

УДК 616.006.6

## ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ПЕЧЕНИ В НОРМЕ И ПРИ РАЗВИТИИ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ

© 2020 г. А. И. Щеголев<sup>1</sup>, \*, У. Н. Туманова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

\*e-mail: ashegolev@oparina4.ru

Поступила в редакцию 26.05.2020 г.

После доработки 26.05.2020 г.

Принята к публикации 26.05.2020 г.

В систематизированном виде представлены данные литературы о роли эндотелиальных клеток и особенностях васкуляризации при развитии гепатоцеллюлярной карциномы. Капиллярное русло нормальной печени представлено синусоидами, характеризующимися наличием специфических фенестр в эндотелиальных клетках и отсутствием базальной мембраны под эндотелием. Указано, что развитие гепатоцеллюлярной карциномы происходит, как правило, на фоне хронических поражений печени и является многоступенчатым процессом прогрессирования признаков тканевого и клеточного атипизма, а также изменений васкуляризации опухолевой ткани. Формирующаяся в ткани опухоли сосудистая сеть характеризуется структурным и функциональным атипизмом. Развитие и прогрессирование карциномы печени сопровождается изменениями структуры и метаболизма эндотелиальных клеток в опухолевом узле, а также хромосомными абберациями с нарушениями экспрессии генов и факторов роста. В основе оценки процессов ангиогенеза и васкуляризации лежит морфологическое определение плотности микрососудов на иммуногистохимических препаратах. Клиническая диагностика гепатоцеллюлярной карциномы основана на выявлении лучевых характеристик, в том числе обусловленных нарушениями васкуляризации опухолевой ткани. Повышение степени злокачественности гепатоцеллюлярной карциномы сопровождается снижением притока крови по системе воротной вены и, соответственно, увеличением притока артериальной крови. Отмечена необходимость знаний о процессах опухолевого ангиогенеза для разработки противоопухолевых таргетных антиангиогенных препаратов.

*Ключевые слова:* печень, гепатоцеллюлярная карцинома, ангиогенез, васкуляризация, опухолевые сосуды, эндотелиальные клетки

DOI: 10.31857/S0042132420050063

### ВВЕДЕНИЕ

Карцинома (рак) печени относится к одному из наиболее часто встречающихся злокачественных новообразований. В 2012 г. карцинома печени занимала пятое место в мире по заболеваемости у мужчин и девятое — у женщин среди всех новообразований (Torre et al., 2012). В Российской Федерации на конец 2018 г. злокачественные опухоли печени были зарегистрированы у 6374 пациентов. При этом удельный вес больных с запущенным опухолевым процессом (IV стадия) от числа пациентов с впервые в жизни установленным диагнозом составил 58.8%, а на стадиях I и II — всего лишь 14.4% (Состояние ..., 2019).

Наиболее частой гистологической формой является гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК), составляющая 70–90% от всех наблюдений злокачественных опухолей печени (Щеголев, Мишнёв, 2006; London et al., 2006). К сожалению, ради-

кальное лечение в виде абляции опухоли, резекции или трансплантации печени возможно лишь при ранней стадии ГЦК, хотя при этом отмечается достаточно высокая частота развития рецидива (Bruix, Sherman, 2005). Показатели 5-летней выживаемости таких пациентов достигают 60–80% после резекции печени и 40–70% — после абляции опухоли (Mazzafarro et al., 2014). Медиана выживаемости пациентов с выраженными стадиями заболевания составляет менее одного года (Llovet et al., 2008). Согласно статистическим данным за 2018 г., в Российской Федерации средний показатель летальности больных в течение года с момента установления диагноза карциномы печени и внутрипеченочных желчных протоков составлял 65.6% (Состояние ..., 2019).

Ключевую роль в развитии и прогрессировании ГЦК отводят процессам опухолевого ангиогенеза, вследствие которых ГЦК относится к ти-

пичным гиперваскулярным новообразованиям (Pang, Poon, 2006). По мнению Чжу с соавт. (Zhu et al., 2011) именно процессы опухолевого ангиогенеза занимают одно из важных мест в возникновении, развитии и метастазировании ГЦК, которые при этом коррелируют со стадией опухоли и прогнозом заболевания. В этой связи актуальной задачей считается необходимость изучения механизмов и особенностей развития опухолевых сосудов в гепатоканцерогенезе.

В статье представлен анализ данных литературы о роли эндотелиальных клеток и особенностях васкуляризации при развитии ГЦК.

### ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ И СОСУДЫ В НОРМЕ

Хорошо известно, что в основе нормального функционирования органов лежит формирование иерархической структуры кровеносных сосудов, обеспечивающей оптимальное кровоснабжение всех структурных компонентов. В каждом органе сосудистая сеть характеризуется определенным своеобразием, направленным на поддержание нормального функционирования. Для печени характерно двойное кровоснабжение: порядка 30% крови поступает по печеночной артерии и примерно 70% – по воротной вене, отток же осуществляется по системе печеночных вен в нижнюю полую вену (Vascular ..., 2011).

Соответственно, капиллярное русло печени представлено синусоидами, в которых происходит смешивание богатой кислородом крови из печеночной артерии и богатой питательными веществами крови из терминальной части ветви воротной вены. Средний диаметр синусоидов составляет примерно 5–10 мкм (Warren et al., 2008). При этом, несмотря на значительные изменения печеночного кровотока вследствие процессов пищеварения, у нормального человека в синусоидах печени поддерживается градиент давления не более 4 мм рт. ст. (Lee et al., 1988). Такая тонкая регуляция сосудистого тонуса печени происходит за счет внутрипеченочного напряжения сдвига или силы трения потока крови о поверхность эндотелия. Последняя прямо пропорциональна интенсивности потока и вязкости крови и обратно пропорциональна радиусу просвета (Davies, 1995).

Следует отметить, что синусоиды печени являются уникальным видом капилляров, отличающихся от других наличием специфических открытых пор, или фенестр, и отсутствием базальной мембраны под эндотелием. Именно благодаря своим морфофункциональным особенностям, эндотелий синусоидов является не только физическим барьером, но и участвует в различных физиологических процессах, включая регуляцию

сосудистого тонуса, гемостаз, тромбоз, транспорт кислорода и метаболитов.

В этой связи эндотелиальные клетки (ЭКл) синусоидов печени характеризуются рядом морфологических и функциональных особенностей от эндотелия других сосудов (Vascular ..., 2011). Общее количество ЭКл в синусоидах составляет порядка 15–20% от общего количества всех клеток печени, при этом объемная их доля – только 3% от общего объема печени (Щеголев, Мишнёв, 1991). В нативном состоянии ЭКл в виде тонкого, толщиной 150–170 нм, слоя выстилают синусоиды, средний диаметр изолированных клеток составляет 6.5 мкм (McLean et al., 2003). Наружная поверхность ЭКл относительно ровная. Расположение их вдоль синусоидов осуществляется при помощи особых межклеточных соединений без зазоров между соседними клетками. По данным Жеро с соавт. (Geraud et al., 2012), в ЭКл синусоидов печени отмечается смешанный тип межклеточных соединений за счет белков адгезии (VE-кадгерина,  $\alpha$ -,  $\beta$ , p120-катенина, плакоглобина) и белков плотных контактов O-1 и O-2.

Характерной особенностью ЭКл синусоидов печени является наличие многочисленных фенестр, диаметр которых варьирует от 50 до 200 нм в зависимости от локализации в ацинусе и способа их визуализации (Mönkemöller et al., 2015). В каждой ЭКл может наблюдаться от сотен до нескольких тысяч фенестр. Фенестры могут располагаться по отдельности или группироваться в виде решетчатых (ситообразных) пластинок. Иногда они представляют собой взаимосвязанные лабиринтные структуры (Wisse et al., 2010). Поры в решетчатых пластинках имеют овальную форму и не перекрыты диафрагмой, как в фенестрированном капилляре обычного типа. У крыс порядка 60–75% фенестр находятся внутри решетчатых пластинок (Vidal-Vanaclocha, Barbera-Guillem, 1985).

При этом плотность пор на 1 мкм<sup>2</sup> эндотелия составляет 5.74 и 10.21 в I и III зоне печеночного ацинуса, а их диаметр – 73 нм и 94 нм соответственно. Более высокие показатели пористости (удельная доля фенестрированной площади) ЭКл, а также большие размеры решетчатых пластинок и количество фенестр на 1 клетку и решетчатую пластинку установлены в центрлобулярных областях дольки по сравнению с перипортальными (Vidal-Vanaclocha, Barbera-Guillem, 1985), что, видимо, и обеспечивает повышенный обмен кислорода по мере падения его парциального давления внутри печеночной дольки.

Вместе с тем, количество и размеры фенестр варьируют в зависимости от физиологических условий и изменяются в условиях патологии. Так, голодание сопровождается уменьшением их количества, но увеличением размеров (O'Reilly et al.,

2010). Существующие же видовые различия количества и размеров фенестр ассоциируются с межвидовыми особенностями развития атеросклероза (Fraser et al., 2012).

Благодаря наличию вышеописанных пор в ЭКл и отсутствию базальной мембраны в синусоидах печени, содержащиеся в крови вещества могут поступать в пространство Диссе, в котором находятся микроворсинки гепатоцитов и отростки звездчатых клеток. Аналогичные, недиафрагмальные, фенестры имеются также в ЭКл капилляров клубочков. Однако в последних присутствует сформированная базальная мембрана. В этой связи синусоиды печени характеризуются наиболее пористым эндотелиальным барьером микроциркуляторного русла.

Изменение размеров фенестр осуществляется при помощи микротрубочек цитоскелета, окружающих и разделяющих решетчатые пластинки. Каждая пора также окружена микротрубочками из актина и миозина (Arias et al., 2009). Расширение фенестр отмечается при повышении внутрисинусоидного давления крови, а также под действием холинергических агонистов, вазоактивного кишечного пептида и глюкагона, в то время как  $\alpha$ -адренергические агонисты и серотонин уменьшают их размеры (Cogger et al., 2010).

Вместе с тем, в нормальной печени ЭКл синусоидов способны продуцировать сосудорасширяющие вещества в ответ на повышение напряжения сдвига для снижения внутрисинусоидного давления крови. Нарушение данного свойства ЭКл считается одним из признаков эндотелиальной дисфункции. По данным Грасиа-Санчо с соавт. (Gracia-Sancho et al., 2011), повышение внутрисинусоидного давления вызывает повышение транскрипции специфического фактора Kuppel-подобного фактора 2 (KLF2). Последний в свою очередь приводит к индукции продукции сосудорасширяющих веществ, в частности, оксида азота (NO) (Parmar et al., 2006). Шах с соавт. (Shah et al., 1997) установили, что в нормальной ткани печени именно ЭКл синусоидов являются основным источником оксида азота в результате активации эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS). Вместе с тем, KLF2 приводит к снижению действия сосудосуживающих факторов, в частности, эндотелина-1 (Parmar et al., 2006). При этом ЭКл способны продуцировать и другие сосудорасширяющие субстанции, в частности, моноксид углерода (CO) и продукты циклооксигеназного пути (тромбоксан A<sub>2</sub> и простаглицлин) (Fernandez, 2015).

