

УДК 616.832+616.711—006—005:612.015:616.13

## Исследование уровня экспрессии рецептора-2 фактора роста эндотелия сосудов в опухолях спинного мозга и позвоночника

Зозуля Ю.А., Васильева И.Г., Слынько Е.И., Чопик Н.Г.

Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова АМН Украины, г.Киев, Украина

*Ключевые слова:* фактор роста эндотелия сосудов, спинальные сосудистые опухоли и мальформации.

Фактор роста эндотелия сосудов — (VEGF) известный также как фактор проницаемости сосудов (VPF) — многофункциональный цитокин, которому принадлежит физиологическая и патологическая роль в неопластическом развитии и женском цикле [4, 16]. Многочисленные исследования указывают также на вовлечение фактора VEGF в патогенез ревматоидных артритов, посттравматических отеков, заболеваний кожи, гиперваскуляризации опухолей [5, 11, 12, 20]. Вероятными механизмами пролиферативного и ангиогенного действия VEGF являются активация Raf/MAPK-каскада [7] и стимуляция высвобождения Nk [1].

Действие VEGF реализуется через один из рецепторов: VEGFR-1 (flt-1), VEGFR-2 (flk-1/KKR) или, возможно, через гетеродимер KKR/flt [18, 15]. Существование близких по структуре, но разных вариантов рецепторов фактора, а также известных на сегодняшний день четырех активных изоформ самого фактора (VEGF121, VEGF165, VEGF189, VEGF206) [4, 19] обеспечивают возможность множественных клеточных ответов на действие VEGF. Именно этим может объясняться существование часто противоположных наблюдений относительно корреляции экспрессии VEGF или его рецепторов и плотности микрососудов [2], активности онкогенов [3, 6, 10, 17] и т.д.

Нашей задачей было сравнение экспрессии рецептора-2 (VEGFR-2, KKR/Flk-1) VEGF в ткани различных типов опухолей позвоночника и спинного мозга. Предметом исследования был избран именно рецептор KKR по следующим причинам. Во-первых, рецептор-1 связывает не только VEGF, но и фактор роста плаценты, тогда как рецептор-2 (KKR) связывает только VEGF. Во-вторых, VEGF может дей-

ствовать как паракринный эффектор на проницаемость лимфатических сосудов через flt-1, в то время как на проницаемость кровеносных сосудов — через KKR [9]. Кроме того, через данный рецептор реализуют свое действие несколько активных изоформ VEGF.

*Материалы и методы исследований.* Работа выполнена на материале 9 больных с опухолями спинного мозга и позвоночника (таблица). Объектом исследований служила ткань опухолей спинного мозга и позвоночника. Ткань опухоли непосредственно после удаления помещали в жидкий азот и в таком виде хранили до момента использования.

Результаты оценивали с использованием двойного слепого метода.

Выделение РНК производили фенольным методом [1]. Выход и чистоту препарата РНК оценивали по поглощению пробы при длине волны 260 и 280 нм.

*Таблица. Уровень экспрессии мРНК KDR в ткани опухолей спинного мозга и позвоночника*

Изученные клинические случаи	10 <sup>-3</sup> пмоль кДНК/г ткани
<b>Опухоли оболочек мозга</b>	
Менингиома на уровне Th8—Th11	0,40
Менингиома на уровне Th10	1,15
<b>Первичные злокачественные лимфомы</b>	
Плазмоцитома тел Th7—Th5 позвонков	2,50
<b>Сосудистые опухоли и мальформации</b>	
Интрамедуллярная ангиоретикулома на уровне Th12—L1	0,85
Интрамедуллярная кавернозная мальформация медуллоцервикальной области	2,40
<b>Опухоли нервных оболочек</b>	
Шваннома на уровне C5—C6	2,25
Шваннома на уровне L1—L5	4,29
Шваннома на уровне L2—L3	4,79
<b>Метастатические опухоли позвоночника</b>	
Метастаз рака в Th11 позвонок	6,45

Уровень экспрессии рецептора KKR определяли методом гибридизации, как описано в литературе [14]. Для реакции гибридизации использовали зонд (синтетический олигонуклеотид, комплементарный участку мРНК CATGIGGGAGAGTTGCCACACCCCTGTTTGCAGAAGCTGG, меченный методом фосфорилирования с использованием T4 полинуклеотид киназы. Активность меченого  $^{32}\text{P}$ -олигонуклеотида составляла 3000 Ки/ммоль. Гибридизацию осуществляли на нитроцеллюлозных фильтрах согласно методу [14] с некоторыми модификациями.

