

# Ендометрій та HIF й VEGF як молекулярно-тканинні фактори регуляції при гіпоксії

З.В. Чумак<sup>2</sup>, О.О. Зелінський<sup>1</sup>, М.В. Шаповал<sup>1</sup>, Г.С. Манасова<sup>1</sup>, Н.М. Кухар<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Одеський національний медичний університет

<sup>2</sup>Одеський міський центр з проблем клімактерія

Проведено аналіз літературних даних з дослідження мікроциркуляторно-тканинних факторів регуляції в розвитку проліферативних процесів та канцерогенезу. Певне значення має вивчення контролю гомеостазу, його вплив на порушення енергетичного обміну, процеси гліколізу, метаболізму, апоптозу, проліферації. Вивчено співвідношення результатів досліджень з оцінювання при гіпоксії HIF-факторів, а також процесів ангиогенезу, стимульованого підвищеною перфузією потребою існуючих судин та його основного індуктора – сімейства VEGF-факторів.

**Ключові слова:** гіперплазія ендометрія, HIF, VEGF, гіпоксія, ангиогенез.

Для гіперплазії ендометрія (ГПЕ) характерними є надмірний ріст і висока проліферативна активність залоз, з дисбалансом між епітеліальними та стромальними клітинами. Результати численних досліджень з вивчення ГПЕ досить різноманітні, а етіопатогенетичні механізми складні та вивчені неостаточно [1, 3]. Установлено, що при даній патології виникають комплексні порушення, які супроводжуються підвищеним ангиогенезом, імуносупресією, високим проліферативним індексом: поділ клітин переважає над елімінацією за рахунок активації процесів проліферації, пригнічення процесів запрограмованої загибелі клітин чи при їх сумісних взаємних молекулярно-генетичних, тканинних змінах [4, 11]. При такому розмаїтті факторів інтерес представляє виявлення ранніх маркерів малігнізації гіперплазованої тканини.

Останнім часом проведена низка досліджень, присвячених мікроциркуляторно-тканинній теорії як новій парадигмі канцерогенезу [2], в якій певну роль надають молекулярним механізмам контролю регулювання гомеостазу кисню [5]. Доведено, що при гіпоксії порушується енергетичний обмін, гальмується синтез біологічно активних речовин, стимулюються ангиогенез (васкулярний ендотеліальний ростовий фактор – VEGF), ангиогенін та фактори росту – тромбоцитарний, інсуліноподібний, еритропоєз, проліферація клітин, стимуляція експресії протеїну p53 дикого типу, активація мембранного транспорту глюкози та її метаболізму за рахунок гліколізу [5, 9]. В історичних дослідженнях Warburg було виявлено, що заміщення кисневого дихання в клітинах на ферментацію глюкози є початком пухлинного росту [2]. У дослідженнях установлено, що гіпоксія стимулює транскрипцію гліколітичних ферментів, транспортерів глюкози (glucose transporter – GLUT1 та GLUT3) [9].

Вплив гіпоксії на апоптоз стимулює апоптоз як нормальних, так і неопластичних клітин через рівень p53, генів сімейства BCL-2, HIF-1 та інших, ще не ідентифікованих факторів [3]. За даними досліджень, гіпоксія стимулює пухлинну прогресію [4, 6, 11, 15, 16]. Питання про чи антиапоптозного впливу гіпоксії залишається невирішеним, оскільки відомо, що клітини, які потрапили в стан недостатньої оксигенації, можуть загинути шляхом апоптозу, некрозу. Одночасно через активацію гліколізу та ангиогенезу вони здатні адаптуватися й вижити [12].

Проведені чисельні дослідження з вивчення гіпоксії в регулюванні метаболічних процесів в організмі [5, 10], в результаті яких були відкриті транскрипційні фактори, чутливі до гіпоксії: ядерний фактор NF-kb (nuclear factor – NF-kb), металотранскрипційний фактор-1 (MTF-1), фактори, індуквані гіпоксією (hypoxia inductor factors – HIF's) [9].

