



Molekulární biologie nádorů

Prof. RNDr. Jana Šmardová, CSc.

Ústav patologie, FN Brno
Přírodovědecká fakulta MU Brno
Lékařská fakulta MU Brno
2011

**8. Angiogeneze
(neovaskularizace)
v kancerogenezi**

Sedm získaných vlastností maligního nádoru

získaná schopnost	příklad
 Soběstačnost v produkci růstových signálů aktivace	<i>H-ras</i>
 Necitlivost k signálům zastavujícím b.c.	ztráta RB
 Poškození apoptózy	produkce IGF
 Neomezený replikační potenciál	aktivace telomerázy
 Posílení angiogeneze	produkce VEGF
 Tvorba metastáz	inaktivace E-kadherinu

Nestabilita genomu jako podmínka akumulace všech nutných změn.

Angiogeneze, neovaskularizace

- Schopnost nádoru indukovat proliferaci nových krevních vlásečnic.
- Má vliv na růst primárního nádoru, schopnost tvořit metastázy a na růst sekundárního nádoru (\Rightarrow pro tvorbu metastáz má angiogeneze význam 2x!!).
- Nádor bez angiogeneze doroste maximálně do několika miliónů buněk (100 až 200 μ m je difúzní limit pro kyslík), tj. do velikosti několika kubických milimetrů - nedoroste do klinicky detekovatelné velikosti - tím je schopnost tvořit metastázy omezena (nikoli vyloučena! - dormantní mikrometastázy - např. nádoru prsu do plic).

Historický pohled na angiogenezi nádorů

- Před asi 100 lety objeveno, že v souvislosti s nádory se objevuje neovaskularizace.
- **1.** Nejsou to nové vlásečnice, ale využití stávající.
- **2.** Jsou to nové vlásečnice a jsou výrazem boje organismu s nádorem.
- **3.** 1971 (Judah Folkman) - pokus: prevence neovaskularizace → restrikce růstu nádoru ⇒ nádory jsou dependentní na angiogenezi.
- Na tom založena i jedna z možných strategií terapie nádorů.

Angiogeneze

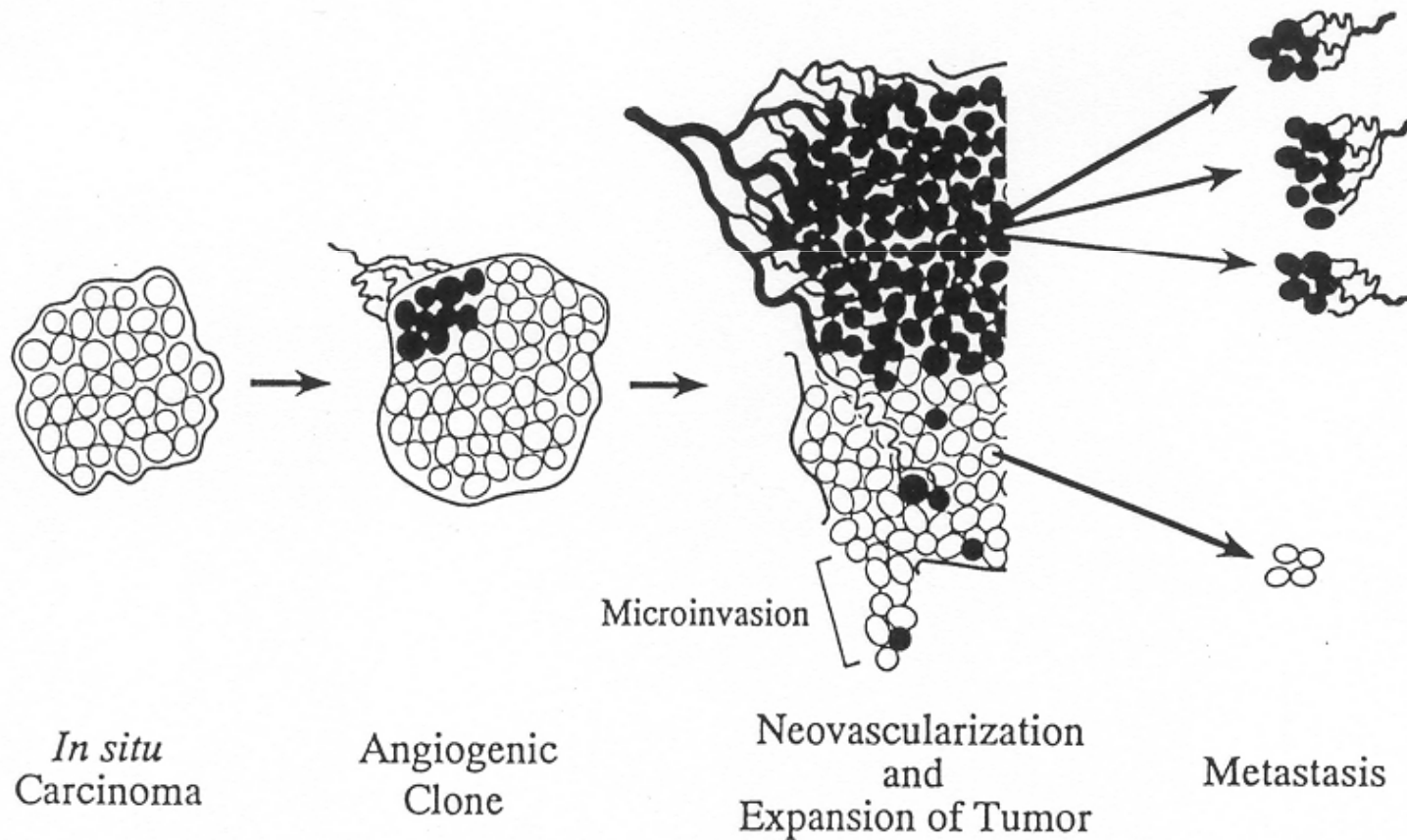
- Bez angiogeneze roste nádor pomalu a lineárně, po neovaskularizaci rychle a exponenciálně: krevní cévy přivádějí nejenom živiny a kyslík (a odvádějí odpady), ale také růstové faktory.