Первая стадия проведения данной реакции — иммобилизация мРНК — состояла из двух этапов: активирования фильтров и иммобилизации мРНК. На первом этапе фильтры смачивали водой, инкубировали в 20-кратном растворе SSC (14SSC; 0,15M NaCl, 0,015M цитрат Na) на протяжении 1 ч при комнатной температуре. Фильтры помещали в насадки для эпендорфов, наполняли раствором 104SSC, центрифугировали при 2000 об/мин до полного высыхания. Операцию повторяли дважды. 20 мкл водного раствора мРНК (приблизительно 20 мкг) вносили в смесь следующего состава: 20 мкл 100% формамида, 7 мкл 37% формальдегида, 2 мкл 204SSC; инкубировали при 68°C на протяжении 15 мин и быстро охлаждали на льду. Иммобилизацию мРНК на фильтрах осуществляли при центрифугировании 2000 об/мин в течение 10 мин. Высушивали фильтры на воздухе при комнатной температуре, затем при температуре 80°C в течение 2 ч.

Прегибридизацию фильтров осуществляли в течение 1 ч при температуре 42°C в растворе следующего состава: 50% формамид, 64SSC, 0,1%SKS. Затем в раствор вносили 500 00—100 000 срм  $^{32}\text{P}$ -меченого олигонуклеотидного зонда в объеме 4 мкл и осуществляли гибридизацию в течение 24 ч при температуре 68°C. После инкубации фильтры промывали при комнатной температуре в 14SSC -растворе, содержащем 0,1% SKS, трижды — в 0,24SSC — растворе, содержащем 0,1% SKS при 68°C, просушивали на воздухе, а затем помещали во флаконы со сцинтилляционной жидкостью. Радиоактивность образцов измеряли на счетчике "Intertechnik" (Франция).

Для контроля неспецифического связывания параллельно каждому исследуемому образцу проводили дополнительную преинкубацию фильтров с иммобилизированной мРНК с нерадиоактивным зондом на протяжении 24 ч, а затем продолжали гибридизацию согласно выше описанной методике.

Для сравнения уровня экспрессии рецептора KKR в тканях исследуемых опухолей с таковым в ткани, для которой экспрессия данного гена не характерна, использовали нервную ткань интактных мышей.

*Результаты.* В результате проведенных исследований в ткани всех типов опухолей позвоночника и спинного мозга была выявлена мРНК рецептора KKR. Однако обнаружена разная степень экспрессии KKR в ткани опухолей различных образцов (см. таблицу). Самый высокий уровень экспрессии мРНК KKR был обнаружен в ткани метастатической опухоли позвоночника. Высокий уровень экспрессии рецептора обнаружен также в шванномах. Значительно (в 5—10 раз) ниже уровень экспрессии KKR в опухолях оболочек мозга. В сосудистой опухоли (ангиоретикуломе) и кавернозной мальформации медуллоцервикальной локализации уровень экспрессии рецептора составлял  $0,85 \cdot 10^{-3}$  пмоль/г ткани и  $2,40 \cdot 10^{-3}$  пмоль/г ткани соответственно, что подтверждает значение этого фактора ангиогенеза, по крайней мере, для некоторых видов сосудистых опухолей, хотя и не исключает влияния и других регуляторов ангиогенеза.

Учитывая малое количество наших наблюдений данное распределение возможно не отражает в полной мере истинный уровень экспрессии мРНК VEGFR-2. Однако, учитывая то, что в группах однородных опухолей практически нет разброса по уровню выраженности экспрессии рецептора KKR, надо признать, что обнаружена определенная закономерность, состоящая в максимальной выраженности изменений в метастатической опухоли, затем в шванномах и наконец в менингиомах. Сосудистые образования и плазмцитомы занимают промежуточное положение между менингиомами и шванномами.

*Обсуждение.* VEGF в норме стимулирует ангиогенез и усиливает проницаемость сосудов. Последний механизм его действия тесно связан с адгезией соседних клеток. Это осуществляется путем воздействия на p120 (ctn) и p100 катенины которые связаны с кадгеринами и расположены в области плотных контактов клеток [29].

В литературе много данных относительно роли VEGF в опухолевом росте, неоваскуляризации и стимулировании роста сосудов. Почти во всех типах опухолей выявлен повышенный уровень этого фактора.

