

„ANGIOGENEZA TUMORALĂ” – O ABORDARE COMPLEXĂ ȘI MULTIDISCIPLINARĂ

Sergiu Moraru , Dorina Cruc – studenți anul VI, Facultatea de Medicină
Lilian Șaptefrați, dhșm, conf.univ., Șef Catedră Histologie, Citologie și Embriologie
IP USMF „Nicolae Testemițanu”

Tel.: +373068417665; mail: morarusergiu_unu@yahoo.com

Rezumat

Angiogeneza este procesul de formare a noilor vase, pornind de la cele preexistente, fiind o condiție importantă în cadrul unor procese fiziologic-normale precum vindecarea rănilor, regenerarea ciclică a endometriului, dezvoltarea placentei, etc. Cercetările pluridisciplinare au confirmat implicarea profundă a angiogenezei în numeroase procese patologice precum *psoriaz*, *boala Alzheimer*, *obezitate*, *cancer*, etc. Deci, blocarea țintită a căilor prin care este promovată angiogeneza, ar putea da rezultate bune în tratamentul patologiilor menționate.

Inhibitorii angiogenezei sunt citostatice de generație nouă, orientate spre suprimarea angiogenezei tumorale, privând astfel tumora de oxigen și nutrienți. Obiectivul poate fi atins, fie prin intermediul anticorpilor monoclonali, care acționează prin blocarea receptorilor pentru VEGFR: bevacizumab; trastuzumab, sau prin molecule mici ce interacționează direct cu domeniul TK intracelular, acționând ca inhibitori competitivi ai legării ATP-ului: imatinib, pazopanib.

Cuvinte-cheie: angiogeneza tumorală; VEGF; inhibitorii angiogenezei; bevacizumab.

Summary

Angiogenesis is the process of forming new vessels, starting from pre-existing ones. It is an important condition in physiological-normal processes such as wound healing, cyclic regeneration of the endometrium, placental development and many others. Multidisciplinary research has confirmed the deep involvement of angiogenesis in many pathological processes such as psoriasis, Alzheimer's disease, obesity, cancer, etc. Therefore, target blocking of the pathways through which angiogenesis is promoted, could give good results in the treatment of many pathologies.

Angiogenesis inhibitors are new generation cytostatics aimed to suppress tumor angiogenesis, by depriving the oxygen and nutrient tumor. The objective can be achieved either by monoclonal antibodies that act by blocking VEGFR receptors: bevacizumab; trastuzumab, or by small molecules that interact directly with the intracellular TK domain, acting as competitive inhibitors of ATP binding: imatinib, pazopanib.

Key words: angiogenesis, VEGF, cytostatics, angiogenesis inhibitors, bevacizumab.

Резюме

Ангиогенез - это процесс формирования новых сосудов, начиная с ранее существовавших, являясь важным условием в физиологически нормальных процессах, таких как заживление ран, циклическая регенерация эндометрия, развитие плаценты и т.д. Многодисциплинарные исследования подтвердили глубокое участие ангиогенеза во многих патологических процессах, таких как псориаз, болезнь Альцгеймера, ожирение, рак и т.д. Таким образом, целевая блокировка путей, которые способствуют ангиогенезу, может дать хорошие результаты при лечении указанных патологий.

Ингибиторы ангиогенеза представляют собой цитостатики нового поколения, направленные на подавление опухолевого ангиогенеза, тем самым, лишая опухоль кислорода и питательных веществ. Цель может быть достигнута либо моноклональными антителами, которые действуют путем блокирования рецепторов VEGFR: бевацизумаб; трастузумаб или малыми молекулами, которые непосредственно взаимодействуют с внутриклеточным доменом ТК, действуя как конкурентные ингибиторы связывания АТФ: иматиниб, пазопаниб.

Ключевые слова: ангиогенез, VEGF, цитостатики, ингибиторы ангиогенеза

Introducere. Angiogeneza (din gr. *angeion*-vas de sânge și *genesis* - naștere) este procesul de formare a noilor vase, pornind de la cele preexistente, fenomenul debutează în timpul vieții fetale și continuă la copil și adult, asigurând creșterea și dezvoltarea. Parte într-o serie de procese fiziologic-normale precum vindecarea rănilor, regenerarea ciclică a endometriului, dezvoltarea placentei, angiogeneza constituie totodată o condiție *sin qua non* în cadrul unor procese patologice: *retinopatii*, *psoriaz*, *sarcom Kaposi*, *boala Alzheimer*, *obezitate* și nu în ultimul rând în *cancer*. [22]

Angiogeneza este un domeniu relativ nou al științelor medico-biologice, primele studii a fost publicate în 1971 în *New England Journal of Medicine* de către temerarul medic american, cel care va fi numit mai târziu „părintele angiogenezei”- *Judah Folkman* (1933-2008). Conform teoriei formulate de Folkman o tumoră nu poate depăși în volum 2 mm³ fără a coop- ta vase sangvine și limfatice, existente în adiacență. Explicația rezidă în faptul că tumora este un țesut cu înaltă rată de diviziune celulară ce necesită cantități sporite de oxigen și substanțe nutritive, care însă pot

difuza liber în spațiul interstițial pe o distanță de cca. 200 μm, ceea ce limitează creșterea tumorală și ulterior metastazarea.

