

ЭНДОТЕЛИОЗАВИСИМАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АНГИОГЕНЕЗА

© В. М. Черток,¹ А. Г. Черток, В. Г. Зенкина

*Кафедра анатомии человека Тихоокеанского государственного
медицинского университета, Владивосток, 690950;*

¹ *электронный адрес: chertokv@mail.ru*

В обзоре представлены клеточные и молекулярные механизмы регуляции ангиогенеза. В ответ на действие индукторов ангиогенеза активированные эндотелиальные клетки и их предшественники (прогениторные клетки) синтезируют и выделяют ангиогенные молекулы, которые отличаются друг от друга химической природой и механизмом биологического действия, но все они позволяют этим клеткам прямо или опосредованно воздействовать на образование новых сосудов. Среди большого количества ангиогенных молекул наибольший интерес у исследователей вызывают семейство сосудистых эндотелиальных факторов роста, семейство факторов роста фибробластов, трансформирующий фактор роста, фактор некроза опухоли и некоторые другие растворимые полипептиды, оказавшиеся весьма эффективными регуляторами ангиогенеза. Однако, несмотря на очевидные достижения в изучении клеточных и молекулярных механизмов ангиогенеза, не всегда удается достаточно надежно управлять данным процессом. В связи с этим основная цель работы заключалась в обзоре эндотелиозависимых факторов и механизмов регуляции новообразования капилляров.

Ключевые слова: ангиогенез, клеточные и молекулярные регуляторы ангиогенеза, активированные, ведущие и прогениторные эндотелиоциты.

Принятые сокращения: ВЭК — ведущие эндотелиальные клетки, ГМК — гладкомышечные клетки, ГПК — гемопоэтические прогениторные клетки, ИПСК — индуцированные плюрипотентные стволовые клетки человека, ПЭПК — поздние эндотелиальные прогениторные клетки, РЭПК — ранние эндотелиальные прогениторные клетки, ЭПК — эндотелиальные прогениторные клетки, ЭПСК — эмбриональные плюрипотентные стволовые клетки человека, FGFs (fibroblast-derived growth factor) — фактор роста фибробластов, TGF- β (transforming growth factor) — трансформирующий фактор роста- β , TNF α (factor tumor necrosis- α) — фактор некроза опухоли- α , VEGF (vascular endothelial growth factor) — фактор роста эндотелия сосудов.

Ангиогенез охватывает весь цикл новообразования сосудов: пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток, формирование капиллярной трубки и ремоделирование органических сосудистых сетей (Ferrara, Kerbel, 2005; Gacche, Meshram, 2014). Эти процессы запускаются при нарушениях нормального функционирования организма, например при заживлении ран, ишемии или опухолях. Образование и рост кровеносных сосудов находятся под строгим контролем клеточных и молекулярных механизмов (Schaper, Scholz, 2003; Herbert, Stainier, 2011; Wang, Xiong, 2012). Для организма очень важно сбалансированное функционирование этой системы, поскольку как избыточное образование кровеносных сосудов, так и недостаточное их развитие ведут к появлению серьезных заболеваний. При опухолях, атеросклерозе, диабете, псориазе и ревматоидном артрите отмечают интенсификацию ангиогенеза (Ferrara, Kerbel, 2005; Behrouz et al., 2012; Bennett et al., 2016). При ряде заболеваний головного мозга и сердца наблюдается противоположная тенденция — снижение образования новых сосудов (Asahara, 2007; Siervo et al., 2010; Arai et al., 2011; Liman, Endres, 2012; Белова и др., 2015).

Определенный прогресс в изучении ангиогенеза в последние годы во многом обусловлен появлением новых

данных о решающей роли эндотелия в данном процессе (Herbert, Stainier, 2011; Черток, Коцюба, 2012; Черток и др., 2012; Park et al., 2013). Это стало возможным благодаря созданию специфических маркеров для идентификации эндотелиоцитов и их предшественников, усовершенствованию методик культивирования и сокультивирования эндотелиальных клеток, полученных из различных тканей, выяснению химической природы и механизмов действия стимуляторов и ингибиторов ангиогенеза. Однако, несмотря на очевидные достижения в изучении клеточных и молекулярных механизмов ангиогенеза, пока не всегда удается достаточно надежно управлять этим процессом. В связи с этим основная цель нашей работы заключалась в обзоре эндотелиозависимых факторов и механизмов регуляции новообразования капилляров.

Процессы новообразования кровеносных сосудов в организме

Кровеносные сосуды образуются посредством двух фундаментальных процессов — васкулогенеза и ангиогенеза, которые позволяют формировать новые сосудистые

сети или ремоделировать уже существующие. Под васкулогенезом понимают развитие сосудов *de novo* из эндотелиальных клеток-предшественников, мобилизованных из костного мозга под действием факторов роста, с последующей дифференцировкой в зрелые эндотелиальные клетки (Ribatti et al., 2009; Silvestre et al., 2013). Васкулогенез обеспечивает новообразование первичных кровеносных сосудов в эмбриональном периоде, но не наблюдается в постнатальном онтогенезе (Li et al., 2005), хотя исследования последних лет не исключают такую возможность (Shen et al., 2011). Нередко под васкулогенезом понимают все аспекты развития кровеносных сосудов в эмбрионе независимо от того, где и как они образуются (Li et al., 2005; Siervo et al., 2010). С формированием первичного капиллярного сплетения завершается стадия васкулогенеза, и все дальнейшие преобразования сосудистой сети происходят путем ангиогенеза.

В отличие от васкулогенеза ангиогенез — процесс образования новых сосудов из уже существующих. Развитие органов в пренатальном онтогенезе обязательно включает в себя этап ангиогенеза, когда структура первичного сосудистого сплетения значительно усложняется за счет ветвления капилляров и его реорганизации в высокоорганизованную сосудистую сеть. В качестве отдельного вида новообразования сосудов выделяют ангиогенез — формирование коллатералей после окклюзии артериального ствола, в том числе образование анастомозов, способных значительно увеличивать кровоток (Schaper, Scholz, 2003). Размеры этих сосудов вполне достаточны, чтобы визуализировать их ангиографически. В отличие от ангиогенеза первичными стимулами ангиогенеза являются напряжение сдвига и скопление мононуклеарных клеток крови в местах сужения артерий, приводящее к высвобождению и продукции факторов ангиогенеза.

Рост и развитие сосудов в первую очередь связаны с преобразованиями специализированных клеток эндотелиоцитов, формированием контактов между ними и становлением эндотелиальной выстилки интерстициальных щелей, тоннелей, путей распространения тканевых жидкостей, крови и лимфы (Черток, Ломакин, 1982; Behrouz et al., 2012; Sidibé et al., 2014; Dorland, Huvneers, 2016). Согласно классическим представлениям, сосудистые эндотелиальные клетки возникают из эмбриональных предшественников ангиобластов, которые дифференцируются из более примитивных клеток гемангиобластов, являющихся общими предшественниками как для клеток гемопоэза, так и кровеносных сосудов (Ribatti et al., 2009). Поэтому многие маркеры, считавшиеся связанными лишь с клетками гемопоэза, например CD34 и CD136, также экспрессируются эндотелием, а обнаруженные в эндотелии CD31 (PECAM-1), фактор фон Виллебранда (vWF) и эндотелин выявляются на поверхности клеток, циркулирующих в периферической крови (Asahara, 2007; Yoder, 2009; Siervo et al., 2010). Вновь сформированные ангиобласты, дифференцируясь в эндотелиальные клетки, мигрируют в органы энтодермального происхождения.

Во взрослом организме образование новых сосудов в физиологических условиях наблюдается крайне редко, в основном там, где происходят естественные циклические преобразования структур из имеющихся зачатков (фолликулы и желтое тело яичника, эндометрий, плацента, волосяной фолликул). Вместе с тем новообразование сосудов зафиксировано в скелетной мускулатуре здорового организма после физических нагрузок, массажа или дли-

тельной электрической стимуляции (Ishida et al., 2001; Alexander, Owens, 2012).

Новообразование микрососудов начинается в ответ на действие индуктора ангиогенеза и проходит 4 основные стадии: активация эндотелиоцитов с протеолитическим разрушением базальной мембраны и межклеточного матрикса, миграция и прикрепление эндотелиальных клеток, их пролиферация, а затем формирование капиллярных трубок с новой базальной мембраной, которые являются первыми кровеносными сосудами в примитивной капиллярной сети.

Первичной реакцией эндотелиальных клеток в этом процессе является хемотоксическое вытягивание их отростков по направлению к источнику раздражения — спраутинг, в результате чего происходит формирование капиллярных ростков или «почек». Действие индукторов ангиогенеза приводит не только к активации эндотелия и появлению на его базальной поверхности большого числа отростков, но и к локальному расплавлению базальной мембраны сосудистого ствола на месте образования будущих капиллярных ростков, которое происходит в результате активизации матриксных металлопротеиназ, коллагеназ IV типа и активаторов плазминогена (Patel-Hett, D'Amore, 2011). Указанные процессы дополняются миграцией эндотелиальных клеток из стенок сосудов через периваскулярную ткань и паренхиму по направлению к ангиогенному стимулу, репродукцией эндотелиоцитов позади фронта мигрирующих эндотелиальных клеток (Stapor et al., 2014).

Отпочковывающийся сосуд в этот период ангиогенеза представляет собой тяж эндотелиальных клеток с относительно высокой пролиферативной активностью (индекс ДНК-меченных ядер достигает 4%), что способствует удлинению почки роста (Jung et al., 2016). Вначале рост клеток происходит в направлении, перпендикулярном существующему сосуду, ближе к его венозному отделу, там, где выше митотическая активность эндотелиоцитов. Позднее в стенку формирующихся капилляров встраиваются перициты, которые затем окутывает базальная мембрана (Ribatti et al., 2011; Simonavicius et al., 2012; Черток, Черток, 2016). В тяжах эндотелиальных клеток образуется просвет, и они превращаются в самостоятельные капиллярные трубки. Дальнейшие перестройки, проходящие в процессе формирования органических сосудистых сетей, — ремоделирование, дифференцировка и специализация — находятся под контролем регуляторов ангиогенеза.

Регуляция ангиогенеза

Регуляция ангиогенеза предполагает реализацию механизмов, которые могут побуждать развитие и интеграцию сосудов, ускорять или подавлять их рост. Все преобразования, проходящие в стенке сосудов в процессе ангиогенеза, жестко контролируются клеточными и молекулярными механизмами. Они обеспечивают последовательное включение стимуляторов или ингибиторов ангиогенеза, которые запускают или тормозят образование новых кровеносных сосудов в физиологических и патологических условиях (Schaper, Scholz, 2003; Herbert, Stainier, 2011; Potente et al., 2011).

Решающую роль в регуляции ангиогенеза играют механизмы, связанные с эндотелием. Во взрослом организме большинство кровеносных сосудов находится в состо-

нии покоя, тем не менее клетки эндотелия сохраняют способность к быстрому делению, что является основой для инициации ангиогенеза под влиянием индукторов ангиогенеза (гипоксия, ишемия, опухоль, рана, воспаление, электромагнитное излучение и т. д.). В ответ на действие этих факторов эндотелий синтезирует и продуцирует вещества, вызывающие ангиогенные изменения как образующих его клеток, так и внеклеточного матрикса (Hirota, Semenza, 2001; Siervo et al., 2010; Yin et al., 2013; Vera et al., 2014). Эндотелиоциты выходят из состояния покоя и начинают быстро делиться (скорость их удвоения возрастает примерно в 100 раз), образуя сосудистую почку. Прекращение действия проангиогенных факторов возвращает эндотелиальные клетки в состояние покоя. Этот процесс запускается эндотелием опосредованно через фактор роста тромбоцитов (platelet-derived growth factor — PDGF) (Enge et al., 2002; Keerl et al., 2010). Проангиогенные факторы, часть которых являются митогенами и хемоаттрактантами для мезенхимных клеток, контролируют преобразования и других элементов сосудистой стенки (гладкомышечных клеток — ГМК, перicyтов, фибробластов, внеклеточного матрикса), а также стволовых клеток.

Стимуляторы и ингибиторы ангиогенеза

Известна большая группа веществ, стимулирующих или ингибирующих ангиогенез (см. таблицу). Их соотношение в органах и тканях определяет, в конечном счете, возможность активизации или угнетения ангиогенеза. Нарушение баланса между стимуляторами и ингибиторами ангиогенеза приводит к приобретению клетками ангиогенного фенотипа. Этот феномен, известный как «ангиогенное переключение», лежит в основе развития опухолей, которые до этого события могут годами находиться в органах и тканях в латентном состоянии (Feldman, Libutti, 2000; Ferrara, Kerbel, 2005).

Среди большого количества веществ, относящихся к стимуляторам ангиогенеза, наибольший интерес у исследователей вызывают семейство сосудистых эндотелиальных факторов роста (VEGFs), семейство факторов роста фибробластов (FGFs), трансформирующий фактор роста (TGF- β), фактор некроза опухоли (TNF α) и некоторые другие растворимые полипептиды, которые оказались весьма эффективными регуляторами новообразования капилляров. Это заключение базируется на результатах многочисленных исследований их биологических свойств и механизмов действия на сосуды и клетки в физиологических условиях и при патологии.

Приоритетное место среди указанных выше веществ, несомненно, принадлежит фактору роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor — VEGF), которому обычно отводится ключевая роль в ангиогенезе. Его уровень повышен только в тех тканях, где активно протекает ангиогенез, а рецепторы экспрессируются преимущественно на эндотелиоцитах близлежащих кровеносных сосудов (Ferrara, 2000; Behrouz et al., 2012). Каскад сигнализации, связанный с VEGF, оказывает непосредственное воздействие на клетки эндотелия, стимулируя их рост *in vitro* (Gaengel et al., 2009). В физиологических условиях VEGF слабо вырабатывается клетками мезенхимного происхождения, повышенная продукция отмечается лишь в плаценте и желтом теле (Meidan et al., 2013; Vera et al., 2014). Он не индуцирует пролиферацию других

клеток сосудов (перicyтов, гладких миоцитов и фибробластов), хотя и усиливает миграцию ГМК (Ishida et al., 2001).