Примечательно, что, по мнению Брает и Вайса (Braet, Wisse, 2002), при длительном воздействии этанолом, никотином, эндотоксином могут развиваться процессы дефенестрации и, соответственно, так называемой псевдокапилляризации

синусоидов. Старение организма также сопровождается изменением структуры ЭКл, в частности уменьшением и исчезновением фенестр (Le Couteur et al., 2001).

Характеризуя ЭКл нормальной печени, следует отметить низкий уровень их пролиферации и, соответственно, продолжительный период существования, как и у ЭКл крупных кровеносных сосудов (Davies et al., 2013). Обновление пула ЭКл синусоидов отличается в физиологических условиях и при развитии патологических процессов. Выделяют три типа клеток, осуществляющих обновление ЭКл печени: зрелые ЭКл, внутрипеченочные (или резидентные) прогениторные ЭКл и прогениторные клетки костномозгового происхождения (DeLeve, 2013). Зрелые ЭКл способны к пролиферации в нормальных условиях под действием таких факторов роста, как VEGF и FGF (фактор роста фибробластов) (Margreet et al., 1990; DeLeve, 2013). Резидентные прогениторные синусоидные ЭКл составляют порядка 1–7% от всех ЭКл нормальной печени грызунов и могут участвовать в регенерации ЭКл (DeLeve, 2013). Прогениторные клетки костномозгового происхождения не участвуют в обновлении пула ЭКл синусоидов нормальной ткани печени (Wang et al., 2012; DeLeve, 2013), но являются основным источником их восстановления после повреждения печени (Wang et al., 2012). Косвенным подтверждением сказанному могут служить данные Харб с соавт. (Harb et al., 2009) о том, что введение субтоксической дозы монокроталина – токсического вещества для ЭКл – вызывает повреждения ткани печени только в случаях подавления костномозгового кроветворения.

Кроме того, в зависимости от локализации выделяют два типа ЭКл: выстилающие синусоиды и выстилающие центральные вены, которые отличаются некоторыми особенностями строения, функций и экспрессией генов. Согласно данным Саббах с соавт. (Sabbagh et al., 2018), в эндотелиоцитах синусоидов печени выявлена экспрессия рецепторов Stab2, Clec4g и Fcgr2b, способствующих эндоцитозу. Эндотелиоциты печени наряду с ЭКл сосудов сердца и легких относятся к клеткам с умеренным ангиогенным потенциалом и выраженной обменом веществ, в частности, потребления кислорода и гликолиза. Однако уровень экспрессии фактора Виллебранда (vWF) в них ниже, чем в эндотелиоцитах сосудов сердца и легких, и примерно соответствует эндотелиальным клеткам почек (Marcu et al., 2018).

#### ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ И СОСУДЫ ПРИ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

Переходя к характеристике опухолевых сосудов и эндотелиоцитов в ткани ГЦК, необходимо указать, что развитие ГЦК в большинстве наблю-

дений происходит, как правило, на фоне хронических заболеваний и поражений печени. Чаще всего это происходит при наличии фиброза или цирроза печени, вызванных хронической вирусной HBV- или HCV-инфекцией.

При этом развитие ГЦК на фоне хронических поражений печени является многоступенчатым процессом прогрессирования признаков тканевого и клеточного атипизма, а также измененной васкуляризации опухолевой ткани (Щеголев и др., 2017). Основными этапами гепатоканцерогенеза считаются диспластические очаги, диспластические узелки, ранняя ГЦК и выраженная ГЦК (Sakamoto et al., 2009).

Диспластические очаги (или фокусы), образующиеся при хронических поражениях печени, в том числе при циррозе, представляют собой скопления диспластичных гепатоцитов в пределах одной печеночной дольки или одного узелка при циррозе печени (Щеголев и др., 2017). Вследствие этого они определяются лишь при микроскопическом исследовании биопсийного или операционного материала.

Диспластические узелки встречаются в 15–25% наблюдений цирроза печени. Они могут быть единичными и множественными и представляют собой отличающиеся по цвету и структуре от окружающей паренхимы печени образования диаметром до 1 см (Nytiroglou et al., 2007). В зависимости от морфологических изменений и прогноза течения диспластические узелки подразделяют на два вида: диспластические узелки с низкой степенью изменений (слабая дисплазия) и с высокой степенью изменений (выраженная дисплазия) (Щеголев и др., 2017). Именно в последних печеночные балки представлены тремя рядами гепатоцитов или псевдожелезистыми образованиями, а сами гепатоциты имеют признаки клеточного атипизма и содержат жировые включения и/или тельца Маллори.

Диспластические очаги считаются проявлением реактивных изменений, тогда как диспластические узелки с высокой степенью изменений рассениваются в качестве предопухолевых (предраковых) изменений. Действительно, по данным Сато с соавт. (Sato et al., 2015), частота злокачественной трансформации узелков с высокой степенью изменений составила 40% через 50 мес. и 75% – через 100 мес. наблюдения.

Ранняя (или малая) ГЦК определяется как карцинома диаметром менее 2 см. При этом выделяют две ее формы: ранняя ГЦК и малая прогрессирующая ГЦК. Ранняя ГЦК представляет собой образование без четких границ, в связи с чем имеет синоним ГЦК неопределенно узлового типа. Малая прогрессирующая ГЦК характеризуется наличием четких отличий от непораженной паренхимы печени, вследствие чего также назы-

вается ГЦК узлового типа. Основным отличительным признаком ранней ГЦК от диспластических узелков с высокой степенью изменений является наличие признаков стромальной (в портальные тракты) инвазии при отсутствии сосудистой инвазии и внутрипеченочных метастазов. В свою очередь ранняя ГЦК узлового типа, несмотря на узловой характер роста, считается прогрессирующей формой карциномы, поскольку способна к сосудистой инвазии и развитию метастазов (Park, Kim, 2011). Кроме того, при гистологическом исследовании ранняя ГЦК является, как правило, высокодифференцированной формой, а малая прогрессирующая ГЦК – умеренно дифференцированной.

Несомненно, что развитие и рост опухолей зависят от выраженности процессов ангиогенеза. По данным литературы (Wicki, Christofori, 2008), развитие опухолей вследствие индукции пролиферации клеток ограничено возможностями кровоснабжающих сосудов, и поэтому, как правило, размеры образования не превышают 1–2 мм.

В этой связи только начальная фаза онкогенеза является аваскулярной, проходящей без образования новых кровеносных сосудов. Для дальнейшего увеличения размеров опухолевого узла необходим доступ к повышенной поставке кислорода и питательных веществ, который может быть обеспечен путем образования дополнительных сосудов (переходом в ангиогенную фазу), то есть включением так называемого ангиогенного переключателя. Последним термином обозначают смещение дисбаланса ангиогенных факторов в сторону превалирования проангиогенных факторов.

По данным литературы (Дан и др., 2008), процесс ангиогенеза подразделяют на два этапа: васкулогенез и собственно ангиогенез. Васкулогенезом обозначают образование кровеносных сосудов *de novo* из мезодермальных клеток-предшественников, а ангиогенез характеризует развитие новых сосудов из тех, которые сформировались во время васкулогенеза.

Причиной активации процессов неоангиогенеза считается наличие двух факторов: развитие гипоксии и кислой среды. Последние и являются двумя важными сигналами, которые индуцируют неоангиогенез через сигнальный путь VEGF (Nanahan, Weinberg, 2011).

Действительно, согласно общепризнанной теории канцерогенеза (Nanahan, Weinberg, 2011), в процессе формирования опухоли сосудистая ее сеть развивается под действием так называемых факторов роста, в частности, сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF), продуцируемых опухолевыми клетками. При этом отмечается прорастание новых кровеносных сосудов из ранее существующих нормальных сосудов при

одновременном привлечении и дифференцировке сосудистых клеток-предшественников костно-мозгового происхождения. Однако существует точка зрения (Ping, Bian, 2011), что развитие опухоли происходит из особых стволовых опухолевых клеток, способных к самообновлению и образованию всех типов клеток, включая и клетки сосудов, для прогрессирования данной опухоли. В пользу последней теории свидетельствуют данные о том, что стволовые клетки глиобластомы могут являться источниками формирования ее опухолевых ЭКл (Soda et al., 2011).

Наряду с этим показано, что процессы ангиогенеза запускаются при различных повреждениях и патологических состояниях. Регуляция и образование новых капилляров из существующих сосудов осуществляется, по мнению Герхарда и Бетшольца (Gerhardt, Betsholtz, 2003), в результате кооперации трех типов клеток: клеток кончикника (tip), стебля (stalk) и фаланги (phalanx). Именно миграция клеток кончикника знаменует возникновение ростка нового сосуда. В последующем пролиферирующие клетки стебля следуют за клетками кончикника, приводя к удлинению сосуда (Gerhardt, Betsholtz, 2003). В дополнение клетки фаланги образуют непрерывный монослой, формируя тем самым стенку сосуда. Подобная специализация ЭКл носит временный и обратимый характер, зависящий от баланса между проангиогенными факторами, в частности VEGF, и супрессорами пролиферации ЭКл, в частности Dll4-Notch (Geudens, Gerhardt, 2011). Миграция клеток кончикника происходит в ответ на изменения градиента экспрессии VEGF, а пролиферация клеток стебля зависит от концентрации VEGF (Gerhardt et al., 2003). При этом фаланговые клетки секретируют растворимую форму Flt1 (VEGFR-1), которая ингибирует процессы ангиогенеза путем нейтрализации активности VEGF (Mazzone et al., 2009).

Вышеописанные ЭКл отличаются от эндотелиоцитов нормальных кровеносных сосудов путями метаболизма. Так как процессы сосудистого прорастания являются энергозависимыми, то в ЭКл выражены процессы гликолиза (De Bock et al., 2013), стимулятором которых является PFKFB3. При этом конкретный тип и расположение ЭКл в процессе образования сосуда могут изменяться в зависимости от их метаболизма. Так, клетки стебля могут занимать место клеток кончикника при более высоких уровнях PFKFB3 (De Bock et al., 2013).