HIF's-фактори – HIF-1, HIF-2, HIF-3 – забезпечують виживання клітин в умовах гіпоксії за рахунок регуляції більше ніж 200 генів та їх протеїнів, що беруть участь в ангиогенезі, еритропоєзі, апоптозі, енергетичному метаболізмі, вазомоторному контролі, імунитеті [6, 13, 17]. Активна ангиогенезу здійснюється шляхом транскрипції таких факторів, як VEGF- A, стромальний фактор росту – SDF1, фактор стовбурових клітин – SCF, ангиопоетин [6, 12, 20].

HIF – гетеродимерний комплекс, який складається з альфа-субодиниці (HIF- $\alpha$ ) та бета-субодиниці (HIF- $\beta$ ). Субодиниця HIF- $\alpha$  на даний момент відома у вигляді декількох ізоформ (HIF-1 $\alpha$ , HIF-2 $\alpha$ , HIF-3 $\alpha$ ), які реагують на різний рівень кисню, з різною почасовою реакцією [6]. HIF-1 $\alpha$  вивчений найкраще, його експресія виявлена в клітинах багатьох тканин та органів, де він функціонує як регулятор кисневого гомеостазу; HIF-1 $\beta$  експресується постійно, незалежно від внутрішньоклітинної гіпоксії, має важливе значення для відповіді організму на ксенобіотики [8–10]; HIF-2 $\alpha$  – в ендотеліальних клітинах судин; при ембріогенезі в клітинах нирок та легень; клітинах, що синтезують катехоламіни; регулює властивості стовбурових клітин, що виявлені в популяції пухлинних клітин, при інвазивному раковому процесі експресія HIF-2 $\alpha$  пов'язана із ступенем злоякісності та експресією Ki-67 [6]. HIF-3 $\alpha$  – менше за все вивчений, його експресія показана в клітинах легень, мозку, серця, нирок, загруднинної залози; вважають що він є негативним регулятором генів, які індикуються гіпоксією [5, 6]. Результати досліджень про взаємодію цих субодиниць досить мозаїчні і їх продовжують вивчати.

Субодиниця HIF-1 $\alpha$  в умовах нормоксії постійно присутня в клітині, але з виключно коротким періодом напіврозпаду, тому її концентрація підтримується на низькому рівні [10]. Установлено, що наявність кисню впливає на HIF-1 $\alpha$  декількома шляхами, один з них – це швидка деградація убіквін-протеосомною системою, за наявності функціонального протеїну von Hippel-Lindau (VHL), відомого як туморсупресорний білок [8, 9]. Підвищена експресія HIF-1 $\alpha$  виявлена в пухлинах з мутаціями VHL [3, 8]. У роботах деяких авторів гіперекспресія HIF-1 $\alpha$  підтверджена в пухлинах грудної залози, шийки матки, ендометрія, яєчника, легень, стравоходу, шлунка, кишечнику [13, 16, 18, 19] і є загальною ознакою пухлин людини [8], вона пов'язана з експресією мутантного типу протеїну p53, корелює зі ступенем диференціації клітин, ангиогенезом і є негативною прогностичною ознакою в відношенні життєздатності [6]. У дослідях на тваринах дефіцит HIF-1 $\alpha$  в злоякісних пухлинах зменшував прогресію та метастазування пухлини [6, 18]. При передпухлинних станах спостерігається підвищена експресія HIF-1 $\alpha$ , в більшості доброякісних процесів експресії не виявлено [8]. Деякими

вченими було виявлено протилежний вплив HIF-1 $\alpha$  і HIF-2 $\alpha$  на активність p53. Якщо перший його активує та стабілізує p53, то другий пригнічує експресію й функції p53 [6].

Доведено, що гіпоксія посилює експресію генів VEGF, GLUT1, ендотеліну-1, PFKFB3, PFKFB4 в культурі пухлинних та здорових клітин, що забезпечує адаптацію клітин до умов зі зниженою оксигенацією. Індукція експресії гена VEGF в клітинах ендометрія відбувається як через залежний від HIF механізм, так і через гормонально-рецепторну систему, пов'язану з естрогенами [5]. Існують дослідження, які підтверджують зв'язок гіперекспресії HIF-1 $\alpha$  з прогресією пухлини та несприятливим прогнозом при аденокарциномі ендометрія [4, 8, 15].