VEGF является фактором выживания для клеток эндотелия кровеносных сосудов *in vitro* и *in vivo* (Wang et al., 2015). В условиях *in vitro* он предотвращает апоптоз эндотелиальных клеток, индуцируя в них экспрессию антиапоптотических белков *Bcl-2* и *A1* (Liu et al., 2016). При этом отмечают зависимость проходящих процессов от зрелости сосудов: подавление экспрессии VEGF приводит к апоптозу эндотелия большого числа капилляров у новорожденных мышей, но не вызывает соответствующих изменений сосудов после 4 нед жизни животных. По-видимому, одним из ключевых событий, приводящих к потере зависимости от VEGF, в этом случае являются появление в стенке сосуда перicyтов и формирование контактов между ними и эндотелием (Simonavicius et al., 2012; Siegenthaler et al., 2013).

VEGF принимает активное участие в регуляции проницаемости сосудов. Способность увеличивать трансваскулярный транспорт молекул посредством активации эндотелиальной NO-синтазы позволяет VEGF влиять на воспалительные и некоторые другие патологические процессы, в которых задействован оксид азота (Fukumura et al., 2001). Известно, что повышенной проницаемостью обладают сосуды опухоли с высоким уровнем экспрессии NO-синтазы, что способствует проникновению опухолевых клеток в кровеносную систему и распространению метастазов в организме (Gavalas et al., 2013). Экспрессия мембранно-связанных белков эндотелия — интегринов, кадгеринов, синдеканов и эфринов, которые играют важную роль в регуляции проницаемости сосудов, также контролируется VEGF (Sidibe et al., 2014).

Гипоксия — одна из главных причин усиления VEGF-сигнализации. В этих условиях содержание мРНК VEGF увеличивается (Park et al., 2013; Morfousse et al., 2015). Транскрипцию гена *vegf* и его рецепторов при гипоксии активирует индуцируемый гипоксией фактор-1 α (HIF-1 α) — высококонсервативный фактор, обеспечивающий адаптацию клеток к условиям гипоксии у позвоночных и беспозвоночных (Hirota, Semenza, 2001; Luo et al., 2013; Черток, Кошуба, 2016). Под регулирующее влияние VEGF при снижении содержания кислорода в тканях попадают выработка ряда активаторов и ингибиторов плазминогена (PA-u, PA-t и PA1-1), запуск системы протеолиза, связанной с ремоделированием внеклеточного матрикса, защита клеток от апоптоза, индуцированного фактором некроза опухоли- α (factor tumor necrosis- α — TNF α) (Aslam et al., 2013; Morfousse et al., 2015). Проангиогенные свойства солидных опухолей человека объясняются их способностью стимулировать выработку повышенного количества VEGF в условиях гипоксии, которая характерна для опухолей с высокой плотностью клеток (Luo et al., 2013). Тем самым создаются условия для интенсивного развития сосудистой сети в ткани растущей опухоли. Значительное повышение экспрессии VEGF в эндотелии сосудов при гипоксии, связанной с заболеваниями органов сердечно-сосудистой, пищеварительной и дыхательной систем, вызывают окись азота, эстрогены и разнообразные ростовые факторы (Kawamoto, Losordo, 2008; Nikuei et al., 2015; Zhang et al., 2015). Эти данные указывают на возможность аутокринной или паракринной регуляции экспрессии VEGF в случае секреции клетками перечисленных выше факторов.

Вещества, влияющие на ангиогенез

Стимуляторы	Ингибиторы
<p>Пептиды</p> <p>фактор роста эндотелия сосудов (VEGF)</p> <p>факторы роста фибробластов (FGFα и FGFβ)</p> <p>фактор роста гепатоцитов (HGF)</p> <p>трансформирующий фактор роста (TGF-α и -β), инсулиноподобный фактор роста (IGF-1)</p> <p>фактор некроза опухоли (TNFα в низких дозах)</p> <p>плацентарный фактор роста (PlGF)</p> <p>тромбоцитарный фактор роста (PDGF)</p> <p>ангиотропин</p> <p>эпидермальный фактор роста (EGF)</p> <p>Цито- и хемокины</p> <p>интерлейкины (IL-8, IL-18 и IL-10)</p> <p>Ферменты</p> <p>матриксные металлопротеиназы (MMP)</p> <p>тромбоцитарный эндотелиальный фактор роста (PD-ECGF)</p> <p>ангиогенин</p> <p>Гормоны</p> <p>эстрогены</p> <p>простагландины E1 и E2</p> <p>фоллистатин</p> <p>пролиферин</p> <p>Олигосахариды</p> <p>ганглиозиды</p> <p>Гемопоэтические и колониестимулирующие факторы</p> <p>эритропоэтин</p> <p>ангиопоэтин-1</p> <p>гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF)</p> <p>гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF)</p>	<p>Пептиды</p> <p>ангиотензин</p> <p>эндостатин</p> <p>ангиостатин</p> <p>вазостатин</p> <p>васкулостатин</p> <p>фрагмент пролактина</p> <p>ламинин</p> <p>фибронектин</p> <p>ангиопоэтин-2</p> <p>антиангиогенный антитромбин III</p> <p>хондромодулин</p> <p>ретиноиды</p> <p>Тканевые ингибиторы</p> <p>ингибиторы матриксных металлопротеиназ</p> <p>ингибитор активатора плазминогена (PAI-1)</p> <p>плацентарный ингибитор рибонуклеазы</p> <p>Цито- и хемокины</p> <p>фактор некроза опухоли (TNFα в больших дозах)</p> <p>интерферон альфа и гамма</p> <p>интерлейкин (IL-12)</p> <p>тромбоцитарный фактор-4</p> <p>Молекулы экстрацеллюлярного матрикса</p> <p>тромбоспондин-1 и -2</p> <p>тропонин I</p> <p>Гормоны и метаболиты</p> <p>2-метоксистероид</p> <p>хорионический гонадотропин человека (ХГЧ)</p> <p>пролиферин-связанный белок (PRP)</p> <p>Сахариды</p> <p>гиалуронан</p> <p>гепарина гексасахарид</p>

Геном млекопитающих кодирует пять членов семейства VEGF, из которых наибольшее значение в образовании кровеносных сосудов имеют VEGF-A и VEGF-B. Первый, существенно повышая проницаемость эндотелия, играет важную роль в миграции и пролиферации эндотелиальных клеток, второй — в деградации внеклеточного матрикса и обеспечении барьерной функции эндотелия (Ferrara, 2000; Navarro-Sobrinho et al., 2010).

В результате альтернативного сплайсинга вырабатывается 6 изоформ гена *vegf*, которые различаются по способности связываться с гепарином, чем и объясняется их различная роль в ангиогенезе (Wang, Xiong, 2012). Другими представителями VEGF-семейства являются VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E и плацентарный фактор роста (PlGF), которые вместе с VEGF-A и VEGF-B принадлежат суперсемейству VEGF/PDGF (Карамышева, 2008; Wada et al., 2010). Все изоформы VEGF с разной аффинностью связываются с одним, двумя или тремя рецепторами группы тирозинкиназ (VEGFR) — VEGFR-1 (flt-1), VEGFR-2 (KDR/flk-1) и VEGFR-3 (flt-4), локализованными на поверхности эндотелиальных клеток или включенными во внутриклеточную сигнализацию (Wada et al., 2010).

Главным рецептором VEGF-сигнализации считается VEGFR-2, который вовлечен в процессы выживания эндотелиальных клеток и апоптоз. Хотя имеются данные, подтверждающие участие в передаче этих сигналов VEGFR-1, PlGF и VEGF-D, именно через VEGFR-2 опосредуются все основные направления действия VEGF-A (Карамышева, 2008; Wada et al., 2010). В нормальных условиях рецепторы группы VEGFR неактивны, их экспрессия происходит под действием индукторов ангиогенеза, что приводит к включению многочисленных внутриклеточных пострецепторных сигнальных каскадов, индуцирующих провоспалительные реакции и запускающих ангиогенез.

Существует также два нетирозинкиназных рецептора, усиливающих сигнал, но не обладающих способностью проводить его в клетку, — нейропилины 1 и 2. Нейропилин-1 экспрессируется на клетках эндотелия (Wang et al., 2003; Hirota et al., 2015; Tang et al., 2016) и является важным участником ангиогенеза, об этом свидетельствует тот факт, что дефицитные по нейропилину-1 линии мыши имеют значительные нарушения формирования сосудистой сети (Hirota et al., 2015). Нейропилин-1

взаимодействует с VEGF и увеличивает его аффинность к VEGFR-2 приблизительно на порядок, таким образом потенцируя VEGF-сигнализацию и проангиогенную активность, в то время как нейропилин-2 связывается с VEGFR-1, опосредуя некоторые его эффекты (Tang et al., 2016).

Однако не все факторы, обладающие выраженным проангиогенным действием, высокоспецифичны для клеток эндотелия и способны непосредственно воздействовать на них *in vitro*. Среди таких веществ наиболее активно исследуется семейство факторов роста фибробластов (fibroblast-derived growth factor — FGFs). В наибольшей степени изучены два представителя этого семейства — aFGF (кислый) и bFGF (щелочной), хотя имеется еще 21 структурно сходный полипептидный фактор роста фибробластов (Du et al., 2016). Подобно VEGF, кислый и щелочной FGF являются митогенами и хемоаттрактантами для эндотелиальных клеток, индуцируя их пролиферацию и миграцию. Вместе с тем в отличие от VEGF FGF стимулируют также пролиферацию большинства клеток эмбрионального мезодермального и нейроэктодермального происхождения, включая перicyты, фибробласты, миоциты и моноциты (Du et al., 2016). FGF связываются со своими высокоаффинными рецепторами на поверхности не только эндотелиальных, но и ГМК. Действуя на сосудистые миоциты, bFGF вызывает вазодилатацию, а его системное введение способно улучшать микроциркуляцию в ишемизированных зонах и вызывать гипотензивное действие (Spanholtz et al., 2011). Кроме того, FGF регулируют уровень интегринов и продукцию активатора плазминогена и коллагеназ, способных к ферментативному расширению внеклеточного матрикса.

Другой важный представитель проангиогенных факторов — трансформирующий фактор роста- β (transforming growth factor — TGF- β) — способен опосредованно стимулировать ангиогенез, влияя на продукцию воспалительных медиаторов, которые в свою очередь увеличивают секрецию ангиогенных факторов эндотелиальными клетками (Sun et al., 2016). Его биологическое действие *in vitro* и *in vivo* во многом зависит от объекта. Являясь ингибитором роста и подвижности нескольких типов эндотелиальных клеток *in vitro*, TGF- β индуцирует дифференцировку сосудистых миоцитов, экспрессию в них актина, связывает мезенхимные производные сосудистой стенки между собой, активируя тем самым процесс ангиогенеза *in vivo* (Schaper, Scholz, 2003; Sun et al., 2016). Однако его действие направлено преимущественно на установление структурной целостности вновь сформированных капиллярных сетей. Посредством модуляции синтеза компонентов внеклеточного матрикса, протеаз и ингибиторов протеаз TGF- β создает благоприятные условия для формирования сосудистой стенки капилляров. Являясь хемоаттрактантом для нескольких типов клеток, включая фибробласты, моноциты и макрофаги, он способствует продукции этими клетками интерлейкинов и фактора некроза опухоли (Distler et al., 2003; Sun et al., 2016). Некоторые генетические факторы, среди которых онкогены *c-myc*, *ras* и *src*, повышают экспрессию VEGF и TGF- β при снижении содержания кислорода в тканях (Potente et al., 2011).

Фактор некроза опухоли- α (factor tumor necrosis- α — TNF α) в отличие от других молекулярных регуляторов обладает выраженным дозозависимым влиянием на ангиогенез. В небольших количествах он во многом повторяет действие TGF- β , стимулируя процесс ангиогенеза *in vivo*.

Оказывая влияние на синтез и секрецию цитокинов, вторичных медиаторов с прямым ангиогенным действием (VEGF, bFGF, IL-8, IL-6 и PDGF), способствует образованию эндотелиальных трубочек *in vitro* (Distler et al., 2003; Thomas et al., 2009; Keerl et al., 2010; Herbert, Stainier, 2011). Однако при усилении его выработки активированными макрофагами и некоторыми опухолевыми клетками TNF α подавляет этот процесс (Kubis, Levy, 2003). TNF α — мощный медиатор воспаления, обладающий избирательной цитотоксичностью, в условиях *in vivo* приводящий к изменениям структуры эндотелиальных клеток и некрозу опухолевой ткани (Kondamudi et al., 2015). Прямо или опосредованно он регулирует экспрессию адгезивных молекул (интегринов, ICAM-1 и VCAM-1), недостаточная продукция которых связана с появлением во вновь образующихся сосудах разнообразных дефектов (Kubis, Levy, 2003).

Среди порядка четырех десятков веществ с выраженными антиангиогенными свойствами наиболее изучены тромбоспондин, ангиостатин, эндостатин, тромбоцитарный фактор IV, протамин, вазостатин и рестин (Ribatti et al., 2009; Jensen, Cao, 2013; Nikuei et al., 2015), а также некоторые цитокины и гормоны (интерфероны, интерлейкины, пролактин и кортизол) (Feldman, Libutti, 2000; Alexander et al., 2012). Продукция ингибиторов ангиогенеза рассматривается исследователями как защитный механизм, предупреждающий неконтролируемое новообразование сосудов.

Экспериментально установлено, что все антиангиогенные вещества в той или иной степени подавляют адгезию, миграцию или пролиферацию эндотелиальных клеток капилляров, однако механизмы их действия не всегда ясны (Distler et al., 2003). Некоторые вещества связываются с гепарином и противодействуют влиянию FGF (Gangel et al., 2009; Herbert, Stainier, 2011). К их числу относится эндостатин — гепаринсвязывающийся фрагмент, специфически ингибирующий пролиферацию эндотелиальных клеток и рост опухолей. Эндостатин влияет на выживание эндотелиальных клеток через индукцию нарушения равновесия между антиапоптотическими белками *Bcl-2* и *Bcl-XL* и проапоптотическим белком *Bax* (Javaherian et al., 2011).