Необходимо отметить, что формирующаяся в ткани опухоли сосудистая сеть, равно как и все компоненты опухолевой ткани, характеризуется структурным и функциональным атипизмом. Действительно, опухолевые кровеносные сосуды отличаются хаотичной организацией с нарушенной последовательностью прохождения крови по

сосудам. Опухолевые сосуды преимущественно извилистой и неправильной формы с выраженной вариабельностью своих размеров, формы и характера ветвления, а также с отсутствием нормального иерархического расположения артериол, капилляров и венул. Важно, что нарушения развития выявляются во всех структурных компонентах опухолевых сосудов. Так, стенка сосудов крупного калибра может быть представлена только эндотелием и базальной мембраной.

Примечательно, что вид и выраженность нарушений структуры опухолевых сосудов зависят, прежде всего, от состояния самой опухолевой ткани. Наличие бессистемных разветвлений и нерегулярный характер диаметра просвета опухолевых сосудов закономерно приводят к неравномерному кровоснабжению опухолевых клеток. Формирующаяся герметичность опухолевых сосудов и компрессия снаружи приводят к развитию порочных кругов, ответственных как за острую, так и за хроническую гипоксию опухолевой ткани. Нарушается внутриорганный и тканеспецифичный ангиоархитектоника, а также плотность их расположения. Наиболее высокая плотность (большее количество сосудов на единицу объема ткани) сосудов зарегистрирована на периферии опухоли внутри опухоли (Giatromanolaki et al., 2002). При этом расположение сосудов в центре опухолевого узла более хаотичное по сравнению с ее периферией.

Следует также добавить, что неправильная структурная организация сосудистой сети в ткани опухоли с наличием извилистых неправильной формы сосудов не способна адекватно реагировать на вазоактивные сигналы и поддерживать эффективный кровоток (Isenberg et al., 2009). Действительно, по данным Фукумура с соавт. (Fukumura et al., 2010), наблюдается значительная пространственная и временная неоднородность опухолевого кровотока с наличием участков более быстрого и более медленного движения крови. Подобные изменения приводят к неравномерной доставке кислорода и питательных веществ, а также лекарственных веществ. В силу этих же изменений кровотока нарушается поступление и иммунных эффекторных клеток, эффективность действия которых снижается и вследствие нарушений адгезии лейкоцитов к эндотелию за счет изменений экспрессии молекул адгезии и хемокинов.

Закономерно, что нарушения структуры опухолевых сосудов сопровождаются повышенной их проницаемостью по сравнению с нормальными сосудами. Такое повышенное поступление внутрисосудистой жидкости и белков во внеклеточное пространство закономерно приводит к высокому интерстициальному внутриопухолево-

му давлению. Одновременно с этим прогрессирующий рост опухоли приводит к повышению давления на внутриопухолевые сосуды, в результате чего последние могут разрушаться и приводить к развитию гипоксии отдельных участков с последующим превалированием процессов гликолиза и развитием ацидоза. В свою очередь гипоксия опухолевой ткани способствует опухолевой прогрессии путем индукции эпителиально-мезенхимального перехода и развития метастазов (Jiang et al., 2011).

Учитывая особенности строения и васкуляризации ткани печени, следует отметить, что изменения ангиогенеза отмечаются уже на ранней стадии многошагового гепатоканцерогенеза (Park et al., 2000). Как мы уже указывали, ГЦК может развиваться в диспластических узелках, увеличение размеров которых сопровождается внутритканевым увеличением количества и плотности распределения так называемых непарных артерий, осуществляющих кровоснабжение узелка. Формирование в печени новых непарных артерий, то есть артерий, не сопровождаемых желчным протоком, обозначают термином “артериализация” ткани печени.

Действительно, диспластические узелки, равно как и регенеративные узелки при циррозе печени, кровоснабжаются преимущественно ветвями воротной вены. Развитие ГЦК характеризуется уменьшением количества ветвей воротной вены и снижением притока венозной крови. Соответственно уже при ранней ГЦК начинается смена основного источника кровоснабжения на печеночную артерию (Туманова, Щеголев, 2015б; Setmela, Dufour, 2004). Параллельно нарастают процессы ангиогенеза, приводящие к выраженной васкуляризации ткани опухоли, а также увеличению размеров опухолевого узла и развитию метастазов.

При этом резкое возрастание уровня пролиферации диспластических гепатоцитов сопровождается активацией процессов ангиогенного переключателя. Действительно, прогрессирование новообразования от предракового поражения до инвазивной формы опухоли сопровождается изменениями как в структуре сосудов, так и в ее кровоснабжении (Туманова, Щеголев, 2015а).

Новообразованные опухолевые сосуды характеризуются извилистой формой, неравномерным просветом и нерегулярным ветвлением. В то время как в нормальных синусоидах печени отсутствует базальная мембрана и эндотелий является фенестрированным, в структуре ГЦК синусоиды выстланы базальной мембраной и приобретают фенотип капилляров, а эндотелий становится утолщенным с меньшим количеством фенестр. В части эндотелиальных клеток сосудов в структуре ГЦК утрачивается полярность, вследствие

чего они теряют связь с базальной мембраной и накладываются друг на друга, придавая картину стратификации, и выступают в просвет сосуда. Соответственно такой процесс обозначают термином “капилляризация синусоидов” (Туманова, Щеголев, 2015а; Haratake, Scheuer, 1990). При этом отмечается снижение уровня пролиферации эндотелиальных клеток, но увеличивается количество циркулирующих прогениторных костномозгового происхождения эндотелиальных клеток и гематопоэтических стволовых клеток, вовлекающихся в процессы опухолевого ангиогенеза при ГЦК (Groupe, 1995).

В свою очередь, опухолевые клетки ГЦК тоже начинают принимать участие в формировании новых сосудов путем частичного или полного замещения их стенки. Подобный феномен обозначают термином “васкулогенная мимикрия”, свидетельствующим об агрессивной форме развития опухоли, сочетающейся с процессами инвазии и метастазирования и с низким уровнем выживания (Sun et al., 2006).

Важным моментом является то, что развитие и прогрессия ГЦК сопровождается изменениями структуры ЭКл как в опухолевом узле, так и в периопухолевых участках. Было показано, что эндотелиальные клетки, выстилающие кровеносные сосуды в структуре опухоли, отличаются от нормальных эндотелиоцитов. ЭКл опухолевых сосудов характеризуются большими размерами, в частности толщиной, и более извилистой формой при наличии артериовенозных шунтов и отсутствии нормальной сосудистой иерархии от артерии к капилляру и далее к вене (Aird, 2012). Неоднородность просвета и повышенная извитость опухолевых сосудов закономерно приводят к неравномерному кровотоку и повышению проницаемости сосудистой стенки.

Существенно и то, что ЭКл опухолевых сосудов не являются одинаковыми, а имеют определенные отличия в разных органах, в частности, в отношении органоспецифических эпигенетических маркеров, способствующих формированию различных фенотипов.

Ранее считалось, что ЭКл относятся к генетически стабильным клеткам, не меняющимся при заболеваниях. В дальнейшем же были выявлены морфологические и молекулярно-генетические отличия опухолевых ЭКл от нормальных эндотелиоцитов (Baluk et al., 2005).

К сожалению, эндотелий опухолевых сосудов является неполноценным. В нем отмечаются порозность и различные повреждения. Кроме того, вместо сложных комплексных структур межклеточные контакты представлены, преимущественно, мало дифференцированными структурами. Подобные изменения межклеточных контактов лежат в основе нарушений барьерной функции и

герметичности сосудов, коррелируя со степенью гистологической дифференцировки и уровнем злокачественности (Daldrup et al., 1998).

В силу своего пограничного положения ЭКл опухолевых сосудов, несомненно, участвуют в процессах экстравазации плазмы и форменных элементов клеток (лейкоцитов и эритроцитов), а также в интравазации опухолевых клеток, формирующих в дальнейшем метастазы. Повышение проницаемости и нарушения стенки опухолевых сосудов лежат в основе развития кровоизлияний, одного из признаков опухолевой прогрессии. При этом соотношение процессов экстравазации и стабильности сосудистой стенки определяет степень кровотоочивости опухолевой ткани. Такие внесосудистые скопления эритроцитов могут имитировать наличие полнокровных сосудов или кровеносных полостей, высланных опухолевыми клетками, обозначаемыми как васкулогенная мимикрия. В экспериментах по моделированию глиомы было установлено, что одной из причин внутриопухолевого кровоизлияния является повышенная экспрессия VEGF, вернее его изоформ VEGF121 и VEGF165, но не VEGF189 (Cheng et al., 1997).

Важными звеньями патогенеза, способствующими развитию внутриопухолевого кровоизлияния, считаются нарушения целостности опухолевых сосудов вследствие повышения проницаемости ЭКл и нарушения слоя перicyтов. В свою очередь, моноциты и макрофаги, попадая в периваскулярное пространство и высвобождая факторы роста, способствуют прогрессирующему росту опухолевого узла и формированию метастазов (Coussens, Werb, 2002).

В нормальных условиях большинство ЭКл находятся в состоянии покоя на протяжении многих лет. Однако при различных повреждениях, включая развитие опухоли, они способны начать пролиферировать и мигрировать, принимая активное участие в патогенезе заболеваний.

Еще 25 лет назад было показано, что опухолевые ЭКл пролиферируют в 50–200 раз быстрее по сравнению с нормальными ЭКл (Vermeulen et al., 1995). Высокий уровень их пролиферации отражает активацию процессов ангиогенеза, обуславливающих увеличение размеров опухолевой ткани. В основе активации пролиферации лежит четко регулируемая метаболическая система ЭКл, обеспечивающая их необходимой энергией и “строительным материалом”. При этом ЭКл специфическим образом перестраивают свой метаболизм, исходя из оптимального уровня функционирования. Так, в ЭКл активируются процессы гликолиза, обеспечивающие производство больших количеств АТФ и лактата даже в присутствии достаточного содержания кислорода.

Вместе с тем, высокая пролиферация опухолевых и неопухолевых клеток при нарушенном кровотоке и недостаточной доставке кислорода усугубляют развитие гипоксии, которая является мощным стимулятором ангиогенеза, в частности, путем индукции специфического индуцированного гипоксией фактора 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) (Maxwell et al., 1997). Последний в свою очередь активирует образование еще более аномальных кровеносных сосудов в опухолевой ткани, в результате прогрессируют нарушения кровотока, то есть развивается порочный круг прогрессирования гипоксии.