Показано, что использование антител к VEGF и к KKR/F1k-1 рецептору в экспери-

менте значительно тормозит как локальное прогрессирование, так и метастазирование злокачественных опухолей [28, 32].

Показана роль VEGF в стимулировании шванновских клеток [21], в них выявлен рецептор flk-1. Обнаружено, что он может вызывать как нейротрофическое, так и митогенное действие на шванновские клетки [22].

Высокий уровень VEGF — в нейрогенных саркомах, происходящих с оболочек периферических нервов [51].

Проведено изучение VEGF в ткани и кистозном содержимом шванном [49]. В кистозном содержимом обнаружено высокое содержание не только VEGF, но и иммуносуппрессирующих факторов (TGF)-beta1, -beta2 и -beta3 (EGF).

Установлено, что в гемангиобластомах наблюдается повышенная экспрессия VEGF и рецептора к этому фактору [23, 25]. В этой опухоли также обнаруживается высокий уровень экспрессии плацентарного фактора роста (PlGF), рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), рецепторов фактора роста тромбоцитов (PKGFR) [26]. При этом в стромальных клетках в основном продуцируется EGFR и иногда PKGFR-alpha, однако отсутствует PKGFR-beta. В эндотелиальных клетках продуцируются как PKGFR-alpha, так и PKGFR-beta. VEGF и PlGF продуцируются как стромальными, так и эндотелиальными клетками, однако в последних он более выражен [26].

Vaquero и соавторы [48] провели изучение 14 образцов хирургически удаленных капиллярных гемангиобластом мозжечка. Авторы обнаружили, что количество внутриопухолевых сосудов, определенное изучением количества маркера эндотелиальных клеток СК34, не коррелирует с уровнем экспрессии VEGF.

Исследуя уровень экспрессии VEGF и его рецепторов KKR и Flt-1 в пилоцитарной астроцитоме Leung и соавторы [24], используя метод *in situ hybridization*, аналогичный примененному нами, выявили повышенный их уровень практически во всех опухолях. Учитывая то, что в большинстве случаев высокий уровень этого фактора выявлен в стенках кист, авторы отводят ему ключевую роль в формировании кист и неоваскуляризации астроцитарных опухолей.

Carroll и соавторы [43] провели изучение активности KKR в удаленных образцах 17 глиобластом, 13 анапластических и 7 высококодифференцированных глиом. Для этого исследована степень активации в опухоли KKR путем изучения фосфорилирования тирозина в составе

рецептора. Использован тирозинфосфопептид для получения антител, которые в дальнейшем использованы для изучения фосфорилированного состояния тирозина 1054/1059 в KKR. Авторы обнаружили, что в 71% глиобластом, 15% анапластических глиомах в рецепторе тирозин находится в фосфорилированном состоянии. Однако это не выявлено в высококодифференцированных глиомах [43].

Narada и соавторы [47], основываясь на том, что потеря фрагмента p16 гена в анапластических глиомах часто сопровождается повышением синтеза в них VEGF, предприняли попытку восстановления в опухоли потерянного фрагмента p16. Использован вектор в виде репликационно-дефектного аденовируса, который содержал cKNA p16. Это сопровождалось снижением синтеза в опухоли VEGF и уменьшением ее васкуляризации.

Christov и соавторы [44] сообщают о наличии в менигиомах VEGF и flt-1. В основном их экспрессия наблюдалась в эндотелии сосудов. В 60 менигиомах авторы обнаружили прямо пропорциональную корреляцию между плотностью VEGF и его рецептора flt-1 в эндотелии сосудов и кистообразованием в опухоли.

Высокая экспрессия этого фактора отмечена при опухолях гипофиза [36].

С использованием обратной транскриптазной полимеразной цепной реакции обнаружен высокий уровень синтеза VEGF165 в нейробластомах [46]. Параллельно с этим в опухолях в высоких количествах продуцируется митогенный тирозин-киназный рецептор FLK-1, в то же время не митогенный рецептор FLT-1 практически не выявляется. Авторы полагают, что синтезируемый в опухоли VEGF ответственный за ее васкуляризацию, рост и инвазию.

Обнаружена экспрессия VEGF и PKGFR в высоко васкуляризированных опухолях — параганглиомах, гепатоклеточных карциномах, колоректальном раке [33, 34, 35].

Рецепторы VEGF в высоких количествах определяются в меланоме. Уровень их экспрессии выше в метастатической меланоме, чем в первичной опухоли. При изучении нормальных меланоцитов в них отсутствовала экспрессия рецепторов этого фактора [39]. Подобное обнаружено при сравнении и других опухолей с нормальной тканью, из которой они происходят. Полагают, что экспрессия рецепторов к этому фактору специфически запускается опухолевой трансформацией и опухолевым процессом.