Conform dr. William Li, președintele Fundației „Angiogeneza” și discipolul lui Judah Folkman, în organism apar permanent celule canceroase, examenul histopatologic al unor oameni sănătoși care au murit în accidente rutiere a demonstrat că 40% din femeile cu vârsta cuprinsă între 40-50 ani aveau celule canceroase microscopice în glanda mamară, iar la 50% dintre bărbații cu vârste cuprinse între 50-60 ani s-au identificat celulele canceroase în prostată, cifre și mai impresionante indică faptul că 70-100% dintre persoane vor avea celulele canceroase în tiroidă, însă doar o mică parte din aceste celule vor evolua în cancere propriu-zise, anume cele care vor reuși să-și asigure propria vascularizare.[1], [7], [10].

Scopul. Articolul în cauză are drept scop evidențierea particularităților unui fenomen profund implicat în progresia și metastazarea cancerelor - *angiogeneza tumorală*. Este o lucrare de sinteză, ce integrează cunoștințe noi, văzute din perspectiva principalelor științe contemporane (genetică, biologie celulară, patochimie, farmacologie, histologie și patomorfologie), asupra unui fenomen vechi. Abordarea complexă și multidisciplinară a procesului în cauză, generează noi posibilități de tratament a unei patologii, pentru moment calificată drept incurabilă - cancerul.

Material și metode. Au fost analizate numeroase articole științifice nominalizate în bibliografie, preponderent din domeniul oncologiei, dar și geneticii medicale, farmacologiei, științelor descriptive, ce abordează angiogeneza tumorală, folosind motorul de căutare Google Academic, în baza de date National Library of Medicine, eMedicine și Medscape, dar și cărți de specialitate ale unor autori de renume (Harrison. Principes de Medecine Interne; Angiogeneza și limfangiogeneza tumorală, autori - Raica M., Cîmpean A. M., Gaje P. N., Ribatti D., Editura - Victor Babeș; Medicamentul - baza farmacoterapiei raționale, autor - Ghicavâii V., Tipografia Centrală, 2013). Au fost selectate articole originale sau tip metaanaliză, folosind cuvintele cheie ca angiogeneza tumorală; VEGF; inhibitorii angiogenezei; bevacizumab.

Rezultate și discuții. *Viziunea geneticii asupra procesului de angiogeneza.* În organismul adult sănătos, angiogeneza decurge cu rată foarte mică, cât să suplinească necesarul de vase distruse sau să asigure o creștere suficientă, astfel, numai 0,01% din celulele endoteliale suferă un proces de diviziune, însă în cadrul unor procese tumorale un lot mult mai mare de endoteliocite sunt încadrate în diviziune celulară, toate se petrec sub influența numeroșilor factori angioge-

netici, eliberați de celulele tumorale. Au fost studiate, cu un grad decent de precizie, două căi de stimulare a angiogenezei:

- a) Calea VEGF-VEGFR. Familia factorilor de creștere VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) cuprinde o serie de molecule înrudite structural: VEGF-A (fiind cel mai important mediator al angiogenezei tumorale, numit uzual VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D și PlGF (placental growth factor). VEGF acționează preferențial pe subtipul VEGFR-2 din populația de receptori, localizat pe endoteliocite. Secundar acționării pe receptorul VEGFR2, acesta suferă un proces de dimerizare, inițiind două căi majore de semnalizare intracelulară: MAPK, răspunzătoare de stimularea proliferării celulare și calea PI3K-AKT, care crește capacitatea de supraviețuire a endoteliocitelor.
- b) Calea Notch-DLL4. Receptorii membranari Notch (1,2 și 3) controlează într-o anumită măsură diferențierea și proliferarea celulară, fiind stimulați de liganzi transmembranari de pe celulele adiacente, precum Jagged1, Jagged2, DLL1, DLL3 și DLL4 (exprimat exclusiv pe endoteliocite). Interacțiunea DLL4 cu Notch 1 și Notch 4, provoacă o serie de evenimente proteolitice, care se soldează cu detașarea unui domeniu intracelular al receptorului, care pătrunde în nucleu și induce expresia unor gene țintă (inclusiv polipeptidul VEGF). [6], [7], [8]

Aspecte patochimice și biomoleculare ale angiogenezei tumorale. O etapă esențială în creșterea și metastazarea tumorilor primare este „switch-ul angiogenic” - capacitatea tumorilor de a promova formarea noilor capilare pornind de la vasele deja formate în țesutul gazdă; „switch-ul angiogenic” este o fază în creșterea tumorală, în cursul căreia, homeostazia angiogenică este perturbată și înclină în favoarea formării vaselor. Factorii angiogenici sunt produși de celulele tumorale, celulele inflamatoare sau celulele stromale și eliberați în micromediul tumoral, sub influența lipsei de nutrienți, a citokinelor sau a leziunilor induse de specii reactive de oxigen, însă hipoxia este un reglator cheie al angiogenezei tumorale, inducând transcripția genelor codificatoare a VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), printr-un proces care implică stabilizarea factorului inductibil al hipoxiei (HIF-1). În condițiile oxigenării normale, concentrația HIF-1 este menținută la valori diminuate datorită distrugerii mediate de proteasomele citoplasmice, ele la rândul lor reglate de către ubiquitin-E3-ligaza, codificată de gena supresoare de tumori