VEGF – основний індуктор ангиогенезу, його експресія регулюється гіпоксією, гіпоглікемією [12], він стимулює реакції, за допомогою яких ендотеліальні клітини мігрують, проліферують, збираються в трубки та формують зв'язану сітку [3]. Ангиогенез стимулюється, якщо метаболічні потреби перевищують перфузійну здатність існуючих судин. У фізіологічних умовах процеси ангиогенезу проходять з помірною інтенсивністю й активуються для регенерації пошкоджених тканин, каналізації тромбів, при циклічних змінах в яєчниках, проліферації ендометрія, росту ембріональних та постнатальних тканин [12], що пов'язано або з гормональною стимуляцією, або як відповідь на ішемію. Результати останніх досліджень підтвердили даний адаптаційний механізм при гіпоксії та гіпоглікемії [3, 5, 6, 12, 17].

Процеси пухлинного ангиогенезу відрізняються від фізіологічного, але вони забезпечують доставку кисню й поживних речовин до зляканої тканини. Пухлина об'ємом більше 1–2 мм<sup>3</sup> потребує власної системи кровопостачання [3, 12]. Згідно з певними механізмами канцерогенезу зляканої характеризується: нечутливістю до інгібіторів росту, самодостатністю ростовими факторами, відхиленням від апоптозу, іморталізацією, ангиогенезом, метастазуванням, інвазією [7].

Таким чином, особливі ознаки пухлинного ангиогенезу: судинному руслу пухлини не властиві системи артерій, капілярів і венул, характерним є два загальних типа периферійної та центральної перфузії. Для пухлин з периферійним типом характерним є наявність некрозів в центрі пухлини, для центрального типу – навпаки. Проте дані типи в одній пухлині можуть перекриватися. Багато судин пухлини знаходяться в спавшомуся стані, із-за недостатності стромы, судини макроскопічно виглядають розширеними, звитими, з наявністю сліпих виростів, шунтів, анастомозів, внаслідок чого кров проходить непередбачувано. Самі судини є дезорганізованими, пухкі, вони не вистлані шаром епітеліальних клітин, що призводить до аномально високої проникності та кровооточивості [12]. З прогресуванням процесу зв'язок перититів з ендотелієм слабшає, а високі кон-

центрації VEGF проявляють себе як фактор, що значно підвищує проникність судин [6].

Серед усіх ангиогенних факторів сімейство VEGF вважається основним в новоутворенні кровоносних та лімфатичних судин. Рівень експресії VEGF прогресивно зменшується після народження і знаходиться на низьких рівнях в більшості тканин, окрім місць з активним ангиогенезом: яєчники, матка, шкіра. Відомо 6 факторів росту VEGF: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, плацентарний фактор росту (PLGF) [6, 12]. Із них VEGF-A один з головних, який експресується в гладком'язових клітинах судин, макрофагах, клітинах пухлин [6].

У роботах було виявлено, що VEGF-A відіграє важливе значення в новоутворених кровоносних судинах при утриманні ендотеліальних клітин ще до приєднання до них перититів та перешкоджає апоптозу ендотеліальних клітин і зворотному розвитку незрілих судин, в дорослому віці сформована судинна система не потребує VEGF [3]. На сьогоднішній момент, розглядаються механізми пригнічення імунної протипухлинної відповіді при синтезі пухлиною VEGF [6, 20].

При вивченні раку грудної залози одними вченими було показано зв'язок експресії VEGF-A з гіпоксією та підтверджено ангиогенний ефект естрогенів [6, 14, 20], в подальших дослідженнях іншими авторами отримано антиангиогенний вплив антиестрогенів, в тому числі, через інгібіцію VEGF-A. У роботах [3] показана підвищена експресія VEGF-A при спадковому раку грудної залози в порівнянні зі спорадичним, така сама закономірність встановлена при вивченні експресії HIF-1 $\alpha$ . Автори також встановили прямий кореляційний зв'язок між експресією HIF-1 $\alpha$  та щільністю кровоносних судин при спадкових формах раку [6, 20].

Результати робіт з вивчення VEGF-C, VEGF-D різноманітні, їхня роль встановлена в індукції лімфогенезу, деякі автори вважають співвідношення даних факторів як прогностичний показник ураження лімфатичних вузлів [6].

