УДК 616-092

КЛЕТОЧНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА НЕОВАСКУЛЯРИЗАЦИИ СЕТЧАТКИ

Лямина С.В., Комова О.Ю., Гаврилова Н.А., Малышев И.Ю.

ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, Москва, e-mail: svlvs@mail.ru

Неоваскуляризация является одной из отличительных особенностей в патогенезе целого ряда заболеваний сетчатки, включая ретинопатии недоношенных, диабетические ретинопатии и неоваскуляризацию хориоидеи, ассоциированную с возрастной макулярной дегенерацией. Анализ современных литературных данных позволяет уверенно и обоснованно выделить значимую роль молекулярного и клеточного компонентов регуляции как физиологического, так и патологического ангиогенеза. В обзоре литературы особое внимание уделено значимой роли макрофагов, одного из ключевых компонентов системы врожденного иммунитета, в регуляции ангиогенеза в сетчатке и сосудистой оболочке. Описаны особенности функциональной активности макрофагов различных фенотипов, существенным образом, определяющие вовлечение данных клеток в процесс ангиогенеза.

Ключевые слова: неоваскуляризация, сосудистый эндотелиальный фактор роста, макрофаги, проангиогенный фенотип, антиангиогенный фенотип

CELL AND MOLECULAR MECHANISMS OF RETINAL NEOVASCULARIZATION PATHOGENESIS

Lyamina S.V., Komova O.Y., Gavrilova N.A., Malyshev I.Y.

Moscow State University of Medicine and Dentistry n.a. A.I. Evdokimov, Moscow, e-mail: svlvs@mail.ru

Neovascularization is one of the distinctive features in pathogenesis of various retinal diseases, including retinopathy of prematurity, diabetic retinopathy, and choroidal neovascularization associated with age-related macular degeneration. Analysis of modern literature data allows to point out the significant role of molecular and cell regulatory components both in physiological and pathological angiogenesis. This literature review focuses on the important role of macrophages, a key component of the innate immunity, in the regulation of retinal and choroidal angiogenesis. We define functional activity features of different macrophage phenotypes in a substantial way essentially determining these cells involvement in angiogenesis.

Keywords: neovascularization, vascular endothelial growth factor, macrophage,proangiogenic phenotype, antiangiogenic phenotype

Вопросы ангиогенеза, возникновения и развития неоваскулярной патологии особенно актуальны в настоящее время в офтальмологии. Ряд заболеваний: диабетическая ретинопатия, влажная форма возрастной макулярной дегенерации, ретинопатия недоношенных достаточно часто встречаются в практике врача, а состояния, обусловленные неоваскуляризацией вследствие окклюзий центральных сосудов сетчатки, проходяшие через фазу неоваскуляризации в своем патогенезе и, в конечном итоге, приводяшие к слепоте, требуют конструктивных и персонализированных подходов терапии.

Рассматривая особенности неоваскуляризации сетчатки, следует отметить, что патологический ангиогенез в своем развитии проходит те же этапы, что и физиологический. Неотъемлемыми компонентами патогенеза ретинальной неоваскуляризации выступают локальная гипоксия, ишемия и ацидоз с последующими воспалением и макрофагальной инфильтрацией в очаге поражения. Показано, что гипоксия, ацидоз и воспалительная реакция стимулируют процесс ангиогенеза. Развитие гипоксии приводит к активации факторов, индуцируемых гипоксией (HIF), которые, в свою очередь, способствуют активации ангиогенных факторов [6]. Несмотря на существующие подходы и методы терапии, применяемые при аномальном ангиогенезе, необходимый эффект от проводимой терапии и улучшение прогноза пациентов достигаются не всегда, хотя методы терапии и основываются на общепринятых принципах комплексности и преемственности лечения больных. В настоящее время чрезвычайно перспективным и приоритетным направлением представляется проблема по разработке и внедрению новых персонализированных подходов терапии с учетом клеточных и молекулярных особенностей строения сетчатки и состава микроокружения ретинальных клеток.