VHL (von Hippel-Lindau), TP53 și PTEN sau activarea unor oncogene, precum RAS, SRC, ERBB2. În hipoxie proteina HIF-1, nu este hidroxilată și asocierea la promotorul genei VHL nu are loc, în consecință cotele plasmatiche HIF-1 cresc, și genele cheie cum sunt VEGF, nitroxidsintetaza și Angiopoetina2 sunt induse. Acumularea excesivă a substanțelor cu profil proangiogenic (în speță VEGF), în mediul celular, duce la cuplarea VEGF cu receptorii specifici ancorați pe CE, declanșându-se cascada de reacții biochimice specifice: activarea TRK (tirozin-kinazelor) cu fosforilarea proteinelor citoplasmice care în final inițiază procesul de diviziune celulară, ceea ce la nivel celular se traduce prin formarea noilor vase. [2], [9], [10].

Din factorii endogeni, cel mai bine studiat, care inhibă procesul de angiogeneză, se numără *angiostatina*, *endostatina* și *trombospodina-1*. Angiostatina este un fragment al plasminogenului, purificat din serul și urina șoarecilor cu leucoze cronice. Endostatina este un fragment al collagenului tip XVIII. Acesta fiind în stare să inhibe 65 de tipuri de tumori și să modifice 12% din genomul uman, scăzând gradul angiogenezei patologice, fără provocarea de reacții adverse. [17]. Trombospodina-1 este prezentă în jurul vaselor dormante și absentă în jurul mugurilor vasculari proliferanți și în hemangioame. Anticorpii anti-trombospodină fiind adăugați la culturile de celule endoteliale, stimulează formarea mugurilor vasculari *in vitro*. În celulele endoteliale unde sinteza de trombospodină-1 e inhibată, a fost depistată o rată mare de proliferare cu formarea de cordoane tip calilar-like. [20].

Histologie. Procesul de angiogeneză este unul multistadial ce începe ca răspuns la unul sau mai mulți stimuli ce activează celula endotelială. Ea desfășoară fie prin înmugurire (sprouting) fie prin septarea lumenului vasului preexistent (intussusception). [21] Prima etapă debutează prin vasodilatație și creșterea permeabilității vasculare mediate de oxidul nitric. Creșterea permeabilității vasculare este datorată formării fenestrațiilor endoteliale, creșterea densității organitelor veziculo-vacuolare precum și de redistribuirea moleculelor de adeziune de tipul PECAM1 și a VE-caderinelor. Sub acțiunea VEGF are loc extravazarea proteinelor plasmatiche în spațiul extravascular. Fibrinogenul extravasat, transformându-se în fibrină, creează o matrice provizorie ce susține migrarea ulterioară a celulelor endoteliale iar datorită proteazelor din familia activatorilor de plasminogen, metaloproteinazelor matriceale și heparinazelor are loc degradarea matricii extracelulare și activarea sau eliberarea factorilor de creștere (bFGF, VEGF, IGF) stocați la acest nivel. Peste aproximativ 24 de ore debutează

procesul de proliferare și migrare a celulei endoteliale în spațiul interstițial. Factorii de creștere VEGF, PIGF, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D și receptorii lor VEGFR2, VEGFR3 și neurophilina 1 se activează. Ang1, prin intermediul fosforilării receptorului Tie2 și efectul chemotactic asupra celulelor endoteliale, induce fenomenul de sprouting și potențează acțiunea VEGF. FGF și PDGF influențează angiogeneza prin recrutarea celulelor mezenchimale și inflamatorii în proces. Proliferarea celulelor endoteliale contribuie la apariția circulației colaterale, variind între 2.6%-6%, în dependență de specia și tipul vasului. [24],[25],[26]

Formarea lumenului vascular include solidarizarea celulelor endoteliale capilare polarizate cu formarea de structuri inelare. VEGF189 determină diminuarea lumenului vascular, iar VEGF121 și VEGF165 stimulează formarea lumenului și alungirea vaselor nou formate. Odată cu formarea lumenului vascular derulează și remodelarea, cea mai enigmatică etapă a angiogenezei, însă unele isoforme ale VEGF și VEGFR3, receptorul Tie1, VCAM1, integrina $\alpha 4$ și fibronectina sunt implicate la acest nivel. În următoarele etape au loc: sinteza precursorilor pentru noua membrană bazală, recrutarea și reasamblarea pericitelor, fuzionarea vaselor nou formate și inițierea fluxului sanguin. Vasele nou formate nu conțin pericite, ceea ce le face mai sensibile și mai puțin stabile la schimbările de micromediu. Astfel, pericitele contribuie la stabilizarea structurală și funcțională a celulei endoteliale, se asociază cu oprirea creșterii vasculare, proces datorat activării TGF beta, ce crește producția de inhibitori proteazici. [23]