Pomalost a malá velikost nádoru před angiogenezí není dána jen pomalou proliferací, ale i tím, že je vyrovnaná rychlost proliferace a odumírání buněk.

- Angiogeneze je nutná pro maligní fenotyp nádoru, ale není dostatečná - tj. i benigní nádory mohou být angiogenní.

Angiogeneze

S neovaskularizací se zvyšuje šance na infiltraci nádoru (buňky mají kudy infiltrovat) a navíc už mají angiogenní potenciál, což zvyšuje jejich šanci na uchycení a vytvoření sekundárního nádoru.



Klinické využití výzkumu neovaskularizace

1. Stimulace angiogeneze při hojení ran, pro „bypasování“ zjizveného srdce, apod.
2. Využití pro diagnózu a prognózu nádorů (angiopoietin-2).
3. Využití pro terapii nádorů (anti-VEGF).

Průběh neovaskularizace

Vaskulogeneze - endoteliální buňky *de novo* diferencují z mezodermálních progenitorů (angioblastů a hemangioblastů) a proliferují *in situ* v původně avaskulární tkáni. Proces je nezávislý na stávajících cévách. Uplatňuje se zejména při tvorbě primitivních embryonálních cév.

Angiogeneze - následuje vaskulogenezi, uplatňuje se v embryogenezi, hojení ran, ovulaci, ..

Remodelace - modifikace iniciální sítě větvením a zvětšováním kapilár, vznik složité rozvětvené sítě charakteristické pro zralou vaskulaturu. Zároveň dozrávají také stěny vlásečnic, jak se zpevňují interakce mezi endoteliálními a podpůrnými (hladké svalstvo) buňkami.

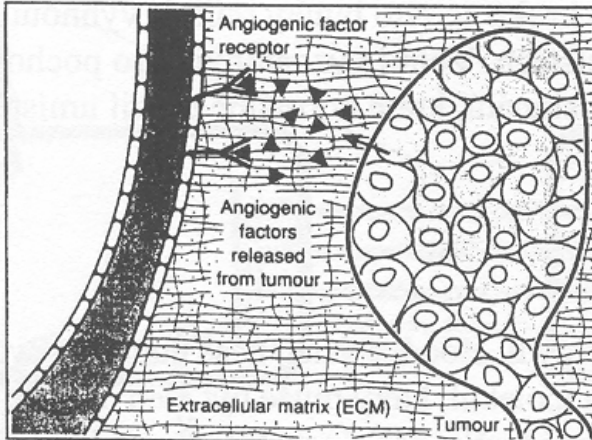
Větvení - „sprouting“ existujících kapilár do avaskulární tkáně - spojeno s destabilizací původních kapilár, následným větvením nejdříve nezralých kapilár a dále zrání i nově vytvořených kapilár.