Регуляция процессов формирования новообразованных сосудов

Регуляция процессов формирования новообразованных сосудов, с точки зрения со-

временных представлений, осуществляется благодаря наличию системы связанных между собой стимулирующих и ингибирующих факторов. Нарушение баланса в этой системе между про- и анти-ангиогенными факторами неуклонно ведет к патологической неоваскуляризации [32].

сетчатки и стекловидного тела с исходом в швартообразование. Контроль процесса ангиогенеза строго обусловлен взаимодействиями целого ряда ангиогенных и ангиостатических факторов, баланс которых и определяет условия запуска биохимического каскада, определяющего

Основные ангиогенные факторы

Ангиогенный фактор		Основные функции
Ангиопоэтин	Ang 1	Созревание сосудов, накопление перицитов
	Ang 2	Прорастание и миграция ЭК только в присутствии VEGF
Ангиогенин		Пролиферация ЭК
Активатор плазминогена	PA1	Миграция ЭК
Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор	GM-CSF	Пролиферация и миграция ЭК
Интерлейкины	IL-1, IL-6, IL-8, IL-13	Пролиферация ЭК, увеличение MMP
Инсулиноподобный фактор роста	IGF-1	Пролиферация ЭК, увеличение концентрации VEGF
Матричные металлопротеиназы	MMP-1, MMP-2, MMP-9	Деградация базальной пластины, ремоделирование ЭЦМ
Сосудистый эндотелиальный кадерин	VE-cadherin	Адгезия и пролиферация ЭК
Тромбин		Увеличение PDGF, ремоделирование ЭЦМ
Трансформирующий фактор роста	TGF-α, TGF-β	Пролиферация ЭК, ремоделирование ЭЦМ
Факторы, вызванные гипоксией	HIF-1α, HIF-1β, HIF-2α	Увеличение концентрации VEGF
Фактор некроза опухоли α	TNFα	Пролиферация ЭК, формирование трубки ЭК
Фактор роста фибробластов	aFGF, bFGF	Пролиферация и миграция ЭК, ремоделирование ЭЦМ
Факторы роста эндотелия сосудов	VEGF-A, VEGF-B, VEGF-c, VEGF-D, PIGF	Увеличение проницаемости сосудов, прорастание, миграция и пролиферация ЭК
Хемокиновые лиганды (C-C линия)	CCL1 (1-309)	Хемотаксис и дифференцирование ЭК
Хемокиновые лиганды (C-X-C линия)	CXCL6, CXCL12	Пролиферация ЭК
Эпидермальный фактор роста	EGF	Миграция и пролиферация ЭК
Эритропоэтин	EPO	Пролиферация ЭК
Эфриновые рецепторы, эфриновые лиганды	EphB4/ephrinB2	Артериальное и венозное дифференцирование

Примечание. ЭК – эндотелиальные клетки, ЭЦМ – экстрацеллюлярный матрикс.

Процесс формирования новообразованного сосуда сетчатки опосредован активацией каскадов ростовых факторов, хемокинов и протеаз и складывается из активации эндотелиальных клеток, разрушения базальной мембраны и миграции эндотелиальных клеток в экстрацеллюлярный матрикс с последующим формированием просвета нового сосуда и сосудистой стенки, перестройкой экстрацеллюлярного матрикса с формированием сосудистого ложа, что клинически представляет собой неоваскуляризацию

новообразование сосудов [2]. В последние годы выделены многочисленные молекулярные индукторы ангиогенеза, к которым относятся разные формы фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), ангиопоэтины, трансформирующий фактор роста (TGF), эпидермальный фактор роста (EGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), фактор некроза опухолей-α (TNF-α), инсулиноподобный фактор роста (IGF), сосудистый эндотелиальный кадерин (VE-cadherin), интерлейкины, факторы роста фибробластов (FGF) (таблица).