Ангиостатин ингибирует рост эндотелиальных клеток сосудов, тем самым останавливая рост опухоли (Javaherian et al., 2011). Фрагменты фибронектина и пролактина обладают способностью подавлять выработку ангиостатина. Многие другие известные ангиогенные молекулы (фактор роста гепатоцитов, эпидермальный фактор роста, ангиогенин, ангиопоэтин, колониестимулирующие факторы и эритропоэтин) также обладают выраженными про- или антиангиогенными свойствами и играют важную роль в ангиогенезе, но их мишени и механизмы действия изучены пока недостаточно. Весьма перспективным в этом плане представляется изучение группы проангиогенных регуляторных молекул, объединенных общим названием «нейротрофины»: нервный фактор роста (nerve growth factor — NGF), мозговой нейротрофический фактор (brain-derived neurotrophic factor — BDNF) и глиальный нейротрофический фактор роста (glial cell-derived neurotrophic factor — GDNF). Все они относятся к семейству растворимых нейропептидов и играют важную роль в дифференцировке и миграции клеток в центральной и периферической нервной системе (Gordon, 2009; Skaper, 2012; Yin et al., 2013). Совсем недавно представлены доказательства наличия высокоаффинных тирозин-

киназных рецепторов нейротрофинов в эндотелии сосудов различных органов, включая иммунную, эндокринную и репродуктивную системы (Skaper, 2012; Vera et al., 2014). Через эти рецепторы нейротрофины стимулируют продукцию эндотелием нескольких факторов, в большей степени VEGF, индуцируя тем самым ангиогенез (Gavallas et al., 2013; Xiao, 2016).

Клеточные и молекулярные механизмы образования кровеносных сосудов

Согласно существующим представлениям, эндотелиальные клетки прямо или опосредованно контролируют два основных этапа ангиогенеза — спраутинг и формирование капиллярной трубки (Herbert, Stainier, 2011). Первый начинается с активации эндотелиоцитов существующего сосуда на месте образующегося ростка капилляра в ответ на действие индукторов ангиогенеза, наиболее мощным из которых является гипоксия. Возникающая в тканях при многочисленных патологических состояниях, она является сигналом к дополнительной васкуляризации или ремоделированию существующих сосудистых сетей, что сопряжено с повышением секреторной функции эндотелиоцитов и активацией эндотелиозависимых механизмов, регулирующих другой важный этап ангиогенеза — формирование капиллярной трубки из мигрирующих эндотелиальных клеток (Aslam et al., 2013; Brown, Russell, 2014).

Индукторы ангиогенеза способствуют активации эндотелиоцитов и усилению синтеза и выделения ангиогенных молекул, в первую очередь индуцируемого гипоксией фактора-1, гликопротеина МЕСА-32 (PVLAP-1 — plasmalemmal vesicle associated protein-1) и оксида азота, способствующих структурным и функциональным перестройкам эндотелия, характерным для начального этапа ангиогенеза (Fukumura et al., 2001; Карамышева, 2008; Herrnberger et al., 2012). Не так давно установлено, что в реакции клеток на гипоксию важная роль принадлежит и некоторым представителям семейства Rho ГТФазы и прежде всего Rac1 (Hirota, Semenza, 2001; Murthy et al., 2010; Racchetti et al., 2012; Aslam et al., 2013). Под контролем Rac1 в эндотелиоцитах проходит ряд важных событий, во многом определяющих характер ответа этих клеток на гипоксию: экспрессия индуцируемого гипоксией фактора-1, изменение эндотелиальных белков цитоскелета, активация стромального клеточно-производного фактора-1 (stromal cell-derived factor-1, SDF-1) и активация матриксных металлопротеиназ-2 и -9, участвующих в преобразовании внеклеточного матрикса. Позднее включаются механизмы, которые регулируют рост капилляров и образование сосудистой стенки посредством рекрутирования в ее состав перицитов и ГМК.

В этом процессе эндотелиоцитам принадлежит ведущая роль. Они обеспечивают не только выработку ряда веществ, стимулирующих собственную пролиферацию и миграцию, но и дифференцировку примитивных мезенхимных клеток в сосудистые перициты и ГМК (Thomas et al., 2009; Мнихович и др., 2012; Stapor et al., 2014). В капиллярах ГМК нет, поэтому ключевые взаимодействия происходят между эндотелиоцитами, перицитами и внеклеточным матриксом (Stapor et al., 2014; Черток, Черток, 2016; Dorland, Huvneers, 2016). Эндотелиальные клетки секретируют белки межклеточных контактов (интегринов, клеточной адгезии, плотных и щелевых контак-

тов), в результате чего в стенке сосудов формируются щелевидные контакты между эндотелием и перицитами, действующие как своего рода регуляторный механизм, обеспечивающий резкое снижение митотической активности эндотелиоцитов и прекращающий их пролиферацию (Ribatti et al., 2011; Simonavicius et al., 2012).

Не все клетки эндотелия одновременно и в равной степени реагируют на ангиогенный стимул, что позволяет упорядочить процесс ангиогенеза. Достаточно давно было замечено, что сосудистый эндотелий представляет собой довольно неоднородное образование, включающее в себя клетки, часто расположенные в непосредственной близости, но заметно отличающиеся друг от друга структурными и функциональными характеристиками (Черток, Ломакин, 1982; Tomlinson et al., 1991). Некоторые из этих клеток, обладающие, как правило, высокой энзиматической активностью, участвуют в формировании почек роста, а на их поверхности появляются характерные цитоплазматические отростки, которые вытягиваются в направлении ангиогенного стимула (Ломакин, Черток, 1983; Bellian et al., 2008). Такие «ведущие эндотелиальные клетки» (ВЭК), известные в англоязычной литературе как «tip cells», при образовании новых сосудов занимают лидирующее положение (Gerhardt, Betsholtz, 2003).

Установлен механизм, с помощью которого для новообразования капилляров отбираются лишь некоторые из клеток эндотелия. Экспериментальным путем показано, что ВЭК контролируются рецепторами из семейства Notch и их трансмембранными лигандами Dll4 (delta like ligand 4) (Sainson et al., 2005; Lobov et al., 2007; Brzozowa et al., 2013). Экспрессия Dll4 и Notch1 в той части сосуда, где происходит активация ангиогенеза, распределена между клетками эндотелия мозаично, а характеристики, свойственные ВЭК, приобретают в основном те клетки эндотелия, у которых отсутствует экспрессия Notch1.

ВЭК занимают лидирующие позиции при образовании новых сосудов, в том числе и благодаря тому, что они тонко реагируют на градиент VEGF-A, задающего направление их миграции, и возглавляют продвижение растущего капилляра. Под действием VEGF-A у ВЭК кардинально меняется фенотип, они приобретают два важных свойства — инвазивность и способность к перемещению (Gerhardt, Betsholtz, 2003). Одновременно разрушаются контактные взаимодействия между ВЭК и окружающими клетками эндотелия. У ВЭК появляются филоподии, активируются протеазы, вызывающие частичную деструкцию базальной мембраны образующихся капилляров. В этих процессах принимает участие Rac1, повышающий активность SDF-1 — одного из наиболее мощных ангиогенных цитокинов, который опосредует миграцию и созревание эндотелиоцитов, а также восстановление поврежденного эндотелия (Карамышева, 2008; Potente et al., 2011; Shen et al., 2011).

VEGF-A непосредственно связан с передачей внутриклеточного сигнала в эндотелии, индуцируя экспрессию Dll4 и его рецепторов Notch1, что в свою очередь обеспечивает различное поведение клеток эндотелия, подвергшихся воздействию ангиогенных стимулов (Liu et al., 2016). После того как прошел отбор и началась миграция ВЭК, формирование капилляров осуществляется за счет пролиферации и продвижения других эндотелиальных клеток. Проллиферация клеток, находящихся в новом тяж капилляра, стимулируется действием VEGF-A на внутриклеточные сигнальные рецепторы VEGF-R2, которые,

кроме того, вовлечены в процессы выживания эндотелиальных клеток и апоптоз (Moreno-Miralles et al., 2009; Liu et al., 2016). В клетках эндотелия, вырабатывающих Notch1, активация лигандом Dll4-зависимой сигнализации, связанной с этим рецептором, предотвращает переход клеток в активное состояние и тем самым ограничивает появление избыточного количества ВЭК (Brzozowa et al., 2013; Hale et al., 2014).

Подавление активного состояния клеток эндотелия в результате стимуляции Dll4/Notch-ассоциированной передачи внутриклеточного сигнала происходит, по-видимому, за счет уменьшения их чувствительности к действию VEGF-A. Понижение продукции Dll4 или блокирование Notch-зависимой сигнализации интенсифицирует процесс ВЭК, что приводит к обильному ветвлению кровеносных сосудов и значительному уплотнению органной сосудистой сети (Noguera-Troise et al., 2006). Несмотря на то что разрушение взаимодействия Dll4-Notch вызывает бурный рост кровеносных сосудов в опухоли, образующиеся сосуды малофункциональны, незрелы и плохо организованы. Поэтому они не обеспечивают в должной степени перфузию ткани, что приводит к усилению гипоксии и, в конечном счете, к подавлению опухолевого роста (Ferrara, Kerbel, 2005; Sainson et al., 2005; Noguera-Troise et al., 2006). Во многом сходные перестройки сосудистого русла обнаружены в головном мозге при атеросклерозе и старении, что, по-видимому, является одной из причин нарастающей гипоксии, нейродистрофии и периваскулярного отека, наблюдающихся в этих случаях (Черток, Мирошниченко, 1984; Behrouz et al., 2012; Черток, Черток, 2016).

ВЭК и остальные клетки эндотелия растущего капилляра представляют собой две отдельные субпопуляции. Источником образования ВЭК в сосудах может быть группа эндотелиальных клеток-предшественников, дифференцировка которых регулируется геном *Hex* (Xu, 2005). Однако пока не удается выяснить, являются различия между ними генетически запрограммированными или же представляют собой результат временной адаптации, связанной с особенностями развития капиллярной сети.

Новообразование сосудов в постнатальном периоде может проходить не только путем ангиогенеза, но и с помощью многочисленной гетерогенной популяции частично дифференцированных клеток, способных развиваться в зрелые эндотелиальные клетки. По современным представлениям, к ним относятся стволовые и тканевые резидентные клетки, а также клетки, циркулирующие в периферической крови (Sieveking et al., 2008; Medina et al., 2010; O'Neill et al., 2012; Cheng et al., 2013; Balistreri et al., 2015; Madonna, De Caterina, 2015; Kachamakova-Trojanowska et al., 2016). Процесс формирования капилляров из таких клеток обозначают термином «неоангиогенез» («неоваскулогенез»), чтобы отличать его от ангиогенеза и эмбрионального васкулогенеза, имеющих, как отмечено выше, другие источники и механизмы образования новых сосудов.

Кроме того, в периферической крови обнаружены так называемые циркулирующие эндотелиальные клетки (George et al., 1992; Bardin et al., 1996), которые, как оказалось, прямого отношения к эндотелиальным прогениторам не имеют (Goon et al., 2006; Singh et al., 2012). Их появление связано с повреждением эндотелия, отделившись от которого они поступают в просвет кровеносных сосудов и циркулируют с током крови, т. е. являются следст-

вием, а не причиной поражения. Значительное увеличение количества циркулирующих эндотелиальных клеток в периферической крови сигнализирует о неблагоприятном исходе воспалительных процессов, инфекций, неопластических, сердечно-сосудистых заболеваний, и поэтому они применяются в диагностических целях в качестве чувствительного и специфического маркера поврежденного эндотелия (Goon et al., 2006; Singh et al., 2012; Kachamakova-Trojanowska et al., 2015). Фенотипическая идентификация этих клеток основана на экспрессии CD146 и отсутствии маркеров, характерных для клеток-предшественников (Singh et al., 2012). Однако в некоторых циркулирующих эндотелиальных клетках отмечается экспрессия маркеров CD34, vWF, VE-кадерин и VEGFR-2, а в активированных лимфоцитах, мезенхимных стромальных и опухолевых клетках — CD146 (Khan et al., 2005; Kachamakova-Trojanowska et al., 2015). В связи с этим не всегда удается отличить циркулирующие эндотелиальные клетки от эндотелиальных прогениторных клеток, что, возможно, явилось основанием для спорных предположений о том, что некоторые циркулирующие эндотелиальные клетки могут принимать участие в неоангиогенезе по крайней мере отдельных видов опухолей (Mancuso et al., 2003).

Сравнительное изучение различных субпопуляций эндотелиальных клеток-предшественников показало, что наиболее выраженным ангиогенным потенциалом обладают эндотелиальные прогениторные клетки (ЭПК), циркулирующие в периферической крови (Sieveking et al., 2008; O'Neill et al., 2012; Balistreri et al., 2015). ЭПК представляют собой унипотентные клеточные линии, имеющие фенотип как стволовых гемопоэтических (CD34⁺), так и зрелых эндотелиальных клеток (VEGFR-2⁺) (Asahara et al., 1997). По данным этих исследователей, впервые выделивших из периферической крови человека антиген-позитивные стволовые мононуклеарные клетки (CD34⁺), они способны дифференцироваться *in vitro* в зрелые эндотелиальные клетки, а при внутривенном введении участвуют в реперфузии ишемизированных тканей.

ЭПК, циркулирующие в периферической крови, и гемопоэтические прогениторные клетки (ГПК), находящиеся в костном мозге, происходят из одного предшественника — гемангиобласта, в связи с чем имеют много общих поверхностных маркеров (CD34, CD133, VEGF-R2 (Flk-1) или KDR (kinase insert domain-containing receptor)) (Kawamoto, Losordo, 2008). Поэтому CD34, являясь маркером гемопоэтических клеток, используется для идентификации ЭПК. Этот маркер в незначительном количестве также экспрессируется зрелыми эндотелиальными клетками.