Histopatologie. Vasele sanguine din stroma tumorală se deosebesc considerabil de cele normale, având o arhitectonică modificată, haotică, fiind sinuoase, dilatate, neregulate, frecvent se termina orb, „în deget de mână”. Diametrul acestora e variabil, atât de la vas la vas, cât și pe traiectul aceluiași vas. Vasele tumorale nu se diferențiază definitiv în arteriole, capilare și venule, prezentând caractere comune celor trei tipuri. Peretele vascular are aspect de mozaic, celulele endoteliale fiind slab interconectate. Endoteliul e subțire, fenestrat, iar membrana bazală are o grosime variabilă. [18]. Pericitele se găsesc în număr redus, fără joncțiuni stabile cu celulele endoteliale. În dependență de gradul de maturizare și diferențiere Gee M.S. și colab. (2003) identifică trei tipuri de vase intratumorale: 1) vase imature constituite din muguri de celule endoteliale, care se formează din peretele vaselor funcționale și care nu sunt perfuzate, având o rată mare de proliferare. Mugurii respectivi, fără lumen vizibil, pot fi reprezentați de celule endoteliale izolate pozitive pentru CD31; 2) vase intermediare, care sunt mici și perfuzate, dar nu au în constituția peretelui sau

pericite ori celule musculare netede; 3) vase mature, care au un lumen larg și perete subțire, în care celulele endoteliale sunt în stare dormantă cu potențial proliferativ minim – peretele acestora conține pericite și rareori formează muguri endoteliali. [19]

Datorită acestor particularități permeabilitatea vaselor sanguine tumorale este crescută atât pentru lichide cât și pentru macromolecule, pe lângă aceasta, deficitul de vase limfatice funcționale intratumorale este deficitar, ceea ce duce la creșterea presiunii coloid-osmotice interstițiale cu apariția edemului interstițial. Presiunea coloid-osmotică elevată din interstițiul tumoral creează o barieră a transportului transcapilar, limitând acțiunea agenților terapeutici. A fost raportat că terapia cu anti-VEGF normalizează vasculatura tumorală cu creșterea ulterioară a eficacității tratamentului antitumoral. [32]

Un nou model vascular tumoral este mimetismul vasculogenic. Acesta descrie capacitatea funcțională a celulelor canceroase agresive de a exprima un fenotip de celule stem multipotent și de a forma rețele pseudovasculare lipsite de endoteliocite, fiind delimitate de celulele tumorii. Ca sursă unică de perfuzie, mimetismul vasculogenic a fost observat într-o serie de tumori maligne precum melanomul malign, glioblastoma, cancerul ovarian, cancerul vezicii biliare, cancerul pulmonar, cancerul gastric, de prostata, cancerul glandei mamare, hepatocelular și osteosarcoma. În diagnosticul morfologic al mimetismului vasculogenic este considerat „standardul de aur” caracteristica PAS pozitivă și CD31 negativă. În general, VM este împărțit în două tipuri distincte: tubular și de tip matrice. Mai multe studii au vizat investigarea mecanismelor de formare și căilor de semnalizare implicate în acest proces. Astfel, s-a stabilit o legătură între caderenul endotelial-vascular (VE-caderinele), kinaza celulară epitelială (EphA2), fosfoinozitida 3-kinaza (PI3K), metaloproteazele matriciale (MMPs), laminina 5 (Ln-5) și kinaza de adeziune focală (FAK). Există deja dovezi clinice asociate cu prognosticul rezervat la 5 ani la pacienții cu cancer care au prezentat morfologic mimetismul vasculogenic. Deci, mimetismul vasculogenic favorizează vascularizarea abundentă a tumorii, aprovizionând-o cu o cantitate suficientă de nutrienți și posibilitate rapidă de creștere, iar cel mai grav, un potențial înalt de metastazare la distanță, ceea ce conferă tumorii un grad crescut de agresivitate și un prognostic rezervat. [27], [28], [29], [30], [31]

Importanța clinică a blocării angiogenezei tumorale. Înțelegerea mecanismelor moleculare care guvernează angiogeneza tumorală, poate genera oportunități unice în tratamentul cancerului, cu atât mai necesare, cu cât medicația citostatică utilizată actualmente întâmpină rezistență crescută din partea ce-

lulelor canceroase, fenomen datorat ratei crescute a mutațiilor intrinseci. Celulele endoteliale mature normale sunt foarte stabile din punct de vedere genetic spre deosebire de cele în curs de diferențiere, fapt ce permite distrugerea într-o manieră selectivă a vaselor sangvine tumorale, fără ca cele normale să fie vizate. [2],[3],[4].

Indiferent de structura și modul în care inhibitoarele angiogenezei blochează fenomenul abordat, ele urmăresc două obiective majore:

1. *Inhibiția formării noilor vase* (oxigenul difuzează liber în țesuturi doar pe o distanță de 200 μm, iar lipsa vaselor va limita creșterea tumorii prin penurie de nutrienți). În plus lipsa vaselor sangvine sau limfatice previne metasizarea la distanță.