Молекулярные регуляторы ангиогенеза – сосудистый эндотелиальный фактор роста

В исследованиях последних лет обнаружено множество ростовых факторов, гормонов метаболитов, которые прямо или опосредовано стимулируют процессы физиологического и патологического ангиогенеза [9; 27]. Одним из наиболее значимых молекулярных факторов контроля формирования сосудов являются протеины семейства сосудистого эндотелиального фактора роста (Vascular Endothelial Growth Factor), VEGF. Установлено, что как in vitro, так и in vivo VEGF обладает ангиогенными свойствами. VEGF, образованный ретинальными пигментными клетками, обеспечивает жизнедеятельность хориокапилляров [22], обладает нейропротективным эффектом при ишемии сетчатки [26]. Основным стимулом к повышению его экспрессии является гипоксия. В ответ на влияние гипоксии в ретинальных клетках повышается внутриклеточная концентрация HIF-1 – специфического белка, регулирующего транскрипцию генов [1; 12]. Повышение концентрации HIF-1 внутри клетки приводит к усилению транскрипции гена VEGF, который, выделяясь в межклеточный матрикс, действует непосредственно на эпителий, обеспечивая регенерацию и, стимулируя пролиферацию, образование новых сосудов [1]. Также повышение продукции VEGF отмечено при действии ряда противовоспалительных цитокинов (IL-1 и IL-6) и ростовых факторов (эпидермальный фактор роста Epidermal Growth Factor, трансформирующий фактор роста Transforming Growth Factor).

Семейство факторов роста эндотелия сосудов VEGF включает VEGF-A, VEGF-B, плацентарный фактор роста (PlGF), VEGF-C, VEGF-D, участвующие в ангиогенезе. Наиболее изученным представителем семейства факторов роста эндотелия сосудов является VEGF-A, который изначально описывали как фактор проницаемости сосудов, т.к. он увеличивает проницаемость эндотелия путем формирования интрацеллюлярных разрывов и фенестраций [17; 33]. Широко известно, что VEGF-A крайне важен в процессах ангиогенеза и васкулогенеза: потеря даже одного аллельного гена этого фактора у мышей приводит к значительным сосудистым дефектам и сердечным порокам [5].

Факторы роста эндотелия сосудов селективно связываются с пятью различными типами рецепторов: VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, нейропилин-1 (NRP-1) и нейропилин-2 NRP-2 [17; 33; 36]. Считается, что главным рецептором, ответственным за ангиогенные эффекты VEGF-A является VEGFR-2, относящийся к группе трансмембранных тирозиновых киназ [36]. Кроме того, биологическая активность VEGF-A может быть опосредована через взаимодействие с VEGFR-1, а также с NRP-1 и NRP-2 [33]. В тоже время, роль VEGFR-1 в ангиогенезе остается спорной, так как в разных исследованиях было показано, что его активация стимулирует и угнетает ангиогенез. Тем не менее, растворимый VEGFR-1 ингибирует ретинальный ангиогенез in vivo [3]. Установлено, чтоVEGFR-3 проявляет высокую активность в прорастании эндотелиальных клеток in vivo и его индукция, как и VEGFR-2 стимулирует ангиогенез [35].

Помимо ангиогенных свойств, установлена и провоспалительная активность VEGF, выражающаяся в увеличении экспрессии хемоаттрактантов (в том числе MCP-1) и молекул клеточной адгезии (VCAM-1, ECAM-1, PECAM-1, P-selectin). В результате возникает усиление миграции и активация моноцитов и лейкоцитов, усиление их адгезии в микрососудах сетчатки, что приводит к диапедезу и инфильтрации сетчатки лейкоцитами, потере эндотелиальных клеток и нарушению проницаемости гематоретинального барьера [7].

Клеточный компонент регуляции неоангиогенеза. Роль макрофагов

Определено, что продукция VEGF опосредована значительным числом клеток – макрофагами, кератиноцитами, фибробластами, гепатоцитами, эпителиальными, тучными клетками, мезангиальными, эндотелиальными и другими. Помимо указанных ангиогенных свойств и провоспалительной активности, VEGF также способен выступать в качестве хемоаттрактанта для одних из основных клеток системы врожденного иммунитета – макрофагов. Сегодня особый интерес вызывает клеточный компонент регуляции неоангиогенеза и его значимость в ангиогенезе, так как известно, что активность макрофагов играет существенную роль в ангиогенезе, блокируя [4; 15; 19; 25; 34] или стимулируя [11; 30] формирование сосудов в зависимости от своего фенотипа (M1 или M2) [24].