Костный мозг — основной, но не единственный орган, который вырабатывает клетки-предшественники, способные дифференцироваться в эндотелиальные клетки сосудов. По некоторым данным, около 70 % ЭПК, циркулирующих в крови, имеют не костномозговое происхождение (Yoder, 2009; Zhang et al., 2010). Большой пул таких клеток обнаружен в селезенке, кишечнике, печени, пупочном канатике и жировой ткани. Изолированные из них ЭПК *in vitro* обладают характеристиками эндотелиальных клеток и возможностью формировать типичные капиллярные трубочки *in vivo* (Aicher et al., 2007; Zuk, 2010; Ahrens et al., 2011).

Важно отметить, что понятие «ЭПК» собирательное и включает в себя гетерогенную смесь эндотелиальных прогениторов и гемопоэтических клеток, моноцитов и

макрофагов (Awad et al., 2006; Pasquier, Dias, 2010; Ahrens et al., 2011; O'Neill et al., 2012). В настоящее время стандартизированная процедура выделения и общепризнанные протоколы идентификации ЭПК отсутствуют, а их секретом полностью не расшифрован, поэтому всю эту гетерогенную популяцию предложено называть «предполагаемые» («putatives») прогениторные клетки (Cheng et al., 2013; Balistreri et al., 2015). Применение различных сред культивирования и методов изоляции позволило выделить среди них по крайней мере две субпопуляции: «ранние» (РЭПК) и «поздние» (ПЭПК) клетки, значительно различающиеся между собой по морфологии, фенотипу и роли, которую они играют в неоангиогенезе (Medina et al., 2010; Cheng et al., 2013; Bou Khzam et al., 2015).

РЭПК (раннерастущие, моноцитарные) появляются в первые дни культивирования *in vitro*, имеют округлую или веретенновидную форму и низкую пролиферативную активность. Они экспрессируют маркеры, характерные для эндотелия (CD31 и VEGFR2), но не являются источником зрелых эндотелиальных клеток (Ahrens et al., 2011; Cheng et al., 2013; Бондаренко и др., 2015; Bou Khzam et al., 2015). РЭПК, выделенные из периферической крови, имеют миелоидное (моноцитарно/макрофагальное) происхождение, экспрессируют CD14, CD45 и специфический макрофагальный маркер CD68, но не экспрессируют маркер гемопоэтических клеток (CD34), т. е. имеют фенотип CD14⁺CD34⁻ и молекулярный отпечаток, сходный с проангиогенными M2-макрофагами (Awad et al., 2006; Medina et al., 2010; Cheng et al., 2013). Культивирование этих клеток в среде с фибронектином в течение первых 5—7 сут приводит к появлению колоний (колониобразующих единиц), в образовании которых принимают участие преимущественно миелоидные прогениторные и лимфоидные клетки (Hill et al., 2003; Rohde et al., 2007; Yoder et al., 2009). Миелоидно-моноцитарная субпопуляция РЭПК может содержать и другие клетки, обладающие сходными фенотипическими характеристиками (CD45⁺CD11b⁺CD34⁻) и ограниченным пролиферативным потенциалом (Rehman et al., 2003).

РЭПК продуцируют высокий уровень проангиогенных факторов и провоспалительных цитокинов — SDF-1, VEGF, IGF (insulin-like growth factor), HGF (hepatocyte growth factor), EGF (epidermal growth factor) и IL-8, в связи с чем эти клетки считают важным молекулярным регулятором неоангиогенеза (Goon et al., 2006; Poveshchenko et al., 2012; Cheng et al., 2013; Бондаренко и др., 2015). Принято считать, что они участвуют в образовании новых сосудов посредством паракриной сигнализации (Ahrens et al., 2011; Yamaguchi, Kuwana, 2013; Balistreri et al., 2015). Эти клетки могут встраиваться в монослой эндотелия, но неэффективны в неоангиогенезе, поскольку не обеспечивают реперфузию тканей *in vivo* (Medina et al., 2010; Bou Khzam et al., 2015). Поэтому в отношении РЭПК некоторые авторы считают возможным использовать более подходящий, по их мнению, термин «циркулирующие ангиогенные клетки» (Rehman et al., 2003; Fadini et al., 2012; Kachamakova-Trojanowska et al., 2015) или «миелоидные ангиогенные клетки» (O'Neill et al., 2012). К ангиогенным клеткам предлагается также отнести прекурсоры перicyтов и некоторых других периваскулярных клеток, в определенных условиях выполняющие функции молекулярных регуляторов неоангиогенеза (Shaked et al., 2005; Lewis et al., 2016).

ПЭПК (поздно растущие, колониобразующие, истинные клетки) в отличие от РЭПК имеют неправильную «бульжничкообразную» форму, не обладают паракриным действием и не экспрессируют поверхностных гемопоэтических белков CD14 или CD45 (Lin et al., 2000; Yoder et al., 2009; Medina et al., 2010; Cheng et al., 2013). Они появляются на обработанном коллагеном пластике через 14—21 сут культивирования, образуя колонии эндотелиальных клеток, в связи с чем получили название «эндотелиальные поздно растущие клетки» или «эндотелиальные колониформирующие клетки» (Lin et al., 2000; Yoder et al., 2009). ПЭПК имеют высокий пролиферативный потенциал, обладают способностью внедряться в уже сформированную сосудистую сеть, а при совместном культивировании со зрелыми эндотелиальными клетками формируют тубулярные структуры *in vitro* и участвуют в образовании новых сосудов *in vivo*. В связи с этими свойствами их также называют «истинными» ЭПК (Yoder et al., 2009; Medina et al., 2010; O'Neill et al., 2012). По данным протеомного анализа, ПЭПК на 90 % связаны в своем развитии с эндотелиальными клетками и в этом качестве могут использоваться для терапевтического ангиогенеза, тогда как 77 % спотов РЭПК являются общими с моноцитами/макрофагами (Medina et al., 2010).

Принято считать, что у человека «истинные» ЭПК в разных сочетаниях экспрессируют в основном три маркера — CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺, CD34⁺CD133⁻VEGFR-2⁺, CD34⁻CD133⁺VEGFR-2⁺, CD34⁺KDR⁺, CD34⁻KDR⁺, CD34⁻CD133⁺, CD133⁺KDR⁺, хотя убедительных доказательств того, что во всех случаях клетки с таким фенотипом дифференцируются в эндотелиальные клетки *in vivo*, пока не представлено (Timmermans et al., 2009; Hagensen et al., 2012). Некоторые исследователи полагают, что клетки с фенотипом CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺ в действительности представляют собой обогащенную популяцию CD45⁺ ГПК (Case et al., 2007), а ангиогенный эффект ПЭПК в большей степени обеспечивается паракриным действием гемопоэтических клеток (Czepluch et al., 2014). По другим данным, примитивные ГПК имеют фенотип CD34⁺CD133⁻VEGFR-2⁺, тогда как ЭПК — CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺ (Friedrich et al., 2006; Poveshchenko et al., 2012; Balistreri et al., 2015).

Фенотип, принадлежащий, по мнению многих исследователей, ПЭПК, не всегда позволяет их отличить от циркулирующих в крови ГПК (Timmermans et al., 2007; Pearson, 2009; Balistreri et al., 2015). Действительно, в состав клеток CD34⁺, экспрессирующих VEGFR-2⁺, входят и активированные мононуклеары негемопоэтического происхождения (CD34⁺), которые, проявляя плюрипотентность, составляют потенциальный источник эндотелиальных клеток (Xu et al., 2012). Поэтому для уточнения происхождения прогениторных клеток рекомендуется наряду с антигеном CD34 определять другие поверхностные маркеры, свойственные ПЭПК: CD31 (молекулы клеточной адгезии эндотелия), vWF, CD62E (E-селектин), CD144 (VE-кадерин), Tie2⁺ (лиганд тирозинкиназы), CXCR-4 и эндотелиальную NO-синтазу (Tongers et al., 2011; Schoen et al., 2012; Chen et al., 2013; Balistreri et al., 2015). Впрочем, справедливости ради, отметим, что ни эти, ни дополнительные маркеры (CD105, CD106 и CD117) не позволяют во всех случаях гарантировать принадлежность клеток к ПЭПК (Rohde et al., 2007; Fadini et al., 2012). При определенных условиях часть из них экспрессируется другими клеточными линиями, например РЭПК, которые в обычных условиях не дифференциру-

ются в эндотелиальные клетки *in vitro*. Поэтому изоляция чистых линий «истинных» ЭПК до сих пор остается длительной, сложной и не всегда эффективной процедурой.

Важно отметить, что неоангиогенез и эффективная перфузия тканей при ишемии обеспечиваются только при тесном взаимодействии «ранних» и «поздних» ЭПК (Yoder, 2009; Poveshchenko et al., 2012; Bou Khzam et al., 2015). Обладая паракринным действием, РЭПК увеличивают пролиферацию и миграционную активность ПЭПК, способствуя тем самым образованию капиллярных трубок *in vivo*. При отсутствии или недостаточном количестве РЭПК полноценного неоангиогенеза не достигнуть (Tongers et al., 2011; Cheng et al., 2013; Rajasekar et al., 2015).

Способность ЭПК участвовать в образовании новых сосудов при ишемии, обеспечивая тем самым репарацию тканей, делает их привлекательными для лечения многих заболеваний. Исследования на животных и клинические испытания у человека показали, что применение этих клеток при поражении различных тканей приводит к индукции неоангиогенеза и сопровождается улучшением функционального состояния органов (Ravi et al., 2012; Rajasekar et al., 2015). При использовании ЭПК у пациентов с критической ишемией нижних конечностей наблюдается новообразование капилляров, что позволяет предотвратить развитие гангрены и избежать ампутаций (Schmidt-Lucke, 2005; Lawall et al., 2011). Введение ЭПК в сердечную мышцу при ишемии и инфаркте миокарда (Asahara, 2007; Kawamoto, Losordo, 2008; Navarro-Sobrinho et al., 2010), в ткань печени при хронической недостаточности (Ferrara, Kerbel, 2005; Ueno, Cheng, 2006) приводит к формированию первичной капиллярной сети и восстановлению кровоснабжения. Снижение пролиферации и миграции ЭПК в очаг повреждения, изменение их секреторной активности в настоящее время рассматривается как один из механизмов развития ишемической болезни сердца (Siddique et al., 2010; Pelliccia, 2013).

Механизмы направленной миграции и рекрутинга РЭПК и ПЭПК в очаг поражения изучены пока недостаточно. Предполагается, что мобилизованные действием ангиогенных факторов, эти клетки из ниши костного мозга перемещаются в периферическую кровь. Затем они мигрируют к очагу неоангиогенеза, где дифференцируются в локальные адгезивные эндотелиальные клетки, которые встраиваются в формирующиеся капилляры (Navarro-Sobrinho et al., 2010; Ravi et al., 2012; Singh et al., 2012). Эффективным мобилизатором ЭПК является VEGF. При ишемическом повреждении тканей, когда необходимо образование новых кровеносных сосудов, VEGF опосредует пролиферацию, дифференцировку и хемотаксис этих клеток (Kubis, Levy, 2003). Быстрое повышение уровня циркулирующего VEGF увеличивает активность MMP-9 и содержание NO, что приводит к вазодилатации и стимуляции ряда лиганд-рецепторных пар (Murthy et al., 2010).

Процессы мобилизации и высвобождения ЭПК из депо, направленной миграции и адгезии объединяются в общее понятие «хоуминг» (homing). Хоуминг представляет собой хорошо скоординированные этапы привлечения ЭПК в очаги неоангиогенеза или к месту повреждения сосудистой стенки, после чего происходит их дифференцировка в зрелые эндотелиоциты (Schmidt-Lucke et al., 2005; Shen et al., 2011). Прогениторные клетки начинают дифференцироваться в эндотелиальные клетки еще по мере движения к поврежденным тканям. Иници-

ируют этот каскад VEGF, SDF-1 и механическое давление, оказываемое током крови (Chavakis et al., 2005). Селектины (P-selectin и E-selectin) обуславливают начальный этап этого процесса, интегрины (β 2-integrins), ICAM-1 и VCAM-1 способствуют адгезии и трансмиграции ЭПК, катепсины и матриксные металлопротеиназы участвуют в деградации матрикса и инвазии ЭПС (Chavakis et al., 2005).

Важнейшими факторами хоуминга ЭПК являются цитокин SDF-1 и его СХС-хемокиновые рецепторы (Shen et al., 2011). Активированный гипоксией эндотелий продуцирует и высвобождает SDF-1, который способствует экспрессии его рецепторов CXCR-4. Указанные факторы обеспечивают миграцию ЭПК в область ишемии, а блокирование CXCR-4 останавливает этот процесс (Arai et al., 2011; Cheng et al., 2013). Увеличить миграцию стволовых клеток из костного мозга в периферическую кровь можно путем применения ряда индуцирующих агентов: гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (granulocyte colony stimulating factor — G-CSF) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (granulocyte-monocyte colony stimulating factor — GM-CSF), мимозана, статины, хемокинов (SDF-1, IL-8, IL-10 и IL-18), VEGF и антагонистов CXCR4 (Kawamoto, Losordo, 2008; Shen et al., 2011; Бондаренко и др., 2015).

Клиническое применение ЭПК лимитировано их малым количеством (0.05 кл./мл) в периферической крови. Поэтому возрос интерес к их искусственному получению из доступных резервов, прежде всего из мультипотентных мезенхимных стволовых клеток (CD34⁺), которые при определенных условиях могут развиваться в эндотелиальные клетки и участвовать в образовании новых сосудов (Xu et al., 2012; Tao et al., 2016). На ангиогенные свойства мезенхимных стволовых клеток указывает экспрессия на их поверхности белков из семейства иммуноглобулинов (CD90) и эндоглина (CD105), играющих важную роль в процессе неоангиогенеза (Psaltis et al., 2008). Первичная культура этих клеток, выделенная из пупочного канатика, обогащена предшественниками эндотелиальных клеток в значительно большей степени, чем, например, аспират костного мозга взрослого человека (Shao et al., 2015).