2. *Normalizarea vaselor existente:*

a) Vasele de neoformație au permeabilitate sporită, în consecință se produce extravazarea plasmei în tumoare, însoțită de creșterea presiunii hidrostatice și oncotice, schimbul capilar devine dificil ceea ce se va solda cu *diminuarea pătrunderii și eficienței chimioterapicelor.*

b) Noile vase tumorale au o arhitectonică anormală, fluxul sangvin și schimbul de substanțe și gaze la nivel capilar este dificil, ceea ce duce la hipoxie, deshidratare și acumulare de metaboliți intermediari (pH acid) în stroma tumorii. Radiosensibilitatea țesuturilor fiind direct proporțională cu gradul de oxigenare, conținutul de apă și pH bazic, *eficiența radioterapiei scade simțitor.* Fenomenul se explică prin faptul că sub influența radiației ionizante, moleculele de apă și oxigen molecular generează radicali liberi, care distrug celula tumorală. [5],[8],[11]

Contribuția farmacologiei. Inhibitorii angiogenezei tumorale. Până la sfârșitul anilor '90, majoritatea medicamentele utilizate în terapia cancerului acționau prin mecanisme incisive, ele vizează în mod particular inhibarea replicării ADN-ului celulelor tumorale aflate în proces de mitoză excesivă și necontrolată, ceea ce duce la apoptoză. Chimioterapia de acest gen are dezavantajul non-selectivității, antrenând deopotrivă și multe celule sănătoase, mai expuse fiind cele cu un *turnover* accelerat, dar, din fericire, efectul asupra celulelor canceroase este mai mare. [6]

Studii aprofundate care au dezvoltat mecanismele celulare și moleculare ale cancerogenezei au permis elaborarea unor terapii moleculare țintite (*molecular targeted therapy*) orientate spre inhibarea unor procese indispensabile avansării cancerogenezei, unul dintre care este angiogeneza. Actualmente există: *anticorpii* (desemnați cu sufixul „mab” din

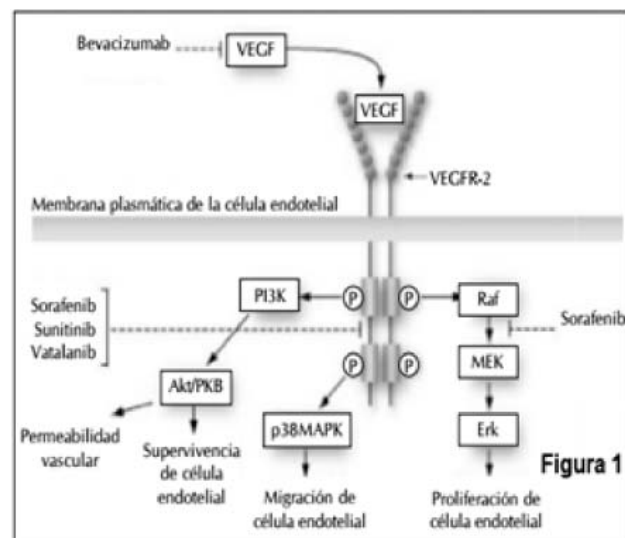
eg. „monoclonal antibodies”) cu înaltă specificitate, acţionează extracelular, prin blocarea interacţiunii ligand-receptor atât prin legarea de ligand cât şi prin blocarea receptorului, necesită administrare intravenoasă; şi *moleculele mici* (desemnate cu sufixul „ib” de la „small-molecule inhibitor”) ce interacţionează direct cu domeniul kinazic intracelular, acţionând ca inhibitori competitivi ai legării de ATP, sunt disponibili în forme orale.[8]

Inhibitorii angiogenezei indiferent de natura lor, funcţionează după principiu inhibiţiei *căilor moleculare critice*, implicate în proliferarea şi supravieţuirea celulelor endoteliale cu inhibiţia consecutivă a creşterii tumorale. Cele mai importante căi studiate, pentru care s-au elaborat şi remedii medicamentoase cu efect inhibitor sunt:

1) *Calea receptorului factorului de creştere a celulei endoteliale* (VEGFR), care joacă un rol central în proliferarea, migrarea şi supravieţuirea celulelor endoteliale. Blocarea la nivel intracelular al VEGFR-1, VEGFR -2 sau VEGFR-3 poate reprezenta o abordare eficientă în ceea ce priveşte inhibarea angiogenezei. Inhibitorul de elecţie al acestei căi este bevacizumab (Avastin).

2) *Calea receptorilor factorilor de creştere epidermali* (EGFR). Liganzii cunoscuţi pentru EGFR includ factorul de creştere epidermal (EGF), factorul de transformare alfa ($TGF-\alpha$) şi *amfregulina*. După cuplarea cu ligantul, EGFR formează homodimeri sau heterodimeri cu alţi membrii ai familiilor de receptori rezultând activarea TK şi secundar a căilor de semnalizare intracelulară. Activarea acestor semnale provoacă în aval (*downstream*) evenimente precum: inhibarea apoptozei şi promovarea creşterii tumorale, proliferarea, invazia, metastazarea şi angiogene-

za. Blocarea activării EGFR se poate efectua fie prin blocarea domeniului-ligand extracelular prin anticorpi monoclonali (trastuzumab, cetuximab, panitumumab), fie utilizând inhibitorii tirozinikinazici, cu moleculă mică (erlotinib, gefitinib).