Průběh neovaskularizace

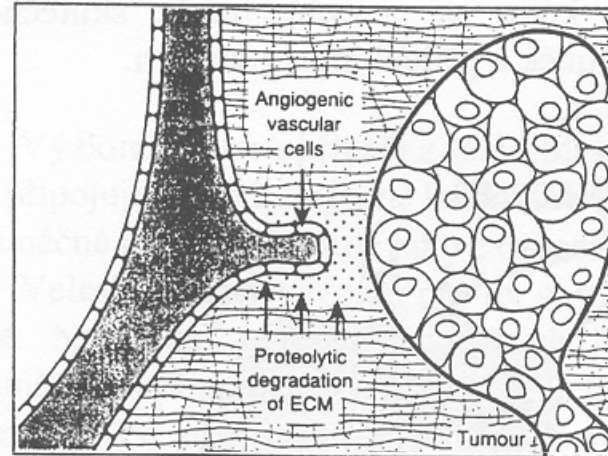
- U dospělého jedince se nové cévy tvoří pouze angiogenezí. Vaskulatura je velmi „klidová“ tkáň (s výjimkou např. přísně řízeného reprodukčního cyklu u žen: ovulace, menstruace, implantace, těhotenství) - endoteliální buňky patří k nejdéle žijícím buňkám (mimo CNS) v těle (v b.c. je asi 1 z 10.000 endoteliálních buněk - 0.01%).
- Při působení odpovídajících růstových faktorů mohou klidové vaskulární buňky přejít z klidového stádia a začít invadovat okolní prostředí.