Изучается эффективность применения VEGF

для улучшения регенерации сосудов. Показана его эффективность в лечении ишемической болезни сердца, улучшении приживляемости трансплантатов на сосудистой ножке [27].

Вместе с тем при изучении уровня экспрессии VEGF при злокачественных опухолях не выявлена зависимость между биологическим поведением опухоли и уровнем экспрессии этого фактора [30].

Недавно Reichev и соавторы [31] обнаружили интересные данные: в крови они выявили циркулирующие СК34(+) клетки, по многим генетическим и фенотипическим признакам сходные с эндотелиальными клетками сосудов. Эти клетки синтезируют VEGFR-2. Предполагают, что именно они могут играть ключевую роль в регуляции системного и опухолевого ангиогенеза.

Качественным методом выявлена высокая экспрессия VEGF в эндотелии, периваскулярной ткани и капиллярах при дуральных артериовенозных фистулах краниальной локализации [37].

При опухолевых процессах наблюдается повышение не только количества рецепторов VEGF в опухолевой ткани, но и свободно циркулирующих двух растворимых изоформ VEGF 121 и VEGF 165 в сыворотке крови [38]. Место синтеза этого фактора пока не известно. Предполагают, что он в высоких количествах может синтезироваться в самой опухоли.

Проведено изучение содержания в плазме крови VEGF у онкологических больных и здоровых волонтеров. Достоверно обнаружено повышенное содержание в плазме крови VEGF у онкологических больных [42]. Авторы полагают, что у больных с опухолевыми процессами источником повышенного содержания VEGF в крови являются тромбоциты и свободно циркулирующий фактор, попадающий в кровь из опухолевой ткани.

Gridley и соавторы [50] провели изучение содержания в плазме крови interleukin-1 beta (IL-1 beta), фактора некроза опухоли (TNF-alpha) трансформирующего фактора роста beta (TGF-beta), основного фактора роста фибробластов (bFGF), EGF и VEGF у 3 детей и у 14 взрослых, которым проводили радиотерапию по поводу глиобластом, астроцитом, хондросарком, менингиом, шванном, метастатической легочной карциномы краниальной локализации. Сравнивали образцы крови до и после протонного облучения. До лечения у большинства больных отмечали повышенное количество одного или нескольких изучаемых цитокинов. Наибо-

лее высокий их уровень обнаружен у больных с хондросаркомой, где TGF-beta1, TNF-alpha, bFGF и EGF были повышены на 92% по сравнению с контролем. После облучения уровень bFGF и TGF-beta 1 снизился у большинства больных. IL-1 beta обнаруживали только у детей, и его уровень после облучения повышался. EGF после облучения повышался на 125—608%. Убедительных данных относительно VEGF не получено.

Недавно появилось новое направление в терапии опухолей. Для этой цели изучается эффективность применения моноклональных антител к VEGF или к его рецепторам. Сообщается, что это приводит к эффективному торможению опухолевого ангиогенеза и пролиферации самой опухоли [40, 41].

С учетом всего изложенного создается впечатление, что VEGF играет роль в генезе как опухолевого процесса, так и в формировании многих сосудистых нарушений в организме, включая развитие мальформаций, ишемических нарушений, геморрагий. Возможно также, что этот фактор принимает участие в большинстве физиологических и патологических процессов, происходящих в организме. При опухолевых процессах установлено повышение уровня VEGF, свободно циркулирующего в плазме крови, VEGF, содержащегося в опухоли, повышение количества, чувствительности и уровня экспрессии различного типа рецепторов к VEGF в опухоли.

Однако в большинстве случаев проводили только качественную оценку его роли в этих процессах. Мы провели количественную оценку и сравнение выраженности экспрессии ККР рецептора данного фактора при различных видах опухолей и сосудистых образованиях спинальной локализации. Выявлено повышение его уровня во всех опухолях. При этом наибольший уровень экспрессии ККР рецептора выявлен не в хорошо васкуляризованных опухолях и мальформациях (менингиомы, ангиоретикуломы, кавернозные мальформации), как следовало ожидать, а в злокачественных метастатических опухолях и шванномах.

