

ULOGA ANGIOGENEZE U RASTU I PROGRESIJI TUMORA
Terapija inhibitorima angiogeneze:
Od obećavajućih rezultata pokusnih životinjskih modela
do realnosti kliničke primjene

ROLE OF ANGIOGENESIS IN TUMOR PROGRESSION
Angiogenesis inhibitors therapy:
From promising experimental animal models to reality of clinical use

NATALIJA DEDIĆ PLAVETIĆ, TOMISLAV LETILOVIĆ, DAMIR VRBANEC*

Deskriptori: Tumori – prokrvljenost, patologija, farmakoterapija; Patološka neovaskularizacija – farmakoterapija; Inhibitori angiogeneze – terapijska upotreba; Progresa bolesti

Sažetak. Razvoj novih krvnih žila važan je u rastu primarnog tumora i u procesu metastaziranja. Tumorske stanice mogu aktivirati mirujuće endotelne stanice te dovesti tako do stvaranja novih krvnih žila. Razumijevanje molekularnih mehanizama uključenih u taj proces ključno je za razvoj antiangiogenih lijekova. Antiangiogena terapija trebala bi dopuniti konvencionalne terapijske protokole. Klasična kemoterapija usmjerena je prema tumorskim stanicama koje su genski nestabilne te kao takve sklone razvijanju rezistencije, dok je antiangiogena terapija usmjerena prema genski stabilnim endotelnim stanicama. Preliminarni pretklinički rezultati pokazali su da endotelne stanice ne razvijaju rezistenciju te da antiangiogena terapija može dovesti do zaustavljanja rasta tumora. Novija klinička istraživanja pokazala su ograničenja angiogene terapije, no kombinirana primjena antiangiogenih lijekova i klasične kemoterapije poboljšava rezultate konvencionalnih terapijskih protokola za diseminiranu bolest.

Descriptors: Neoplasms – blood supply, pathology, drug therapy; Neovascularization, pathologic – drug therapy; Angiogenesis inhibitors – therapeutic use; Disease progression

Summary. The development of new blood vessels (angiogenesis) is necessary to sustain the growth of primary tumor as well as a process of tumor metastasis. Cancer cells activate the quiescent vasculature to produce new blood vessels via an »angiogenic switch«. Understanding of molecular mechanisms involved in that process is essential for the development of antiangiogenic drugs. Drugs that inhibit angiogenesis could offer a treatment that is complementary to traditional chemotherapy. Chemotherapy directly targets tumor cells, which are prone to develop acquired drug resistance due to genetic instability. Antiangiogenic therapy is directed against endothelial cells in tumor stroma, which are genetically stable. First results from animal studies supported the theory that endothelial cells do not develop drug resistance and had excellent results in inducing tumor quiescence. However, recent clinical trials showed that antiangiogenic therapy has limitations but that it can improve conventional therapeutic modalities of disseminated disease.

Liječ Vjesn 2003;125:260–265

Angiogeneza je fiziološki proces u kojem dolazi do stvaranja krvnih žila od već postojećih. Pravilan tijek ovoga procesa važan je u mnogim fiziološkim stanjima poput embrionalnog razvoja, održavanja reproduktivne funkcije žene (obnova endometrija nakon menstruacije, stvaranje žutog tijela, placencija tijekom trudnoće) te procesa cijeljenja. Regulacija intenziteta angiogeneze ovisi o ravnoteži angiogenih i angiostatskih čimbenika. Prikaz tih endogenih čimbenika nalazi se na tablici 1. U većini normalnih tkiva prevladavaju angiostatski čimbenici pa stanice izolirane iz tih tkiva *in vitro* ne stimuliraju angiogenezu.¹ Različiti čimbenici poput hipoksije, acidoze, hipoglikemije ili povišenja unutartkivnog tlaka mogu stimulirati stvaranje novih krvnih žila povećanjem ekspresije angiogenih čimbenika.²

Ako se izgubi ravnoteža između angiogenih i angiostatskih čimbenika, angiogeneza postaje patološka te kao takva može doprinosti patogenezi mnogih bolesti. Danas se uvelike istražuje doprinos angiogeneze tumorskoj bolesti, reumatoidnom artritisu,³ psorijazi,⁴ proliferativnoj dijabetičkoj retinopatiji⁵ te u razvitku kolateralne cirkulacije u ishemičnim organima (npr. hipoksičnom srcu) i ekstremitetima.⁶ U patogenezi malignih bolesti angiogeneza ima ulogu u rastu primarnog tumora te nastanku i rastu metastaza (čini se da ima i pozitivan i negativan učinak).

Osim pojma angiogeneza u literaturi se često susreće i pojam vaskulogeneza. Ovaj pojam rabi se za opisivanje procesa u kojem dolazi do stvaranja potpuno novih krvnih žila, dakle ne iz već postojećih, iz stanica endotelnih prekursora. Vaskulogeneza nema toliko važnu ulogu u razvitku tumora kao angiogeneza.²

Važnost angiogeneze
u rastu primarnog tumora

Stanice ljudskog organizma ovisne su o dopremi kisika i hranjivih tvari te je za njihovo preživljenje ključno da se nalaze dovoljno blizu krvne žile. Procjenjuje se da stanica ne bi smjela biti udaljena više od 100 do 200 µm od najbliže krvne žile, što otprilike odgovara difuzijskom kapacitetu za kisik.^{2,7}

Humani tumori u početku svog rasta uglavnom nisu angiogenog fenotipa. Pojedini stadiji u razvitku tumora poput prekan-

* Zavod za internističku onkologiju Klinike za onkologiju, Medicinski fakultet i KBC Zagreb, (mr. sc. Natalija Dedić Plavetić, dr. med.; prof. dr. sc. Damir Vrbanc, dr. med.), Katedra za patofiziologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu (Tomislav Letilović, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Mr. sc. N. Dedić Plavetić, Zavod za internističku onkologiju Klinike za onkologiju KBC Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb
Primljeno 27. ožujka 2003., prihvaćeno 26. lipnja 2003.