Весьма перспективным источником получения эндотелиальных клеток являются эмбриональные (ЭПСК) и индуцированные (ИПСК) человеческие плюрипотентные стволовые клетки (Iglesias-García et al., 2013; Yoder, 2015; Kachamakova-Trojanowska et al., 2016). Разработка протоколов получения ЭПСК и ИПСК стало подлинной революцией в клеточной биологии и регенеративной медицине. В последнее десятилетие достигнуты впечатляющие результаты в разработке этого направления. С учетом выраженной гетерогенности плюрипотентных стволовых клеток подбор адекватных условий для их культивирования представляет собой серьезную методологическую проблему, хотя в последние несколько лет в этом процессе отмечается положительная динамика (Boland et al., 2012; Lewandowski, Kurpisz, 2016). Несмотря на то что для получения ЭПСК использовали разные протоколы, клетки имели сходные морфофункциональные характеристики — «бульжничкообразную» форму и высокую пролиферативную активность, формировали колонии и тубулярные структуры *in vitro*, экспрессировали эндотелиальные маркеры CD31, KDR и VE-кадгерин (Jeziarski et al., 2007; Wang et al., 2007; Levenberg et al., 2012). Трансплантированные ЭПСК принимали участие в неоваскуляризации, вызывая реперфузию в ишемизирован-

ных задних конечностях (Cho et al., 2007) и сердце (Rufaihah et al., 2010).

Однако терапевтическое использование клеток, полученных из дериватов зародыша человека при оплодотворении яйцеклетки *in vitro*, создает ряд этических проблем (Mountford, 2008; Lewandowski, Kurpisz, 2016). К тому же современная технология не позволяет получить чистые линии этих клеток, а имеющиеся клетки обладают чрезвычайно высокой пролиферативной активностью и создают риски развития опухолей (Mountford, 2008; O'Neill et al., 2012). Дополнительные трудности для широкого применения ЭПСК в клинической практике возникают в процессе длительного и сложного культивирования, необходимого для получения достаточного количества материала (Levenberg et al., 2012; Lewandowski, Kurpisz, 2016). Кроме того, до сих пор в значительной степени остается нерешенной проблема преодоления ЭПСК аллогенных барьеров (Boland et al., 2012; Lewandowski, Kurpisz, 2016).

ИПСК во многом лишены недостатков, свойственных ЭПСК, хотя также обладают высокой пролиферативной активностью и способностью к малигнизации ткани (Ghosh et al., 2011; O'Neill et al., 2012; Iglesias-Garcia et al., 2013). ИПСК используются для получения так называемого примитивного эндотелия, генерируемого аутологичными клетками путем индукции плюрипотентности в фибробластах (Takahashi, Yamanaka, 2006; Takahashi et al., 2007). В этом случае репрограммирующие транскрипционные факторы (*Oct3/4*, *Sox2*, *Klf4* и *c-myc*) «стирают» дифференцировочные сигналы, полученные соматическими клетками в ходе развития, вследствие чего они приобретают возможность дифференцироваться в различные клеточные линии, включая эндотелиальные клетки. Применение ИПСК в качестве источника получения эндотелиальных клеток ставит дополнительную задачу по поиску оптимальных условий сокультивирования дифференцирующихся плюрипотентных стволовых клеток. Как показали исследования, сокультивирование ИПСК с OP9 (стромальные клеточные линии, полученные от мышей *op/op*) в качестве фидерных клеток (Taura et al., 2009) эмбрионными телами, содержащими дифференцирующиеся плюрипотентные стволовые клетки (Moretti et al., 2010), в присутствии VEGF ведет к дифференцировке ИПСК в направлении гемопоэтических и эндотелиальных линий (Jeziarski et al., 2007; Kachamakova-Trojanowska et al., 2016). Причем в ряде случаев ИПСК человека дифференцируются в эндотелиальные клетки вместе с гладкомышечными клетками и перикариотами (Xu et al., 2012; Yoder, 2015).

В указанных условиях культивирования ИПСК демонстрируют типичные характеристики «истинных» ЭПК, включая формирование тубулярных структур *in vitro*, экспрессию эндотелиальных маркеров CD31, KDR, CD144, vWF, эндотелиальной NO-синтазы, высокий клоногенный потенциал и участие в неоваскуляризации ишемизированных тканей (Moretti et al., 2010; Rufaihah et al., 2011; Samuel et al., 2015). Ангиогенная активность ИПСК *in vivo* сопоставима с линией MS-1 мышиных эндотелиальных клеток (Kachamakova-Trojanowska et al., 2016) и в этом отношении существенно уступает «истинным» ЭПК (O'Neill et al., 2012). Для повышения ангиогенного потенциала ИПСК предложено подавлять в них экспрессию микроРНК-495 (miRNA-495), которая обладает антиангиогенными свойствами (Liang et al., 2016). В результате повышается функциональная интеграция имплан-

тированных клеток в сосуды пораженных инфарктом участков сердца. Другие известные проблемы, ограничивающие клиническое применение ИПСК, связаны с невысокими темпами роста и ранним старением этих клеток, ограниченным «выходом» из них дифференцированных эндотелиальных клеток, что, впрочем, успешно решается в последнее время с использованием «новых» микроРНК (199a, 296-5p, 181a) (Samuel et al., 2015; Wang et al., 2015).

Роль эндотелия в становлении сосудистой стенки

Вновь образованные сосуды, широкие и извитые, с высокопроницаемым эндотелием обеспечивают интенсивный трансваскулярный транспорт макромолекул альбумина, диапедез лейкоцитов и эритроцитов. Высокий уровень обмена веществ через стенки развивающихся сосудов способствует пролиферации окружающих тканей, что в свою очередь стимулирует рост и ремоделирование сосудов. По мере их созревания проницаемость эндотелия уменьшается, и связь между стенкой сосудов и окружающими тканями ослабляется, подавляя появление новых сосудов (Herbert, Stainier, 2011; Jensen, Cao, 2013). Нарушения, связанные с формированием стенок вновь образовавшихся сосудов, наблюдающиеся при различных патологических состояниях, происходят именно в стадии созревания. Повышенная проницаемость сосудов и их расширение являются наиболее частыми причинами отеков, а нередко и гибели эмбрионов. Сосудистая система опухоли, состоящая из геморрагических, «протекающих» сосудов, создает благоприятные условия для инвазии опухолевых клеток (Li et al., 2005; Noguera-Troise et al., 2006).

В процессе новообразования капилляров эндотелий экспрессирует ряд рецепторов факторов роста и лигандов, которые контролируют основные этапы формирования клеточного состава стенки сосудов. VEGF-рецепторы, долгое время считавшиеся принадлежностью исключительно эндотелиальных клеток, были обнаружены и на гладких миоцитах сосудов, что позволило рассматривать VEGF в качестве непосредственного регулятора вазомоторики (Lohela et al., 2009; Черток, Коцюба, 2012). Развитие ГМК в сосудах регулируется также представителями семейства ангиопоэтинов (Patel-Hett, D'Amore, 2011; Shin et al., 2013). Ангиопоэтин-1 усиливает ангиогенез, ангиопоэтин-2 связывается с теми же рецепторами, но является его антагонистом. Под влиянием ангиопоэтина-2 происходит атрофия капилляров, а при его отсутствии стимулируются рост и развитие сосудов (Shin et al., 2013). Интерлейкины (IL-1, IL-6, IL-10 и IL-18) также участвуют в ремоделировании сосудистой сети (Potente et al., 2011; Alexander et al., 2012). Однако ключевую роль в этом процессе играют тромбоцитарный фактор роста и его рецепторы, которые обеспечивают паракринную регуляцию между секретирующими этот фактор клетками эндотелия, перикариотами и ГМК (Kubis, Levy, 2003; Simonavicius et al., 2012). Тромбоцитарный фактор роста оказывает митогенное действие на ГМК, вызывая их пролиферацию, направленную миграцию и инкорпорацию в стенку сосуда, однако для надлежащего формирования стенки сосуда важно, чтобы его продукция осуществлялась именно клетками эндотелия. В тех случаях, когда выработка этого фактора в клетках эндотелия сокращается, количество перикариот, участвующих в образовании капилляров,

уменьшается, в результате чего в стенке сосудов появляются дефекты (Enge et al., 2002).

Взаимодействия между эндотелиоцитами и перицитами в стенке вновь формирующегося сосуда устанавливаются очень рано. Роль перицитов на начальном этапе образования нового сосуда заключается в укреплении нежных и весьма ранимых почек роста (Ribatti et al., 2011; Simonavicius et al., 2012; Черток, Черток, 2016). Перициты предупреждают также выход в соединительную ткань клеточных элементов и плазмы крови, оказывают стабилизирующее действие на вновь образованные сосуды и останавливают их рост (Gerhardt, Betsholtz, 2003; Stapor et al., 2014). Появление перицитов и накопление в базальной мембране белков внеклеточного матрикса приводят к ингибированию пролиферации и миграции клеток эндотелия, способствуют ускорению созревания сосуда и его переходу в покоящееся состояние (Simonavicius et al., 2012; Siegenthaler et al., 2013).

При формировании артериол в стенку первичных капилляров встраиваются ГМК. Долгое время они рассматривались лишь в качестве сократительных структур, однако экспериментальными исследованиями последних лет показано, что ГМК во вновь образованных артериях обладают полифункциональными свойствами и различными фенотипическими характеристиками (Alexander, Owens, 2012). ГМК, находящиеся в стенке сосудов, очень динамичны, а их фенотип зависит от комбинированного взаимодействия различных элементов. В новообразованных сосудах они обеспечивают не только рост и развитие мышечной оболочки, но и секрецию протеина внеклеточного матрикса (Alexander et al., 2012; Bennett et al., 2016). Впрочем, на всех этапах формирования сосудистой стенки пролиферацию и дифференцировку ГМК непосредственно контролируют эндотелиозависимые механизмы. Некоторые вещества, синтезируемые эндотелиальными клетками (оксид азота и эндотелин), а также интерлейкин-1 β способны менять фенотип ГМК (Thomas et al., 2009; Alexander et al., 2012). При ишемическом поражении крупных церебральных артерий концентрация оксида азота снижается, что ведет к изменению фенотипа этих клеток и их сократительной способности (Черток и др., 2012; Behrouz et al., 2012). Эндотелин после острой ишемии оказывает на ГМК митогенное влияние, действуя как ростовой фактор, в результате чего они частично утрачивают контрактильные свойства и свое влияние на тонус сосудов (Bellian et al., 2008). Все это приводит к снижению реакции резистивных сосудов на метаболические сдвиги и нарушению органного гомеостаза, что в свою очередь стимулирует рост новых сосудов (Thomas et al., 2009; Behrouz et al., 2012).

Кроме того, в образовании сосудистой стенки доказано участие системы активаторов плазминогена, урокиназного и тканевого типов, их ингибиторов, которые активируют матриксные металлопротеиназы, вызывающих деградацию белков внеклеточного матрикса (коллаген, фибронектин и ламинин) (Distler et al., 2003). Матриксные металлопротеиназы способствуют также высвобождению адгезивных молекул (интегринов, ICAM-1, VCAM-1, селектинов и каттеринов), действие которых направлено на обеспечение структурной целостности вновь сформированных капиллярных сетей (Chavakis et al., 2005; Morishita et al., 2012; Sidibé et al., 2014).

Таким образом, за относительно короткий исторический период произошла коренная трансформация взглядов на эндотелий — от представлений о нем как об отно-

сительно индифферентном пласте клеток, находящемся на границе раздела двух сред, до высокоактивного полифункционального органа, участвующего в обеспечении важнейших функций организма. Одной из таких функций эндотелия является новообразование капилляров в сформированном организме. По современным представлениям, развитие новых капилляров может проходить двумя путями: из уже существующих сосудов путем миграции и пролиферации активированных эндотелиальных клеток, которые формируют новый тяж вслед за ведущими клетками (Ferrara, Kerbel, 2005; Gacche, Meshram, 2014), и сборки капилляров из эндотелиальных клеток-предшественников различного происхождения (Cheng et al., 2013; Bou Khzam et al., 2015). Как теперь установлено, в том и другом случае решающую роль играют эндотелиозависимые механизмы (Gaengel et al., 2009; Medina et al., 2010; Gacche, Meshram, 2014). В ответ на действие ангиогенных факторов активированные эндотелиальные клетки, так же как и эндотелиальные клетки-предшественники, синтезируют и выделяют ангиогенные молекулы, которые различаются между собой химической природой и механизмом биологического действия, но все они позволяют этим клеткам прямо или опосредованно регулировать каждый этап новообразования капилляров.

Все последние годы идет активное изучение биологических свойств ЭПК, обладающих наиболее выраженным ангиогенным потенциалом, с целью эффективного их использования в клинической практике. Тем не менее их вклад в процесс новообразования капилляров в ряде случаев подвергается сомнению (Pearson, 2009; Pasquier, Dias, 2010; Balistreri et al., 2015). Открывшиеся возможности получения чистых линий РЭПК и ПЭПК методами метабомики и протеомики, а также расшифровки секрета указанных клеток создают новые перспективы для выяснения молекулярных механизмов их ангиогенной активности и позволяют воспроизвести ключевые события этого процесса (Di Santo et al., 2014; Madonna, De Caterina, 2015). С разработкой протоколов получения ИПСК и ЭПСК человека появилась реальная перспектива создания альтернативных источников получения зрелых эндотелиальных клеток, что может служить основой для разработки современных подходов в лечении различных заболеваний.