Роль VEGF в генезе сосудистых опухолей и мальформаций, а также других опухолевых процессов несомненна. Однако она не столь однозначна, как ранее полагалось, и зависит от взаимодействия с другими факторами и механизмами. Ключевым пунктом для объяснения этого может быть теория опухолевого ангиогенеза, недавно предложенная Holash и соавторами [45]. Ранее считали, что опухоли вначале

возникают как скопления опухолевых клеток в строме ткани хозяина, впоследствии вовлекающие для своего питания окружающие сосуды, а также стимулирующие рост новых сосудов. В противоположность этому Holash и соавторы [45] обнаружили, что инициальные зачатки опухоли вовлекают предсуществующие сосуды ткани хозяина (процесс кооптации) и формируют сосудистую сеть, обеспечивающую кровоснабжение опухолевой ткани. Эти кооптированные сосуды не поддерживают опухолевый ангиогенез в процессе дальнейшего роста опухоли и быстро регрессируют (возможно вследствие защитной реакции организма хозяина), что сопровождается нарушением взаимодействия эндотелиальных и гладкомышечных клеток и апоптозом эндотелиальных клеток кооптированных сосудов. Регресс этих сосудов приводит к образованию очагов некроза в центральных отделах опухоли и кистообразованию. Однако параллельно с этим и, возможно, индуцированный этим по периферии опухоли начинается опухолевый ангиогенез, который запускается ею и направлен на поддержание дальнейшего роста опухолевой ткани. В этом процессе участвуют ангиопоэтин-2 (естественный антагонист Tie2 рецептора) и VEGF. Ангиопоэтин-2 продуцируется в больших количествах в кооптированных сосудах еще до начала экспрессии VEGF и стимулирует регрессию этих сосудов. На высоте его синтеза начинает возрастать синтез VEGF в периферических участках опухоли. Повышение синтеза VEGF запускает аномальный ангиогенез в тканях, прилегающих к опухоли. Следовательно, авторы полагают, что в процессе роста опухоли происходит индуцированное VEGF и ангиопоэтином-2 ремоделирование нормальной тканевой ангиоархитектуры в опухолевую.

С учетом выше изложенной модели опухолевого ангиогенеза резонно полагать, что уровень VEGF, количество и чувствительность его рецепторов стимулируются опухолевым процессом. Их уровень будет тем выше, чем большим оказывается дефицит кровоснабжения опухоли. При достаточной васкуляризации опухоли уровень VEGF и количество его рецепторов будут уменьшаться. Таким механизмом, по-видимому, могут быть объяснены данные, полученные в наших исследованиях. В метастатической опухоли с элементами некроза в центральных ее участках, в которых возникает недостаточность кровоснабжения, обнаружен самый высокий уровень экспрессии ККР. В то же время в хорошо васкуляризированных об-

разованиях — кавернозной мальформации, гемангиобластоме и менингиоме — уровень экспрессии рецептора невелик.

Высокий уровень экспрессии рецептора ККР в исследованных нами опухолях и в шванноме. Причина этого не совсем понятна. В литературе не встречаются данные относительно содержания VEGF в нейрофибромах. Однако имеются сообщения, что в экспериментальных шванномах с очагами некроза и кистами, в кистозном содержимом в больших количествах содержится VEGF [49]. Это согласуется с выше приведенными данными относительно важной роли VEGF в развитии шванновских клеток [21]. Сообщается, также, что этот фактор обладает митогенным влиянием на шванновские клетки [22]. Наличие кист в шванноме можно расценивать как недостаток кровоснабжения шванном, в отличие от нейрофибром, что может объяснить высокий уровень рецептора ККР в наших наблюдениях.

В связи с вышеизложенным остается нерешенным вопрос: существуют ли различия в чувствительности к VEGF разных органов и тканей, обладает ли он специфическим влиянием на отдельные ткани, в частности центральной нервной системы?

Таким образом, VEGF играет ключевую роль в ангиогенезе сосудистых и опухолевых процессов. Уровень его экспрессии при этих процессах неодинаков и зависит от механизмов его участия в развитии каждого вида патологии и потребности в нем различных видов опухолей.