## ВИСНОВКИ

Зважаючи на викладене вище, можна зробити висновок, що гіпоксичний стан є характерною ознакою метаболізму у вогнищах тканин з порушенням гомеостазом. Фактори HIF-1 $\alpha$  й VEGF можуть бути ще одним компонентом між гіперпластичними та неопластичними процесами слизової оболонки матки. Проблема досліджень молекулярно-тканинних механізмів в ендометріальній тканині при гіпоксії як пусковому факторі потребує подальшого вивчення через широке поширення захворюваності на неопластичні процеси взагалі та лідируючим положенням аденокарциноми серед онкогінекологічних захворювань.

## The endometrium of HIF and VEGF as the molecular regulation of tissue factor under hypoxic conditions Z.V. Chumak, O.O. Zelinsky, M.V. Shapoval, G.S. Manasova, N.M. Kukhar

The analysis of published data on the microcirculatory-tissue regulatory factors in the development of proliferative processes and carcinogenesis. A certain role is given to the study of the control of homeostasis of oxygen, its impact on the violation of energy metabolism, glycolysis, metabolism, apoptosis and proliferation. Rezultly matched evaluation studies in hypoxia HIF factors and processes of angiogenesis stimulated by increased perfusion needs of existing vessels and the main inductor – VEGF factors.

**Key words:** endometrial hyperplasia, HIF, VEGF, hypoxia, angiogenesis.

## Эндометрий на HIF и VEGF как молекулярно-тканевые факторы регуляции при гипоксии З.В. Чумак, А.А. Зелинский, Н.В. Шаповал, Г.С. Манасова, Н.Н. Кухар

Проведен анализ литературных данных по изучению микроциркуляторно-тканевых факторов регуляции в развитии пролиферативных процессов и канцерогенеза. Определенное значение имеет изучение контроля гомеостаза кислорода, его влияние на нарушение энергетического обмена, процессов гликолиза, метаболизма, апоптоза и пролиферации. Изучено соотношение результатов исследований по оценке при гипоксии HIF-факторов, а также процессов ангиогенеза, стимулированного повышенной перфузионной потребностью существующих сосудов, и его основного индуктора – семейства VEGF-факторов.

**Ключевые слова:** гиперплазия эндометрия, HIF, VEGF, гипоксия, ангиогенез.

Сведения об авторах

**Зелинский Александр Алексеевич** – Кафедра акушерства и гинекологии № 2 Одесского национального медицинского университета, 65026, г. Одесса, Валиховский пер., 2; тел.: (0482) 68-04-86

**Чумак Зинаида Васильевна** – Городской Центр по проблемам климактерия, 65009, г. Одесса, ул. Пионерская, 14. E-mail: chumak-doc@rambler.ru

**Шаповал Николай Витальевич** – Кафедра акушерства и гинекологии № 2 Одесского национального медицинского университета, 65026, г. Одесса, Валиховский пер., 2; тел.: (0482) 68-04-86

**Манасова Гульсым Сырыкбаевна** – Кафедра акушерства и гинекологии № 2 Одесского национального медицинского университета, 65026, г. Одесса, Валиховский пер., 2; тел.: (0482) 68-04-86

**Кухар Наталья Николаевна** – Кафедра физической реабилитации, спортивной медицины и валеологии Одесского национального медицинского университета, 65026, г. Одесса, Валиховский пер., 2