Model průběhu nádorové neovaskularizace

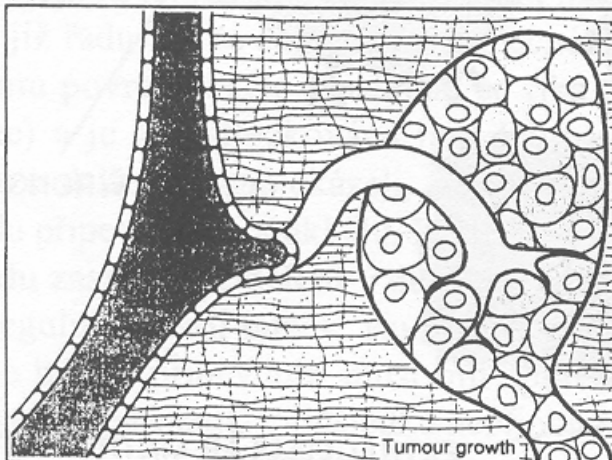
(a) Initiation



(b) Invasion/proliferation



(c) Maturation/differentiation

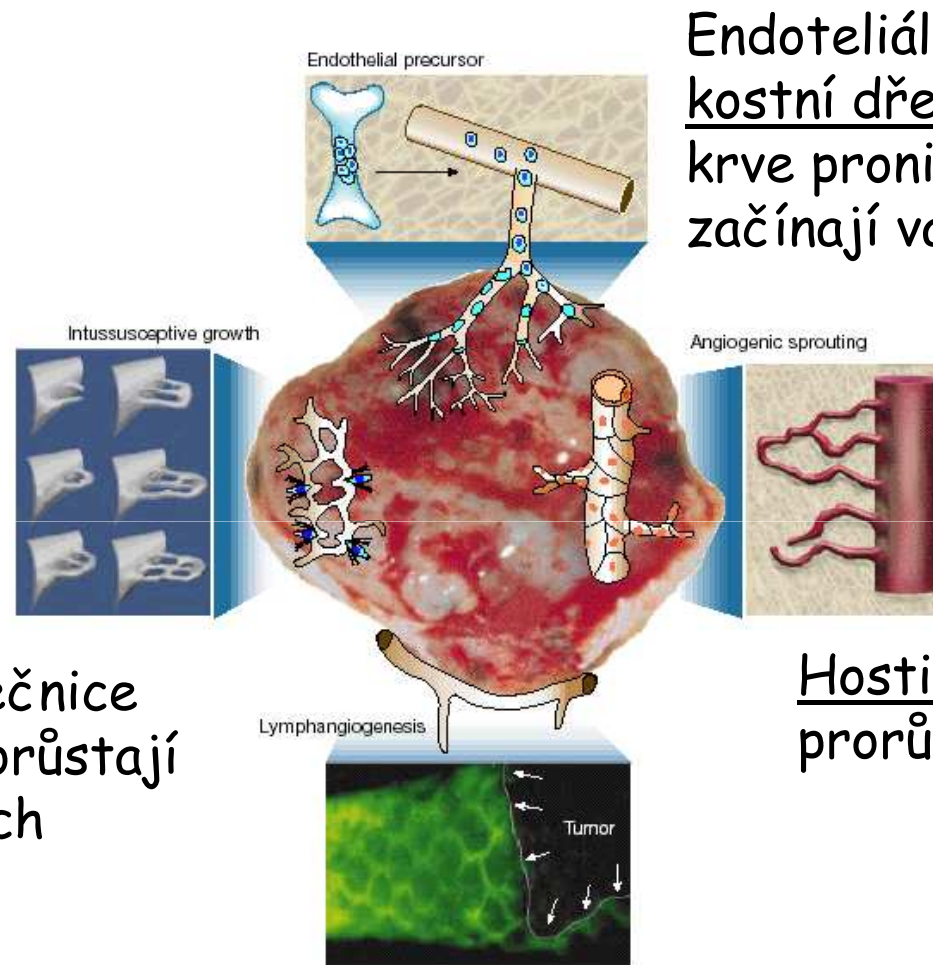


Iniciace začíná uvolňováním angiogenních stimulátorů nádorovými buňkami. Tyto faktory stimulují proliferaci a invazivní chování vaskulárních buněk.

Invaze/proliferace: Vaskulární buňky sekretují proteolytické enzymy a zároveň proteiny ECM. Dochází k remodelaci ECM, tvoří se prostor pro nové cévy.

Maturace/diferenciace: Vznikající céva produkuje komponenty bazální membrány, které udržují endoteliální b. v klidovém stavu. Nové výběžky fúzí a nový cévní systém se uzavírá.

Buněčné mechanismy neovaskularizace nádorů



Endoteliální prekurzory z kostní dřeně a periferní krve pronikají do nádoru a začínají vaskulogenezi.

Nádorové vlásečnice expandují a prorůstají až do stávajících vlásečnic.

Hostitelská síť prorůstá do nádoru.

Lymfatické vlásečnice kolem nádoru „omývají“ nádor, jsou příležitostí pro metastázování.

Kdo se podílí na neovaskularizaci?

Které buňky?