Помимо высокой пролиферативной активности, в опухолевых ЭКл, в отличие от нормальных эндотелиоцитов, отмечается независимость процессов пролиферации от состава плазмы крови. Определенную роль в качестве регуляторов их пролиферации, способствующих постоянному самообновлению, отводят гомологу FDCP 6 (DEF6) и PTX3 (Otsubo et al., 2014). Матсуда с соавт. (Matsuda et al., 2010) показали бóльшую миграционную способность опухолевых эндотелиальных клеток по сравнению с нормальными эндотелиоцитами. При этом выраженность миграции и изменения структуры опухолевых эндотелиальных клеток зависели от уровня экспрессии генов лизилоксидазы и бигликана. Ингибирование лизилоксидазы как фермента, участвующего в процессах инвазии и метастазирования, при помощи  $\beta$ -аминопропионитрила сопровождалось снижением степени миграции опухолевых ЭКл и формирования из них специфических трубочек. Примечательно, что при культивировании опухолевые ЭКл мышцей способны сохранять вышеуказанные биологические свойства в течение более длительного периода времени по сравнению с нормальными эндотелиоцитами (Matsuda et al., 2010).

Считается, что механизмы, определяющие морфофункциональное единство нормальных и опухолевых сосудов и, соответственно, в них ЭКл, различны (Aird, 2012). Одним из основных механизмов, приводящих к нарушениям морфофункционального состояния опухолевых сосудов и опухолевых эндотелиоцитов, считается высвобождение опухолевыми клетками большого количества различных факторов роста и цитокинов. В свою очередь, опухолевые ЭКл сами способны экспрессировать факторы, влияющие на рост опухолей (Franses et al., 2011).

Изменение уровня экспрессии молекул клеточной адгезии в опухолевых ЭКл приводит к нарушению соединения между ними и, соответственно, к проникновению опухолевых клеток в периваскулярное пространство с развитием метастаза. Действительно, в опухолевых ЭКл, в отличие от нормальных, отмечается сверхэкспрессия интегринов ав $\beta$ 3 и ав $\beta$ 5, ED $\beta$ -домена фибронек-

тина, Е-селектина, эндоглина, эндосиалина, рецепторов VEGF и простат-специфического мембранного антигена (PSMA), которые активируют процессы адгезии и миграции эндотелия (Magnussen et al., 2005). Под воздействием антагонистов интегрин  $\alpha\text{v}\beta 3$  (Vitaxin-Medi 522, Cilengitide-EMD 121974, ATN-162) отмечается апоптоз опухолевых клеток и регресс кровеносных сосудов. Характерной особенностью интегрин  $\alpha\text{v}\beta 3$  является его участие в процессах адгезии молекул внеклеточного матрикса к ЭКл. В свою очередь, сосудисто-эндотелиальный кадхерин (VE-кадхерин) слабо экспрессируется в опухолевых сосудах, что приводит к их дестабилизации и аномальному ремоделированию.

VEGF и его рецепторы являются важными компонентами опухолевого микроокружения, что проявляется высокой концентрацией рецепторов на поверхности опухолевых ЭКл. Немедленная, в течение нескольких минут, активность VEGF заключается в повышении проницаемости микрососудов для плазмы и белков плазмы, которая в 50000 раз превышает таковую гистамина. В более поздние сроки (дни, недели) VEGF индуцирует пролиферацию и выживаемость ЭКл (Ribatti, 2005). Повышенная экспрессия рецепторов к VEGF в опухолевых ЭКл способствует более быстрому их реагированию с ангиогенными факторами, в частности с VEGF, что приводит к нарушениям процессов ангиогенеза и способствует попаданию опухолевых клеток в кровоток.

Кроме того, опухолевые ЭКл синтезируют большой ряд так называемых ангиокринных факторов, способствующих росту опухолевой ткани и миграции опухолевых клеток. Действительно, продуцируемые опухолевыми ЭКл эндотелин-1, bFGF, TGF, интерлейкины IL-6 и IL-8 способствуют прогрессированию рака простаты (Pirtskhalishvili, Nelson, 2000). Другие ангиокринные факторы, включая интерлейкины -1, -3 и -6, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) и оксид азота, способствуют пролиферации опухолевых клеток при лейкемии. Продуцируемый опухолевыми ЭКл Jagged-1 (Jag-1) способен активировать Notch2 в клетках лимфомы, повышая тем самым процессы инвазии. Тромбоцитарный фактор роста (PDGF) и плацентарный фактор роста (PGF) активируют процессы ангиогенеза и онкогенеза (Jeon et al., 2014)

При помощи молекулярных методов исследования в опухолевых ЭКл, в отличие от нормальных эндотелиоцитов, показана экспрессия генов, обеспечивающих процессы ангиогенеза: рецепторов VEGFR-1, VEGFR-2 и VEGFR-3, Tie-2 ангиопоэтина (Bussolati et al., 2003). Именно наличие таких генов лежит в основе активации рецеп-

торов опухолевых эндотелиальных клеток под действием соответствующих ангиогенных факторов. В литературе также имеются указания, что в опухолевых ЭКл определяется повышенная экспрессия следующих ангиогенных факторов: бигликана, лизилоксидазы (LOX) и пентраксина 3 (PTX3) (Hida et al., 2016). Кроме того, опухолевые эндотелиальные клетки способны взаимодействовать с провоспалительными и опухолевыми клетками за счет экспрессии молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1, Е-селектина).

Доказано, что в опухолевых ЭКл развивается множество различных нарушений экспрессии генов. Сент-Круа с соавт. (St Croix et al., 2000) установили, что активированный опухолью эндотелий экспрессирует различные специфичные транскрипты в результате различного профиля генов по сравнению с нормальными ЭКл. В общей сложности авторы выявили 79 транскриптов: 46 из них были повышены по меньшей мере в десять раз и 33 имели более низкие уровни экспрессии. Риа с соавт. (Ria et al., 2009) идентифицировали гены, экспрессирующиеся в ЭКл множественной миеломы и отличающиеся от таковых в ЭКл моноклональной гаммопатии неясного генеза. Выявленные гены участвовали, в основном, в процессах образования внеклеточного матрикса, ремоделирования костной ткани, апоптоза, клеточной адгезии, хемотаксиса и ангиогенеза. При изучении колоректальной карциномы выявлено 64 гена, экспрессирующихся только в опухолевых ЭКл. Часть из этих генов относилась к матриксным ремоделирующим ферментам, участвующим в процессах неоангиогенеза.

Тем не менее, актуальной задачей онкологии до сих пор остается выяснение специфических молекул, экспрессирующихся на поверхности ЭКл опухолевых сосудов, как потенциальных мишеней для маркеров их визуализации и для воздействия таргетными препаратами. К сожалению, истинно специфических молекул так и не выявлено, хотя установлено достаточно большое их количество. Это интегрин  $\alpha\text{v}\beta 3$ ,  $\alpha\text{v}\beta 5$  и  $\alpha 5\beta 1$ , эндоглин (CD105), комплекс VEGF/VEGFR-2, рецептор тромбоспондина-1 (CD36), Thy-1, фосфатидилсерин, простат-специфический мембранный антиген (ПСМА) и целый ряд опухолевых эндотелиальных маркеров (McDonald, Choike, 2003).

ЭКл по сравнению с опухолевыми клетками являются, как правило, генетически более стабильными и, соответственно, менее способными к развитию лекарственной устойчивости. Тем не менее, в ткани лимфомы были выявлены одинаковые хромосомные aberrации в ЭКл и опухолевых клетках. При этом нарушения ядер опухолевых клеток зависели от их локализации относительно сосудов (Hida et al., 2004). Более того, по данным флуоресцентной гибридизации *in situ* по-

рядка 20–58% (с медианой 33%) изолированных ЭКл почечно-клеточной карциномы являются анеуплоидными, тогда как ЭКл нормальных кровеносных сосудов почки были диплоидными.

Аналогичные результаты были получены и в результате сравнительного анализа опухолевых и нормальных ЭКл у мышей. Опухолевые ЭКл были более крупных размеров, а также чаще анеуплоидными с наличием хромосомных aberrаций, в частности, транслокаций или аномальных центросом и отсутствием части или всей хромосомы. У мышей при моделировании опухоли человека при помощи флуоресцентной гибридизации *in situ* в ЭКл опухолевых сосудов выявлены признаки анеуплоидии с аномальными центросомами (Hida et al., 2004).

Говоря об ЭКл, необходимо отметить, что они отличаются в нормальных и опухолевых сосудах. В отличие от нормальных, опухолевые эндотелиальные клетки характеризуются другим набором генов, спектром экспрессируемых белков и выполняемых функций.

Развитие гипоксии в опухолевом узле и, соответственно, в опухолевых клетках приводит к индукции в последних экспрессии генов стволовых клеток. Подобные изменения установлены и в опухолевых ЭКл. Так, в литературе имеются данные о повышенной экспрессии генов стволовых клеток в опухолевых ЭКл, в частности, антигена стволовых клеток-1 (Sca-1), MDR-1 и ALDH (Hida et al., 2017). Более того, Хида с соавт. (Hida et al., 2017) зарегистрировали экспрессию MDR-1 и ALDH в опухолевых ЭКл высокометастатической меланомы, которая сочеталась с лекарственной устойчивостью к препарату паклитаксел. В другом исследовании было показано, что CD105<sup>+</sup> опухолевые ЭКл, выделенные из ГЦК, характеризовались устойчивостью к 5-фторурацилу и Сорафенибу в отличие от CD105<sup>+</sup> нормальных ЭКл и ЭКл пупочной вены человека (HUVEC) (Xiong et al., 2009).

Как мы уже указывали, опухолевые ЭКл стимулируют процессы интравасации опухолевых клеток с последующим развитием метастазов. Виланд с соавт. (Wieland et al., 2017) показали, что высокая экспрессия Notch1 в ЭКл способствует развитию метастазов в легких при наличии нейтрофильной инфильтрации. По данным (Wieland et al., 2017), повышенный уровень экспрессии Notch1 в опухолевых ЭКл меланомы, рака молочной железы, аденокарциномы легких, серозной карциномы яичников и колоректальной карциномы коррелировал с плохим прогнозом. Повышенная экспрессия Activin-like рецептора киназы (ALK1) в опухолевых ЭКл является независимым фактором прогноза метастазирования рака молочной железы. Маиши с соавт. (Maishi et al., 2016) установили, что бигликан, представляющий

собой обогащенный лейцином протеогликан, способствовал миграции опухолевых клеток, экспрессирующих Toll-like рецепторы, и развитию метастазов в легких. Интересное свойство отмечено и у эндотелиального кальциневрина (calcineurin): активация роста метастазов при отсутствии роста первичной опухоли (Hendrikx et al., 2019).