Исследования последних лет показали, что приобретение макрофагами того или иного функционального фенотипа, т.е. поляризация данных клеток, существенным образом опосредована клеточным микроокружением и, в значительной степени, цитокинами. Недавно было установлено, что in vitro макрофаги способны к полной реполяризации, т.е. изменению функционального и секреторного фенотипа из M2

в M1, и обратному изменению в ответ на колебания в цитокиновом микроокружении [8]. Это изменение поляризации протекает стремительно и возникает на уровне экспрессии генов, белка, метаболитов и микробной активности. Это особенно важно, так как поляризация макрофагов играет существенную роль в определении конечной эффекторной функции этих клеток [24]. Макрофаги, стимулированные в присутствии ИФН-γ, ЛПС или GM-CSF продуцируют высокие уровни таких цитокинов, как IL-12, IL-23, IL-6, TNF-α и iNOS2, при этом уровень продукции IL-10, TGF-β и аргиназы 1 (Arg-1) снижен. Таким образом, это определяет формирование классически активированного, анти-ангиогенного макрофага фенотипа M1, что также важно для контроля антибактериальной функции и участия в процессе воспаления. В присутствии IL-10, IL-4, или интерлейкина-13, активация макрофагов происходит по альтернативному пути, что приводит к поляризации клеток в сторону про-ангиогенного M2 фенотипа, характеризующегося высоким уровнем продукции IL-10, TGF-β и Arg-1 при существенном снижении уровней провоспалительных цитокинов, таких как IL-6 и TNF-α. Данный факт особенно значим, поскольку экспериментальные данные показывают, что старение у мышей приводит к смещению популяции макрофагов в сторону проангиогенного фенотипа [19]. Несмотря на то, что принятое сегодня условное деление макрофагов на две отдельных M1 и M2 популяции может быть достаточно условным, установлено, что спектр макрофагов четко определяет ангиогенные функции данных клеток и их участие в процессе неоваскуляризации.

С точки зрения участия в процессе неоваскуляризации сетчатки, особый интерес представляют именно макрофаги M2 фенотипа, регулирующие активность воспалительной реакции, способствующие ремоделированию и репарации тканей, поврежденных при воспалении, ангиогенезу и опухолевому росту [21; 23]. В настоящее время в литературе условно выделяют несколько подтипов M2 фенотипа макрофагов: M2a, M2b, M2c и M2d в зависимости от профилей экспрессии генов [20]. Формированию подтипа M2a способствуют IL-4 или IL-13 (обычно IL-4R-alpha, CD124). В формировании подтипа M2b играют существенную роль IL-1Rлиганды или воздействия иммунных комплексов в сочетании с действием липополисахарида (ЛПС). В образовании подтипа M2c принимают участие IL-10, TGF-beta и глюкокортикостероиды [16]. Четвертый подтип M2 макрофагов M2d характеризуется высоким уровнем продукции IL-10 при снижении продукции IL-12 (профиль продукции IL-10^{high} IL-12^{low}) с некоторыми характеристиками, свойственными опухоле-ассоциированным макрофагам (TAM). Макрофаги M2d фенотипа обладают фенотипическими и функциональными атрибутами, подобными TAM яичников, но отличаются от M2a-c [10]. Подтипы M2 макрофагов, как правило, демонстрируют IL-2^{low}, IL-23^{low}, IL-10^{high} фенотип, сочетающийся с высокими уровнями фагоцитарных скэвенджер-рецепторов, маннозных и галактозных рецепторов. Они переориентируют метаболизм аргинина на орнитин и полиамин, что обеспечивает их рост. Кроме того, данные подтипы являются IL-1-RA^{high}, рецептор второго типа IL-1R^{high}, IL-1beta^{low}, каспаза 1^{low}.

Особое внимание в последнее время уделяется изучению и специфического типа макрофагов – опухолеассоциированных макрофагов (Tumor Associated Macrophage, TAM) и их роли в содействии ангиогенезу. Показано, что TAM опосредует некоторые свои эффекты на рост опухоли за счет регуляции ангиогенеза [31]. TAM привлекаются опухолью с помощью ряда различных цитокинов, таких как CCL2 и CSF-1/M-CSF [31] в ряде различных тканей, включая кости, головной мозг, молочные железы, шейку матки, толстую кишку, легкие. Известно, что макрофаги способствуют ангиогенезу частично за счет секреции VEGF, наряду с протеазами, такими как матриксные металлопротеиназы (MMP) [31].