Tablica 1. *Endogeni angiogeni i angiostatski čimbenici*
Table 1. *Endogenous stimulators and inhibitors of angiogenesis*

Angiogeni čimbenici Stimulators of angiogenesis		Angiostatski čimbenici Inhibitors of angiogenesis	
Čimbenik (engl. kratica) Factor	Molekularna težina (kDa) Molecular weight	Čimbenik (engl. kratica) Factor	Molekularna težina (kDa) Molecular weight
Čimbenik rasta krvnožilnog endotela (VEGF) Vascular endothelial growth factor	40–45	Angiostatin	38
Bazični čimbenik rasta fibroblasta (bFGF) Basic fibroblast growth factor	18	Endostatin	20
Kiselni čimbenik rasta fibroblasta (aFGF) Acid fibroblast growth factor	16,4	Trombospondin Thrombospondin	140
Transformirajući čimbenik rasta α (TGF α) Transforming growth factor α	5,5	Trombocitni čimbenik 4 (PF4) Platelet factor 4	27–29
Transformirajući čimbenik rasta β (TGF β) Transforming growth factor β	25	Interferon α	19–26
Angiogenin Angiogenin	14,1	Antitrombin III Antithrombin	53
Čimbenik rasta endotelnih stanica izoliran iz trombocita (PD-ECGF) Platelet derived endothelial cell growth factor	45	Troponin I	22
Čimbenik rasta kolonija granulocita (G-CSF) Granulocyte colony stimulating factor	17	Interleukin 12	70–75
Angiopoietin 1	70	Vazostatin Vasostatin	21
Interleukin 8	40	Fragment prolaktina Prolactin fragment	18
Čimbenik rasta hepatocita Hepatocyte growth factor	92	Kanstatin	24
Čimbenik rasta posteljice Placental growth factor	25	Restin	22

ceroze, lokalno ograničenog tumora (karcinoma *in situ*) pa sve do invazivnog karcinoma pokazuju progresivno povećanje broja krvnih žila.⁸ *In situ* karcinomi mogu mjesecima preživjeti bez stvaranja vlastite krvne opskrbe, ali je time njihov volumen ograničen na nekoliko mm³. Tumori te veličine mogu samom difuzijom zadovoljiti potrebe za hranjivim tvarima, dok daljnji rast ovisi o stvaranju primjerene krvne opskrbe novostvorenim žilama.⁹ Novostvorene krvne žile pospješuju tumorski rast putem perfuzijskog i parakrinog učinka. Perfuzijski učinak odnosi se na dopremu hranjivih tvari i kisika, dok se parakrini učinak odnosi na proizvodnju čimbenika rasta, koji potiču rast tumora, iz novonastalih endotelnih stanica.^{10–12} Endotelne stanice proizvode niz čimbenika koji moduliraju rast i ponašanje tumorskih stanica poput inzulinu sličnog čimbenika rasta 1 i 2, (kratica IGF1 i 2 od engleskog *insulin like growth factor*); čimbenika rasta izoliranog iz trombocita (kratica PDGF od engleskog *platelet derived growth factor*), kemotaktičkog peptida za makrofage (kratica MCP od engleskog *macrophage chemotactic peptide*)¹³ i drugih. Parakrina interakcija endotelnih i tumorskih stanica je uzajamna, jer i tumorske stanice luče čimbenike koji utječu na proliferaciju i migraciju endotelnih stanica.

Stvaranju novih krvnih žila u tumorima na pridonosi samo povećanje sinteze angiogenih čimbenika već i potiskivanje sinteze angiostatskih čimbenika (obje skupine čimbenika prikazane su na tablici 1). Time tumorske promjene poprimaju takozvani »angiogeni fenotip«.¹⁴

Angiogeni čimbenici

Angiogeni čimbenici potrebni za neovaskularizaciju tumora stvaraju se iz najmanje tri izvora: sintezom u tumorskim stanicama,¹⁵ sekrecijom iz makrofaga koji infiltriraju tumor¹⁶ te enzimatskom degradacijom međustaničnog matriksa od stra-

ne makrofaga i/ili tumorskih stanica.¹⁷ Neki tumori rabe kombinaciju nabrojanih mehanizama,¹¹ dok neki, primjerice melanom,¹⁸ samostalno proizvode više različitih angiogenih čimbenika.