Следует также указать на гетерогенность опухолевых ЭКл в опухолях с высоким и низким потенциалом метастазирования. Так, опухолевые ЭКл, выделенные из высокометастазирующих опухолей, характеризовались высокими уровнями пролиферации, миграции и экспрессии проангиогенных факторов (Ohga et al., 2012). В них также отмечались признаки стволовости в виде высокой экспрессии маркеров стволовых клеток (CD90 и Sca-1) и способности образовывать сферические структуры (Ohga et al., 2012). Следовательно, фенотипические особенности ЭКл определенным образом формируют микроокружение опухолевых клеток, участвуя тем самым в процессах опухолевой прогрессии и метастазирования.

Считается, что такие специфические особенности опухолевые ЭКл приобретают в процессе опухолевого ангиогенеза. Одним из факторов, определяющих опухолевое микроокружение, считается гипоксия. Как известно, ведущим фактором ангиогенеза, в том числе опухолевого, выступает VEGF, активирующий повышение проницаемости и образование новых сосудов. Под действием гипоксии происходит усиление экспрессии HIF-1 $\alpha$  и ряда других молекул, включая VEGF-A. В высокометастазирующих опухолях, по сравнению с низкометастазирующими, опухолевые ЭКл в большей степени подвергаются гипоксии и имеют более высокую экспрессию VEGF-A (Ohga et al., 2012). В результате гипоксии отмечается накопление реактивных форм кислорода. Установлено, что ЭКл высокометастазирующих опухолей характеризуются большей степенью хромосомной нестабильности и большей частотой выявления хромосомных аномалий (Ohga et al., 2012). Подобные изменения наблюдались и в опухолевых ЭКл с высокой активностью алкогольдегидрогеназы (Ohmura-Kakutani et al., 2014). В качестве возможных причин развития генетических аномалий в опухолевых ЭКл указывают на высокую концентрацию VEGF и реактивных форм кислорода.

Говоря об особенностях изменений ЭКл при гепатоканцерогенезе, следует указать на процессы капилляризации синусоидов, то есть развитие базальной мембраны вдоль синусоидов. Одновременное нарушение развития самих ЭКл и межклеточных соединений отражают образование аномальных сосудов в структуре ГЦК.

Аномалии синусоидов в ткани ГЦК проявляются также в повреждениях ультраструктурной организации ЭКл (Чекмарёва и др., 2010) и нару-

шениях экспрессии клаудинов, являющихся интегральными морфофункциональными компонентами межклеточных плотных соединений (Suh et al., 2013). Наблюдающиеся нарушения окклюдин-зависимых плотных контактов в опухолевых клетках ГЦК и в клетках перипухолевых областей обусловлены повышенной концентрацией VEGF и лежат в основе процессов инвазии опухолевой ткани. Следует добавить, что под действием VEGF изменяется и экспрессия сосудистого кадгерина, являющегося основным белком межэндотелиальных соединений, с освобождением его от катенин-ассоциированных протеинов. В результате при опухолевом ангиогенезе нарушаются межклеточные соединения ЭКл и, соответственно, повышается сосудистая проницаемость.

Процессы капилляризации синусоидов усугубляют прогрессирование нарушений диффузии, сосудистого коллапса, снижения доставки кислорода, а также затрудняют поступление лекарственных препаратов к опухолевым клеткам. Факторами, снижающими эффективность противоопухолевых препаратов, являются также прогрессирующие гипоксия и ацидоз опухолевой ткани.

Экстравазация жидкости и белков в интерстициальное пространство сопровождается повышением онкотического и гидростатического давления. При этом внутриопухолевое давление в ткани ГЦК коррелировало со степенью гистологической дифференцировки, наличием сосудистой инвазии и внутрипеченочных метастазов, а также с частотой развития рецидивов после лечения (Ueki et al., 2002).

Аналогично основным звеньям канцерогенеза, процессы ангиогенеза играют важную роль и при прогрессировании ГЦК. Так, уровень экспрессии VEGF – маркера ЭКл, был повышен в сыворотке крови больных ГЦК и сильно коррелировал со степенью инвазии, метастазированием и меньшим временем выживаемости (Roop et al., 2004). Ингибирование же VEGF сопровождалось угнетением процессов ангиогенеза при одновременном снижении Heral29 и SVEC4-10, а также показателей пролиферации клеток и роста опухолевого узла (Raskopf et al., 2008).

По сравнению с эндотелиоцитами нормальных тканей, опухолевые ЭКл характеризуются высоким уровнем пролиферации, более высокими уровнями экспрессии TGF- $\beta$ 1 и CD105, более выраженными процессами миграции и подвижности (Perrot et al., 2013). При этом TGF- $\beta$ 1 способствует большей подвижности CD105<sup>+</sup> ЭКл, что соответственно активизирует процессы опухолевого ангиогенеза. На основании изучения опухолевых ЭКл Колиос с соавт. (Kolios et al., 2006) предположили, что положительная экспрессия в

них рецепторов PDGF- $\alpha$  сочетается с большим риском развития метастазов.

Поскольку наиболее объективным методом диагностики новообразований вообще, и ГЦК в частности, является морфологическое исследование, то, соответственно, наиболее полноценная оценка процессов ангиогенеза и васкуляризации опухоли также возможна при морфологическом исследовании.

В настоящее время наиболее общепринятым морфологическим способом оценки ангиогенеза и васкуляризации является определение плотности микрососудов, предложенное еще в 1991 году Вэйднер с соавт. (Weidner et al., 1991) Способ выполняется в два этапа. На 1-ом этапе на иммуногистохимических препаратах под малым увеличением микроскопа визуально определяют так называемые горячие точки, представляющие собой участки опухоли с наибольшим количеством сосудов. Затем в этих областях под большим увеличением микроскопа подсчитывают количество сосудов в поле зрения (Туманова, Шеголев, 2015а). В то же время другие авторы (Marien et al., 2016) предлагают подсчитывать количество микрососудов в случайно выбранных полях зрения. В качестве маркеров ЭКл используются следующие маркеры: WGA, Ulex Europaeus, CD31, CD34, фактор Виллебранда, а также VE-кадгерин, интегрин  $\alpha$ v $\beta$ 3, CD105, коллаген IV типа (Weidner et al., 1991).

Данные способы, несомненно, позволяют получить однозначную количественную оценку выраженности васкуляризации опухолевой ткани. Однако, согласно данным литературы (Туманова, Шеголев, 2015а), существует выраженная вариабельность значений плотности микрососудов между различными исследователями. В этой связи мы солидарны с мнением Мариен с соавт. (Marien et al., 2016) о необходимости разработки единого четкого алгоритма проведения такого исследования, в том числе с применением автоматизированных систем анализа изображения. Данное обстоятельство относится и к выбору иммуногистохимического маркера ЭКл, поскольку некоторые из них по-разному экспрессируются в сосудах нормальной и пораженной, в том числе опухолевой, ткани.

Другим негативным моментом считается невозможность использования данного способа для корректной сравнительной оценки так называемых ангиогенных и неангиогенных опухолей, а также новообразований.

Так, в ЭКл синусоидов при циррозе печени и в ткани диспластических узелков отмечалась отрицательная реакция с антителами CD31 и VNH9, а в ЭКл ткани ранней ГЦК они определялись (Frachon et al., 2001). На иммуногистохимических препаратах печени с антителами к CD34 количество микрососудов в диспластических узелках с

высокой степени изменений ( $45.4 \pm 19.5$ ) существенно превышало соответствующие показатели в регенеративных узелках ( $16.3 \pm 10.8$ ) и диспластических узелках с низкой степенью изменений ( $13.5 \pm 9.1$ ) (Roncalli et al., 1999). В ткани ранней ГЦК наблюдалась более выраженная сосудистая экспрессия CD34 по сравнению с диспластическими узелками с высокой степенью изменений (Fan et al., 2020). В результате выявленной корреляции между выраженной экспрессией CD34 и гиперэхогенным сигналом в артериальную фазу УЗИ в ткани ранней ГЦК Фан с соавт. (Fan et al., 2020) сделали заключение, что капилляризация синусоидов печени является одним из этапов гепатоканцерогенеза и отражает переход ГЦК на преимущественно артериальное кровоснабжение.

На основании особенностей экспрессии CD34 (маркера зрелого эндотелия) и нестина (маркера неоангиогенеза) Васури с соавт. (Vasuri et al., 2016) выявили 4 вида сосудистых картин в ткани ГЦК. Синусоиды с положительной экспрессией CD34 и отрицательной экспрессией нестина наблюдались в инкапсулированной с экспансивным ростом ГЦК, развившейся на фоне цирроза печени. В то время как другие виды сосудистых картин были характерны для выраженных прогрессирующих форм ГЦК с развитием сосудистых осложнений и инвазии.

Наряду с этим, было показано, что показатели плотности микрососудов с положительной экспрессией CD34 обратно коррелировали с размерами ГЦК. При этом средние значения микрососудистой плотности в опухолевых узлах диаметром менее 5 см более чем в 2 раза превышали таковые в опухолях размером более 5 см (соответственно 316 и 146 на участке  $0.74 \text{ мм}^2$ ) (Poon et al., 2002). Согласно нашим ранее проведенным исследованиям, снижение степени дифференцировки ГЦК, характеризующее увеличение степени злокачественности, сопровождается уменьшением количества опухолевых CD34 положительных кровеносных сосудов (Shchyogolev, 2012).

Снижение степени гистологической дифференцировки ГЦК сопровождается и уменьшением количества CD105<sup>+</sup> сосудов в структуре ГЦК (Туманова и др., 2012а). Однако на иммуногистохимических препаратах с антителами к CD105 в ткани ГЦК независимо от степени ее гистологической дифференцировки определяется меньшее количество кровеносных сосудов по сравнению с CD34 положительными сосудами. При высокодифференцированной ГЦК в поле зрения отмечается 14.5 сосудов, реагирующих на CD105, что на 38% меньше по сравнению с CD34 положительными сосудами. В наблюдениях же умеренно и низко дифференцированных форм ГЦК их количество соответственно меньше на 9.5 и

52.3%. Средние и суммарные значения площади и периметра сосудов также имеют меньшие значения на препаратах ГЦК с реакцией CD105 по сравнению с CD34 положительными сосудами (Туманова и др., 2012а).

Закономерно, что изменения васкуляризации опухолевой ткани находят свое отражение и при лучевых методах исследования пациентов. Более того, именно лучевые характеристики очаговых образований лежат в основе современной диагностики предопухолевых и опухолевых поражений внутренних органов, включая ГЦК (Туманова и др., 2013б). Так, при магнитно-резонансной томографии (МРТ) диспластические узелки с низкой степенью изменений характеризуются изо- или гипоинтенсивным сигналом на T2-взвешенных изображениях. В диспластических узелках с высокой степенью изменений также наблюдается изо- или гипоинтенсивный сигнал на T2-взвешенных изображениях с повышением или понижением сигнала после введения контрастного вещества (Seale et al., 2009).