Традиционно считалось, что основным источником медиаторов ангиогенеза являются опухолевые клетки [13]. Действительно, проведенные исследования показали, что злокачественные клетки могут продуцировать многочисленные ангиогенные факторы, включая фактор роста эндотелия сосудов A (VEGF-A), ангиопоэтины, фактор роста гепатоцитов (HGF) и основной фактор роста фибробластов (bFGF), и различные мутации онкогенов или генов супрессоров опухолей могут привести к увеличенному образованию по меньшей мере некоторых из этих факторов [29; 37].

Заключение

Таким образом, учитывая взаимное влияние молекулярного микроокружения на клеточные регуляторы процесса ангиогенеза и последующую секрецию ангиогенных факторов, несомненна значимость модулирующего действия иммунной системы [14; 18; 28], выражающаяся, прежде всего, в изменении функциональной активности и поляризации ретинальных макрофагов.

В свою очередь, понимание процессов поляризации макрофагов при патологических состояниях, связанных с неоваскуляризацией, позволит предложить и разработать новые методы лечения и профилактики развития как ретинальной неоваскуляризации, так и избыточного опухолевого ангиогенеза. Направленное изменение фенотипа (репрограммирование) ретинальных макрофагов может создать основу для инновационного персонализированного терапевтического подхода, позволяющего достичь необходимого антиангиогенного эффекта и заблокировать формирование нежелательной неоваскуляризации сетчатки, что позволит предотвратить развитие пролиферативных заболеваний сетчатки и их наиболее грозных осложнений – слепоты и слабовидения.

Работа выполнена в рамках гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых № 14.120.14.2976-МК от 03.02.2014 г.

Список литературы

1. Кузьмин А.Г. Анти-VEGF препараты для лечения диабетической ретинопатии // Сахарный диабет. – 2009. – № 2. – С. 33–37.

2. Adams R.H., Alitalo K. Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis // Nat Rev Mol Cell Biol. – 2007. – Vol.8. – P. 464–478.

3. Aiello L.P. Suppression of retinal neovascularization in vivo by inhibition of vascular endothelial growth-factor (VEGF) using soluble VEGF-receptor chimeric proteins // Proc Natl Acad Sci USA. – 1995. – Vol. 92. – P. 10457–10461.

4. Apte R.S. Macrophages inhibit neovascularization in a murine model of age-related macular degeneration // PLoS Med. – 2006. – Vol. 3. – P. 310–320.

5. Carmeliet P. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele // Nature. – 1996. – Vol. 380. – P. 435–439.

6. Charleswirth P.J.S., Harris A.L. Mechanism of disease: angiogenesis in urologic malignancies // Nature Clin. Pract. – 2006. – Vol. 3. – P. 157–169.

7. Das A., Friberg T. Therapy For Ocular Angiogenesis: Principles And Practice. – Lippincott Williams and Wilkins, 2011. – P. 464.

8. Davis M. J. Macrophage M1/M2 polarization dynamically adapts to change in cytokine microenvironments in Cryptococcus neoformans // Infection. mBio. – 2013. – Vol. 4. – P. 1–10.

9. Distler J.H.W. Angiogenic and angiostatic factors in the molecular control of angiogenesis // Q J Nucl Med. – 2003. – Vol. 47. – P. 149–161.

10. Duluc D. Tumor-associated leukemia inhibitory factor and IL-6 skew monocyte differentiation into tumor-associated macrophage-like cells // Blood. – 2007. – Vol. 110. – P. 4319–4330.

11. Espinosa-Heidmann D.G., Macrophage depletion diminishes lesion size and severity in experimental choroidal neovascularization // Invest Ophthalmol Vis Sci – 2003. – Vol. 44. – P. 3586–35923.