Список литературы

- Белова Ю. А., Чукина Ю. Ю., Шевелев С. В., Яздовский В. В., Котов С. В. 2015. Уровень эндотелиальных прогениторных клеток у больных с ишемическим инсультом и эффективность реабилитации. Альманах клинической медицины. 35 : 45—50. (Belova Y. A., Chuksina Y. Y., Shevelev S. V., Yazdovskiy V. V., Kotov S. V. 2015. The level of endothelial progenitor cells in patients with ischemic stroke and efficacy of rehabilitation. Almanac of Clinical Medicine. 35 : 45—50.)
- Бондаренко Н. А., Повещенко О. В., Лыков А. П., Ким И. И., Суrowцева М. А., Повещенко А. Ф., Покушалов Е. А., Романов А. Б., Красков А. М., Кононенко В. И. 2015. Изучение цитокинового профиля культур «ранних» и «поздних» эндотелиальных прогениторных клеток периферической крови, полученных от пациентов с хронической сердечной недостаточностью, после курса мобилизации гранулоцитарным колониестимулирующим фактором. Бюл. эксперим. биол. и мед. 160 (8) : 215—217. (Bondarenko N. A., Poveshchenko O. V., Lykov A. P., Kim I. I., Surowtseva M. A., Poveshchenko A. F., Pokushalov E. A., Romanov A. B., Kraskov A. M., Kononenkov V. I. 2015. The study of the cytokine profile of the cultures of the «ear-

- ly» and «late» endothelial progenitor cells of peripheral blood obtained from patients with chronic heart failure, after a course of granulocyte colony stimulating factor. *Bull. Exp. Biol. Med.* 160 (8) : 215—217.)
- Карамышева А. Ф.* 2008. Механизмы ангиогенеза. Биохимия. 73 (7) : 935—948. (*Karamysheva A. F.* 2008. Mechanisms of angiogenesis. *Biochemistry.* 73 (7) : 935—948.)
- Ломакин А. В., Черток В. М.* 1983. Развитие капилляров мозга человека. Журн. неврол. и психиатрии им. С. С. Корсакова. 83 (7) : 1004—1007. (*Lomakin A. V., Chertok V. M.* 1983. The development of the capillaries of the human brain. *J. Neurol. Psychiatry S. S. Korsakov.* 83 (7) : 1004—1007.)
- Мнихович М. В., Геризон Д., Брикман М., Давидзон Я., Гаврилюк А. А., Фомина Л. В., Гуминский Ю. И., Вернигородский С. В., Мигляс В. Г.* 2012. Морфогенетические механизмы клеточных взаимодействий в процессе ангиогенеза. Журн. анат. гистопатол. 1 (3) : 53—65. (*Mnihovich M. V., Gershzon D., Brickman M., Davidzon Ya., Gavriilyuk A. A., Fomina L. V., Guminisky Y. I., Vernigorodsky S. V., Miglyas V. G.* 2012. Morphogenetic mechanisms of cellular interactions in the process of angiogenesis. *J. Anat. Histopathol.* 1 (3) : 53—65.)
- Черток В. М., Коцюба А. Е.* 2012. Эндотелиальный (интимальный) механизм регуляции мозговой гемодинамики: трансформация взглядов. Тихоокеан. мед. журн. 2 : 17—26. (*Chertok V. M., Kotsyuba A. E.* 2012. Endothelial (intimal) mechanism of cerebral hemodynamics regulation: changing views. *Pacific Med. J.* 2 : 72—80.)
- Черток В. М., Коцюба А. Е.* 2016. Локализация и количественная оценка содержания кислородчувствительного фактора, индуцированного гипоксией 1α в мозгу мохнаторукого краба *Eriocheir Japonica* в норме и при острой аноксии (иммуногистохимическое исследование). Морфология. 149 (1) : 27—32. (*Chertok V. M., Kotsyuba A. E.* 2016. Localization and quantitative assessment of oxygen-sensitive hypoxia-inducible factor 1α in the brain of the mitten crab *Eriocheir japonica* in normal conditions and acute anoxia (an immunohistochemical study). *Morphology.* 149 (1) : 27—32.)
- Черток В. М., Коцюба А. Е., Старцева М. С.* 2012. Газообразные посредники в регуляции функций сосудов микроциркуляторного русла. Ангиология и сосудистая хирургия. 18 : 58—59. (*Chertok V. M., Kotsyuba A. E., Startseva M. S.* 2012. Gaseous neurotransmitters in the regulation of the functions of microcirculatory vessels. *Angiology and Vascular Surgery.* 18 : 58—59.)
- Черток В. М., Ломакин А. В.* 1982. Ультраструктура клеточных элементов капилляров мозга человека в пренатальном онтогенезе. Цитология. 24 (10) : 1172—1176. (*Chertok V. M., Lomakin A. V.* 1982. Ultrastructure of cellular elements of brain capillaries in the human prenatal ontogenesis. *Cytology.* 24 (10) : 1172—1176.)
- Черток В. М., Мирошниченко Н. В.* 1984. Гистохимическая характеристика сосудисто-капиллярного русла головного мозга при старении и атеросклерозе. Журн. неврол. и психиатрии им. С. С. Корсакова. 84 (7) : 997—1000. (*Chertok V. M., Miroshnichenko N. V.* 1984. Histochemical characteristics of the vascular-capillary bed of the brain during aging and atherosclerosis. *J. Neurol. and Psychiatry S. S. Korsakov.* 84 (7) : 997—1000.)
- Черток В. М., Черток А. Г.* 2016. Регуляторный потенциал капилляров мозга. Тихоокеан. мед. журн. 2 : 72—80. (*Chertok V. M., Chertok A. G.* 2016. Regulatory potential of brain capillaries. *Pacific Med. J.* 2 : 72—80.)
- Ahrens I., Domeij H., Topcic D., Haviv I., Merivirta R. M., Agrotis A., Leitner E., Jowett J. B., Bode C., Lappas M., Peter K.* 2011. Successful *in vitro* expansion and differentiation of cord blood derived CD34⁺ cells into early endothelial progenitor cells reveals highly differential gene expression. *PLoS ONE.* 6 : e23210.
- Aicher A., Rentsch M., Saasaki K.* 2007. Nonbone marrow-derived circulating progenitor cells contribute to postnatal neovascularization following tissue ischemia. *Circ. Res.* 100 : 581—589.
- Alexander M. R., Murgai M., Moehle C. W., Owens G. K.* 2012. Interleukin-1 β modulates smooth muscle cell phenotype to a distinct inflammatory state relative to PDGF-DD via NF- κ B-dependent mechanisms. *Physiol. Genomics.* 44 : 417—429.
- Alexander M. R., Owens G. K.* 2012. Epigenetic control of smooth muscle cell differentiation and phenotypic switching in vascular development and disease. *Annu. Rev. Physiol.* 74 : 13—40.
- Arai K., Lok J., Guo S., Hayakawa K., Xing C., Lo E. H.* 2011. Cellular mechanisms of neurovascular damage and repair after stroke. *Child Neurol.* 9 : 1193—1198.
- Asahara T.* 2007. Cell therapy and gene therapy using endothelial progenitor cells for vascular regeneration. *Handbook Exp. Pharmacol.* 180 : 181—194.
- Asahara T., Murohara T., Sullivan A., Silver M., van der Zee R., Li T., Witzenbichler B., Schatteman G., Isner J. M.* 1997. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science.* 275 : 964—967.
- Aslam M., Schluter K. D., Rohrbach S., Rafiq A., Nazli S., Piper H. M., Noll T., Schulz R., Gündüz D.* 2013. Hypoxia reoxygenation-induced endothelial barrier failure: role of RhoA, Rac1 and myosin light chain kinase. *J. Physiol.* 591 : 461—473.
- Awad O., Dedkov E. I., Jiao C., Bloomer S., Tomanek R. J., Schatteman G. C.* 2006. Differential healing activities of CD34⁺ and CD14⁺ endothelial cell progenitors. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 26 : 758—764.
- Balistreri C. R., Buffa S., Pisano C., Lio D., Ruvolo G., Mazzei G.* 2015. Are endothelial progenitor cells the real solution for cardiovascular diseases? Focus on Controversies and Perspectives. *Biomed. Res. Int.* 2015 : 835 934.
- Bardin N., George F., Mutin M., Brisson C., Horschowski N., France's V.* 1996. S-743 Endo 1, a pan-endothelial monoclonal antibody recognizing a novel human 744 endothelial antigen. *Tissue Antigens.* 48 : 531—539.
- Behrouz R., Malek A. R., Torbey M. T.* 2012. Small vessel cerebrovascular disease: the past, present, and future. *Stroke Res. Treat.* 2012 : 839 151.
- Bellian J., Thuillez C., Joannides R.* 2008. Contribution of endothelium-derived hyperpolarizing factors to the regulation of vascular tone in humans. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 22 : 363—377.
- Bennett M. R., Sinha S., Owens G. K.* 2016. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis. *Circ. Res.* 118 : 692—702.
- Boland M. J., Hazen J. L., Nazor K. L., Rodriguez A. R., Martin G., Kupriyanov S., Baldwin K. K.* 2012. Generation of mice derived from induced pluripotent stem cells. *J. Vis. Exp.* 29 : e4003.
- Bou Khzam L., Bouchereau O., Boulahya R., Hachem A., Zaid Y., Abou-Saleh H., Merhi Y.* 2015. Early outgrowth cells versus endothelial colony forming cells functions in platelet aggregation. *J. Transl. Med.* 13 : 353—358.
- Brown H. M., Russell D. L.* 2014. Blood and lymphatic vasculature in the ovary: development, function and disease. *Hum. Reprod. Update.* 20 : 29—39.
- Brzozowa M., Wojnicz R., Kowalczyk-Ziomek G., Helewski K.* 2013. The Notch ligand Delta-like 4 (DLL4) as a target in angiogenesis-based cancer therapy? *Contemp. Oncol. (Pozn).* 17 : 234—237.
- Case J., Mead I. E., Bessler W. K., Prater D., White H. A., Saadatzaadeh M. R., Bhavsar J. R., Yoder M. C., Haneline L. S., Ingram D. A.* 2007. Human CD34⁺AC133⁺VEGFR-2⁺ cells are not endothelial progenitor cells but distinct, primitive hematopoietic progenitors. *Exp. Hematol.* 35 : 1109—1118.
- Chavakis E., Aicher A., Heeschen C., Sasaki K., Kaiser R., El Makhfi N., Urbich C., Peters T., Scharfetter-Kochanek K., Zeiher A. M., Chavakis T., Dimmeler S.* 2005. Role of beta2-integrins for homing and neovascularization capacity of endothelial progenitor cells. *J. Exp. Med.* 201 : 63—72.
- Cheng C. C., Chang S. J., Chueh Y. N., Huang T. S., Huang P. H., Cheng S. M., Tsai T. N., Chen J. W., Wang H. W.* 2013. Distinct angiogenesis roles and surface markers of early and late endothelial progenitor cells revealed by functional group analyses. *BMC Genomics.* 14 : 182—186.
- Cho S. W., Moon S. H., Lee S. H., Kang S. W., Kim J., Lim J. M., Kim H. S., Kim B. S., Chung H. M.* 2007. Improvement of postnatal neovascularization by human embryonic stem cell derived endothelial-like cell transplantation in a mouse model of hindlimb ischemia. *Circulation.* 116 : 2409—2419.