Najčešće spominjani i najbolje karakterizirani angiogeni čimbenik jest čimbenik rasta endotela krvnih žila (kratica VEGF od engleskog *vascular endothelial growth factor*), a njegova je angiogena djelotvornost dokazana u brojnim *in vivo* i *in vitro* studijama. Osim mitogenog učinka VEGF povećava permeabilnost krvnih žila i u tom procesu je 50 000 puta djelotvorniji od histamina, kao klasične molekule koja povećava propustljivost krvnih žila.¹⁹ Uz VEGF bazični čimbenik rasta fibroblasta (kratica bFGF od engleskog *basic fibroblast growth factor*) dobro je poznat angiogeni čimbenik, koji je svoju angiogenu djelotvornost pokazao u studijama cijeljenja peptičkog ulkusa želuca, gdje se dokazao kao milijun puta potentniji od H₂-antagonista.² Drugi rjeđe spominjani, ali ne manje važni čimbenici jesu kiselni čimbenik rasta fibroblasta (kratica aFGF od engleskog *acidic fibroblast growth factor*), transformirajući čimbenik rasta alfa (kratica TGF- α od engleskog *transforming growth factor alpha*), PDGF, čimbenik rasta endotelnih stanica podrijetla trombocita (kratica PD-ECGF od engleskog *platelet derived endothelial cell growth factor*), interleukin 8 itd.¹⁰

Osim ovih čimbenika koji imaju učinak na endotelne stanice u literaturi se vrlo često navode i čimbenici koji su bitni za preživljavanje endotelnih stanica. Od čimbenika preživljavanja bitno je izdvojiti integrine, kao athezijske molekule na površini endotelnih stanica koje omogućuju endotelnoj stanici prianjanje uz ekstracelularni matriks, a bez čega dolazi do apoptoze endotelne stanice. Sličnu ulogu imaju i angiopoietini u čijoj porodici nalazimo 4 molekule od kojih neke imaju inhibicijski (angiopoietin 2), a neke poticajni učinak (angiopoietin 1) na endotelne stanice. Preživljenje tumorskih stanica pospješuju i

peridotelne stanice (periciti), koje mogu takav učinak imati čak i u odsutnosti drugih angiogenih čimbenika.¹⁹

Za razumijevanje patogeneze procesa stvaranja novih krvnih žila, kao i za potencijalne terapijske zahvate važno je poznavanje i molekula koje su nadređene ovim angiogenim čimbenicima kao što je primjerice hipoksijom inducirani čimbenik $I\alpha$ (kratica HIF- $I\alpha$ od engleskog *hypoxia inducible factor 1 α*). Ekspresija ovog čimbenika povećana je u uvjetima hipoksije, a funkcija mu je poticanje transkripcije brojnih angiogenih čimbenika (VEGF, PDGF, angiopoietin).^{2,19}

Angiogeni čimbenici mogu djelovati i posredno putem drugih medijatora. Primjer takvog medijatora je dušični oksid (NO) koji posreduje mitogeni učinak VEGF-a na endotelne stanice. Dodatak VEGF-a endotelnim stanicama *in vitro* potiče pojačanu sintezu NO-a, a inhibicija enzima sintetaze dušičnog monoksida s pomoću L-NAME (N-nitro-L-arginin metilni ester) dokida mitogeni učinak VEGF-a.^{20,21} U tumorima glave i vrata nađena je povišena produkcija NO-a, kao i povezanost između angiogene sposobnosti i razine NO sintetaze u uzorcima tumora.²²

Angiostatski čimbenici

Trombospondin je prvi angiostatski čimbenik čiji je izražaj nađen u normalnim stanicama. On je vrlo često mutacijama inaktiviran u tumorskim stanicama¹ te razina njegove sinteze može tada iznositi svega 4–6% od osnovne. Ovaj se endogeni čimbenik u humanim stanicama nalazi pod kontrolom p53 tumor supresorskog gena^{1,15} za koji je poznato da je mutiran u velikom broju tumora.

O'Reilly i suradnici su 1994. izolirali angiostatski čimbenik iz plazme i urina miševa s Lewisovim plućnim karcinomom, nazvan angiostatin. On je specifični inhibitor proliferacije endotelne stanice, koji se u cirkulaciji pojavljuje isključivo u prisutnosti primarnog tumora.²³ Za razliku od trombospondina koji proizvode tumorske stanice *per se*, angiostatin nastaje enzimatskim cijepanjem plazminogena bilo metaloelastazama iz makrofaga u stromi tumora,²⁴ bilo serinskim proteazama koje luče same tumorske stanice.²⁵ U plazmi se može otkriti do 5 dana nakon uklanjanja primarnog tumora (vrijeme poluraspada je 2,5 dana).¹⁹

Iz plazme štakora s hemangioendoteliomom izoliran je još jedan endogeni inhibitor angiogeneze: endostatin. To je C-terminalni fragment kolagena XVIII²⁶ iz kojeg se oslobađa djelovanjem enzima elastaze.¹⁸ Zanimljiva je činjenica da bez obzira na dokazani antiangiogeni učinak endostatin ne interferira s procesom cijeljenja rane.¹⁷

Poznato je još nekoliko endogenih inhibitora angiogeneze (trombocitni čimbenik 4,^{27,28} interferon α , N-terminalni fragment prolaktina²⁹), ali nisu svi povezani s prisutnošću tumora. Neki od njih su već upotrijebljeni u kliničkim studijama, tako je interferon α upotrijebljen s dosta uspjeha u terapiji životno opasnih hemangioma dječje dobi.¹⁰

Uloga angiogeneze u patogenezi metastaziranja

Proces metastaziranja ovisi o angiogenezi u bar dva patogeneza događaja. Prvo, novostvorene krvne žile svojom propusnošću, mjestimice nedostatkom bazalne membrane i slabijim međustaničnim pobočnim svezama, omogućavaju tumorskim stanicama ulazak u cirkulaciju.³⁰ Drugo, nakon dospjeća u ciljne organe metastatske tumorske stanice moraju razviti vlastitu žilnu mrežu da bi narasle do klinički zamjetljive veličine. Utjecaj angiogeneze na klinički ishod bolesti potvrđen je u nekoliko vrsta tumora (dojka, pluća), gdje je pokazano da gustoća krvnih žila u tumoru korelira s brojem metastaza, a time i preživljenjem bolesnika.^{31,32}