#### Список литературы

1. Клеменс М. Выделение эукариотической матричной РНК (мРНК) // Транскрипция и трансляция. Методы. Пер. с англ./ Под ред. Б.Хеймса и С.Хиггинса.— М.:Мир, 1987. — С.254—275.
2. Abdulrauf S.I., Edvardson K., Ho K.L., et al. Vascular endothelial growth factor expression and vascular density as prognostic markers of survival in patients with low-grade astrocytoma // J Neurosurg. —1998. — V.88. —P.513—520.
3. Agani F., Kirsch H.G., Friedman S.L., et al. p53 does not repress hypoxia-induced transcription of the vascular endothelial growth factor gene // Cancer Res. —1997. — V.57. —P.4474—4477.
4. Amoroso A., Kel Porto F., Ki Monaco C., et al. Vascular endothelial growth factor: a key mediator of neoangiogenesis. A review //

- Europ. Rev. Med. Pharmacol. Sci. — 1997.—V1. —P.17—25.
5. *Bartholdi K., Rubin B.P., Schwab M.E.* VEGF mRNA induction correlates with changes in the vascular architecture upon spinal cord damage in the rat // *Europ. J. Neurosci.* — 1997. —V. —9. —P2549—2550.
  6. *Crew J.P., K'Brien T., Bradburn M., et al.* Vascular endothelial growth factor is a predictor of relapse and stage progression in superficial bladder cancer // *Cancer Res.* —1997. —V.57. —P.5281—5285.
  7. *K'Angelo G., Lee H., Weiner R.I.* cAMP-dependent protein kinase inhibits the mitogenic action of vascular endothelial growth factor and fibroblast growth factor in capillary endothelial cells by blocking Raf activation // *J. Cell. Biochem.* —1997. —V.67. —P.353—366.
  8. *Kietzmann K., von Bossanyi P., Warich-Kirches M., et al.* Immunohistochemical detection of vascular growth factors in angiomatous and atypical meningiomas, as well as hemangiopericytomas // *Pathol. Res. Pract.* —1997. —V.193. —P503—510.
  9. *Ergun S., Luttmner W., Fiedler W., Holstein A.F.* Functional expression and localization of vascular endothelial growth factor and its receptors in the human epididymis // *Biol. Reprod.* —1998. —V58. —P160—168.
  10. *Kang S.M., Maeda K., Knoda N., et al.* Combined analysis of p53 and vascular endothelial growth factor expression in colorectal carcinoma for determination of tumor vascularity and liver metastasis // *Int. J. Cancer*—1997. —V74. —P502—507.
  11. *Maeno N., Takei S., Imanaka H., et al.* Increased circulating vascular endothelial growth factor is correlated with disease activity in polyarticular juvenile rheumatoid arthritis // *J. Rheumatol.* —1999. —V26. —P2244—2248.
  12. *Miura H., Miyazaki T., Kuroda M., et al.* Increased expression of vascular endothelial growth factor in human hepatocellular carcinoma // *J. Hepatol.* —1997. — V.27. — P.854—861.
  13. *Papapetropoulos A., Garcia-Cardena G., Madri J.A., Sessa W.C.* Nitric oxide Production Contributes to the Angiogenic Properties of Vascular Endothelial Growth Factor in Human Endothelial Cells // *J. clin. Invest.* — 1997. — V.100—P. 3131—3139.
  14. *Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T.* Molecular cloning: A laboratory manual. — Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed.,1989. —485 p.
  15. *Shibuya M., Yamaguchi S., Yamane A., Ikeda T.* Nucleotide sequence and expression of a novel human receptor-type tyrosine kinase gene (flt) closely related to the fms family // *kncogene.* — 1990. —V.5. —P.519—524.
  16. *Sondell M., Lundborg G., Kanje M.* Vascular endothelial growth factor stimulates Schwann cell invasion and neovascularization of acellular nerve grafts // *Brain Res.* —1999. —V846, —P.219—228.
  17. *Stratmann R., Krieg M., Haas R., Plate K.H.* Putative control of angiogenesis in hemangioblastomas by the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene // *J. Neuropath. exp. Neurol.* —1997. —V.56. —P.1242—1252.
  18. *Terman B.I., Kougher-Vermazen M., Carrion M.E., Kimitrov K.* Identification of the KKR tyrosine kinase as a receptor for vascular endothelial cell growth factor // *Biochem. biophys. Res. Commun.* —1992. —V.187. — P.1579—1586.
  19. *Tischer, E., Mitchell R., Hartman T., et al.* The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple protein forms are encoded through alternative exon splicing // *J. biol. Chem.* —1991. —V.266. —P.11947—11954.
  20. *Vaquero J., Zurita M., de Kya S., Coca S.* Vascular endothelial growth/ permeability factor in spinal cord injury // *J. Neurosurg.* — 1999. —V.90. —P.220—223.
  21. *Sondell M., Lundborg G., Kanje M.* Vascular endothelial growth factor stimulates Schwann cell invasion and neovascularization of acellular nerve grafts/ // *Brain Res.* — 1999. —V.846. —P.219—228.
  22. *Sondell M., Lundborg G., Kanje M.* Vascular endothelial growth factor has neurotrophic activity and stimulates axonal outgrowth, enhancing cell survival and Schwann cell proliferation in the peripheral nervous system // *J. Neurol. Sci.* —1999. —V.19. —P.5731—5740.
  23. *Richard S., Campello C., Taillandier L., et al.* Haemangioblastoma of the central nervous system in von Hippel-Lindau disease. French VHL Study Group // *J. Intern. Med.* —1998. —V. 243. —P.547—553.
  24. *Leung S.Y., Chan A.S., Wong M.P., et al.* Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in pilocytic astrocytoma // *Am. J. Surg. Pathol.* —1997. — V.21. —P.941—950.
  25. *Wizigmann-Voos S., Plate K.H.* Pathology, genetics and cell biology of hemangioblastomas // *Histol. Histopathol.* — 1996. —V.11—P.1049—1061.