- Czepluch F. S., Bernhardt M., Kuschicke H., Gogiraju R., Schroeter M. R., Riggert J., Hasenfuss G., Schäfer K. 2014. *In vitro* and *in vivo* effects of human monocytes and their subsets on new vessel formation. *Microcirculation*. 21 : 148—158.
- Distler J. H., Hirth A., Kurowska-Stolarska M., Gay R. E., Gay S., Distler O. 2003. Angiogenic and angiostatic factors in the molecular control of angiogenesis. *J. Nucl. Med.* 47 : 149—161.
- Dorland Y. L., Huveneers S. 2016. Cell-cell junctional mechanotransduction in endothelial remodeling. *Cell Mol. Life Sci.* 2 : 275—290.
- Du P., Suhaeri M., Subbiah R., Van S. Y., Park J., Kim S. H., Park K., Lee K. 2016. Elasticity modulation of fibroblast-derived matrix for endothelial cell vascular morphogenesis and mesenchymal stem cell differentiation. *Tissue Eng. Part A*. 22 : 415—426.
- Enge M., Bjarnegård M., Gerhardt H., Gustafsson E., Kalén M., Asker N., Hammes H. P., Shani M., Fässler R., Betsholtz C. 2002. Endothelium-specific platelet-derived growth factor-B ablation mimics diabetic retinopathy. *EMBO J.* 21 : 4307—4316.
- Fadini G. P., Losordo D., Dimmeler S. 2012. Critical reevaluation of endothelial progenitor cell phenotypes for therapeutic and diagnostic use. *Circ. Res.* 110 : 624—637.
- Feldman A. L., Libutti S. K. 2000. Progress in antiangiogenic gene therapy of cancer. *Cancer*. 89 : 1181—1194.
- Ferrara N. 2000. Vascular endothelial growth factor and the regulation of angiogenesis. *Recent Prog. Horm. Res.* 55 : 15—35.
- Ferrara N., Kerbel R. S. 2005. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature*. 438 : 967—974.
- Friedrich E. B., Walenta K., Scharlau J., Nickenig G., Werner N. 2006. CD34-/CD133+/VEGFR-2+ endothelial progenitor cell subpopulation with potent vasoregenerative capacities. *Circ. Res.* 98 : e20—e25.
- Fukumura D., Gohongi T., Kadambi A., Izumi Y., Ang J., Yun C. O., Buerk D. G., Huang P. L., Jain R. K. 2001. Predominant role of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis and vascular permeability. *PNAS*. 98 : 2604—2609.
- Gacche R. N., Meshram R. J. 2014. Angiogenic factors as potential drug target: efficacy and limitations of anti-angiogenic therapy. *Biochim. biophys. acta*. 1846 : 161—179.
- Gaengel K., Genové G., Armulik A., Betsholtz C. 2009. Endothelial-mural cell signaling in vascular development and angiogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 29 : 630—638.
- Gavalas N. G., Lontos M., Trachana S. P., Bagratuni T., Arapinis C., Liacos C., Dimopoulos M. A., Bamias A. 2013. Angiogenesis-related pathways in the pathogenesis of ovarian cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 14 : 15 885—15 909.
- George F., Brisson C., Poncelet P., Laurent J. C., Massot O., Arnoux D., Ambrosi P., Klein-Soyer C., Cazenave J. P., Sampol J. 1992. Rapid isolation of human endothelial cells from whole blood using S-Endo 1 monoclonal antibody coupled to immunomagnetic beads: demonstration of endothelial injury after angioplasty. *Thromb. Haemost.* 67 : 147—153.
- Gerhardt H., Betsholtz C. 2003. Endothelial-pericyte interactions in angiogenesis. *Cell Tissue Res.* 314 : 15—23.
- Ghosh Z., Huang M., Hu S., Wilson K. D., Dey D., Wu J. C. 2011. Dissecting the oncogenic and tumorigenic potential of differentiated human induced pluripotent stem cells and human embryonic stem cells. *Cancer Res.* 71 : 5030—5039.
- Goon P. K. Y., Lip G. Y. H., Boos C. J., Stonelake P. S., Blann A. D. 2006. Circulating endothelial cells, endothelial progenitor cells, and endothelial microparticles. *Cancer Neoplasia*. 8 : 79—88.
- Gordon T. 2009. The role of neurotrophic factors in nerve regeneration. *Neurosurg Focus*. 26 : E3—E9.
- Hagensen M. K., Vanhoutte P. M., Bentzon J. F. 2012. Arterial endothelial cells: still the craftsmen of regenerated endothelium. *Cardiovasc. Res.* 95 : 281—289.
- Hale A. T., Tian H., Anih E. 2014. Endothelial Kruppel-like factor 4 regulates angiogenesis and the Notch signaling pathway. *J. Biol. Chem.* 289 : 12 016—12 028.
- Herbert S. P., Stainier D. Y. 2011. Molecular control of endothelial cell behaviour during blood vessel morphogenesis. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 12 : 551—564.
- Herrnberger L., Ebner K., Junglas B., Tamm E.R. 2012. The role of plasmalemma vesicle-associated protein (PLVAP) in endothelial cells of Schlemm's canal and ocular capillaries. *Exp. Eye Res.* 105 : 27—33.
- Hill J. M., Zalos G., Halcox J. P. J., Schenke W. H., Waclawiw M. A., Quyyumi A. A. 2003. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N. Engl. J. Med.* 348 : 593—600.
- Hirota K., Semenza G. L. 2001. Rac1 activity is required for the activation of hypoxia-inducible factor 1. *J. Biol. Chem.* 276 : 21 166—21 172.
- Hirota S., Clements T. P., Tang L. K. 2015. Neuropilin 1 balances β 8 integrin-activated TGF β signaling to control sprouting angiogenesis in the brain. *Development*. 142 : 4363—4373.
- Iglesias-García O., Pelacho B., Prósper F. 2013. Induced pluripotent stem cells as a new strategy for cardiac regeneration and disease modeling. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 62 : 43—50.
- Ishida A., Murray J., Saito Y., Kanthou C., Benzakour O., Shibuya M., Wijelath E. S. 2001. Expression of vascular endothelial growth factor receptors in smooth muscle cells. *J. Cell. Physiol.* 188 : 359—368.
- Javaherian K., Lee T. Y., Tjin Tham Sjin R. M., Parris G. E., Hlatky L. 2011. Two endogenous antiangiogenic inhibitors, endostatin and angiostatin, demonstrate biphasic curves in their antitumor profiles. *Dose Response*. 9 : 369—376.
- Jensen L. D., Cao Y. 2013. Clock controls angiogenesis. *Cell Cycle*. 12 : 405—408.
- Jeziński A., Swedani A., Wang L. 2007. Development of hematopoietic and endothelial cells from human embryonic stem cells: lessons from the studies using mouse as a model. *Sci. World J.* 7 : 1950—1964.
- Jung H. M., Isogai S., Kamei M., Castranova D., Gore A. V., Weinstein B. M. 2016. Imaging blood vessels and lymphatic vessels in the zebrafish. *Methods Cell Biol.* 133 : 69—103.
- Kachamakova-Trojanowska N., Bukowska-Strakova K., Zukowska M., Dulak J., Jozkowicz A. 2015. The real face of endothelial progenitor cells — circulating angiogenic cells as endothelial prognostic marker? *Pharmacol. Rep.* 67 : 793—802.
- Kachamakova-Trojanowska N., Nowak W., Szade K., Stepniński J., Bukowska-Strakova K., Zukowska M., Taha H., Chmura-Skirlinska A., Beilharz M., Dulak J., Jozkowicz A. 2016. Generation of functional endothelial cells with progenitor-like features from murine induced pluripotent stem cells. *Vascul. Pharmacol.* 2016 : S1537—S1891.
- Kawamoto A., Losordo D. W. 2008. Endothelial progenitor cells for cardiovascular regeneration. *Trends Cardiovasc. Med.* 18 : 33—37.
- Keerl S., Gehmert S., Gehmert S., Song Y. H., Alt E. 2010. PDGF and bFGF modulate tube formation in adipose tissue-derived stem cells. *Ann. Plast. Surg.* 64 : 487—490.
- Khan S. S., Solomon M. A., McCoy J. P. 2005. Detection of circulating endothelial cells and endothelial progenitor cells by flow cytometry. *Clin. Cytom.* 64 : 1—8.
- Kondamudi P. K., Kovelamudi H., Nayak P. G., Rao M. C., Shenoy R. R. 2015. Curcumin half analog modulates interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in inflammatory bowel disease. *Pharmacogn. Mag.* 11 : S296—S302.
- Kubis N., Levy B. I. 2003. Vasculogenesis and angiogenesis: molecular and cellular controls. Part 1 : growth factors. *Interv. Neuroradiol.* 9 : 227—237.
- Lawall H., Bramlage P., Amann B. 2011. Treatment of peripheral arterial disease using stem and progenitor cell therapy. *J. Vasc. Surg.* 53 (2) : 445—453.
- Levenberg S., Zoldan J., Basevitch Y., Langer R. 2007. Endothelial potential of human embryonic stem cells. *Blood*. 110 : 806—814.
- Lewandowski J., Kurpisz M. 2016. Techniques of human embryonic stem cell and induced pluripotent stem cell derivation. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 64 : 349—370.
- Lewis C. E., Harney A. S., Pollard J. W. 2016. The multifaceted role of perivascular macrophages in tumors. *Cancer Cell*. 30 : 18—25.

- Li Z. J., Yang C., Tang F. W., Zhang Z. H., Xu B., Zhao Q. J., Yang R. C., Wang Z. Y., Han Z. C. 2005. *In vitro* vasculogenesis and angiogenesis of mouse embryonic stem cells. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao.* 27 : 62—66.
- Liang J., Huang W., Cai W., Wang L., Guo L., Paul C., Yu X. Y., Wang Y. 2016. Inhibition of microRNA-495 enhances therapeutic angiogenesis of human induced pluripotent stem cells. *Stem Cells.* 9 : 2477.
- Liman T. G., Endres M. 2012. New vessels after stroke: postischemic neovascularization and regeneration. *Cerebrovasc. Dis.* 33 : 492—499.
- Lin Y., Weisdorf D. J., Solovey A., Hebbel R. P. 2000. Origins of circulating endothelial cells and endothelial outgrowth from blood. *J. Clin. Invest.* 105 : 71—77.
- Liu S., Kong X., Ge D., Wang S., Zhao J., Su L., Zhang S., Zhao B., Miao J. 2016. Identification of new small molecules as apoptosis inhibitors in vascular endothelial cells. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 67 : 312—318.
- Lobov I. B., Renard R. A., Papadopoulos N., Gale N. W., Thurston G., Yancopoulos G. D., Wiegand S. J. 2007. Delta-like ligand 4 (Dll4) is induced by VEGF as a negative regulator of angiogenic sprouting. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 104 : 3219—3224.
- Lohela M., Bry M., Tammela T., Alitalo K. 2009. VEGFs and receptors involved in angiogenesis versus lymphangiogenesis. *Curr. Opin. Cell Biol.* 21 : 154—165.
- Luo H., Li B., Li Z., Cutler S. J., Rankin G. O., Chen Y. C. 2013. Chaetoglobosin K inhibits tumor angiogenesis through downregulation of vascular epithelial growth factor-binding hypoxia-inducible factor 1 α . *Anticancer Drugs.* 24 : 715—724.
- Madonna R., De Caterina R. 2015. Circulating endothelial progenitor cells: do they live up to their name? *Vascul. Pharmacol.* 69 : 2—5.
- Mancuso P., Calleri A., Cassi C., Gobbi A., Capillo M., Pruneri G., Martinelli G., Shultz L., Bertolini F. 2003. Circulating endothelial cells as a novel marker of angiogenesis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 522 : 83—97.
- Medina R. J., O'Neill C. L., Sweeney M., Guduric-Fuchs J., Gardiner T. A., Simpson D. A., Stitt A. W. 2010. Molecular analysis of endothelial progenitor cell (EPC) subtypes reveals two distinct cell populations with different identities. *BMC Med. Genomics.* 3 : 18—24.
- Meidan R., Klipper E., Zalman Y., Yalu R. 2013. The role of hypoxia-induced genes in ovarian angiogenesis. *Reprod. Fert. Develop.* 25 : 343—350.
- Michaelis U. R. 2014. Mechanisms of endothelial cell migration. *Cell Mol. Life Sci.* 71 : 4131—4148.
- Moreno-Miralles I., Schisler J. C., Patterson C. 2009. New insights into bone morphogenetic protein signaling: focus on angiogenesis. *Curr. Opin. Hematol.* 16 : 195—201.
- Moretti A., Bellin M., Jung C. B., Thies T. M., Takashima Y., Bernshausen A., Schiemann M., Fischer S., Moosmang S., Smith A. G., Lam J. T., Laugwitz K. L. 2010. Mouse and human induced pluripotent stem cells as a source for multipotent Isl1+ cardiovascular progenitors. *FASEB. J.* 24 : 700—711.
- Morfoisse F., Renaud E., Hantelys F., Prats A. C., Garmy-Susini B. 2015. Role of hypoxia and vascular endothelial growth factors in lymphangiogenesis. *Mol. Cell Oncol.* 2 : e1024821.
- Morishita T., Uzui H., Nakano A., Mitsuke Y., Geshi T., Ueda T., Lee J. D. 2012. Number of endothelial progenitor cells in peripheral artery disease as a marker of severity and association with pentraxin-3, malondialdehyde-modified low-density lipoprotein and membrane type-1 matrix metalloproteinase. *J. Atheroscler. Thromb.* 19 : 149—158.
- Mountford J. C. 2008. Human embryonic stem cells: origins, characteristics and potential for regenerative therapy. *Transfus. Med.* 18 : 1—12.
- Murthy S., Ryan A., He C., Mallampalli R. K., Carter A. B. 2010. Rac1-mediated mitochondrial H2O2 generation regulates MMP-9 gene expression in macrophages via inhibition of SP-1 and AP-1. *J. Biol. Chem.* 285 : 25 062—25 073.
- Navarro-Sobrino M., Rosel A., Hernandez-Guillamon M., Penalba A., Ribó M., Alvarez-Sabin J., Montaner J. 2010. Mobilization, endothelial differentiation and functional capacity of endothelial progenitor cells after ischemic stroke. *Microvasc. Res.* 80 : 317—323.
- Nikuei P., Malekzadeh K., Rajaei M., Nejatizadeh A., Ghaseini N. 2015. The imbalance in expression of angiogenic and anti-angiogenic factors as candidate predictive biomarker in preeclampsia. *Iran J. Reprod. Med.* 13 : 251—262.
- Noguera-Troise I., Daly C., Papadopoulos N. J., Coetzee S., Boland P., Gale N. W., Lin H. C., Yancopoulos G. D., Thurston G. 2006. Blockade of Dll4 inhibits tumour growth by promoting non-productive angiogenesis. *Nature.* 444 : 1032—1037.
- O'Neill C. L., O'Doherty M. T., Wilson S. E., Rana A. A., Hirst C. E., Stitt A. W., Medina R. J. 2012. Therapeutic revascularisation of ischaemic tissue: the opportunities and challenges for therapy using vascular stem/progenitor cells. *Stem Cell Res. Ther.* 3 : 31—36.
- Park C., Kim T. M., Malik A. B. 2013. Transcriptional regulation of endothelial cell and vascular development. *Circ. Res.* 112 : 1380—1400.
- Pasquier E., Dias S. 2010. Endothelial progenitor cells: hope beyond controversy. *Curr. Cancer Drug Targets.* 10 : 914—921.
- Patel-Hett S., D'Amore P. A. 2011. Signal transduction in vasculogenesis and developmental angiogenesis. *Int. J. Develop. Biol.* 55 : 353—363.
- Pearson J. D. 2009. Endothelial progenitor cells — hype or hope? *J. Thromb. Haemost.* 7 : 255—262.
- Pelliccia F. 2013. Endothelial progenitor cells and long-term prognosis in patients with stable angina treated with percutaneous coronary intervention-reply. *Circ. J.* 77 : 2416.
- Potente M., Gerhardt H., Carmeliet P. 2011. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis. *Cell.* 146 : 873—887.
- Poveshchenko O. V., Poveshchenko A. F., Konenkov V. I. 2012. Endothelial progenitor cells and neovascularogenesis. *Biol. Bull. Rev.* 2 : 333—339.
- Psaltis P. J., Zannettino A. C., Worthley S. G., Gronthos S. 2008. Concise review: mesenchymal stromal cells: potential for cardiovascular repair. *Stem Cells.* 26 : 2201—2210.
- Racchetti G., D'Alessandro R., Meldolesi J. 2012. Astrocyte stellation, a process dependent on Rac1 is sustained by the regulated exocytosis of enlargosomes. *Glia.* 60 : 465—475.
- Rajasekar P., O'Neill C. L., Eeles L., Stitt A. W., Medina R. J. 2015. Epigenetic changes in endothelial progenitors as a possible cellular basis for glycemic memory in diabetic vascular complications. *J. Diabetes Res.* 2015 : 436 879.
- Ravi S., Caves J. M., Martinez A. W., Xiao J., Wen J., Haller C. A., Davis M. E., Chaikof E. L. 2012. Effect of bone marrow derived extracellular matrix on cardiac function after ischemic injury. *Biomaterials.* 33 : 7736—7745.
- Rehman J., Li J., Orschell C. M., March K. L. 2003. Peripheral blood endothelial progenitor cells are derived from monocyte/macrophages and secrete angiogenic growth factors. *Circulation.* 107 : 1164—1169.
- Ribatti D., Nico B., Crivellato E. 2009. Morphological and molecular aspects of physiological vascular morphogenesis. *Angiogenesis.* 12 : 101—111.
- Ribatti D., Nico B., Crivellato E. 2011. The role of pericytes in angiogenesis. *Int. J. Develop. Biol.* 55 : 261—268.
- Rohde E., Bartmann C., Schallmoser K., Reinisch A., Lanzer G., Linkesch W., Guelly C., Strunk D. 2007. Immune cells mimic the morphology of endothelial progenitor colonies *in vitro*. *Stem Cells.* 25 : 1746—1752.
- Rufaihah A. J., Haider H. K., Heng B. C., Ye L., Tan R. S., Toh W. S., Tian X. F., Sim E. K., Cao T. 2010. Therapeutic angiogenesis by transplantation of human embryonic stem cell-derived CD133+ endothelial progenitor cells for cardiac repair. *Regen. Med.* 5 : 231—244.
- Rufaihah A. J., Huang N. F., Jame S., Lee J. C., Nguyen H. N., Byers B., De A., Okogbaa J., Rollins M., Reijo-Pera R., Gambhir S. S., Cooke J. P. 2011. Endothelial cells derived from human iPSCs increase capillary density and improve perfusion in a mouse model of peripheral arterial disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 31 : e72—e79.

