMOR'S ANGIOGENESIS

Nefedova N.A.¹, Davidova S.U.¹

¹Lomonosov Moscow State University, Russia, Moscow, e-mail: ale_x_05@mail.ru

Angiogenesis is multistage process of formation of new blood vessels which takes place both in norm, and at pathology, including at tumors. Existence of any malignant tumor is impossible without delivery to it of oxygen and nutrients therefore tumoral angiogenesis is one of key mechanisms in its development, an invasion and formation of metastases. This process is stimulated the hypoxia and angiogenic factors, such as a vascular endothelial growth factor (VEGF), a fibroblast growth factor (FGF), angiogenin, the transforming growth factor beta (TGF-β), a hypoxia-inducible factor (HIF) and others. In the review classification of VEGF and HIF family is given, the role of each of factors in a tumoral angiogenesis at various localizations and types of tumors is considered.

Keywords: tumor's angiogenesis, lymphangiogenesis, vascular endothelial growth factor, hypoxia-inducible factor, platelet-derived growth factor

Среди всех ангиогенных факторов семейство сосудистых эндотелиальных факторов роста (VEGF) считается основным в новообразовании сосудов [10]. Белки, относящиеся к семейству VEGF представляют собой гликопротеины, стимулирующие формирование новых кровеносных и лимфатических сосудов и увеличивающие проницаемость сосудов. VEGF секретируются как ковалентно связанные гомодимеры, стабилизированные дисульфидными мостиками. Семейство включает в себя 6 факторов роста: VEGF-A; VEGF-B; VEGF-C; VEGF-D; VEGF-E и плацентарный фактор роста (PLGF). Одним из активаторов VEGF является гипоксия-индуцибельный фактор-1 (HIF-1) [34].

Факторы семейства VEGF взаимодействуют с клеткой через тирозинкиназные рецепторы. Рецептор VEGF 1-го типа (VEGFR1, Flt-1) экспрессируется гемопоэтическими стволовыми клетками, моноцитами, макрофагами и эндотелиальными клетками сосудов. Рецептор VEGF 2-го типа (VEGFR-2, Flk-1/KDR) экспрессируется эндотелиальными

клетками кровеносных и лимфатических сосудов, рецептор VEGF 3-го типа (VEGFR-3, Flt-4) экспрессируется только эндотелиальными клетками лимфатических сосудов.

VEGF-A связывается с VEGFR-1 и VEGFR-2, в то время как PLGF и VEGF-B только с VEGFR-1. VEGF-C и VEGF-D связываются сначала с VEGFR-3, а впоследствии с VEGFR-2 (рис. 1). Белки семейства VEGF связываются также с ко-рецепторами, такими как нейтрофилины, трансмембранными небелковыми тирозинкиназными ко-рецепторами для семейства семафоринов аксонального поведения и семейства VEGF .

Взаимодействие между VEGF и рецептором активирует остаток тирозина, находящегося в интрацитоплазматической части рецептора и запускает различные сигнальные каскады в эндотелиальных клетках, такие как пролиферация, миграция и увеличение сосудистой проницаемости [17].

Обнаружено, что растворимый VEGFR3 химерный белок ингибирует развитие лимфатических сосудов, что приводит к регрессии существующих сосудов *in vivo*, и уменьшает лимфедему у трансгенных мышей, экспрессирующих VEGFR3 [31]. Следовательно, растворимый VEGFR3 белок может иметь терапевтическую ценность для предотвращения развития метастазов по лимфатической системе в качестве индуктора регрессии вовлеченных лимфатических узлов и лечения лимфедемы, ассоциированной с мастэктомией.