Utjecaj primarnog tumora na rast metastaza

Početak prošlog stoljeća kirurzi su zamijetili da nakon uklanjanja primarnog tumora dolazi do brzog rasta visceralnih metastaza.³³ Tumačenje ovog fenomena dugo je počivalo na sljedeće tri teorije: 1) teorija »konkomitantne imunosti«³⁴ govori o imunosnom odgovoru primarnog tumora protiv metastaza; 2) nutritivna teorija naglašava nedostatnu opskrbu metastaza potrebnim nutrientima zbog velike potrošnje u primarnom tumoru; 3) antiproliferativna teorija po kojoj stanice primarnog tumora luče antimitotske čimbenike koji direktno inhibiraju proliferaciju tumorskih stanica u metastazi.³⁵ Ni jedna od ponuđenih teorija nije dala zadovoljavajući molekularni mehanizam za objašnjenje ovog fenomena.

Trenutno najveću pozornost privlači hipoteza o kontroli rasta metastaza angiostatskim čimbenicima iz primarnog tumora.^{11,36} Primarni tumor raste zahvaljujući novonastalom žilju kao posljedici prevlasti angiogenih nad angiostatskim čimbenicima u njemu samome. Angiostatski čimbenici zahvaljujući svom duljem poluvijeku života, dospjevaju krvotokom do mikrometastaza čije stanice još ne stvaraju dovoljne količine angiogenih čimbenika. Kao rezultat nastaje inhibicija rasta metastaze na onoj veličini koja ne zahtijeva novostvorene krvne žile, tj. u obliku mikrometastaza. U takvim avaskularnim mikrometastazama velik broj stanica umire apoptotskom smrću.³⁷ Upravo ovaj učinak angiostatskih čimbenika želi se iskoristiti u terapijske svrhe čime bi se tumorska bolest dugotrajnim davanjem ovih inhibitora održavala u remisiji. Pokusima na životinjama postignuta je dugotrajna remisija i dobro opće stanje usprkos prisutnosti mikrometastaza u plućima.³²

Opći principi terapije tumora inhibitorima angiogeneze

Dosadašnja antitumorska terapija usmjerena je protiv tumorskih stanica, uz neželjene učinke na ostalim stanicama koje brzo proliferiraju. Ograničavajući čimbenik takve kemoterapije je razvitak otpornosti na kemoterapeutike, kao rezultat genomske nestabilnosti tih stanica. Različite pregradnje u genomu tumorskih stanica (kromosomske delecije, amplifikacije gena, translokacije kromosoma, točkaste mutacije) omogućavaju efikasnu selekciju i proliferaciju stanica sa stečenom otpornošću na kemoterapeutike. Ta pojava susreće se u 30% svih bolesnika podvrgnutih kemoterapiji.³⁸

Stromu solidnih tumora čine između ostalog i genski stabilne, diploidne stanice kao što su endotelne, peridotelne supportive (periciti), upalne stanice te fibroblasti, od kojih se ne očekuje razvoj stečene otpornosti na terapiju. Upravo su endotelne stanice ciljna točka novog pristupa u terapiji tumorske bolesti. Inhibitori angiogeneze su svojim djelovanjem usmjereni na kapilarne endotelne stanice koje u procesu angiogeneze proliferiraju jednako brzo kao matične stanice koštane srži koje se prosječno dijele svakih 5 dana.³⁹ Time se izbjegavaju neželjeni učinci na ostale endotelne stanice u tijelu koje spadaju među najmirnije stanice sa životnim vijekom oko 1000 dana.⁴⁰ U odrasle osobe tjelesne mase 70 kg endotelne stanice pokrivaju površinu od približno 1000 m².⁴¹

Tijekom cikličke primjene endostatina, kod eksperimentalnih tumora miševa, nije došlo do nastanka stečene otpornosti na terapiju, što se objašnjava činjenicom da endotelne stanice nisu genomske nestabilne, što bi im omogućilo selektivnu prednost rezistentnih klonova.⁴² Prednost inhibitora angiogeneze pred klasičnom kemoterapijom u potencijalnom liječenju tumora mozga ili moždanih metastaza jest u činjenici da ne bi morali prelaziti krvnomoždanu barijeru jer su im djelatna točka same endotelne stanice.

Antiangiogena terapija počiva na 4 principa.⁴³ Prvi terapijski princip jest blokada učinaka specifičnih angiogenih čimbenika,

odnosno onih čimbenika koji imaju mitogeni učinak na endotelne stanice. Od takvih lijekova najširu upotrebu u kliničkim pokusima ima specifično protutijelo za VEGF receptor bevacuzimab koje se nalazi u različitim fazama kliničkog ispitivanja u terapiji dijabetičke retinopatije, kolorektalnog karcinoma, karcinoma pluća, karcinoma dojke⁴⁴ i drugih kliničkih stanja. Na istoj razini u procesu angiogeneze djeluju i inhibitori tirozinske kinaze koja se nalazi na unutarstaničnom dijelu receptora za VEGF te služi u prijenosu signala u stanicu.⁴³ Primjer takvog lijeka jest SU5416 za koji je dokazana dobra podnošljivost u fazi I kliničkog pokusa.⁴⁵

Sljedeća strategija jest smanjenje učinka bilo čimbenika, bilo stanica, koje pospješuju preživljenje endotelnih stanica. Upravo iz takvog razmišljanja proizašao je razvoj integrinskih antagonista koji onemogućuju vezanje endotelne stanice za ekstracelularni matriks te na taj način dovode do njezine apoptotske smrti.⁴³

Poznavanje angiostatskih čimbenika kao što su endostatin i angiostatin dovelo je do njihove primjene u prekliničkim i kliničkim studijama gdje su dokazali svoj antiangiogeni potencijal uz minimalnu toksičnost (treći princip).