26. *Bohling T., Hatva E., Kujala M., et al.* Expression of growth factors and growth factor receptors in capillary hemangioblastoma // *J. Neuropath. exp. Neurol.* —1996. —V.55. —P.522—527.
27. *Li Q.F., Reis E.K., Zhang W.X., et al.* Accelerated flap prefabrication with vascular endothelial growth factor // *J. Reconstr. Microsurg.* —2000. —V.16. —P.45—49.
28. *Zhu Z., Witte L.* Inhibition of tumor growth and metastasis by targeting tumor-associated angiogenesis with antagonists to the receptors of vascular endothelial growth factor // *Invest. New. Krugs.* —1999. —V.17. —P.195—212.
29. *Wong E.Y., Morgan L., Smales C., et al.* Vascular endothelial growth factor stimulates dephosphorylation of the catenins p120 and p100 in endothelial cells // *Biochem J.* —2000. —V.15. —P.209—216.
30. *Chow N.H., Liu H.S., Chan S.H., et al.* Expression of vascular endothelial growth factor in primary superficial bladder cancer // *Anticancer Res.* — 1999. —V.19. —P.4593—4597.
31. *Peichev M., Naiyer A.J., Pereira K., et al.* Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CK34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors // *Blood* —2000. —V.95. —P.952—958.
32. *Rowe K.H., Huang J., Kayton M.L., et al.* Anti-VEGF antibody suppresses primary tumor growth and metastasis in an experimental model of Wilms' tumor // *J. pediat. Surg.* — 2000. —V.35. —P.30—32.
33. *Jyung R.W., LeClair E.E., Bernat R.A., et al.* Expression of angiogenic growth factors in paragangliomas // *Laryngoscope* —2000. —V.110. —P.161—167.
34. *Zhou J., Tang Z.Y., Fan J., et al.* Expression of platelet-derived endothelial cell growth factor and vascular endothelial growth factor in hepatocellular carcinoma and portal vein tumor thrombus // *J. Cancer. Res. Clin. kncol.* — 2000. —V. 126. —P.57—61.
35. *Seto S., Knodera H., Kaido T., et al.* Tissue factor expression in human colorectal carcinoma: correlation with hepatic metastasis and impact on prognosis // *Cancer.* —2000. —V.88. —P.295—301.
36. *Banerjee S.K., Zoubine M.N., Tran T.M., et al.* Overexpression of vascular endothelial growth factor164 and its co-receptor neuropilin-1 in estrogen-induced rat pituitary tumors and GH3 rat pituitary tumor cells // *Int. J. kncol.* — 2000. — V.16. —P.253—260.
37. *Uranishi R., Nakase H., Sakaki T.* Expression of angiogenic growth factors in dural arteriovenous fistula // *J. Neurosurg.* —1999. —V.91. —P.781—786.
38. *Homer J.J., Anyanwu K., Ell S.R., et al.* Serum vascular endothelial growth factor in patients with head and neck squamous cell carcinoma // *Clin. ktolaryngol.* —1999. —V.24. —P.426—430.
39. *Graeven U., Fiedler W., Karpinski S et al.* Melanoma-associated expression of vascular endothelial growth factor and its receptors FLT-1 and KKR // *J. Cancer. Res. Clin. kncol.* —1999. —V.125. —P.621—629.
40. *Prewett M., Huber J., Li Y., et al.* Antivascular endothelial growth factor receptor (fetal liver kinase 1) monoclonal antibody inhibits tumor angiogenesis and growth of several mouse and human tumors // *Cancer. Res.* — 1999. — V.59. —P.5209—5218.
41. *Gabrilovich K.I., Ishida T., Nadaf S., et al.* Antibodies to vascular endothelial growth factor enhance the efficacy of cancer immunotherapy by improving endogenous dendritic cell function // *Clin. Cancer. Res.* —1999. —V.5. —P.2963—2970.
42. *Wynendaele W., Kerua R., Hoylaerts M.F., et al.* Vascular endothelial growth factor measured in platelet poor plasma allows optimal separation between cancer patients and volunteers: a key to study an angiogenic marker in vivo? // *Ann. kncol.* —1999. —V.10. —P.965—971.
43. *Carroll R.S., Zhang J., Bello L., et al.* KKR activation in astrocytic neoplasms // *Cancer.* —1999. —V.86. —P.1335—1341.
44. *Christov C., Lechapt-Zalcman E., Adle-Biassette H., et al.* Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor (VPF/VEGF) and its receptor flt-1 in microcystic meningiomas // *Acta Neuropathol. (Berl.)* —1999. —V.98. —P.414—420.
45. *Holash J., Wiegand S.J., Yancopoulos G.K.* New model of tumor angiogenesis: dynamic balance between vessel regression and growth mediated by angiopoietins and VEGF // *kncogene.* —1999. —V.18. —P.5356—5362.
46. *Meister B., Grunebach F., Bautz F., et al.* Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors in human neuroblastoma // *Eur. J. Cancer.* —1999. — V.35. —P.445—449.
47. *Harada H., Nakagawa K., Iwata S et al.* Restoration of wild-type p16 down-regulates vascular endothelial growth factor expression and inhibits angiogenesis in human gliomas // *Cancer Res.* — 1999.—V.59.—P.3783—3789.