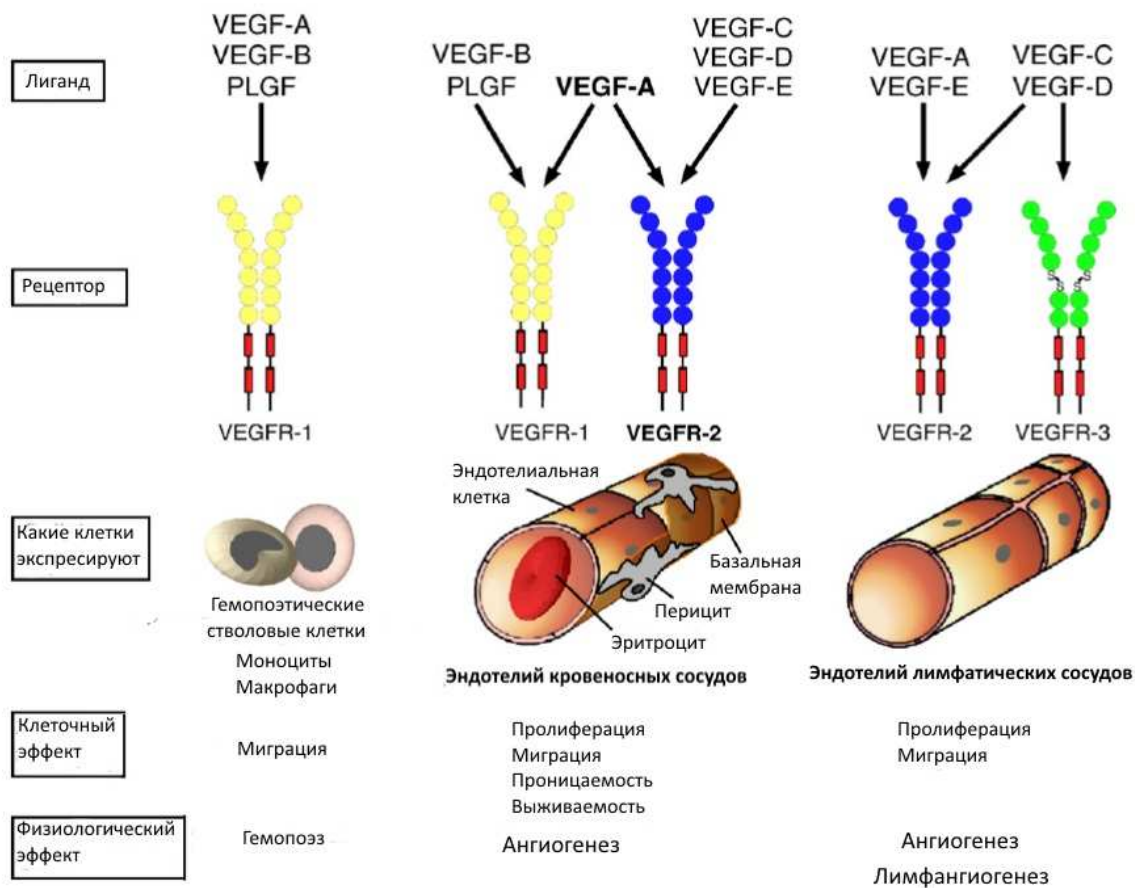


Рис. 1. Факторы семейства VEGF и их рецепторы
(приводится по Holmes K. et al., 2007 [20])

В эндотелиальных клетках внутриопухолевых сосудов в различных карциномах отмечается гиперэкспрессия mRNA VEGF и рецепторов VEGF (flt-1 и KDR), что обеспечивает васкуляризацию стромы опухоли. Достоверная корреляция между уровнем VEGF в ткани опухоли и степенью васкуляризации была показана Toi M. и др. [43]. Изучению роли экспрессии VEGF, HIF-1a и плотности сосудов в солидных опухолях посвящены лишь единичные работы [4]. Isobe T. и соавторы впервые оценили эти три параметра вместе в раке желудка [23].

Сосудистый эндотелиальный фактор роста типа А (VEGF-A). VEGF-A экспрессируется гладкомышечными клетками сосудов, макрофагами и опухолевыми клетками. Важным регулятором экспрессии VEGF-A является содержание кислорода в ткани. Повышенная экспрессия VEGF-A найдена в первичных опухолевых узлах легкого, щитовидной железы, почки, молочной железы, яичника, шейки матки, мочевого пузыря, желудочно-кишечного тракта, а также метастатических узлах.

VEGF-A – один из главных медиаторов в ангиогенезе: в результате альтернативного сплайсинга из мРНК образуется 5 изоформ белка VEGF-A из 121, 145, 165, 189 и 206 аминокислотных остатков с различными функциями. Растворимые изоформы VEGF121 и

VEGF145 стимулируют ангиогенез, регулируют проницаемость кровеносных сосудов и стимулируют пролиферацию эндотелиальных клеток. VEGF189 и VEGF206 индуцируют пролиферацию "активного" эндотелия. В разных опухолях наблюдается гиперэкспрессия разных типов: в клетках рака молочной железы гиперэкспрессируется изоформы VEGF121, VEGF165 и VEGF189 .

Scott P. A. с соавт. ассоциируют экспрессию VEGF-A с гипоксией в раке молочной железы. Показано, что эстрогены также обладают ангиогенным эффектом поскольку применение тамоксифена в эстроген-зависимых клеточных линиях приводило к ингибированию ангиогенеза. Дальнейшая роль эстрогенов была доказана после идентификации функциональных элементов ответа в гене, кодирующем VEGF-A. Gadliardi A. R. продемонстрировал антиангиогенный эффект антиэстрогенов, вызванный непосредственным ингибированием как VEGF-A, так и основного FGF [11].

Saronaro C. с соавторами оценивали экспрессию VEGF-A в спорадическом и наследственном раке молочной железы и обнаружили, что экспрессия VEGF-A в BRCA1-2 подтипах существенно выше, чем в BRCA1-подтипе (не 1-2 подтип), что в свою очередь выше, чем в спорадическом. Такая же закономерность наблюдалась и при изучении экспрессии HIF-1a и MVD. Между плотностью кровеносных сосудов и уровнем экспрессии HIF-1a в подтипе BRCA1-2 выявлялась прямая корреляция [37].

Несмотря на то, что в большинстве исследований, посвященных ангиогенезу, оценивается экспрессия VEGF, в очень малом количестве публикаций указывается тип сосудистого эндотелиального фактора роста. Поскольку первоначально кроме VEGF-A другие типы VEGF известны не были и прежнее название VEGF-A – VEGF, логично предположить, что в работах, где оценивается экспрессия VEGF, оценивалась экспрессия именно VEGF-A типа, однако точного подтверждения этому нет, ввиду чего анализ литературы прошлых лет под этим углом зрения затруднителен. Также очень редко учитывается уровень экспрессии разных изоформ альтернативного сплайсинга, вследствие чего роль этих изоформ в ангиогенезе опухоли остается неясна.