12. Flamme I., Fr_hlich T., von Reutern M. HRF, a putative basic helix-loop-helixPAS-domain transcription factor is closely related to hypoxia-inducible factor-1 alpha and developmentally expressed in blood vessels // Mech Dev.– 1997. – Vol. 63. – P. 51–60.

13. Folkman, J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications // N Engl J Med. – 1971. – Vol. 385. – P. 1182–1186.

14. Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer // Cell. – 2000. – Vol. 100. – P. 57–70.

15. Hansson G.K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease // N Engl J Med. – 2005. – Vol. 352. – P.1685–1695.

16. Hao N.B. Macrophages in tumor microenvironments and the progression of tumors // Clinical and Developmental Immunology. – 2012. – P. 1–11.

17. Holmes D.I.R., Zachary I. The vascular endothelial growth factor family: angiogenic factors in health and disease // Genome Biol. – 2005. – Vol.6. – P. 1–10.

18. Karnoub A.E. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis // Nature. – 2007. – Vol. 449. – P. 557–563.

19. Kelly J. Senescence regulates macrophage activation and angiogenic fate at sites of tissue injury in mice // J Clin Invest – 2007. – Vol. 117. – P. 3421–3426.

20. Mantovani A. Macrophage diversity and polarization.: in vivo veritas // Blood. – 2006. – Vol. 108(2). – P. 408–409.

21. Mantovani A. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization // Trends Immunol. – 2004. – Vol. 25. – P. 677–686.

22. Marneros A.G. Vascular endothelial gaowth factor expression in retinal pigment epithelium is essential for choriocapillaris development and vision function // Am. J. Pathol. – 2005. – Vol. 167.– P. 1451–1459.

23. Martinez F.O. Macrophages activation and polarization // Front Biosci. – 2008. – Vol. 1(13). – P. 453–61.

24. Mosser D.M. The many faces of macrophage activation // J Leukoc Biol – 2003. – Vol. 73. – P. 209–212.

25. Nakao S. Infiltration of COX-2-expressing macrophages is a prerequisite for IL-1beta-induced neovascularization and tumor growth // J Clin Invest – 2005. – Vol. 115. – P. 2979–2991.

26. Ogata N. Unbalanced vitreous levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor in diabetic retinopathy // Am J Ophthalmol. – 2002. – Vol. 134(3). – P. 348–353.

27. Otrock Z.K. Understanding the biology of angiogenesis:review of the most important molecular mechanisms // Blood Cells Mol Dis 2007. – Vol. 39. – P. 212–220.

28. Rafii S. Vascular and hematopoietic stem cells: novel targets for anti-angiogenesis therapy // Nat Rev Cancer. – 2002. – Vol. 2. – P. 826–835.

29. Rak J. Mutant ras oncogenes upregulate VEGF/VPF expression: implications for induction and inhibition of tumor angiogenesis // Cancer Res. – 1995. – Vol. 55. – P. 4575–4580.

30. Sakurai E. Macrophage depletion inhibits experimental choroidal neovascularization // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2003. – Vol. 44. – P. 3578–3585.

31. Sica A., Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas // Citation Information: J Clin Invest. – 2012. – Vol. 122(3). – P. 787–795.

32. Simo R. Angiogenic and antiangiogenic factors in proliferative diabetic retinopathy // Curr. Diabetes Rev. – 2006. – Vol. 2(1). – P. 71–98.

33. Tammela T. The biology of vascular endothelial growth factors // Cardiovasc Res 2005. – Vol. 65. – P. 550–563.

34. Taylor P.R. Macrophage receptors and immune recognition // Annu Rev Immunol. – 2005. – Vol. 23. – P. 901–944.

35. Witmer A.N. VEGFR-3 in adult angiogenesis // J Pathol. – 2001. – Vol. 195. – P. 490–497.

36. Witmer A.N. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease // Prog Retin Eye Res. – 2003. – Vol. 22. – P. 1–29.

37. Wizigmann-Voos S. Up-regulation of vascular endothelial growth factor and its receptors in von Hippel-Lindau disease-associated and sporadic hemangioblastomas // Cancer Res. – 1995. – Vol. 55. – P. 1358–1364.