3) *Mamalian target of rapamycin* (mTOR) este o serin-kinază care reglează sinteza unor proteine necesare pentru proliferare, angiogeneză şi supravieţuire. Semnalizarea via mTOR este efectuată prin fosforilarea substratului p70 ribozomal S6 kinaza şi factorul iniţiator 4E din celulele eucariote ce permite iniţierea procesului de translaţie în sinteza proteinelor. mTOR este un activator al factorului indus de hipoxie 1α (HIF- 1α) care acţionează ca un coparticipant al procesului de transcripţie ce activează un număr de așa numite „gene induse de hipoxie” precum: VEGF, receptorul factorului de creştere derivat din plachete (PDGF), transportorii de glucoză, factorul de trans-

Tablă 1

Medicament	Anul lansării	Structură	Tipul ținei celulare
Erlotinib (Tarceva)	2004	Moleculă mică	EGFR (epiteliul tumoral)
Cetuximab (Erbix)	2004	Anticorp monoclonal	EGFR (epiteliul tumoral)
Bevacizumab (Avastin)	2004	Anticorp monoclonal	VEGF (celule endoteliale)
Sorafenib (Nexavar)	2005	Moleculă Mică	VEGF, PDGFR, cRaf
Sunitinib (Sutent)	2006	Moleculă Mică	VEGF, PDGFR, cRaf
Temserolimus (Torisel)	2006	Moleculă Mică	Inhibitor Mtor
Everolimus (Afinitor)	2009	Moleculă Mică	Inhibitor Mtor
Pazopanib (Votrient)	2009	Moleculă Mică	Inhibitor VEGF, PDGFR, cRaf de gener II

formare alfa (TGF α) și eritropoietină. Căile de activare ale m-TOR sunt implicate într-o mare varietate de neoplazii umane ceea ce îl face atractiv ca țintă terapeutică. Inhibitorii mTOR care au fost evaluați până în prezent în terapia cancerului includ: temsirolimus (Torisel), everolimus (Afinitor) și ridaforlimus.[5],[6],[7].

Deși, erau mulți sceptici vis-a-vis de teoria lansată de J.Folkman, două decenii mai târziu au fost demarate primele cercetări în vederea elaborării unor remedii ce ar inhiba angiogeneza, pentru ca în anul 2004 pe piața farmaceutică să fie livrate primele preparate inhibitoare ale angiogenezei tumorale (Tab.I) care dețineau eficacitate semnificativă la etapa de trial clinic.

Bevacizumab (Avastin®) primul remediu anti-angiogen apărut pe piața farmaceutică, leagă factorul de creștere endotelial vascular blocând interacțiunea cu receptorii de la suprafața endoteliocitelor, în lipsa semnalului indus de cuplarea VEGF-VEGFR proliferarea, creșterea și chiar supraviețuirea celulelor endoteliale imature este compromisă, iar consecutiv se întrerupe formarea de vase noi, în consecință - creșterea tumorală și metastazarea. Posologia: 5,10 sau chiar 15 mg/kg intravenos la fiecare 2 săptămâni (funcție de tipul cancerului). Indicații: cancer mamar stadiu IV, în linia I de tratament; cancer bronho-pulmonar non-microcelular avansat, inoperabil, metastazat sau recurent, în linia I de tratament; cancer colo-rectal metastazat, în linia I și a II-a de tratament; cancer renal metastazat, în linia I de tratament. La această etapă terapia antiangiogenică, are statutul de chimioterapie neoadjuvantă a bolii recidivate și metastatice, utilizându-se în asociere cu o serie de combinații de chimioterapice uzuale: FOLFOX (ac. folinic+fluorouracil+oxaliplatină); CAPOX (capecitabină + oxaliplatină) sau XELIRI (capecitabină=xeloda+irinotecan).

Sunitinib (Sutent®) este un inhibitor cu moleculă mică, care tranzitând membrana celulelor tumorale inhibă relativ selectiv centrul enzimatic a unor tirozin-kinaze (VEGFR1-3, PDGFR alfa și beta, c-Kit, Flt-3, CSF-1R, Ret), limitând proliferarea endoteliocitelor, în lipsa cărora se inhibă și angiogeneza. Se recomandă în tratamentul de linia I-a la pacienții cu cancere renale metastatice și la pacienții cu tumori gastro-intestinale stromale cu progresie sau intoleranță la imatinib. Doza: 50 mg *per os* zilnic timp de 4 săptămâni urmată de o pauză de 2 săptămâni.[11], [12].

Reacțiile adverse sunt totalmente diferite de cele ale chimioterapicelor uzuale, avem deci o clasă de medicamente anticanceroase care, pare să nu aibă toxicitate hematologică (unul din efectele cele mai frecvente efecte secundare ale anticanceroaselor clasice,

fiind aplazia maduvei hematogene-țesut cu înaltă rată de proliferare), totuși nu pot fi neglijate:

1. Încetinirea vindecării rănilor, inclusiv a ulcelor soldate cu hemoragii și perforații gastrointestinale, cauza fiind limitarea formării vaselor în plagă.

2. Hipertensiunea arterială se consideră a fi consecință a diminuării patului micro-circulator, însoțită de creșterea rezistenței vasculare periferice totale.