Сосудистые эндотелиальные факторы роста типа C и D (VEGF-C и VEGF-D). VEGF-C и VEGF-D в норме у взрослого человека экспрессируются в сердце, мышцах, яичнике и тонком кишечнике и обнаружены в некоторых типах злокачественных опухолей. Известно, что VEGF-C синтезируется в виде пропептида, который впоследствии подвергается протеолизу и созреванию. Короткие незрелые формы связываются с VEGFR-3, а созревшие – с VEGFR-2. Гиперэкспрессия VEGF-C в коже или поджелудочной железе трансгенных мышей приводит к пролиферации эндотелия лимфатических сосудов и увеличению количества этих сосудов, в то время как кровеносные сосуды не реагируют.

В первичном раке молочной железы экспрессия VEGF-C и VEGF-D выше, чем в доброкачественных образованиях молочной железы [47] и выше, чем в нормальной ткани молочной железы, однако не все авторы придерживаются этого мнения [44]. Некоторые авторы показали сильную взаимосвязь между экспрессией VEGF-C и плотностью лимфатических сосудов в злокачественной мезотелиоме, плоскоклеточном раке полости рта [16], исходя из чего можно сделать вывод, что VEGF-C является регулятором лимфангиогенеза, хотя он стимулирует и ангиогенез, но в меньшей степени.

VEGF-D имеет похожую структуру и функции. Помимо того, что VEGF-D стимулирует лимфангиогенез, было показано, что он потенцирует инвазию опухоли в лимфатические сосуды у мышей [44].

Несмотря на то, что роль VEGF-C и VEGF-D и их рецептора VEGFR-3 в индукции лимфангиогенеза давно признана, их предиктивная ценность в метастазировании опухолей в регионарные лимфатические узлы противоречива [15]. Показано, что лимфангиогенез, оцениваемый по плотности лимфатических сосудов, является предиктором метастазирования протоковой карциномы *in situ* с микроинвазией [28]. Однако далеко не все авторы обнаруживают корреляцию экспрессии VEGF-C и плотностью лимфатических сосудов [44], некоторые авторы обнаруживают связь только с плотностью лимфатических сосудов в окружности опухоли, но не в опухолевой ткани [47].

По мнению некоторых авторов, соотношение VEGF-C/VEGF-D является прогностическим маркером поражения лимфатических узлов (значение 317 ± 167 выявляется при вовлечении лимфатических узлов и 45 ± 19 при интактных; $p = 0.0369$) [6].

Несмотря на то, что VEGF-C экспрессируется эндотелиальными клетками лимфатических сосудов и считается маркером лимфангиогенеза, ряд авторов не находит корреляции между экспрессией этого маркера, количеством вновь образованных лимфатических сосудов и наличием метастазов в регионарных лимфатических узлах.

Еще одним вопросом остается зона для оценки плотности лимфатических сосудов и экспрессии VEGF-C в них: непосредственно внутри опухоли или около нее. Роль VEGF-D в лимфангиогенезе и взаимосвязь его корреляции с прогнозом не выяснена.

HIF. Другим фактором, играющим большую роль в ангиогенезе опухолей и являющимся активатором VEGF, является гипоксия-индуцибельный фактор (HIF). Семейство HIF состоит из трех стабилизирующих гипоксию факторов: HIF-1, HIF-2 и HIF-3, реагирующих на разный уровень кислорода и обладающих разной временной реакцией. HIF связывается с элементами ответа на гипоксию в промоторах и тем самым регулирует более 200 генов, включая гены белков, участвующих в процессе ангиогенеза, осуществляющих вазомоторный контроль, энергетический метаболизм, эритропоэз и апоптоз [40]. HIF

активирует транскрипцию множества ангиогенных факторов роста и цитокинов, включая VEGF-A, стромальный фактор роста SDF1, также известный как CXCL12, ангиопоэтин 2(ANGPT2) и фактор стволовых клеток SCF, также известный как kit ligand [5].

Каждый фактор семейства HIF представляет собой гетеродимерную молекулу, состоящую из двух субъединиц: HIF- α и арил-гидрокарбонового ядерного рецептора (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator, также именуемого HIF-1 β). HIF-1 содержит HIF-1 α и HIF-1 β ; гетеродимеры HIF-2 α – HIF-1 β и HIF-3 α – HIF-1 β именуются HIF-2 и HIF-3 соответственно [35].

Функции HIF-1 и HIF-2 различны: HIF-1 ответственен за повышение экспрессии гликолитических ферментов во многих опухолевых клетках, а HIF-2 регулирует свойства стволовых клеток, найденных в популяции опухолевых клеток [32]. Предметом многих исследований в настоящее время является изучение роли HIF-1 и HIF-2 в строме опухоли карцином простаты, молочной железы, кишечника, желудка и многих других. Последние исследования показывают, что "режим" активации HIF в строме опухоли играет важную роль в прогрессии рака [48].