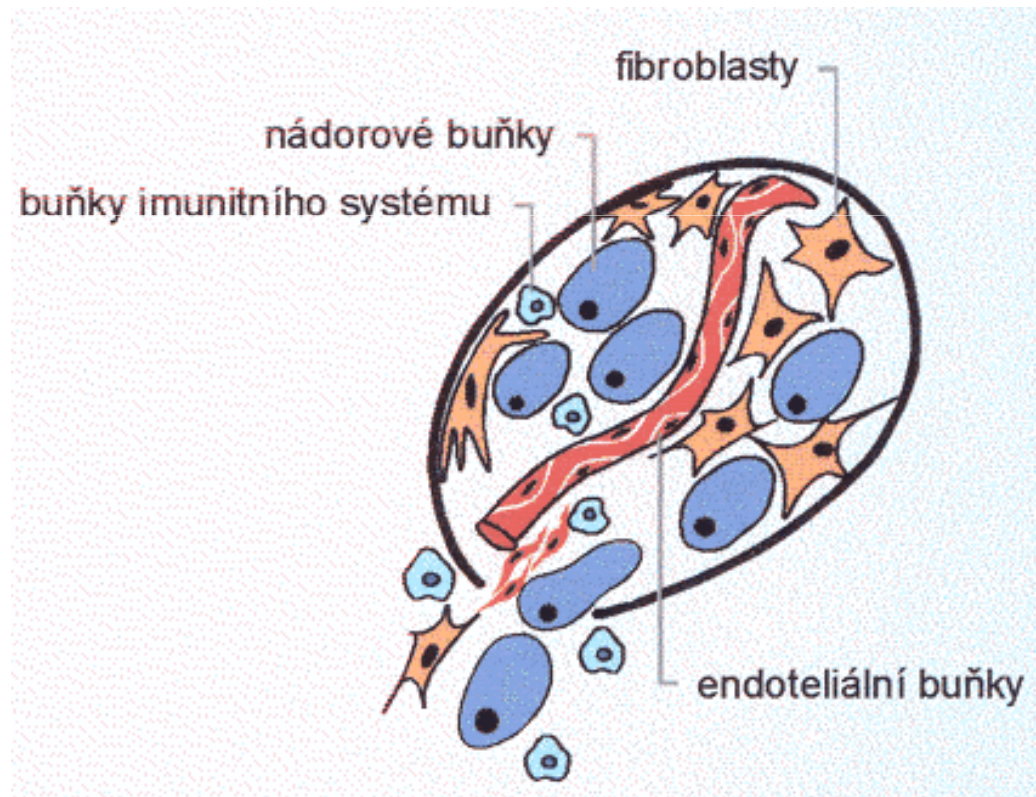
- Nádorové buňky
- Endoteliální buňky
- Stromální buňky
- Krevní buňky
- Extracelulární matrix

Jejich podíl je různý u různých typů nádorů a mění se i během vývoje nádoru.