48. *Vaquero J., Zurita M., Coca S., et al.* Expression of vascular endothelial growth factor in cerebellar hemangioblastomas does not correlate with tumor angiogenesis // *Cancer Lett.* —1998.—V.23.—P.213—217.
49. *Altenschmidt U., Kahl R., Klundt E., et al.* Schwannoma cells induce a tumor-cell-specific cytotoxic-T-cell response upon transplantation into syngeneic rats but escape elimination through the secretion of immunosuppressive factors // *Int. J. Cancer.* —1997. —V.70.—P.542—550.
50. *Gridley K.S., Loreda L.N., Slater J.K et al.* Pilot evaluation of cytokine levels in patients undergoing radiotherapy for brain tumor // *Cancer Ketect. Prev.* —1998. —V.22.—P.20—29.
51. *Angelov L., Salhia B., Roncari L., et al.* Inhibition of angiogenesis by blocking activation of the vascular endothelial growth factor receptor 2 leads to decreased growth of neurogenic sarcomas // *Cancer Res.* — 1999. —V.59.—P.5536—5541.

#### Порівняльне вивчення експресії рецептора-2 фактору росту ендотелію судин в пухлинах спинного мозку і хребта

*Зозуля Ю.П., Васильєва І.Г., Сльн'яко Е.І., Чопик Н.Г*

Вивчено рівень експресії рецептору-2 (ККР) фактора росту ендотелію судин в різних пухлинах та судинних мальформаціях спинного мозку і хребта.

мРНК рецептора ККР була виявлена у всіх вивчених тканинах пухлин та мальформацій. Виявлено різну ступінь експресії рецептора-2 VEGF в різних зразках. Найвищий рівень експресії спостерігається в метастатичних пухлинах та шваномах. Експресія рецептора ККР в судинних пухлинах та мальформаціях була менше виражена. Менінгіоми потрапили до категорії пухлин з низьким рівнем експресії рецептору -2 (ККР) фактора росту ендотелію судин.

#### Comparative study of vascular endothelial growth factor receptor-2 expression in spinal tumors

*Zozulia U, Vasilyeva I, Slin'ko E, Chopick N.*

The vascular endothelial growth factor receptor-2 (KCR) expression in various tumors and vascular malformations of spinal cord was investigated.

The KCR mRNA was detected in all tumor tissues examined. However, we found different degree of VEGF receptor-2 expression in various tumor tissue samples. The highest expression was observed in the metastatic tumors and schwannomas. The KCR expression in vascular tumour and malformation was less pronounced. The meningiomas fall in category of tumour with small expression of VEGF receptor-2 (KCR).