HIF-1 и HIF-2 также оказывают противоположные эффекты на активность опухолевого супрессора p53: HIF-1 α активирует и стабилизирует p53 в определенных условиях микроокружения и таким образом сенсibiliзирует опухоль к радиации; HIF-2 α , наоборот, подавляет экспрессию и функции p53 посредством многих механизмов [24]. Отрицательное прогностическое влияние HIF-1 может быть особенно сильным, когда p53 инактивирован и супрессирующая роль HIF-1 утрачена.

HIF-1. HIF-1 играет важнейшую роль в становлении гомеостаза, индуцируя транскрипцию ключевых генов, таких как сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) и эритропоэтин [22]. HIF-1 β экспрессируется постоянно, в то время как экспрессия HIF-1 α зависит от концентрации кислорода в клетке.

Экспрессия некоторых генов, реагирующих на гипоксию, обнаружена в низкодифференцированных и рецептор-негативных опухолях молочной железы [9]. В исследовании Tomes L. и соавт. стромальная экспрессия HIF-1, CAIX и GLUT-1 (белки-мишени HIF) наблюдалась только в протоковой карциноме *in situ* с некрозом или без него и отсутствовала в нормальной молочной железе и адипоцитах, что свидетельствует о том, что гипоксия также влияет и на строму опухоли. Авторы отмечают, что ядерная экспрессия HIF-1 наблюдалась в стромальных клетках, но интенсивность окрашивания была существенно ниже по сравнению с уровнем экспрессии HIF-1 в эпителиальных клетках.

HIF-1 α . Повышенная экспрессия гена HIF-1 α не обязательно связана с амплификацией или мутацией в кислород-зависимом домене деградации HIF-1 α . Гораздо чаще повышенный

уровень связан с увеличением транскрипции гена HIF-1 α или изменением в пути его деградации (рис. 2) [45].