3. Manifestări cardiovasculare (alungirea intervalului QT; tromboza arterială și insuficiență cardiacă).

4. Astenia și hipotiroidismul care se explică prin diminuarea numărului de capilare din ce infiltrează glanda tiroidă;

5. Inhibarea VEGF poate determina leziuni renale, cu proteinurie și edem (proteinuria > 3 g/zi impune întreruperea tratamentului cu antiangiogene și determinarea gradului de insuficiență renală);

6. Toxicitate neurologică (parestezii dureroase la nivelul palmelor și plantelor, cazuri de encefalopatie însoțite de: cefalee intensă, tulburări vizuale, crize convulsive) [13],[14] ;

Aspecte sociale. În Republica Moldova, conform protocoalelor naționale clinice (PNC), inhibitoarele angiogenezei se utilizează în cancerul glandei mame PNC-102 (în boala metastatică, bevacizumab în asociere cu chimioterapice - antraciline, taxane), cancerul bronhopulmonar non-microcelular PNC-118 (Bevacizumab, Erlotinib, Gefitinib), în cancerul colonic PNC- 130 și anorectal PNC-131 (chimioterapia neoadjuvantă a bolii recidivate și metastatice: XELOX + Bevacizumab; FOLFOX +/- Bevacizumab; IROX +/- Bevacizumab), la fel sunt prevăzute pentru tratamentul cancerul renal PNC-197 (Bevacizumab, Sorafenib, Sunitinib, Temsirolimus).

Conform administrației Institutului Oncologic din Chișinău, medicamentele ce inhibă angiogeneza sunt întrebuințate în tratamentul cancerului de către un număr restrâns de utilizatori. Cauza este de ordin tehnic și financiar, și constă în faptul că o parte din preparatele farmaceutice (sorafenib, sunitinib, temsirolimus) nu sunt înregistrate de Agenția Națională a Medicamentului, deși conform standardelor și ghidurilor internaționale servesc drept linii de tratament chimioterapic în cancer, iar cele care figurează pe listele Agenției au costuri extrem de ridicate, iar în lista medicamentelor compensate sau gratuite nu se regăsesc. Conform Ordinul MS RM N. 95 din 11.02.2014 cel mai ieftin preparat din această gamă este Avastin, livrat de compania farmaceutică elvețiană „F.Hoffmann-La Roche Ltd” sub formă de pulbere liofilizată în flacoane câte 400 mg (pentru un adult cu masa de 80 de kg este nevoie de 2 flacoane la o singură ad-

ministrare, odată în 2 săptămâni) costă 1026,27 euro. Cel mai scump preparat este Afinitor, produs de „Novartis Pharma Stein AG”, Elveția, 30 comprimate de 10 mg costă 4165,59 euro. În condițiile în care salariul mediu pe economie în conformitate cu Hotărârea Guvernului nr. 974 din 04.12.2014 este de 4500 lei. [15],[16].

Concluzii.

1. Angiogeneza este un proces complex, multistadial, mediat de factori proangiogenici (în mod special VEGF). Acest fenomen are semnificație dublă, pe de o parte este implicat într-o serie de fenomene fiziologic normale (dezvoltarea, regenerarea plăgilor, ovulația și menstruația), pe de alta poate constitui fundamentul patogenetic al unor boli precum cancerul.

2. Cunoașterea factorilor pro- și antiangiogenici, cât și a mecanismelor ce stau la baza procesului, permit sinteza agenților antiangiogenici exogeni ce sunt în stare să oprească răspândirea tumorală.

3. Inhibitorii angiogenezei constituie o clasă de medicamente anticanceroase care din punct de vedere structural și al mecanismului de acțiune pot fi anticorpi monoclonali și inhibitori tirozinkinazici cu moleculă mică.

4. Teste clinice efectuate pe pacienți bolnavi de cancer, care au constat în administrarea concomitentă a chimioterapicelor clasice în asociere cu preparate inhibitoare ale angiogenezei, au relevat creșterea speranței de viață cu 6 luni până la 3-5 ani.

5. Inhibitorii angiogenezei sunt medicamente anticanceroase care, par să aibă toxicitate hematologică extrem de redusă (spre deosebire de anticanceroasele uzuale). Iar pe viitor pentru a diminua și mai mult frecvența și gravitatea reacțiilor adverse se preconizează livrarea de factori antiangiogenici în situsul tumorii prin utilizarea unor bacterii modificate genetic (din genul *Clostridium*, *Bifidobacteria* și *Salmonella*) care sunt capabile să colonizeze tumori solide *in vivo*. Această metodă presupune introducerea prin inginerie genetică a unor gene ce codifică factorii antiangiogenici, cum ar fi endostatina sau IP10-chemokină și eliminarea tuturor genelor de virulență nocivă.

Bibliografie:

[1] <http://www.angio.org/> site oficial al Fundației Angiogeneza.
[2] Harisson. Principes de Medecine Inerne. 16 edition. p.460-464.
[3] Gingras D., Béliveau R. L'angiogenèse tumorale: une nouvelle cible thérapeutique anticancéreuse; médecine/sciences 1997 ; 13 : 1428-35.

[4] Jurnalul de Chirurgie, Iași, 2010, Vol. 6, Nr. 2 [ISSN 1584 – 9341] .