Posljednji način liječenja odnosi se na blokiranje nekih putova koji mogu voditi pojačanju angiogenih učinaka. Tako je primjerice poznato da prijenos signala putem HER2/neu receptora dovodi do pojačanja angiogeneze.⁴³ Uspješnom blokadom toga puta trastuzumabom dolazi do indirektnog blokiranja angiogeneze. Sličnim mehanizmom djeluju i inhibitori ciklooksigenaze s obzirom na to da jedan od produkata djelovanja tog enzima prostaglandin E₂ dovodi do porasta ekspresije angiogenih čimbenika. Upravo se tim mehanizmom tumači smanjena pojavnost nekih tumora (kolorektalni karcinom) u osoba koje su uzimale COX-2 (ciklooksigenaza 2) inhibitore te se njihova primjena čini klinički opravdanom.⁸

Uz gore navedene lijekove svakako treba spomenuti talidomid koji je svoju antitumorsku učinkovitost pokazao kod multiplog mijeloma. U liječenju solidnih tumora počeo se primjenjivati u posljednje vrijeme. Mehanizam djelovanja mu nije do kraja poznat, no pretpostavlja se da interferira s preradom mRNA različitih citokina (tumor nekrotizirajućeg faktora α , interleukina 6, VEGF-a)⁴⁶ te na taj način i direktno i indirektno inhibira angiogenezu. Prvi rezultati primjene talidomida kod solidnih tumora pokazali su prilično razočaravajuće rezultate

Tablica 2. Klinički pokusi liječenja raka dojke inhibitorima angiogeneze, koji su trenutno u tijeku (izvor: www.nci.nih.gov)
Table 2. Currently ongoing trials with angiogenesis inhibitors in therapy of breast cancer (source: www.nci.nih.gov)

Lijek Drug	Mehanizam djelovanja Mechanism of action	Naziv studije Study	Faza Phase
SU5416	Inhibitor tirozinske kinaze VEGF receptora Inhibitor of VEGF receptor tyrosine kinase	SU5416 i doksorubicin u bolesnica sa stadijem IIIB ili IV inflamatornog raka dojke / SU5416 and doxorubicin in patients with stage IIIB and IV inflammatory breast cancer	I
Talidomid Thalidomide	Inhibicija sinteze citokina Inhibition of cytokine synthesis	Talidomid i docetaksel u bolesnika s uznapredovalim tumorima Thalidomide and docetaxel in patients with advanced malignancies	I
Bevacuzimab	Anti VEGF-R protutijelo Anti VEGF-R antibody	Bevacuzimab, docetaksel, doksorubicin i G-CSF u bolesnica s prethodno neliječenim inflamiranim rakom dojke stadij IIIB i IV Bevacuzimab, docetaxel, doxorubicin and G-CSF in patients with previously untreated stage IIIB or IV inflammatory breast cancer	II
Bevacuzimab	Anti VEGF-R protutijelo Anti VEGF-R antibody	Docetaksel s bevacuzimabom ili bez njega uz naknadni kirurški zahvat, radioterapiju i doksorubicin i ciklofosfamid u bolesnica s lokalno uznapredovalim rakom dojke / Docetaxel with or without bevacuzimab, followed by surgery, radiotherapy and doxorubicin and cyclophosphamide in patients with locally advanced breast cancer	II
Sojin izoflavon Soy isoflavone	Antiestrogeno djelovanje, inhibicija topozimeraze II. antiangiogeno djelovanje	Sojin izoflavon u bolesnica s rakom dojke Soy isoflavone in patients with breast cancer	
CI-1040	Inhibitor MAP kinaze MAP kinase inhibitor	CI-1040 u bolesnika s uznapredovalim NSC pluća, rakom dojke, kolona i gušterače / CI-1040 in patients with advanced NSC lung, breast, colon or pancreatic cancer	II
Bevacuzimab	Anti VEGF-R protutijelo Anti VEGF-R antibody	Istodobna primjena bevacuzimaba i vinorelbina u bolesnica sa stadijem IV raka dojke / Concurrent bevacuzimab and vinorelbine in patients with stage IV breast cancer	II

Tablica 3. Klinički pokusi liječenja raka debelog crijeva inhibitorima angiogeneze, koji su trenutno u tijeku (izvor: www.nci.nih.gov)
Table 3. Currently ongoing trials with angiogenesis inhibitors in treatment of colon cancer (source: www.nci.nih.gov)