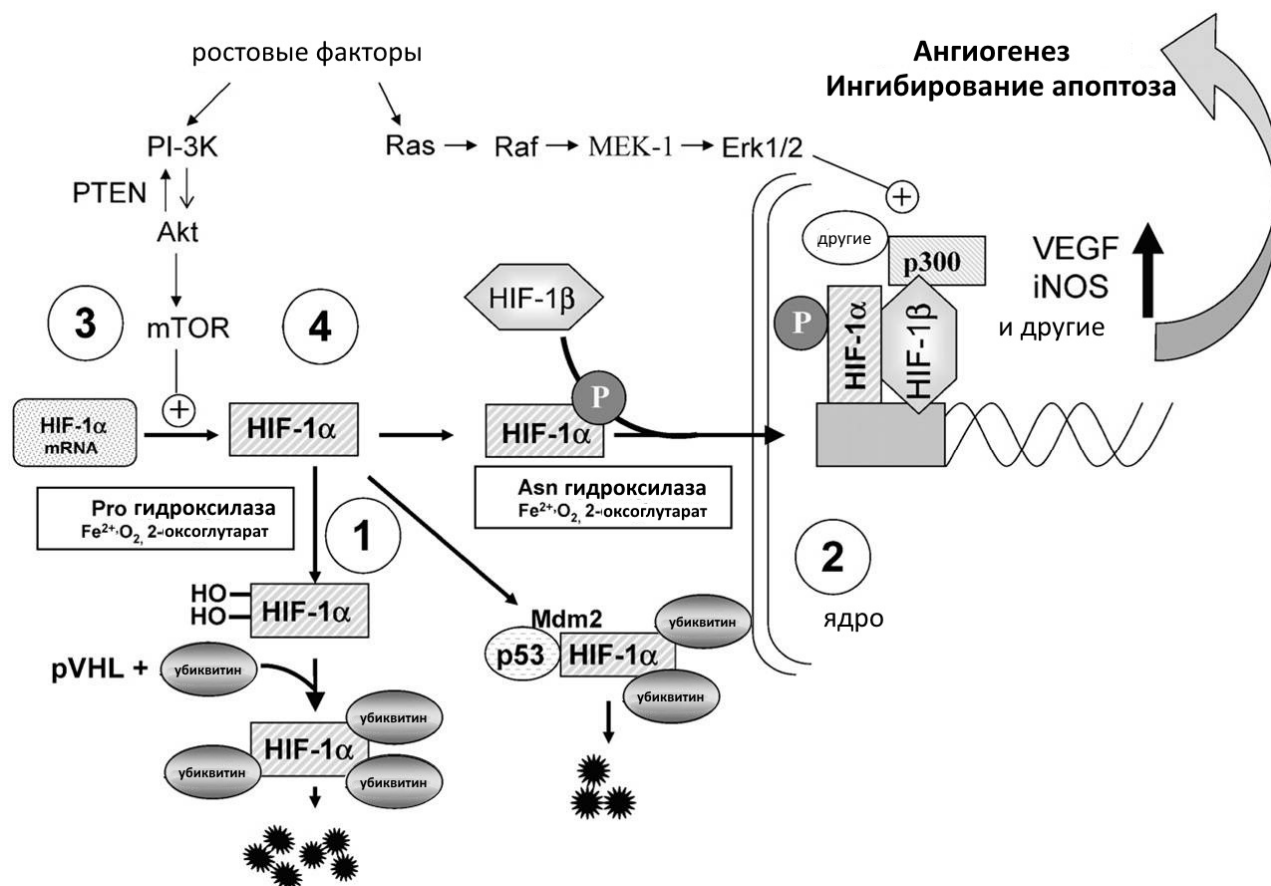


Рис. 2. Сигнальный путь HIF-1. HIF-1 α взаимодействует с HIF-1 β (ARNT) и регулирует транскрипцию генов, вовлеченных в процессы гликолиза, ангиогенеза, метастазирования. Существует четыре механизма регуляции HIF-1 α . 1 – убиквитинизации и деградации HIF-1 α посредством протеина Hippel-Lindeau или p53. 2 – трансактивации HIF-1 уменьшается под действием Asn гидролазы, которая уменьшает связывание с транскрипционным коактиватором p300. 3 – активация Akt и mTOR фосфатидилинозитол-3-киназой увеличивает уровень трансляции HIF-1 α ; PTEN является антагонистом. 4 – фосфорилирование p300 MAPK сигнальным путем увеличивает формирование комплекса HIF-1/p300 (приводится по Powis G., 2004 [35])

Высокий уровень HIF-1 α обнаружен в биопсиях первичных G2-G3 опухолей мочевого пузыря, молочной железы, шейки матки, эндометрия, пищевода, желудка, легких, полости рта, гортани, яичника, поджелудочной железы и кишечника, и расценивается как плохой прогностический фактор в отношении общей выживаемости [41]. Показано, что наличие HIF-1 α является плохим прогностическим фактором у больных раком молочной железы независимо от поражения лимфатических узлов, несмотря на то, что считается, что пациентки с непораженными лимфатическими узлами имеют лучший прогноз [4, 7].

Дефицит HIF-1 α в злокачественных опухолях достоверно уменьшает прогрессию опухоли и метастазирование, что было показано на животных [2, 29]. Высокий уровень HIF-1 α считается предиктором ответа на химиотерапию у больных раком молочной железы [13, 36], по другим данным HIF-1 α – предиктором рецидива рака предстательной железы и кишечника [7]. Однако не все авторы обнаруживают связь между экспрессией HIF-1 α и прогнозом.

Уровень экспрессии HIF-1 α коррелирует с экспрессией VEGF-C и плотностью околоопухолевых лимфатических сосудов в раке молочной железы, что свидетельствует о том, что HIF-1 α может стимулировать метастазирование рака молочной железы по лимфатической системе [25, 39].

Лечение опухолевых мышечных дигоксином для ингибирования экспрессии HIF-1 α значительно уменьшает размер первичной опухоли и количество метастазов в лимфатических узлах [38]. Поэтому можно ожидать эффект от терапии ингибиторами HIF у пациенток с HIF-1 α ⁺ опухолями.

Мишенями HIF-1 α являются CAIX и GLUT-1, экспрессия которых наблюдается в низкодифференцированных карциномах. CAIX ассоциирован с малой безрецидивной выживаемостью у пациентов с опухолями G1-G2 и плохим прогнозом [1, 21, 33]. CAIX также является предикторным маркером на химио- и адъювантную терапию у больных раком молочной железы [3, 42]. Vleugel M. M. et al. показали, что высокий уровень HIF-1 α и сильная экспрессия гипоксия-регулируемых факторов CAIX и GLUT-1 в перинекротических зонах ассоциированы с плохим прогнозом. Однако диффузно разбросанная по ткани опухоли экспрессия HIF-1 α не активирует CAIX и GLUT-1 и свидетельствует о благоприятном прогнозе [45].

HIF-2. HIF-2 α (также известный как EPAS1), 48% аминокислот которого идентичны HIF-1 α , также индуцируется гипоксией, димеризуется с HIF-2 β и активирует транскрипционные гены-мишени, часть из которых совпадает с мишенями HIF-1 α , а часть отличается [30]. Так, например, HIF-2 увеличивает экспрессию растворимого VEGFR1, который связывается с VEGF (экспрессия которого индуцируется HIF-1 α) и нейтрализует их действие [8].

Экспрессия HIF-2 α определяется в эндотелиальных клетках сосудов, клетках, продуцирующих катехоламин, клетках почки и легкого в период эмбриогенеза; в опухоль-ассоциированных макрофагах. В инфильтрирующей протоковой карциноме молочной железы была описана повышенная экспрессия HIF-2 α и обнаружена связь с высоким метастатическим потенциалом опухоли [14]. В инвазивном раке экспрессия HIF-2 в

первичных опухолях коррелирует со степенью злокачественности и экспрессией Ki-67, а также с отдаленными рецидивами и плохим прогнозом [18, 46].