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гиперплазия эндометрия – современный взгляд на проблему./ Веропотвелян П.Н., Гужевская И.В., Веропотвелян Н.П.// Медицинские аспекты здоровья женщины. – 2013. – № 5 (69). – С. 13–20.
2. Дзасохов А.С. Микроциркуляторно-тканевая теория как новая парадигма канцерогенеза // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 9. – С. 512–518.
3. Диагностическое значение исследования фактора роста эндотелия сосудов в сыворотке крови./ Захарова Н.Б., Дурнов Д.А., Михайлов В.Ю. и др.// Фундаментальные исследования. – 2011. – № 11. – С. 215–220.
4. Молекулярные аспекты гиперпластических процессов в эндометрии/ Макаров И.О., Овсянникова Т.В., Шешукова Н.А. и др. // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2010. – № 6. – С. 18–21.
5. Молекулярні механізми регуляції експресії генів за гіпоксії / Мінченко Д.О., Губеня О.В., Кубайчук К.І. та ін. // Studia Biologica. – 2013. – Т. 7, № 1. – С. 159–176.
6. Нефедова Н.А., Давыдова С.Ю. Роль сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и гипоксия-индуцибельного фактора (HIF) в опухолевом ангиогенезе // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3.
7. Онкология: учебник/ М.И. Давыдов, Ш.Х. Ганцев. 2010. – 920 с.
8. Осинский С.П., Гуменюк Л.Д., Осинский Д.С. Экспрессия гипоксия-индуцибельного фактора 16 в ткани рака желудка человека и ее связь с некоторыми клиническими характеристиками заболевания // Онкология. – 2006. – Т. 8, № 1. – С. 33–37.
9. Регуляция гомеостаза кислорода. Фактор, индуцированный гипоксией (HIF) и его значение в гомеостазе кислорода/ Левина А.А., Макешова А.Б., Мамукова Ю.И. и др. // Педиатрия. – 2009. – Т. 87, № 4.
10. Серебровская Т.В. Гипоксия-индуцибельный фактор: роль в патофизиологии дыхания// Український пульмонологічний журнал. – 2010. – № 3. – С. 77–81.
11. Спирина Л.В., Юнусова Н.В., Кондокова И.В. и др. Протеолитическая регуляция экспрессии ростовых факторов и HIF-1 при раке эндометрия// Сибирский онкологический журнал. – 2012. – № 2 (50). – С. 45–51.
12. Спринджук М.В. Ангиогенез // Морфология. – 2010. – Т. IV, № 2. – С. 4–13.
13. Critical Role of Hif-16 in Keratinocyte Defense against Bacterial Infection/ Carole Peyssonnaud, Adam T. Boutin, Annelies S Zinkernagel et al.// Journal of investigative Dermatology. – 2008. – V. 128. – 1964–1968.
14. Enhanced expression of vascular endothelial growth factor and increased microvascular density in women with endometrial hyperplasia: a possible relationship with uterine natural killer cells/ Elfayomy A.K., Almasry S.M., Attia G.M. et al. // Rom J Morphol Embriol. – 2015; 56 (2) 725–34.
15. Harris L., Giatromanolaki A., Gatter K.G. et al. Association of hypoxia-inducible factors 16 and 26 with activated angiogenic pathways and prognosis in patients with endometrial carcinoma/ Cancer. – 2002; 61: 5215–5222.
16. HIF-1 alpha functions as a tumor promoter in cancer associated fibroblasts, and as a tumor suppressor in breast cancer cells/ Barbara Chiavarina, Diana Whitaker-Menezes, Gemma Migneco et al. //Cell Cycle. – 2010. – Sep;9 (17): 3534–3551.
17. HIF-1 $\alpha$  Overexpression and Experimental Murine Atherosclerosis/ Jeremy Ben-Shoshan, Arnon Afek, Sofia Maysel-Auslender et al.// Arterioscler Tromb Vasc. – 2009. – May. – P. 1–6.
18. Hypoxia-inducible factor 1 alpha in high-risk breast cancer: an independent prognostic parameter? / Gunter Gruber, Richard H. Greiner, Ruslan Hlushchuk et al. //Breast Cancer Research. – 2004. – Vol. 6, № 3. – 191–198.
19. Meme Kanseri Hucre Dizilerinde HIF-1 alfa Ekspresyonum P13K/ A. Lale Dogan, Eren Cimen, Sevil Oskay et al.// Turk Biyokimya Dergisi. – 2012. – 37 (3). 264–271.
20. Vascular endothelial growth factor (VEGF) regulation by hypoxia inducible factor-1 alpha (HIF-1 A) starts and peaks during endometrial breakdown, not repair, in a mouse menstrual-like model/ Chen X., Liu J., He B. et al.// Hum. Reprod. – 2015. – Sep;30 (9): 2160–70.

Статья поступила в редакцию 18.11.2015