Lijek Drug	Mehanizam djelovanja Mechanism of action	Naziv studije Study	Faza Phase
Talidomid Thalidomide	Inhibicija sinteze citokina Inhibition of cytokine synthesis	Talidomid i docetaksel u bolesnika s uznapredovalim malignim tumorima Thalidomide and docetaxel in patients with advanced malignancies	I
Talidomid Thalidomide	Inhibicija sinteze citokina Inhibition of cytokine synthesis	Talidomid u bolesnika s prethodno reseciranim rekurirajućim rakom debelog crijeva Thalidomide in previously resected recurrent colorectal cancer	II
Anti-anb3	Monoklonsko protutijelo specifično za integrin / Monoclonal antibody that specifically blocks integrin	Anti-anb3 integrin u bolesnika s uznapredovalim rakom debelog crijeva rezistentnim na irinotekan / Monoclonal antibody anti-anb3 in patients with irinotecan-refractory advanced colorectal cancer	I/II
Bevacuzimab	Anti VEGF-R protutijelo Anti VEGF-R antibody	Oksaliplatin, fluorouracil i leukovorin s bevacuzimabom ili bez njega u odnosu prema samo bevacuzimabu u bolesnika s prethodno liječenim uznapredovalim ili metastatskim rakom debelog crijeva Oxaliplatin, fluorouracil and leucovorin with or without bevacuzimab versus bevacuzimab only in patients with previously treated advanced or metastatic colorectal adenocarcinoma	III
Rofekoksib Rofecoxib	COX-2 inhibitor COX-2 inhibitor	Rofekoksib u bolesnika s prethodno reseciranim kolorektalnim rakom stadij II ili III Rofecoxib in patients with previously resected stage II or III colorectal cancer	II

u bolesnika s rakom dojke i ovarija, kao i u bolesnika s melanomom uz relativno ohrabrujuće rezultate u bolesnika s rakom bubrega te prihvaljive nuspojave (periferna neuropatija, konstipacija, glavobolja).⁴⁷ Antiangiogeni učinak pokazuje i izoflavon izoliran iz soje, imenom genistein, čija se učinkovitost također ispituje u kliničkim studijama.⁴⁸

Za sada terapija specifičnim inhibitorima angiogeneze nije pokazala nuspojave karakteristične za primjenu klasične kemoterapije (supresija koštane srži, mučnina, povraćanja, gubitak kose). Najbolje istraženi lijek u ovoj skupini jest bevacuzimab (anti VEGF protutijelo), za koji je pokazano da može dovesti, doduše u relativno malom postotku bolesnika, do krvarenja iz tumorske mase koja mogu biti potencijalno opasna s obzirom na lokalizaciju.⁴⁴

Premda su početna istraživanja na eksperimentalnim životinjama dala vrlo ohrabrujuće rezultate, kasniji klinički pokusi imali su pomalo razočaravajući uspjeh. Čini se da će inhibitori angiogeneze pronaći svoju ulogu ponajprije u kombinaciji s trenutno postojećim citostaticima s obzirom na to da se pokazalo da povećavaju njihovu učinkovitost. Premda je na prvi pogled paradoksalno da lijekovi čija je osnovna funkcija uništavanje krvnih žila pojačavaju učinak lijekova čiji dolazak na mjesto djelovanja ovisi upravo o njihovoj prisutnosti, čini se da inhibitori angiogeneze svojim »normaliziranjem« tumorskih krvnih žila pospješuju protok pojačavajući time učinak konvencionalne kemoterapije. Osim toga upravo takvim »normaliziranjem« vaskularizacije čini se da terapija inhibitorima angiogeneze pospješuje učinak radijacijske terapije.⁴⁹ Na tablici 2. i 3. navedene su studije s inhibitorima angiogeneze, u liječenju raka dojke i debelog crijeva, koje su trenutno u tijeku. Značajniji uspjeh ova vrsta terapije pokazala je zasad u karcinomu debelog crijeva gdje pojačava učinak konvencionalne kemoterapije.⁴³

Zaključak

Angiogeneza je izrazito važan proces u patogenezi malignih bolesti. Tumorski rast, kao i rast udaljenih metastaza, bio bi nemoguć bez razvitka krvnih žila potrebnih za opskrbu tumora hranjivim tvarima. Dosad je otkriveno mnogo angiogenih i angiostatskih čimbenika čija je dobra usklađenost preduvjet da bi angiogeneza bila unutar fizioloških granica. Poznavanje tih čimbenika izlazi iz okvira akvademizma s obzirom na ovisnost tumorskog rasta o angiogenim procesima i potencijalnim učincima njihove blokade. U početku istraživanja na ovome području postojao je izrazito optimističan stav o mogućem djelotvornom lijeku, koji bi dovodio do blokade procesa angiogeneze te posljedično do ishemijskog oštećenja tumora. Genska stabilnost endotelnih stanica, kao preduvjet njihove trajne osjetljivosti na terapiju, te njihova uniformnost među pojedinim tipovima tumora, čine antiangiogenu terapiju, gledano teorijski, izrazito učinkovitom. Nakon početnih pretkliničkih ispitivanja koja su dala vrlo obećavajuće rezultate klinički pokusi nažalost nisu potvrdili velika očekivanja. Ipak, danas prevladava mišljenje da bi terapija antiangiogenim čimbenicima mogla imati primjenu u kombinaciji s konvencionalnim kemoterapijskim protokolima pojačavajući njihov učinak. Zasad postoji 40-ak studija u svijetu u kojima se provode ispitivanja učinaka antiangiogene terapije. Očekujući njihove rezultate i rezultate ispitivanja drugih ciljanih (»pametnih«) lijekova, javlja se potreba boljeg poznavanja osnovnih molekularnih mehanizama, kao i nada u njihovu superiornost u odnosu na trenutne terapijske obrasce.

LITERATURA

- Demeron KM, Volpert OV, Tainsley MA, Bouck N. Control of angiogenesis in fibroblasts by p53 regulation of thrombospondin D. *Science* 1994; 265:1582-4.

- Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000;407:249-57.
- Peacock DJ, Bahquerigo ML, Brahn E. Angiogenesis inhibition suppresses collagen arthritis. *J Exp Med* 1992;175:1135-8.
- Nickoloff BJ, Mitra RS, Varani J, Dixit VM, Polverini PJ. Aberrant production of interleukin-8 and thrombospondin-1 by psoriatic keratinocytes mediates angiogenesis. *Am J Pathol* 1994;44:820-8.
- Adams AP. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1994;118: 445-50.
- Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature* 1992;359:843-5.
- Folkman J. Angiogenesis. Braunwald E, Hauser SL, Fauci AS, Longo DL, Kasper DL, Jameson LJ, ur. *Harrison's principles of internal medicine*. New York: McGraw-Hill; 2001, str. 517-30.
- Sharma RA, Harris AL, Dalgleish AG, Steward WP, O'Byrne K. Angiogenesis as a biomarker and target in cancer chemoprevention. *Lancet Oncol* 2001;2:726-32.
- Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature* 1989;339: 58-61.
- Folkman J. Clinical applications of research on angiogenesis. *N Engl J Med* 1995;333:1757-63.
- Nicosia RF, T'chao R, Leighton J. Interactions between newly formed endothelial channels and carcinoma cells in plasma clot culture. *Clin Exp Metastasis* 1986;4:91-104.
- Hamada J, Cavanaugh PG, Lotan O, Nicholson G. Separable growth and migration factors for large-cell lymphoma cells secreted by microvascular endothelial cells derived from target organs for metastasis. *Br J Cancer* 1992; 66:349-54.
- Rak J, Filmus J, Kerbel RS. Reciprocal paracrine interactions between tumor cells and endothelial cells: the »angiogenesis progression« hypothesis. *Eur J Cancer* 1996;32A:2438-50.
- Rastinejad F, Polverini PJ, Bouck NP. Regulation of the activity of a new inhibitor of angiogenesis by a cancer suppressor gene. *Cell* 1989;56: 345-55.
- Klagsbrun M, Sasse J, Sullivan R, Smith JA. Human tumor cells synthesize an endothelial cell growth factor that is structurally related to basic fibroblast growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:2448-52.
- Polverini PJ, Leibovich S. Induction of neovascularization in vivo and endothelial proliferation in vitro by tumor associated macrophages. *Lab Invest* 1984;51:635-42.
- Folkman J, Klagsbrun M, Sasse J, Wadzinski M, Ingber D, Vlodavsky I. A heparin-binding angiogenic protein-basic fibroblast growth is stored within basement membrane. *Am J Pathol* 1988;130:393-400.
- Herlyn M, Clark WH, Rodeck U, Mancianti ML, Jambrosic J, Koprowski H. Biology of tumor progression in human melanoma. *Lab Invest* 1987; 56:461-74.
- Ellis LM, Liu W, Ahmad SA, Jung DY, Shaheen RM, Reinmuth N. Biologic implications of antiangiogenic therapy. *Semin Oncol* 2001;28:94-104.
- Ziche M, Morbidelli L, Choudhuri R i sur. Nitric oxide synthase lies downstream from vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis. *J Clin Invest* 1997;99:2625-34.
- Papapetropoulos A, Garcia-Cardena G, Madri JA, Sessa WC. Nitric oxide contributes to the angiogenic properties of vascular endothelial growth factor in human endothelial cells. *J Clin Invest* 1997;100:3131-9.
- Gallo O, Masino E, Morbidelli L i sur. Role of nitric oxide in angiogenesis and tumor progression in head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:587-96.
- O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y i sur. Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. *Cell* 1994;79:315-28.
- Dong Z, Kumar R, Zang X, Fidler IJ. Macrophage-derived metalloelastase is responsible for the generation of angiostatin in Lewis lung carcinoma. *Cell* 1997;88:801-10.
- Gately S, Twardowski P, Stack MS i sur. Human prostate carcinoma cells express enzymatic activity that converts human plasminogen to the angiogenesis inhibitor, angiostatin. *Cancer Res* 1996;56:4887-90.
- O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y i sur. Endostatin: An endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* 1997;88:277-85.
- Maione TE, Gray GS, Petro J i sur. Inhibition of angiogenesis by recombinant human platelet factor-4 and related peptides. *Science* 1990;247:77-9.
- Sharpe RJ, Scott CF, Donner AL i sur. Recombinant human platelet factor 4 inhibits growth of B16 melanoma in a murine model. *Clin Res* 1989;37: 470a.
- Clapp C, Martial JA, Guzman RC, Rentier-Delrue F, Weiner RI. The 16-kilodalton N-terminal fragment of human prolactin is a potent inhibitor of angiogenesis. *Endocrinology* 1993;133:1292-9.
- Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995;146:1029-39.
- Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 324:1-8.