HIF-3. Меньше данных имеется о HIF-3 α . Показана экспрессия мРНК HIF-3 α в клетках легкого, мозга, сердца и почки. Хотя HIF-3 α активируется и димеризуется с HIF-1 β в ответ на гипоксию, эксперименты с временной трансфекцией указывают на то, что HIF-3 α является негативным регулятором генов, индуцируемых гипоксией. Формы HIF-3 α , образованные в результате альтернативного сплайсинга, могут отрицательно влиять на функции HIF-1 α . Полагают, что HIF-3 α может быть маркером роста опухоли и ангиогенеза [35], для подтверждения этого положения необходимы тщательные исследования

Таким образом, поскольку опухоль испытывает состояние гипоксии, которая индуцирует экспрессию HIF, то в большинстве опухолей наблюдается высокий уровень данного маркера. Однако «режим активации» HIF в строме опухоли играет важную роль в ее прогрессии, поскольку HIF-1 и HIF-2 оказывают противоположные эффекты. Высокий уровень HIF-1 α в опухолевых клетках воздействует на экспрессию таргетных генов, вовлеченных в процесс ангиогенеза, а между экспрессией HIF-2 α и метастазированием обнаружена взаимосвязь.

Тромбоцитарный фактор роста (PDGF), также известный как тимидиновая фосфорилаза – один из факторов роста, регулирующий клеточный рост и деление. PDGF – потенциальный митоген клеток мезенхимного происхождения, включая гладкомышечные и глиальные клетки [27]. Семейство PDGF состоит из четырех различных цепей PDGF (A-D), образующих функциональные гомодимеры (PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-CC и PDGF-DD) или гетеродимер PDGF-AB. Семейства PDGF и VEGF имеют много общего в своей структуре. Анализ геномных последовательностей, кодирующих VEGF и PDGF, свидетельствует о том, что эти семейства произошли от общего предшественника [19]. PDGF-B гиперэкспрессируется эндотелиальными клетками в раке молочной железы и вызывает инфильтрацию перicyтов и ангиогенез.

Показано, что увеличение экспрессии PDGF, ассоциированное со снижением VEGF является предикторами относительно благоприятного прогноза у больных раком молочной железы с метастазами в лимфатические узлы, принимавших адьювантную химиотерапию (циклофосфамид, метотрексат, 5-флуорацил). Однако подобной корреляции не выявлено у пациенток, принимавших тамоксифен, в связи с чем можно судить о роли PDGF в различных молекулярных подтипах рака молочной железы [12].

Для идентификации факторов лимфангиогенеза, индуцируемых гипоксией, клетки культуры MDA-MB-231 инкубировали в течение 24 часов в 20 % или 1 % кислороде, после чего оценивалась экспрессия мРНК, кодирующей VEGF, PDGF, IGF и FGF. Уровень мРНК

PDGF-B в культуре был более, чем в 4 раза выше в условии гипоксии[38]. В другом клиническом исследовании обнаружили взаимосвязь между PDGF-B, рецептором PDGF-β и метастазами в лимфатические сосуды на материале рака желудка [26]. Показано, что именно HIF-1 (но не HIF-2) связывается с элементом ответа на гипоксию, локализованным в интроне 3 гена PDGF-B и активирует его транскрипцию.

Малое количество публикаций, посвященных экспрессии PDGF в опухолях, не позволяет сформировать единого мнения о его роли в прогрессии карциномы и ее метастазировании. Однако молекулярные, клеточные и клинические исследования демонстрируют, что HIF-1-зависимая экспрессия PDGF-B способствует лимфангиогенезу и лимфатическим метастазам в опухолевых клетках, подвергшихся гипоксии.

Таким образом, в злокачественных опухолях ангиогенез протекает постоянно и очень интенсивно, что может обуславливать их рост. Учитывая важную прогностическую значимость активности ангиогенеза опухоли, необходимо выявить молекулярные маркеры для его оценки. Ангиогенные факторы крупных семейств, таких как VEGF и HIF, играют большую роль в опухолевом ангиогенезе, однако функция далеко не всех их типов известна. Вопросы ангиогенеза в опухолевой ткани представляют, несомненно, большой интерес также в связи с разработкой методов антиангиогенной терапии.

Список литературы

1. Beketic-Oreskovic L., Ozretic P., Rabbani Z.N., et al. Prognostic significance of carbonic anhydrase IX (CA-IX), endoglin (CD105) and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) in breast cancer patients // *Pathol Oncol Res.* – 2011. - N. 17(3). – P. 593-603.
2. Bertout J.A., Patel S.A., and Simon M.C. The impact of O₂ availability on human cancer // *Nat Rev Cancer.* – 2008. - N. 8(12). – P. 967-75.
3. Betof A.S., Rabbani Z.N., Hardee M.E., et al. Carbonic anhydrase IX is a predictive marker of doxorubicin resistance in early-stage breast cancer independent of HER2 and TOP2A amplification // *Br J Cancer.* – 2012. - N. 106(5). – P. 916-22.
4. Bos R., van Diest P.J., de Jong J.S., et al. Hypoxia-inducible factor-1alpha is associated with angiogenesis, and expression of bFGF, PDGF-BB, and EGFR in invasive breast cancer // *Histopathology.* – 2005. - N. 46(1). – P. 31-6.
5. Ceradini D.J., Kulkarni A.R., Callaghan M.J., et al. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1 // *Nat Med.* - 2004. - N. 10(8). P. 858-64.
6. Cunnick G.H., Jiang W.G., Douglas-Jones T., et al. Lymphangiogenesis and lymph node metastasis in breast cancer // *Mol Cancer.* – 2008. - N. 7. – P. 23.