Лучевая картина ГЦК зависит в основном от размеров и степени злокачественности (Акинфиев и др., 2010; Туманова и др., 2016; Ayuso et al., 2012). Ранняя ГЦК характеризуется высоким сигналом на T1-взвешенных изображениях и гипо- или изоинтенсивностью на T2-взвешенных изображениях при МРТ. После введения контрастного вещества отмечается гипо- или изоинтенсивность сигнала в артериальную фазу и гипоинтенсивность в портальную фазу МРТ-исследования (Kim et al., 2011). МРТ-характеристики малой прогрессирующей ГЦК аналогичны таковым при выраженных формах ГЦК: округлое с четкими границами образование с различной интенсивностью сигнала на T1-взвешенных изображениях и с умеренной гиперинтенсивностью на T2-взвешенных изображениях. После введения контрастного вещества характерно выраженное усиление сигнала в артериальную фазу и гипоинтенсивность сигнала по сравнению с окружающей паренхимой печени в отсроченную фазу (Ayuso et al., 2012).

Аналогичная картина ГЦК наблюдается и при компьютерной томографии: усиление контрастности образования в артериальную фазу с последующим быстрым “провалом” (уменьшением плотности) в венозную и/или отсроченную фазу с чувствительностью и специфичностью 90 и 95% соответственно (Marrero et al., 2005). При этом необходимо добавить, что при КТ с использованием контрастного вещества повышение плотности (денсности) опухолевого узла ГЦК коррелирует с количеством микрососудов в его ткани, определяемых на иммуногистохимических препаратах (Chen et al., 2004). При этом нарушения степени васкуляризации в процессе опухолевой прогрессии ГЦК сопровождаются изменениями

и КТ характеристик (Туманова и др., 2012б, 2013в). Согласно ранее проведенным нами исследованиям (Туманова и др., 2013а), повышение степени злокачественности ГЦК сопровождалось снижением притока крови по системе воротной вены и соответственно увеличением притока артериальной крови.

Для объективизации лучевой диагностики ГЦК рекомендуется использовать критерии LI-RADS (Liver Imaging Reporting and Data System), основанные на выделении основных и дополнительных лучевых признаков выявляемых новообразований печени, развившихся на фоне цирроза (Туманова и др., 2014). При этом следует отметить, что разработанные критерии позволяют проводить и дифференциальную КТ, и МРТ-диагностику ГЦК с доброкачественными опухолями.

Практическим применением знаний о процессах опухолевого ангиогенеза служат разработки по созданию препаратов для ингибирования ангиогенеза. Данный вопрос, несомненно, заслуживает отдельного подробного анализа. Тем не менее, сорафениб как ингибитор тирозинкиназ, воздействующий на ангиогенные и опухолевые рецепторы, явился первым препаратом, рекомендованным для стандартной терапии больных с прогрессирующей ГЦК (Llovet et al., 2008).

В ряде работ было показано, что ингибиторы VEGF не только ингибируют процессы неоангиогенеза, но вызывают также регрессию части опухолевых сосудов и приводят к уменьшению размеров опухоли (Huang et al., 2003). Важно, что ингибирование VEGF сопровождается достаточно быстрыми и выраженными изменениями всех компонентов стенки опухолевых сосудов. Через 24 ч отмечается подавление роста и прекращение кровотока в отдельных сосудах, при этом ЭКл подвергаются апоптозу (Kim et al., 2002). Через 7 сут отмечается уменьшение васкуляризации ткани опухоли на 80% (Tong et al., 2004). Воздействие ингибиторов тромбоцитарного фактора роста (PDGF) вызывает также снижение фенестрации ЭКл и снижение уровней экспрессии VEGFR-2 и VEGFR-3.

Вместе с тем, при исследовании опухолевых ЭКл, выделенных из ткани ГЦК, Сион с соавт. (Xiong et al., 2009) показали, что CD105<sup>+</sup> клетки были устойчивы к воздействию 5-фторурацила (противоопухолевого препарата) и Сорафениба (антиангиогенного препарата) в отличие от нормальных CD105<sup>+</sup> ЭКл. Подобные данные указывают на необходимость дальнейшей разработки противоопухолевых препаратов, обладающих более выраженной активностью в отношении опухолевых ЭКл.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в основе нормального функционирования органов лежит формирование иерархической структуры кровеносных сосудов. Капиллярное русло печени представлено синусоидами, характеризующимися наличием специфических фенестр в эндотелиальных клетках и отсутствием базальной мембраны под эндотелием. Развитие гепатоцеллюлярной карциномы происходит, как правило, на фоне хронических поражений печени и является многоступенчатым процессом прогрессирования признаков тканевого и клеточного атипизма, а также изменений васкуляризации опухолевой ткани. Формирующаяся в ткани опухоли сосудистая сеть характеризуется структурным и функциональным атипизмом. Развитие и прогрессирование карциномы печени сопровождается изменениями структуры и метаболизма эндотелиальных клеток в опухолевом узле, а также хромосомными aberrациями с нарушениями экспрессии генов и факторов роста. В основе оценки процессов ангиогенеза и васкуляризации лежит морфологическое определение плотности микрососудов на иммуногистохимических препаратах. Клиническая диагностика гепатоцеллюлярной карциномы основана на выявлении лучевых характеристик, в том числе обусловленных нарушениями васкуляризации опухолевой ткани. Повышение степени злокачественности гепатоцеллюлярной карциномы сопровождается снижением притока крови по системе воротной вены и соответственно увеличением притока артериальной крови. Расширение знаний о процессах опухолевого ангиогенеза, несомненно, способствует разработке противоопухолевых таргетных антиангиогенных препаратов.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо материалов исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Акинфиев Д.М., Бахмутова Е.Е., Беляков Г.А. и др. Лучевая диагностика и малоинвазивное лечение механической желтухи. М.: Радиология-пресс, 2010. 259 с.
- Дан В.Н., Шеголев А.И., Сапелкин С.В. Современные классификации врожденных пороков развития сосудов (ангиодисплазий) // Ангиол. и сосуд. хирургия. 2006. № 4. С. 28–33.

- Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году / Ред. А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019. 236 с.
- Туманова У.Н., Щеголев А.И. Васкуляризация гепатоцеллюлярного рака // Архив патологии. 2015а. Т. 77. №2. С. 50—55.
- Туманова У.Н., Щеголев А.И. Ангиогенез при гепатоцеллюлярном раке // Успехи соврем. биол. 2015б. Т. 135. № 2. С. 164—176.
- Туманова У.Н., Дубова Е.А., Кармазановский Г.Г., Щеголев А.И. Компьютерно-томографические и морфологические сопоставления при гепатоцеллюлярном раке различной степени дифференцировки // Мол. медицина. 2012а. №5. С. 35—40.
- Туманова У.Н., Дубова Е.А., Кармазановский Г.Г., Щеголев А.И. Компьютерная томография в оценке кровоснабжения гепатоцеллюлярного рака // Анналы хир. гепатол. 2013а. Т. 18. № 4. С. 53—60.
- Туманова У.Н., Кармазановский Г.Г., Дубова Е.А., Щеголев А.И. Сравнительный анализ степени васкуляризации гепатоцеллюлярного рака и очаговой узловой гиперплазии печени по данным компьютерно-томографического и морфологического исследований // Вестн. РАМН. 2013б. Т. 68. № 12. С. 9—15.
- Туманова У.Н., Кармазановский Г.Г., Щеголев А.И. Денситометрические характеристики гепатоцеллюлярного рака при спиральной компьютерной томографии // Мед. визуал. 2012б. № 6. С. 42—49.
- Туманова У.Н., Кармазановский Г.Г., Щеголев А.И. Компьютерно-томографические характеристики степени васкуляризации гепатоцеллюлярного рака // Мед. визуал. 2013в. № 1. С. 52—58.
- Туманова У.Н., Кармазановский Г.Г., Щеголев А.И. Система LI-RADS при компьютерно-томографической диагностике гепатоцеллюлярного рака // Мед. визуал. 2014. № 6. С. 44—50.
- Туманова У.Н., Кармазановский Г.Г., Яшина Н.И., Щеголев А.И. Диагностическая значимость компьютерно-томографических характеристик узлов гепатоцеллюлярного рака в зависимости от размера // Рос. электрон. журн. луч. диагност. 2016. Т. 6. № 4. С. 44—55.
- Чекмарёва И.А., Втюрин Б.В., Дубова Е.А., Щеголев А.И. Ультроструктурная характеристика гепатоцеллюлярного рака // Архив патол. 2010. № 3. С. 7—12.
- Щеголев А.И., Мишинёв О.Д. Структурно-метаболическая характеристика синусоидальных клеток печени // Успехи соврем. биол. 1991. Т. 111. Вып. 1. С. 73—82.
- Щеголев А.И., Мишинёв О.Д. Онкоморфология печени. М.: Издательство РГМУ, 2006. 252 с.
- Щеголев А.И., Туманова У.Н., Мишинёв О.Д. Классификация и морфологическая характеристика гепатоцеллюлярных узелковых поражений печени // Междунар. журн. приклад. и фундам. исслед. 2017. №1-1. С. 71—75.
- Aird W.C. Endothelial cell heterogeneity // Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2012. V. 2. P. a006429.
- Arias I.M., Alter H. J., Boyer J. L. et al. The liver: biology and pathobiology. Chichester, UK; Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 2009. 1191 p.
- Ayuso C., Rimola J., García-Criado A. Imaging of HCC // Abdom. Imaging. 2012. V. 37. P. 215—230.
- Baluk P., Hashizume H., McDonald D.M. Cellular abnormalities of blood vessels as targets in cancer // Curr. Opin. Genet. Dev. 2005. V. 15. P. 102—111.
- Braet F., Wisse E. Structural and functional aspects of liver sinusoidal endothelial cell fenestrae: a review // Comp. Hepatol. 2002. V. 1. P. 1.
- Bruix J., Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma // Hepatology. 2005. V. 42. P. 1208—1236.
- Bussolati B., Deambrosis I., Russo S. et al. Altered angiogenesis and survival in human tumor-derived endothelial cells // FASEB J. 2003. V. 17. P. 1159—1161.
- Chen W.X., Min P.Q., Song B. et al. Single-level dynamic spiral CT of hepatocellular carcinoma: correlation between imaging features and density of tumor microvessels // World J. Gastroenterol. 2004. V. 10. P. 67—72.
- Cheng S.Y., Nagane M., Huang H.S., Cavenee W.K. Intracerebral tumor-associated hemorrhage caused by overexpression of the vascular endothelial growth factor isoforms VEGF121 and VEGF165 but not VEGF189 // PNAS USA. 1997. V.94. P. 12081—12087.
- Cogger V.C., McNerney G.P., Nyunt T. et al. Three-dimensional structured illumination microscopy of liver sinusoidal endothelial cell fenestrations // J. Struct. Biol. 2010. V. 171. P. 382—388.
- Coussens L.M., Werb Z. Inflammation and cancer // Nature. 2002. V. 420. P. 860—867.
- Daldrup H., Shames D.M., Wendland M. et al. Correlation of dynamic contrast-enhanced MR imaging with histologic tumor grade: comparison of macromolecular and small-molecular contrast media // Am. J. Roentgenol. 1998. V. 171. P. 941—949.
- Davies P.F. Flow-mediated endothelial mechanotransduction // Physiol. Rev. 1995. V. 75. P. 519—560.
- Davies P.F., Civelek M., Fang Y., Fleming I. The atherosusceptible endothelium: endothelial phenotypes in complex haemodynamic shear stress regions *in vivo* // Cardiovasc. Res. 2013. V. 99. P. 315—327.
- De Bock K., Georgiadou M., Schoors S. et al. Role of PFK-FB3-driven glycolysis in vessel sprouting // Cell. 2013. V. 154. P. 651—663.
- DeLeve L.D. Liver sinusoidal endothelial cells and liver regeneration // J. Clin. Invest. 2013. V. 123. P. 1861—1866.
- Fan Pei-li, Xia Han-sheng, Ding Hong et al. Characterization of early hepatocellular carcinoma and high-grade dysplastic nodules on contrast-enhanced ultrasound: correlation with histopathologic findings // J. Ultrasound. Med. 2020. V. 39. Iss. 9. P. 1799—1808. <https://doi.org/10.1002/jum.15288>
- Fernandez M. Molecular pathophysiology of portal hypertension // Hepatology. 2015. V. 61. P. 1406—1415.
- Frachon S., Gouysse G., Dumortier J. et al. Endothelial cell marker expression in dysplastic lesions of the liver: an immunohistochemical study // J. Hepatol. 2001. V. 34. P. 850—857.