Při nádorové neovaskularizaci kooperují různé
buňky

* * *

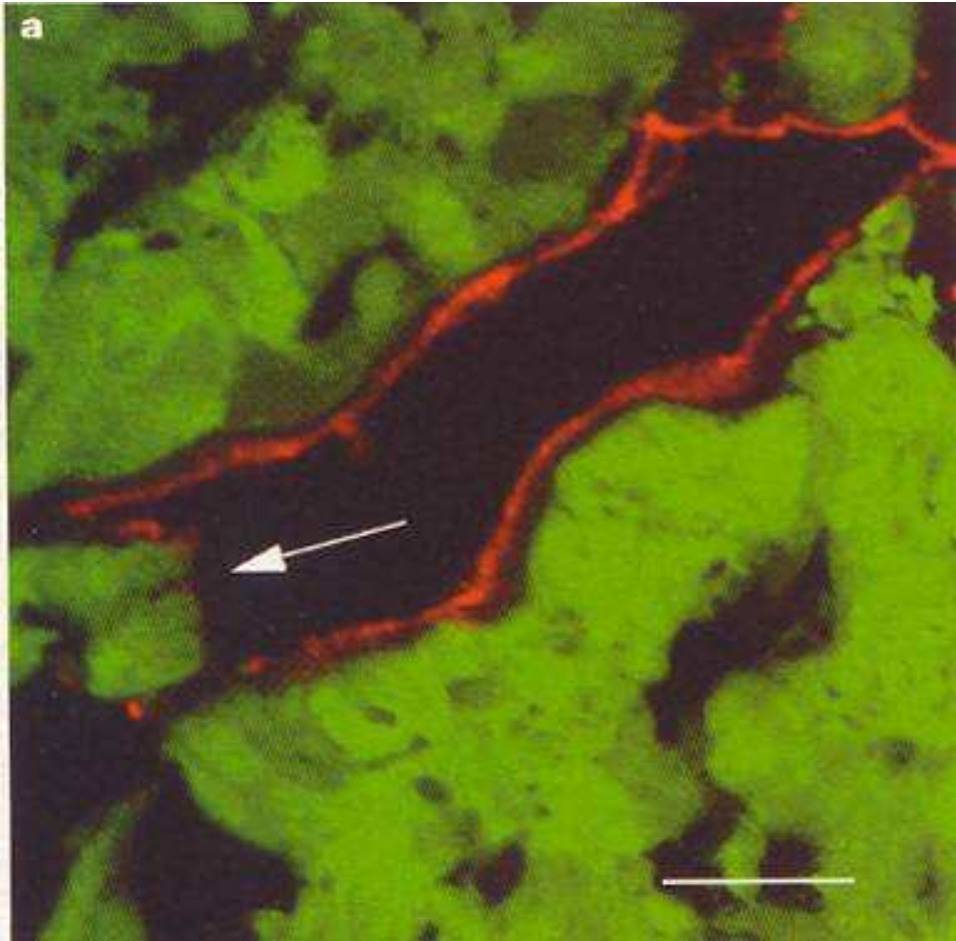
Nádor je komplexní tkáň



Nádorová vaskulatura je funkčně i strukturně abnormální

- Nádorová vaskulatura je vysoce neorganizovaná: kapiláry se nepravidelně krotí, jsou roztažené, s nepravidelným průměrem, s nadměrným větvením, přerušované, nezralé, bez souvislé bazální membrány, téměř bez podpůrných buněk pericytů,....
 - ← To může vznikat v důsledku nerovnoměrného uvolňování angiogenních regulátorů.
- Tok krve je chaotický a velice různý v různých částech systému. Proto vznikají v nádoru místa s hypoxií a nadměrnou kyselostí.
 - ⇒ Tato okolnost může ovlivňovat efekt terapie; vytváří se prostor, ve kterém může např. dojít k selekci a klonální expanzi buněk, které neodpovídají na hypoxii apoptózou, ..
 - ⇒ Tato okolnost ovlivňuje další vývoj nádoru...

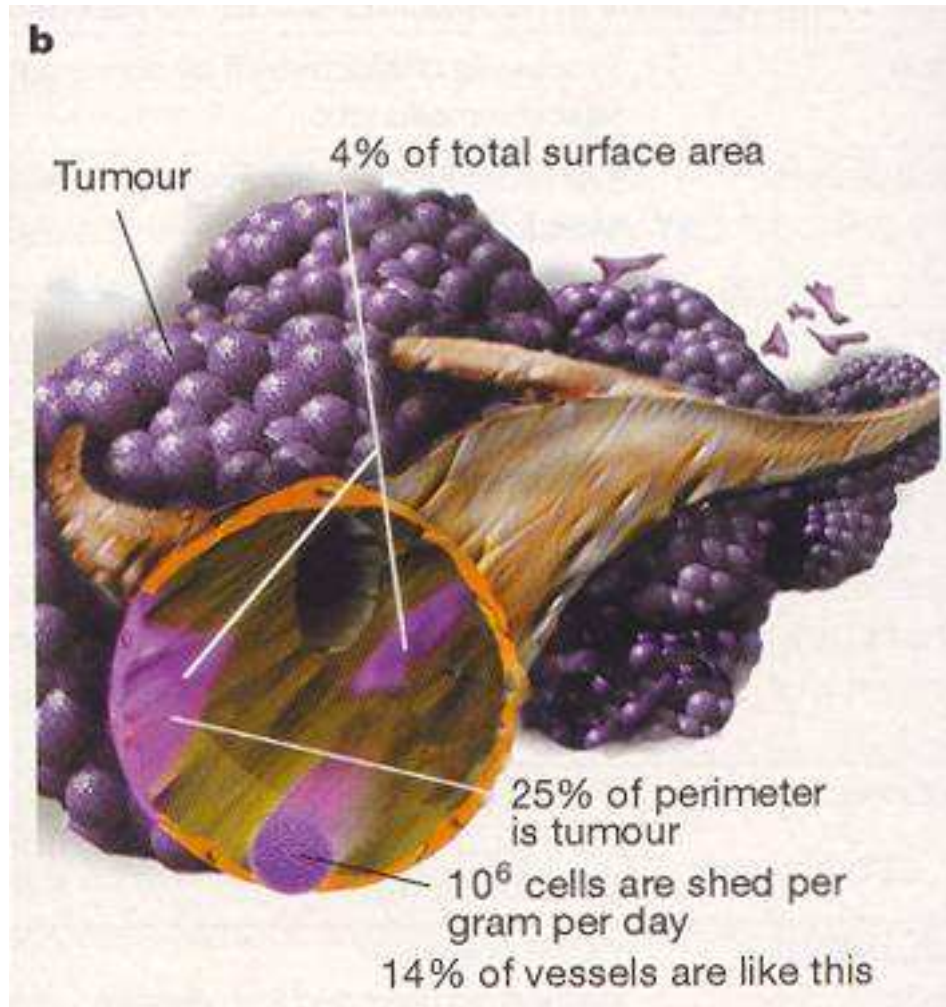
Struktura nádorové vaskulatury



Struktura krevní kapiláry v kolorektálním karcinomu.