7. Dales J.P., Garcia S., Meunier-Carpentier S., et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor HIF-1alpha predicts early relapse in breast cancer: retrospective study in a series of 745 patients // *Int J Cancer*. – 2005. - N. 116(5). – P. 734-9.
8. Eubank T.D., Roda J.M., Liu H., et al. Opposing roles for HIF-1alpha and HIF-2alpha in the regulation of angiogenesis by mononuclear phagocytes // *Blood*. – 2011. - N. 117(1). – P. 323-32.
9. Favaro E., Lord S., Harris A.L., et al. Gene expression and hypoxia in breast cancer // *Genome Med*. – 2011. - N. 3(8). – P. 55.
10. Ferrara N. VEGF-A: a critical regulator of blood vessel growth // *Eur Cytokine Netw*. – 2009. - N. 20(4). – P. 158-63.
11. Gagliardi A.R., Hennig B., and Collins D.C. Antiestrogens inhibit endothelial cell growth stimulated by angiogenic growth factors // *Anticancer Res*. – 1996. - N. 16(3a). – P. 1101-6.
12. Gasparini G., Toi M., Miceli R., et al. Clinical relevance of vascular endothelial growth factor and thymidine phosphorylase in patients with node-positive breast cancer treated with either adjuvant chemotherapy or hormone therapy // *Cancer J Sci Am*. – 1999. - N. 5(2). – P. 101-11.
13. Generali D., Berruti A., Brizzi M.P., et al. Hypoxia-inducible factor-1alpha expression predicts a poor response to primary chemoendocrine therapy and disease-free survival in primary human breast cancer // *Clin Cancer Res*. – 2006. - N. 12(15). – P. 4562-8.
14. Giatromanolaki A., Sivridis E., Fiska A., et al. Hypoxia-inducible factor-2 alpha (HIF-2 alpha) induces angiogenesis in breast carcinomas // *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. – 2006. - N. 14(1). – P. 78-82.
15. Gisterek I., Matkowski R., Kozlak J., et al. Evaluation of prognostic value of VEGF-C and VEGF-D in breast cancer--10 years follow-up analysis // *Anticancer Res*. – 2007. - N. 27(4c). – P. 2797-802.
16. Gu Y., Qi X., and Guo S. Lymphangiogenesis induced by VEGF-C and VEGF-D promotes metastasis and a poor outcome in breast carcinoma: a retrospective study of 61 cases // *Clin Exp Metastasis*. – 2008. - N. 25(7). – P. 717-25.
17. Guo S., Colbert L.S., Fuller M., et al. Vascular endothelial growth factor receptor-2 in breast cancer // *Biochim Biophys Acta*. – 2010. - N. 1806(1). – P. 108-21.
18. Helczynska K., Larsson A.M., Holmquist Mengelbier L., et al. Hypoxia-inducible factor-2alpha correlates to distant recurrence and poor outcome in invasive breast cancer // *Cancer Res*. – 2008. - N. 68(22). – P. 9212-20.
19. Holmes D.I. and Zachary I. The vascular endothelial growth factor (VEGF) family: angiogenic factors in health and disease // *Genome Biol*. – 2005. - N. 6(2). – P. 209.

20. Holmes K., Roberts O.L., Thomas A.M., et al. Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition // *Cell Signal.* – 2007. - N. 19(10). – P. 2003-12.
21. Hussain S.A., Ganesan R., Reynolds G., et al. Hypoxia-regulated carbonic anhydrase IX expression is associated with poor survival in patients with invasive breast cancer // *Br J Cancer.* – 2007. - N. 96(1). – P. 104-9.
22. Ietta F., Wu Y., Winter J., et al. Dynamic HIF1A regulation during human placental development // *Biol Reprod.* – 2006. - N. 75(1). – P. 112-21.
23. Isobe T., Aoyagi K., Koufujii K., et al. Clinicopathological significance of hypoxia-inducible factor-1 alpha (HIF-1alpha) expression in gastric cancer // *Int J Clin Oncol.* – 2013. - N. 18(2). – P. 293-304.
24. Keith B., Johnson R.S., and Simon M.C. HIF1alpha and HIF2alpha: sibling rivalry in hypoxic tumour growth and progression // *Nat Rev Cancer.* – 2012. - N. 12(1). – P. 9-22.
25. Kimbro K.S. and Simons J.W. Hypoxia-inducible factor-1 in human breast and prostate cancer // *Endocr Relat Cancer.* – 2006. - N. 13(3). – P. 739-49.
26. Kodama M., Kitadai Y., Sumida T., et al. Expression of platelet-derived growth factor (PDGF)-B and PDGF-receptor beta is associated with lymphatic metastasis in human gastric carcinoma // *Cancer Sci.* — 2010. - N. 101(9). – P. 1984-9.
27. Lee E., Pandey N.B., and Popel A.S. Lymphatic endothelial cells support tumor growth in breast cancer // *Sci Rep.* – 2014. - N. 4. – P. 5853.
28. Lee S.K., Cho E.Y., Kim W.W., et al. The prediction of lymph node metastasis in ductal carcinoma in situ with microinvasion by assessing lymphangiogenesis // *J Surg Oncol.* – 2010. - N. 102(3). – P. 225-9.
29. Liao D., Corle C., Seagroves T.N., et al. Hypoxia-inducible factor-1alpha is a key regulator of metastasis in a transgenic model of cancer initiation and progression // *Cancer Res.* – 2007. - N. 67(2). – P. 563-72.
30. Lofstedt T., Fredlund E., Holmquist-Mengelbier L., et al. Hypoxia inducible factor-2alpha in cancer // *Cell Cycle.* – 2007. - N. 6(8). – P. 919-26.
31. Makinen T., Jussila L., Veikkola T., et al. Inhibition of lymphangiogenesis with resulting lymphedema in transgenic mice expressing soluble VEGF receptor-3 // *Nat Med.* – 2001. - N. 7(2). – P. 199-205.
32. Pietras A., Hansford L.M., Johnsson A.S., et al. HIF-2alpha maintains an undifferentiated state in neural crest-like human neuroblastoma tumor-initiating cells // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2009. - N. 106(39). – P. 16805-10.