- Franses J.W., Baker A.B., Chitalia V.C., Edelman E.R. Stromal endothelial cells directly influence cancer progression // *Sci. Transl. Med.* 2011. V. 3. P. 66ra5–5.
- Fraser R., Cogger V.C., Dobbs B. et al. The liver sieve and atherosclerosis // *Pathology*. 2012. V. 44. P. 181–186.
- Fukumura D., Duda D.G., Munn L.L. et al. Tumor microvasculature and microenvironment: novel insights through intravital imaging in preclinical models // *Microcirculation*. 2010. V. 17. P. 206–225.
- Geraud C., Evdokimov K., Straub B.K. et al. Unique cell type-specific junctional complexes in vascular endothelium of human and rat liver sinusoids // *PLoS One*. 2012. V. 7. P. e34206.
- Gerhardt H., Betsholtz C. Endothelial-pericyte interactions in angiogenesis // *Cell Tiss. Res.* 2003. V. 314. P. 15–23.
- Gerhardt H., Golding M., Fruttiger M. et al. VEGF guides angiogenic sprouting utilizing endothelial tip cell filopodia // *J. Cell Biol.* 2003. V. 161. P. 1163–1177.
- Geudens I., Gerhardt H. Coordinating cell behaviour during blood vessel formation // *Development*. 2011. V. 138. P. 4569–4583.
- Giatromanolaki A., Sivridis E., Minopoulos G. et al. Differential assessment of vascular survival ability and tumor angiogenic activity in colorectal cancer // *Clin. Cancer Res.* 2002. V. 8. P. 1185–1191.
- Gracia-Sancho J., Russo L., García-Calderó H. et al. Endothelial expression of transcription factor Kruppel-like factor 2 and its vasoprotective target genes in the normal and cirrhotic rat liver // *Gut*. 2011. V. 60. P. 517–524.
- Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hépatocellulaire. A comparison of lipiodol chemoembolization and conservative treatment for unresectable hepatocellular carcinoma // *N. Engl. J. Med.* 1995. V. 332. P. 1256–1261.
- Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation // *Cell*. 2011. V. 144. P. 646–674.
- Haratake J., Scheuer P.J. An immunohistochemical and ultrastructural study of the sinusoids of hepatocellular carcinoma // *Cancer*. 1990. V. 65. P. 1985–1993.
- Harb R., Xie G., Lutzko C. et al. Bone marrow progenitor cells repair rat hepatic sinusoidal endothelial cells after liver injury // *Gastroenterology*. 2009. V. 137. P. 704–712.
- Hendrikx S., Coso S., Prat-Luri B. et al. Endothelial calcineurin signaling restrains metastatic outgrowth by regulating Bmp2 // *Cell Rep.* 2019. V. 26. P. 1227–1241.
- Hida K., Hida Y., Amin D.N. et al. Tumor-associated endothelial cells with cytogenic abnormalities // *Cancer Res.* 2004. V. 64. P. 8249–8255.
- Hida K., Maishi N., Akiyama K. et al. Tumor endothelial cells with high aldehyde dehydrogenase activity show drug resistance // *Cancer Sci.* 2017. V. 108. P. 2195–2203.
- Hida K., Maishi N., Kawamoto T. et al. Tumor endothelial cells express high pentraxin 3 levels // *Pathol. Int.* 2016. V. 66. P. 687–694.
- Huang J., Frischer J.S., Serur A. et al. Regression of established tumors and metastases by potent vascular endothelial growth factor blockade // *PNAS USA*. 2003. V. 100. P. 7785–7790.
- Hytioglou P., Park Y.N., Krinsky G., Theise N.D. Hepatic precancerous lesions and small hepatocellular carcinoma // *Gastroenterol. Clin. North. Am.* 2007. V. 36. P. 867–887.
- Isenberg J.S., Martin-Manso G., Maxhimer J.B. et al. Regulation of nitric oxide signaling by thrombospondin-1: implications for anti-angiogenic therapies // *Nat. Rev. Cancer*. 2009. V. 9. P. 182–194.
- Jeon H.M., Kim S.H., Jin X. et al. Crosstalk between glioma-initiating cells and endothelial cells drives tumor progression // *Cancer Res.* 2014. V. 74. P. 4482–4492.
- Jiang J., Tang Y.L., Liang X.H. EMT: a new vision of hypoxia promoting cancer progression // *Cancer Biol. Ther.* 2011. V. 11. P. 714–723.
- Kim E.S., Serur A., Huang J. et al. Potent VEGF blockade causes regression of coopted vessels in a model of neuroblastoma // *PNAS USA*. 2002. V. 99. P. 11399–11404.
- Kim T.K., Lee K.H., Jang H.J. et al. Analysis of gadobenate dimeglumine-enhanced MR findings for characterizing small (1-2-cm) hepatic nodules in patients at high risk for hepatocellular carcinoma // *Radiology*. 2011. V. 259. P. 730–738.
- Kolios G., Valatas V., Kouroumalis E. Role of Kupffer cells in the pathogenesis of liver disease // *World J. Gastroenterol.* 2006. V. 12. P. 7413–7420.
- Le Couteur D.G., Cogger V.C., Markus A.M. et al. Pseudocapillarization and associated energy limitation in the aged rat liver // *Hepatology*. 2001. V. 33. P. 537–543.
- Lee S.S., Hadengue A., Moreau R. et al. Postprandial hemodynamic responses in patients with cirrhosis // *Hepatology*. 1988. V. 8. P. 647–651.
- Llovet J.M., Ricci S., Mazzaferro V. et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma // *N. Engl. J. Med.* 2008. V. 359. P. 378–390.
- London W.T. Liver cancer // *Cancer epidemiology and prevention*, 3rd ed. / Eds D. Schottenfeld, J. F. Fraumeni Jr. Oxford: Oxford Univ. Press, 2006. P. 763–786.
- Magnussen A., Kasman I.M., Norberg S. et al. Rapid access of antibodies to  $\alpha 5 \beta 1$  integrin overexpressed on the luminal surface of tumor blood vessels // *Cancer Res.* 2005. V. 65. P. 2712–2721.
- Maishi N., Ohba Y., Akiyama K. et al. Tumour endothelial cells in high metastatic tumours promote metastasis via epigenetic dysregulation of biglycan // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 28039.
- Marcu R., Choi Y.J., Xue J. et al. Human organ-specific endothelial cell heterogeneity // *iScience*. 2018. V. 4. P. 20–35.
- Margreet De Leeuw A., Brouwer A., Knook D.L. Sinusoidal endothelial cells of the liver: fine structure and function in relation to age // *J. Electron. Microsc. Tech.* 1990. V. 14. P. 218–236.
- Marien K.M., Croons V., Waumans Y. et al. Development and validation of a histological method to measure microvessel density in whole-slide images of cancer tissue // *PLoS One*. 2016. V. 11. P. e0161496.
- Marrero J.A., Hussain H.K., Nghiem H.V. et al. Improving the prediction of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients with an arterially-enhancing liver mass // *Liver Transpl.* 2005. V. 11. P. 281–289.