32. Weidner N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. *Am J Pathol* 1995;147:9–19.
33. Marie P, Clunet J. Frequence des metastases viscerales chez les souris cancéreuses apres ablation chirurgicale de leur tumeur. *Bull Assoc Franc l'Etude Cancer* 1910;3:19–23.
34. Bashford EF, Murray JA, Cramer W. The natural and induced resistance of mice to the growth of cancer. *Proc R Soc Lond* 1907;79:164–87.
35. Elleman CJ, Eidinger D. Suppressing factors in ascitic fluids and sera of mice bearing ascites tumors. *J Natl Cancer Inst* 1977;59:925–31.
36. O'Reilly M, Rosenthal R, Sage EH i sur. The suppression of tumor metastases by a primary tumor. *Surg Forum* 1993;44:474–6.
37. Holmgren L, O'Reilly MS, Folkman J. Dormancy of micrometastases: balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nature Med* 1995;1:149–53.
38. Ozols RF. Drug resistance in cancer therapy. *Dodrecht: Kluwer*; 1989, str. 1–26.
39. Folkman J. Tumor angiogenesis. U: Mendelson J, Howley PM, Israel MA, Liotta LA, ur. *The molecular basis of cancer*. Philadelphia: WB Saunders; 1995, str. 206–32.
40. Denekamp J. Angiogenesis, neovascular proliferation and vascular pathophysiology as targets for cancer therapy. *Br J Radiol* 1993;66:181–96.
41. Jaffe EA. Cell biology of endothelial cells. *Hum Pathol* 1987;18:234–9.
42. Boehm T, Folkman J, Browder T, O'Reilly MS. Antiangiogenic therapy of experimental cancer does not induce acquired drug resistance. *Nature* 1997;390:404–7.
43. Ellis LM. Tumor angiogenesis: Meniscus Educational Institute; 2002. publication no. 1532–3048. (Horizons in cancer therapeutics vol. 3 str. 4–22).
44. Adis RD. Bevacuzimab. Anti-VEGF Monoclonal Antibody, Avastin, Rhumab-VEGF. *Drugs R&D* 2002;3:28–30.
45. Sauer G, Deissler H, Kurzender C, Kreinberg R. New molecular targets of breast cancer therapy. *Strahlenther Onkol* 2002;3:123–33.
46. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001;357:539–45.
47. Eisen TG. Thalidomide in solid tumors: The London experience. *Oncology* 2000;14:17–21.
48. Lamartiniere CA. Protection against breast cancer with genistein: a component of soy. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1705–7.
49. Jain RK. Normalizing tumor vasculature with antiangiogenic therapy: A new paradigm for combination therapy. *Nature Medicine* 2001;7:987–9.

NEARTERITIČKA ISHEMIČKA OPTIČKA NEUROPATIJA

NONARTERITIC ISCHEMIC OPTIC NEUROPATHY

BRANIMIR CEROVSKI*

Deskriptori: Ishemička optička neuropatija

Sažetak. Autor daje aktualan pregled razumijevanja nearerteričke ishemičke optičke neuropatije (NION) s detaljnim opisom najčešćeg oblika, tj. nearerteričke prednje ishemičke optičke neuropatije (NAION). Iznose se relevantni klinički podaci s opisom dijagnostičkog i terapijskog algoritma. Precizno se navode i opisuju dijagnostičke kliničke metode koje su u uporabi, kao i opravdanost očekivanja od pojedinih metoda u kliničkom tijeku bolesti. Raspravlja se o kontroverzama medikamentnog i kirurškog pristupa liječenju ovoga entiteta. Autor posebno raspravlja o uporabi aspirina te o fenestraciji ovojnice vidnog živca.

Descriptors: Optic neuropathy, ischemic

Summary. An up-to-date review of the concepts on nonarteritic ischemic optic neuropathy (NION) is presented with special emphasis on its most common form, nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy (NAION). Relevant clinical data are presented, along with the description of diagnostic and therapeutic algorithms. The methods used in clinical diagnosis and validity of expectations from particular methods during the clinical course of the disease are elaborated. Controversies of medical and surgical approach in the management of this entity are discussed, with special references to the use of aspirin and optic nerve sheath fenestration.

Liječ Vjesn 2003;125:265–270

Izraz *ishemička optička neuropatija* rabi se kao opći pojam koji pretpostavlja ishemiiju kao uzrok optičke neuropatije. Izraz *anteriorna (prednja) ishemička optička neuropatija* (AION) upućuje na patologiju papile vidnog živca, odnosno na oteklinu diska i peripapilarna krvarenja. Nasuprot tomu, *posteriorna (retrobulbarna) ishemička optička neuropatija* (PION) upućuje da nema edema papile ili drugih vidljivih abnormalnosti, bar ne inicijalno. AION se smatra mnogo češćom pojavom nego PION.

U ranijoj literaturi rabili su se izrazi poput arteriosklerotski papilitis (Kurz, 1948),¹ ishemički edem papile (Kadlecova, 1951),² akutni optički neuritis u hipertoničara (Bonamour, 1954).³ Francois i suradnici od 1956. do 1968. rabe izraz pseudopapilitis vaskularis.^{4,5} Miller i Smith 1966. rabe izraz ishemička optička neuropatija,⁶ dok je Hayreh 1974. dao prednost izrazu anteriorna ishemička optička neuropatija.⁷ U hrvatskoj literaturi do 90-ih pretežito se rabio izraz vaskularni pseudopapilitis (Horvat).⁸

Mnoge različite sustavne bolesti udružene su s AION, a najzapaženiji je svakako divovski ili temporalni arteritis. U većine bolesnika može postojati povezanost s hipertenzijom i dijabetesom. Budući da je ključno razlikovati arteritički oblik AION od nearerteričke forme, većina autora najčešći oblik naziva *nearterijska anteriorna ishemička optička neuropatija* (NAION) iako drugi nastavljaju rabiti izraze kao »idiopatski«, »primarni«, »obični« ili »arteriosklerotski« da opišu ovaj entitet. U stvari, klinička obilježja, tijek bolesti i liječenje bolesnika s arteritičkim i neareritičkim oblikom AION bitno se razlikuju.

* **Klinika za očne bolesti Medicinskog fakulteta u Zagrebu i KBC Zagreb** (Branimir Cerovski, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Dr. B. Cerovski, Klinika za očne bolesti Medicinskog fakulteta u Zagrebu i KBC Zagreb, Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb

Primljeno 20. veljače 2003., prihvaćeno 26. lipnja 2003.