[5] Vandebroek A, Schrijvers D. Gene therapy. European Society for Medical Oncology Handbook of principles of translational research. Informa Healthcare 2007;121-127.

[6] Covic M., Ștefănescu D., Genetică medicală; PO-LIROM 2011 p. 600-601.

[6] Fukumura D, Duda DG. Tumor microvasculature and microenvironment: novel insights through intravital imaging in pre-clinical models. Microcirculation 2010, 17:206-225.

[7] ROCÍO MONTES-VERA M. Aspectos farmacocinéticos de bevacizumab. Rev Hosp Jua Mex 2013; 80(1): 73-78.

[8] Ciuleanu Te. Terapia moleculară țintită și alte tratamente biologice. In Nagy Viorica. Principii de cancerologie generală. Ed. Med. UMF Iuliu Hașeganu Cluj, 2007: 139- 166.

[9] Weijing S. Angiogenesis in metastatic colorectal cancer and the benefits of targeted therapy. Journal of Hematology & Oncology 2012, 1756-8722-5-63.

[10] Raica M., Câmpăan A. M., Gaje P. N., Ribatti D., - Angiogeneza și limfangiogeneza tumorală. Editura - Victor Babeș, 2010. ISBN 978-606-8054-28-5.

[11] Ghicavăii V. Medicamentul - baza farmacoterapiei raționale. Tipografia Centrală, 2013. ISBN 978-9975-53-174-0

[12] www.ema.europa.eu. Accesat martie 2016.

[13] Ferrara N. - Angiogenesis From Basic Science to Clinical Applications. ISBN 33487-2742.

[14] Méjean A., Lebreton T. - La cascade métastatique : angiogenèse et nouveaux concepts. Progrès en Urologie (2008), Suppl. 7, S156-S166.

[15] <http://nomenclator.amed.md>. Accesat aprilie 2015.

[16] Ordinul MS RM N. 95 din 11.02.2014. Accesat pe <http://www.amed.md/> în aprilie 2015.

[17] Judah Folkman, Antiangiogenesis in cancer therapy – endostatin and its mechanisms of action, Experimental Cell Research, Volume 312, Issue 5, Pages 594-607 Judah Folkman

[18] Baluk P. et al. Abnormalities of basement membrane on blood vessels and endothelial sprouts in tumors. In: Am J Pathol. 2003, vol. 163, nr. 5, p. 1801-1815.

[19] Gee M.S. et al. Selective cytokine inhibitory drugs with enhanced antiangiogenic activity control tumor growth through vascular inhibition. In: Cancer Res. 2003, vol. 63, nr. 23, p.8073-8078

[20] Polverini PJ – Role of macrophages in tumor angiogenesis. In: Voest EE, D'Amore PA Eds, Tumor angiogenesis and microcirculation, Marcel Dekker Inc, 2001, 335-349.

[21] Makanya AN, Hlushchuk R, Bum O, Velinov N, Ochs M, Djonov V. Microvascular endowment in the developing chicken embryo lung. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2007 (292), p.1136-1146.

[22] Carmeliet, P. and Jain, R.K. (2000) Angiogenesis in cancer and other diseases. Nature , 407, 249 –257.

- [23] Ozerdem U, Stallcup WB – Early contribution of pericytes to angiogenic sprouting and tube formation. *Angiogenesis*, 2003,6: 241-249.
- [24] Simons M, Gabor M. Rubanyi. Modern concepts in angiogenesis, 2007, pp. 289-393.
- [25] Anil K. Sood, Robert L. Coleman, Lee M. Ellis - Moving Beyond Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Therapy in Ovarian Cance. FEB 2012 JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY.
- [26] Asahara T, Masuda H, Takahashi T – Bone marrow origin of endothelial cell progenitor cell responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circulation Res*, 1999, 85: 221-228.
- [27] El Hallani S, Boisselier B, Peglion F, et al. A new alternative mechanism in glioblastoma vascularization: tubular vasculogenic mimicry. *Brain*. 2010;133:973–82.
- [28] Hess AR, Seftor EA, Gruman LM, Kinch MS, Seftor RE, Hendrix MJ, VE-cadherin regulates EphA2 in aggressive melanoma cells through a novel signaling pathway: implications for vasculogenic mimicry. *Cancer Biol Ther*. 2006 Feb; 5(2):228-33.
- [29] Margaryan NV, Strizzi L, Abbott DE, Seftor EA, Rao MS, Hendrix MJ, Hess AR, EphA2 as a promoter of melanoma tumorigenicity. *Cancer Biol Ther*. 2009 Feb; 8(3):279-88.
- [30] Hess AR, Hendrix MJ, Focal adhesion kinase signaling and the aggressive melanoma phenotype. *Cell Cycle*. 2006 Mar; 5(5):478-80.
- [31] Lili Q, Ning L, Jiandong Z, Jian X, Fengjun L, Xinshuang Y, Yuan T. Advanced research on vasculogenic mimicry in cancer. *J Cell Mol Med*. 2015 Feb; 19(2): 315–326.
- [32] Robert R. Langley, Chris Paraskev, Theresa L. Whiteside, Jiri Zavadil Tumour microenvironment, 3 Biology, 3.7: 236-243, World Cancer Report 2014.