- Matsuda K., Ohga N., Hida Y. et al.* Isolated tumor endothelial cells maintain specific character during long-term culture // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 2010. V. 394. P. 947–954.
- Maxwell P.H., Dachs G.U., Gleadle J.M. et al.* Hypoxia-inducible factor-1 modulates gene expression in solid tumors and influences both angiogenesis and tumor growth // *PNAS USA*. 1997. V. 94. P. 8104–8109.
- Mazzafiero V., Lencioni R., Majno P.* Early hepatocellular carcinoma on the procrustean bed of ablation, resection, and transplantation // *Semin. Liver Dis.* 2014. V. 34. P. 415–426.
- Mazzone M., Dettori D., de Oliveira R.L. et al.* Heterozygous deficiency of PHD2 restores tumor oxygenation and inhibits metastasis via endothelial normalization // *Cell*. 2009. V. 136. P. 839–851.
- McDonald D.M., Choyke P.L.* Imaging of angiogenesis: from microscope to clinic // *Nat. Med.* 2003. V. 9. P. 713–725.
- McLean A.J., Cogger V.C., Chong G.C. et al.* Age-related pseudocapillarization of the human liver // *J. Pathol.* 2003. V. 200. P. 112–117.
- Mönkemöller V., Øie C., Hübner W. et al.* Multimodal super-resolution optical microscopy visualizes the close connection between membrane and the cytoskeleton in liver sinusoidal endothelial cell fenestrations // *Sci. Rep.* 2015. V. 5. P. 16279.
- O'Reilly J.N., Cogger V.C., Fraser R., Le Couteur D.G.* The effect of feeding and fasting on fenestrations in the liver sinusoidal endothelial cell // *Pathology (Phila)*. 2010. V. 42. P. 255–258.
- Ohga N., Ishikawa S., Maishi N. et al.* Heterogeneity of tumor endothelial cells: comparison between tumor endothelial cells isolated from high- and low-metastatic tumors // *Am. J. Pathol.* 2012. V. 180. P. 1294–1307.
- Ohmura-Kakutani H., Akiyama K., Maishi N. et al.* Identification of tumor endothelial cells with high aldehyde dehydrogenase activity and a highly angiogenic phenotype // *PLoS One*. 2014. V. 9. P. e113910.
- Otsubo T., Hida Y., Ohga N. et al.* Identification of novel targets for antiangiogenic therapy by comparing the gene expressions of tumor and normal endothelial cells // *Cancer. Sci.* 2014. V. 105. P. 560–567.
- Pang R., Poon R.T.* Angiogenesis and antiangiogenic therapy in hepatocellular carcinoma // *Cancer Lett.* 2006. V. 242. P. 151–167.
- Park Y.N., Kim M.-J.* Hepatocarcinogenesis: imaging-pathologic correlation // *Abdom. Imaging*. 2011. V. 36. P. 232–243.
- Park Y.N., Kim Y.B., Yang K.M., Park C.* Increased expression of vascular endothelial growth factor and angiogenesis in the early stage of multistep hepatocarcinogenesis // *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2000. V. 124. P. 1061–1065.
- Parmar K.M., Larman H.B., Dai G. et al.* Integration of flow-dependent endothelial phenotypes by Kruppel-like factor 2 // *J. Clin. Invest.* 2006. V. 116. P. 49–58.
- Perrot C.Y., Javelaud D., Mauviel A.* Insights into the transforming growth factor- $\beta$  signaling pathway in cutaneous melanoma // *Ann. Dermatol.* 2013. V. 25. P. 135–144.
- Ping Y.F., Bian X.W.* Concise review: contribution of cancer stem cells to neovascularization // *Stem Cells*. 2011. V. 29. P. 888–894.
- Pirtskhalaishvili G., Nelson J.B.* Endothelium-derived factors as paracrine mediators of prostate cancer progression // *Prostate*. 2000. V. 44. P. 77–87.
- Poon R.T., Ng I.O., Lau C. et al.* Tumor microvessel density as a predictor of recurrence after resection of hepatocellular carcinoma: a prospective study // *J. Clin. Oncol.* 2002. V. 20. P. 1775–1785.
- Poon R., Ho J., Tong C. et al.* Prognostic significance of serum vascular endothelial growth factor and endostatin in patients with hepatocellular carcinoma // *Br. J. Surg.* 2004. V. 91. P. 1354–1360.
- Raskopf E., Vogt A., Sauerbruch T., Schmitz V.* Sirna targeting VEGF inhibits hepatocellular carcinoma growth and tumor angiogenesis *in vivo* // *J. Hepatol.* 2008. V. 49. P. 977–984.
- Ria R., Todoerti K., Berardi S. et al.* Gene expression profiling of bone marrow endothelial cells in patients with multiple myeloma // *Clin. Cancer Res.* 2009. V. 15. P. 5369–5378.
- Ribatti D.* The crucial role of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in angiogenesis: a historical review // *Br. J. Haematol.* 2005. V. 128. P. 303–309.
- Roncalli M., Roz E., Coggi G. et al.* The vascular profile of regenerative and dysplastic nodules of the cirrhotic liver: implications for diagnosis and classification // *Hepatology*. 1999. V. 30. P. 1174–1178.
- Sabbagh M.F., Heng J.S., Luo C. et al.* Transcriptional and epigenomic landscapes of CNS and non-CNS vascular endothelial cells // *Elife*. 2018. V. 7. P. e36187.
- Sakamoto M.* Early HCC: diagnosis and molecular markers // *J. Gastroenterol.* 2009. V. 44. P. 108–111.
- Sato T., Kondo F., Ebara M. et al.* Natural history of large regenerative nodules and dysplastic nodules in liver cirrhosis: 28-year follow-up study // *Hepatol. Int.* 2015. V. 9. P. 330–336.
- Seale M.K., Catalano O.A., Saini S. et al.* Hepatobiliary-specific MR contrast agents: role in imaging the liver and biliary tree // *Radiographics*. 2009. V. 29. P. 1725–1748.
- Semela D., Dufour J.-F.* Angiogenesis and hepatocellular carcinoma // *J. Hepatol.* 2004. V. 41. P. 864–880.
- Shah V., Haddad F.G., Garcia-Cardena G. et al.* Liver sinusoidal endothelial cells are responsible for nitric oxide modulation of resistance in the hepatic sinusoids // *J. Clin. Invest.* 1997. V. 100. P. 2923–2930.
- Shchyogolev A.I., Dubova E.A., Tumanova U.N.* Vascularization of hepatocellular carcinoma tissue depends on its differentiation degree // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2012. V. 153. P. 490–494.
- Soda Y., Marumoto T., Friedmann-Morvinski D. et al.* Transdifferentiation of glioblastoma cells into vascular endothelial cells // *PNAS USA*. 2011. V. 108. P. 4274–4280.
- St Croix B., Rago C., Velculescu V. et al.* Gene expressed in human tumor and endothelium // *Science*. 2000. V. 289. P. 1197–1202.
- Suh Y., Yoon C.H., Kim R.K. et al.* Claudin-1 induces epithelial-mesenchymal transition through activation of the c-

- Abl-ERK signaling pathway in human liver cells // *Oncogene*. 2013. V. 32. P. 4873–4882.
- Sun B., Zhang S., Zhang D. et al. Vasculogenic mimicry is associated with high tumor grade, invasion and metastasis, and short survival in patients with hepatocellular carcinoma // *Oncol. Rep.* 2006. V. 16. P. 693–698.
- Tong R.T., Boucher Y., Kozin S.V. et al. Vascular normalization by vascular endothelial growth factor receptor 2 blockade induces a pressure gradient across the vasculature and improves drug penetration in tumors // *Cancer Res.* 2004. V. 64. P. 3731–3736.
- Torre L.A., Bray F., Siegel R.L. et al. Global cancer statistics, 2012 // *CA Cancer J. Clin.* 2011. V. 65. P.87–108.
- Ueki T., Sakaguchi S., Miyajima Y. et al. Usefulness of tumor pressure as a prognostic factor in cases of hepatocellular carcinoma where the diameter of the tumor is 3 cm or less // *Cancer*. 2002. V. 95. P. 596–604.
- Vascular liver disease // *Mechanisms and management* / Eds L.D. DeLeve, G. Garcia-Tsao. New York: Springer-Verlag, 2011. 286 p.
- Vasuri F., Fittipaldi S., Giunchi F. et al. Facing the enigma of the vascular network in hepatocellular carcinomas in cirrhotic and non-cirrhotic livers // *J. Clin. Pathol.* 2016. V. 69. P. 102–108.
- Vermeulen P.B., Verhoeven D., Hubens G. et al. Microvessels density, endothelial cell proliferation and tumor cell proliferation in human colorectal adenocarcinomas // *Ann. Oncol.* 1995. V. 6. P. 59–64.
- Vidal-Vanaclocha F., Barbera-Guillem E. Fenestration patterns in endothelial cells of rat liver sinusoids // *J. Ultrastruct. Res.* 1985. V. 90 P. 115–123.
- Wang L., Wang X., Xie G. et al. Liver sinusoidal endothelial cell progenitor cells promote liver regeneration in rats // *J. Clin. Invest.* 2012. V. 122. P. 1567–1573.
- Warren A., Chaberek S., Ostrowski K. et al. Effects of old age on vascular complexity and dispersion of the hepatic sinusoidal network // *Microcirculation*. 2008. V. 15. P. 191–202.
- Weidner N., Semple J.P., Welch W.R., Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis – correlation in invasive breast carcinoma // *N. Engl. J. Med.* 1991. V. 324. P. 1–8.
- Wicki A., Christofori G. The angiogenic switch in tumorigenesis // *Tumor angiogenesis: basic mechanisms and cancer therapy* / Eds D. Marmé, N. Fusenig. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2008. P. 67–88.
- Wieland E., Rodriguez-Vita J., Liebler S.S. et al. Endothelial Notch1 activity facilitates metastasis // *Cancer Cell*. 2017. V. 31. P. 355–367.
- Wisse E., Braet F., Duimel H. et al. Fixation methods for electron microscopy of human and other liver // *World J. Gastroenterol.* 2020. V. 21. P. 2851–2866.
- Xiong Y.Q., Sun H.C., Zhang W. et al. Human hepatocellular carcinoma tumor-derived endothelial cells manifest increased angiogenesis capability and drug resistance compared with normal endothelial cells // *Clin. Cancer Res.* 2009. V. 15. P. 4838–4846.
- Zhu A.X., Duda D.G., Sahani D.V., Jain R.K. HCC and angiogenesis: possible targets and future directions // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2011. V. 8. P. 292–301.

## Endothelial Cells of the Liver in Normal and with Hepatocellular Carcinoma

A. I. Shchegolev<sup>a,\*</sup> and U. N. Tumanova<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, Russia*

\*e-mail: ashegolev@oparina4.ru

The article presents systematic literature data on the role of endothelial cells and features of vascularization in the development of hepatocellular carcinoma. The capillaries of the normal liver are represented by sinusoids, which are characterized by the presence of specific fenestrations in endothelial cells and the absence of a basal membrane under the endothelium. The article shows that, as a rule, the development of hepatocellular carcinoma occurs against the background of chronic liver lesions and it is a multi-stage process of progression of tissue and cellular atypism, as well as changes in the vascularization of tumor tissue. The vascular network, which forms in the tumor tissue, is characterized by structural and functional atypism. The development and progression of liver carcinoma is accompanied by changes in the structure and metabolism of endothelial cells in the tumor node, as well as chromosomal aberrations with impaired gene expression and growth factors. The basis for assessing the processes of angiogenesis and vascularization is the morphological determination of microvessel density on immunohistochemical preparations. The clinical diagnosis of hepatocellular carcinoma is based on the detection of radiation characteristics of the tumor, including those due to changes in vascularization of the tumor tissue. An increase in the degree of malignancy of hepatocellular carcinoma is accompanied by a decrease in blood flow through the portal vein system and, accordingly, an increase in arterial blood flow. The necessity of knowledge about the processes of tumor angiogenesis for the development of antitumor targeted antiangiogenic drugs is noted.

**Keywords:** liver, hepatocellular carcinoma, angiogenesis, vascularization, tumor vessels, endothelial cells