33. Pinheiro C., Sousa B., Albergaria A., et al. GLUT1 and CAIX expression profiles in breast cancer correlate with adverse prognostic factors and MCT1 overexpression // *Histol Histopathol.* – 2011. - N. 26(10). – P. 1279-86.
34. Potente M., Gerhardt H., and Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis // *Cell.* – 2011. - N. 146(6). – P. 873-87.
35. Powis G. and Kirkpatrick L. Hypoxia inducible factor-1alpha as a cancer drug target // *Mol Cancer Ther.* – 2004. - N. 3(5). – P. 647-54.
36. Rundqvist H. and Johnson R.S. Tumour oxygenation: implications for breast cancer prognosis // *J Intern Med.* – 2013. - N. 274(2). – P. 105-12.
37. Saponaro C., Malfettone A., Ranieri G., et al. VEGF, HIF-1alpha expression and MVD as an angiogenic network in familial breast cancer // *PLoS One.* – 2013. - N. 8(1). – P. e53070.
38. Schito L., Rey S., Tafani M., et al. Hypoxia-inducible factor 1-dependent expression of platelet-derived growth factor B promotes lymphatic metastasis of hypoxic breast cancer cells // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2012. - N. 109(40). – P. E2707-16.
39. Schoppmann S.F., Fenzl A., Schindl M., et al. Hypoxia inducible factor-1alpha correlates with VEGF-C expression and lymphangiogenesis in breast cancer // *Breast Cancer Res Treat.* – 2006. - N. 99(2). – P. 135-41.
40. Semenza G.L. O₂-regulated gene expression: transcriptional control of cardiorespiratory physiology by HIF-1 // *J Appl Physiol* (1985). – 2004. - N. 96(3). – P. 1173-7; discussion 1170-2.
41. Semenza G.L. Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics // *Oncogene.* – 2010. - N. 29(5). – P. 625-34.
42. Span P.N., Bussink J., De Mulder P.H., et al. Carbonic anhydrase IX expression is more predictive than prognostic in breast cancer // *Br J Cancer.* – 2007. - N. 96(8). – P. 1309; author reply 1310.
43. Toi M., Inada K., Suzuki H., et al. Tumor angiogenesis in breast cancer: its importance as a prognostic indicator and the association with vascular endothelial growth factor expression // *Breast Cancer Res Treat.* – 1995. - N. 36(2). – P. 193-204.
44. van der Schaft D.W., Pauwels P., Hulsmans S., et al. Absence of lymphangiogenesis in ductal breast cancer at the primary tumor site // *Cancer Lett.* – 2007. - N. 254(1). – P. 128-36.
45. Vleugel M.M., Greijer A.E., Shvarts A., et al. Differential prognostic impact of hypoxia induced and diffuse HIF-1alpha expression in invasive breast cancer // *J Clin Pathol.* – 2005. - N. 58(2). – P. 172-7.
46. Xiang L., Liu Z.H., Huan Q., et al. Hypoxia-inducible factor-2a is associated with ABCG2 expression, histology-grade and Ki67 expression in breast invasive ductal carcinoma // *Diagn Pathol.* – 2012. - N. 7. – P. 32.

47. Zhao Y.C., Ni X.J., Li Y., et al. Peritumoral lymphangiogenesis induced by vascular endothelial growth factor C and D promotes lymph node metastasis in breast cancer patients // World J Surg Oncol. – 2012. - N. 10. – P. 165.
48. Zhong H., De Marzo A.M., Laughner E., et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha in common human cancers and their metastases // Cancer Res. – 1999. - N. 59(22). – P. 5830-5.

Рецензенты:

Мальков П.Г., д.м.н, профессор кафедры патологической анатомии РМАПО, г. Москва;

Слободин К.Э., д.м.н., заведующий отделением ГБУЗ «Консультативно-диагностический центр №6» ДЗ г. Москвы, г. Москва.