- Sainson R. C., Aoto J., Nakatsu M. N., Holderfield M., Conn E., Koller E., Hughes C. C. 2005. Cell-autonomous notch signaling regulates endothelial cell branching and proliferation during vascular tubulogenesis. *FASEB J.* 19 : 1027—1029.
- Samuel R., Duda D. G., Fukumura D., Jain R. K. 2015. Vascular diseases await translation of blood vessels engineered from stem cells. *Sci. Transl. Med.* 7 : 309.
- Schaper W., Scholz D. 2003. Factors regulating arteriogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23 : 1143—1151.
- Schmidt-Lucke C., Rossig L., Fichtlscherer S., Vasa M., Britten M., Kämper U., Dimmeler S., Zeiher A. M. 2005. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair. *Circulation.* 111 : 2981—2987.
- Schoen K., Hirschberg R. M., Plendl J., Kaessmeyer S. 2012. Identification of CD133, CD34- and KDR-positive cells in the bovine ovary: a new site of vascular wall resident endothelial progenitor cells. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 52 : 67—84.
- Shaked Y., Bertolini F., Man S., Rogers M. S., Cervi D., Foutz T., Ravn K., Voskav D., Dumont D. J., Ben-David Y. 2005. Genetic heterogeneity of the vasculogenic phenotype parallels angiogenesis: implications for cellular surrogate marker analysis of anti-angiogenesis. *Cancer Cell.* 7 : 101—111.
- Shao C., Chen J., Chen P., Zhu M., Yao Q., Gu P., Fu Y., Fan X. 2015. Targeted transplantation of human umbilical cord blood endothelial progenitor cells with immunomagnetic nanoparticles to repair corneal endothelium defect. *Stem Cells Develop.* 24 : 756—767.
- Shen L., Gao Y., Qian J., Sun A., Ge J. 2011. A novel mechanism for endothelial progenitor cells homing: the SDF-1/CXCR4-Rac pathway may regulate endothelial progenitor cells homing through cellular polarization. *Med. Hypotheses.* 76 : 256—258.
- Shin S. H., Lee J., Ahn D. G., Lee K. Y. 2013. Co-delivery of vascular endothelial growth factor and angiopoietin-1 using injectable microsphere/hydrogel hybrid systems for therapeutic angiogenesis. *Pharm. Res.* 30 : 2157—2165.
- Siddique A., Shantsila E., Lip G. Y., Varma C. 2010. Endothelial progenitor cells: what use for the cardiologist? *J. Angiogenesis.* Res. 2 : 6—14.
- Sidibé A., Polena H., Pernet-Gallay K., Razanajatovo J., Manic T., Chaumontel N., Bama S., Maréchal I., Huber P., Gulino-Debrac D., Bouillet L., Vilgrain I. 2014. VE-cadherin Y685F knock-in mouse is sensitive to vascular permeability in recurrent angiogenic organs. *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 307 : 455—463.
- Siegenthaler J. A., Choe Y., Patterson K. P., Hsieh I., Li D., Jaminet S. C., Daneman R., Kume T., Huang E. J., Pleasure S. J. 2013. Foxc1 is required by pericytes during fetal brain angiogenesis. *Biol. Open.* 2 : 647—659.
- Siervo M., Ruggiero D., Sorice R., Nutile T., Aversano M., Stephan B. C., Ciullo M. 2010. Angiogenesis and biomarkers of cardiovascular risk in adults with metabolic syndrome. *J. Intern. Med.* 268 : 338—347.
- Sieveking D. P., Buckle A., Celermajer D. S., Ng M. K. C. 2008. Strikingly different angiogenic properties of endothelial progenitor cell subpopulations: insights from a novel human angiogenesis assay. *J. Amer. Coll. Cardiol.* 51 : 660—668.
- Silvestre J. S., Smadja D. M., Lévy B. I. 2013. Postischemic revascularization: from cellular and molecular mechanisms to clinical applications. *Physiol. Rev.* 93 : 1743—1802.
- Simonavicius N., Ashenden M., van Weverwijk A. 2012. Pericytes promote selective vessel regression to regulate vascular patterning. *Blood.* 120 : 1516—1527.
- Singh N., Van Craeyveld E., Tjwa M., Ciarka A., Emmerchts J., Droogne W., Gordis S.C., Carlier V., Jacobs F., Fie-uws S., Vanhaecke J., Van Cleemput J., De Geest B. 2012. Circulating apoptotic endothelial cells and apoptotic endothelial microparticles independently predict the presence of cardiac allograft vasculopathy. *J. Amer. Coll. Cardiol.* 60 : 324—331.
- Skaper S. D. 2012. The neurotrophin family of neurotrophic factors: an overview. *Methods Mol. Biol.* 846 : 1—12.
- Spanholtz T. A., Theodorou P., Holzbach T., Wutzler S., Giunta R. E., Machens H. G. 2011. Vascular endothelial growth factor (VEGF165) plus basic fibroblast growth factor (bFGF) producing cells induce a mature and stable vascular network — a future therapy for ischemically challenged tissue. *J. Surg. Res.* 171 : 329—338.
- Stapor P. C., Sweat R. S., Dashti D. C., Betancourt A. M., Murfee W. L. 2014. Pericyte dynamics during angiogenesis: new insights from new identities. *J. Vasc. Res.* 51 : 163—174.
- Sun Z., Schriewer J., Tang M., Marlin J., Taylor F., Shohet R. V., Konorev E. A. 2016. The TGF- β pathway mediates doxorubicin effects on cardiac endothelial cells. *J. Mol. Cell Cardiol.* 90 : 129—138.
- Takahashi K., Tanabe K., Ohnuki M., Narita M., Ichisaka T., Tomoda K., Yamanaka S. 2007. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell.* 131 : 861—872.
- Takahashi K., Yamanaka S. 2006. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell.* 126 : 663—676.
- Tang X., Sun J., Du L. 2016. Neuropilin-2 contributes to LPS-induced corneal inflammatory lymphangiogenesis. *Exp. Eye Res.* 143 : 110—119.
- Tao H., Han Z., Han Z. C., Li Z. 2016. Proangiogenic features of mesenchymal stem cells and their therapeutic applications. *Stem Cells Int.* 2016 : 1 314 709.
- Taura D., Sone M., Homma K., Oyamada N., Takahashi K., Tamura N., Yamanaka S., Nakao K. 2009. Induction and isolation of vascular cells from human induced pluripotent stem cells — brief report. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 29 : 1100—1103.
- Thomas J. A., Deaton R. A., Hastings N. E., Shang Y., Moehle C. W., Eriksson U., Topouzis S., Wamhoff B. R., Blackman B. R., Owens G. K. 2009. PDGF-DD, a novel mediator of smooth muscle cell phenotypic modulation, is upregulated in endothelial cells exposed to atherosclerosis-prone flow patterns. *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 296 : H442—H452.
- Timmermans F., Plum J., Yoder M. C., Ingram D. A., Vandekerckhove B., Case J. 2009. Endothelial progenitor cells: identity defined? *J. Cell. Mol. Med.* 13 : 87—102.
- Timmermans F., Van Hauwermeiren F., De Smedt M., Raedt R., Plasschaert F., De Buyzere M. L., Gillebert T. C., Plum J., Vandekerckhove B. 2007. Endothelial outgrowth cells are not derived from CD133+ cells or CD45+ hematopoietic precursors. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 27 : 1572—1579.
- Tomlinson A., Van Vlijmen A., Loesch A., Burnstock G. 1991. An immunohistochemical study of endothelial cell heterogeneity in the rat: observations in «en face» Hutchen preparations. *Cell Tissue Res.* 263 : 173—181.
- Tongers J., Losordo D.W., Landmesser U. 2011. Stem and progenitor cell-based therapy in ischaemic heart disease: promise, uncertainties, and challenges. *Eur. Heart J.* 32 : 1197—1206.
- Ueno N. T., Cheng Y. C. 2006. The future of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for metastatic renal cell carcinoma in the era of target-specific therapy. *Bone Marrow Transplant.* 38 : 711—714.
- Vera C., Tapia V., Vega M., Romero C. 2014. Role of nerve growth factor and its TRKA receptor in normal ovarian and epithelial ovarian cancer angiogenesis. *J. Ovarian Res.* 7 : 82—94.
- Wada H., Satoh N., Kitaoka S., Ono K., Morimoto T., Kawamura T., Nakano T., Fujita M., Kita T., Shimatsu A., Hasegawa K. 2010. Soluble VEGF receptor-2 is increased in sera of subjects with metabolic syndrome in association with insulin resistance. *Atherosclerosis.* 208 : 512—517.
- Wang J., Shi M., Xi Y., Gao L., Zhang G., Shao Y., Chen H., Hu X. 2015. Recombinant human vascular endothelial growth factor receptor 1 effectively inhibits angiogenesis *in vivo*. *Mol. Med. Rep.* 11 : 3432—3438.
- Wang L., Su W., Du W., Xu Y., Wang L., Kong D., Han Z., Zheng G., Li Z. 2015. Gene and microRNA profiling of human induced pluripotent stem cell-derived endothelial cells. *Stem Cell Rev.* 11 : 219—227.
- Wang L., Zeng H., Wang P., Soker S., Mukhopadhyay D. 2003. Neuropilin-1-mediated vascular permeability factor/vascular en-

- dothelial growth factor-dependent endothelial cell migration. *J. Biol. Chem.* 278 : 48 848—48 860.
- Wang X., Xiong J. W. 2012. Vascular endothelial cell development and underlying mechanisms. *Yi Chuan.* 34 : 1114—1122.
- Wang Z. Z., Au P., Chen T., Shao Y., Daheron L. M., Bai H., Arzigian M., Fukumura D., Jain R. K., Scadden D. T. 2007. Endothelial cells derived from human embryonic stem cells form durable blood vessels *in vivo*. *Nat. Biotechnol.* 25 : 317—318.
- Xiao N. 2016. Neurotrophic factors: promising candidates in tissue regeneration. *Neural Regen. Res.* 11 : 735—736.
- Xu Q. B. 2005. Endothelial progenitor cells in angiogenesis. *Sheng Li Xue Bao.* 57 : 1—6.
- Xu Y., Liu L., Zhang L., Fu S., Hu Y., Wang Y., Fu H., Wu K., Xiao H., Liu S., Yu X., Zheng W., Feng B., Huang H. 2012. Efficient commitment to functional CD34+ progenitor cells from human bone marrow mesenchymal stem-cell-derived induced pluripotent stem cells. *PLoS ONE.* 7 : e34321.
- Yamaguchi Y., Kuwana M. 2013. Proangiogenic hematopoietic cells of monocytic origin: roles in vascular regeneration and pathogenic processes of systemic sclerosis. *Histol. Histopathol.* 28 : 175—183.
- Yin X., Meng F., Wei W., Li A., Wang Y., Chai Y., Feng Z. 2013. Role of mouse nerve growth factor in neural recovery following hypoxic-ischemic brain damage. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 6 : 951—955.
- Yoder M. C. 2009. Defining human endothelial progenitor cells. *J. Thromb. Haemost.* 7 : 49—52.
- Yoder M. C. 2015. Differentiation of pluripotent stem cells into endothelial cells. *Curr. Opin. Hematol.* 22 : 252—257.
- Zhang L. J., Liu W. X., Chen Y. D., Song X. T., Jin Z. N., Lu S. Z. 2010. Proliferation, migration and apoptosis activities of endothelial progenitor cells in acute coronary syndrome. *Chin. Med. J. (Engl.)*. 123 : 2655—2661.
- Zuk P. A. 2010. The adipose-derived stem cell: looking back and looking ahead. *Mol. Biol. Cell.* 21 : 1783—1787.

Поступила 3 IX 2016

ENDOTHELIAL-DEPENDENT OF THE REGULATION OF ANGIOGENESIS

V. M. Chertok,¹ A. G. Chertok, V. G. Zenkina

Pacific State Medical University, Vladivostok, 690950;

¹ e-mail: chertokv@mail.ru

The review presents cellular and molecular mechanisms regulating angiogenesis. In response to the angiogenesis inducers impact the activated endothelial cells and their precursors (progenitor cells) synthesize and produce angiogenic molecule that differ by chemical origin and biological functions but all of them enable these cells to influence both directly and indirectly on new vessels growth. Among the great number of angiogenic molecules the scientists hold interests in the following: the set of vascular endothelial growth factors, the set of the fibroblast growth, transforming growth factor, tumor necrosis factor and some other soluble polypeptides which occurred to be an effective regulators of angiogenesis. However, despite the evident achievements in studies of cellular and molecular mechanisms of angiogenesis it is still difficult to control this process. Therefore the main goal of the study was to review endothelial-dependent factors and mechanisms of capillary vessels growth regulation.

Key words: angiogenesis, cellular and molecular regulators of angiogenesis, activated cell, tip cell and endothelial progenitor cells.