Umístění **nádorové buňky** (zelená fluorescence) uvnitř krevní kapiláry (**endoteliální buňky** - červená fluorescence) - tzv. mozaikovitá struktura.

Struktura nádorové vaskulatury

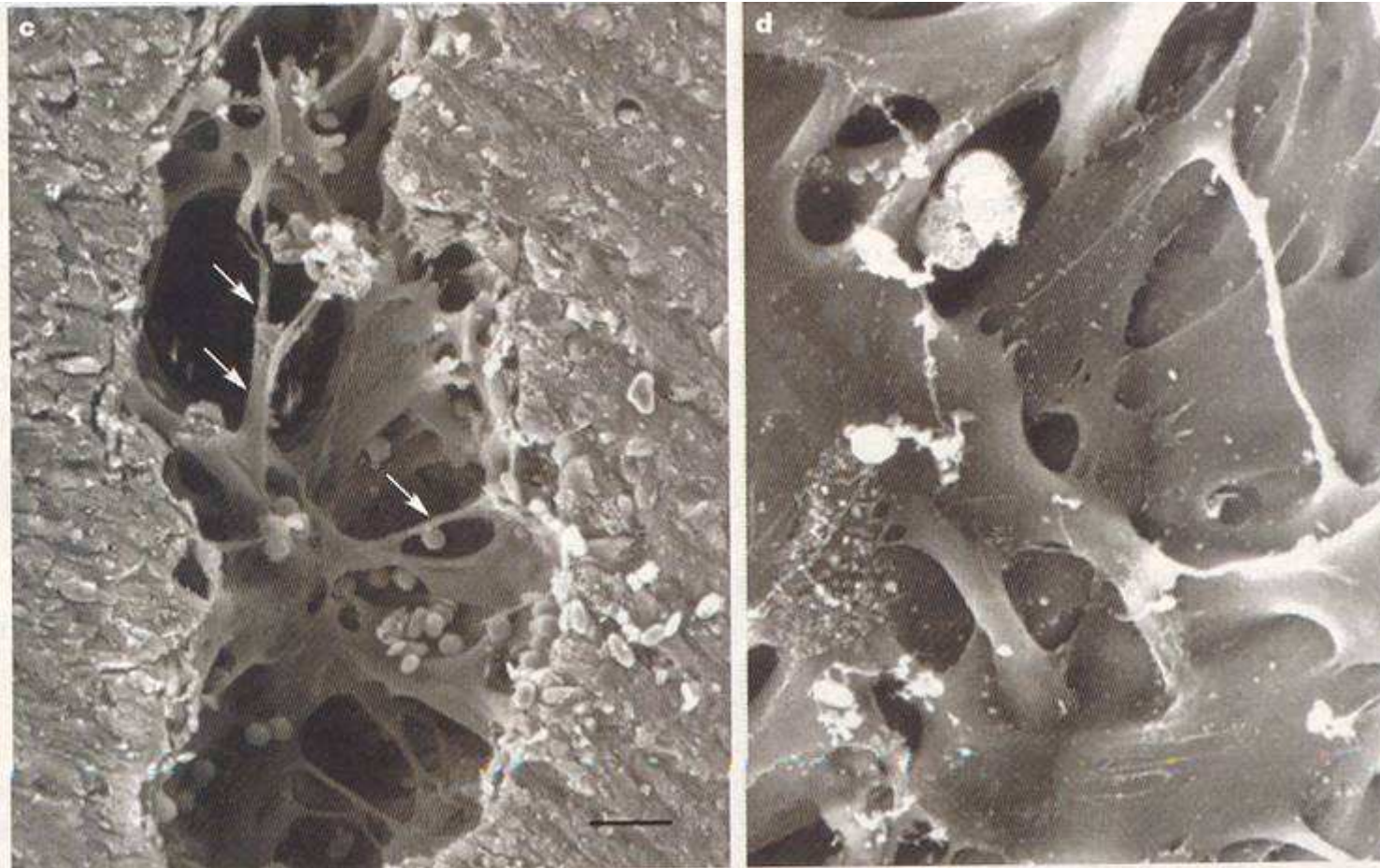


Kvantifikace
mozaikové struktury
vlásečnic u
kolorektálního
karcinomu:

- asi 15% vlásečnic je mozaikovitých
- nádorové buňky zaujímají asi 4% povrchu vlásečnic

Struktura nádorové vaskulatury

- abnormální endoteliální buňky umístěné v lumen krevních vlásečnic
- násobné intercelulární otvory



Vaskulogenní mimikry

- Popsáno poprvé u vysoce agresivních forem maligního melanomu.
- Avaskulární kanálky, tvořené nádorovými buňkami, kterými protéká krev: tvoří se bez účasti endoteliální proliferace a připisuje se plasticitě geneticky dysregulovaných nádorových buněk.
- Prokázáno také u karcinomu ovaria, prostaty, inflamatorního karcinomu prsu a sarkomů měkkých tkání.
- Zde není účinná standardní antiangiogenní terapie

Kdo se podílí na neovaskularizaci?

Které faktory?

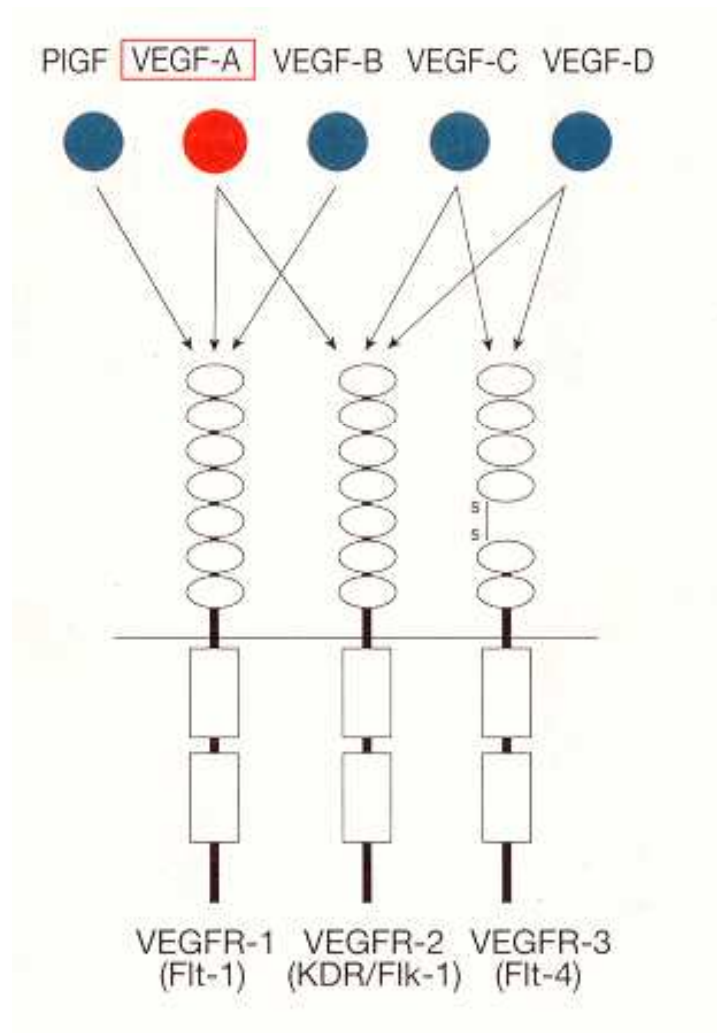
Specifické:

- **VEGF** a receptory **VEGFR**
- **Angiopoietiny** a receptory **Tie**
- **Ephriny** a receptory **EphB**

Nespecifické:

- Dále růstové faktory, které nejsou specifické pro endoteliální buňky (PDGF, TGF β).
- Další proteiny různých signálních drah.

VEGFs a receptory VEGFR



- VEGF byl první charakterizovaný faktor specifický pro vaskularizaci - vaskulární endoteliální růstový faktor (původní název - vaskulární permeabilní faktor).

- **Je kritický pro iniciaci vaskulogeneze i pro angiogenní větvení.**

- Popsáno 6 různých VEGF faktorů a 4 různé receptory.

- Patří do rodiny PDGF.

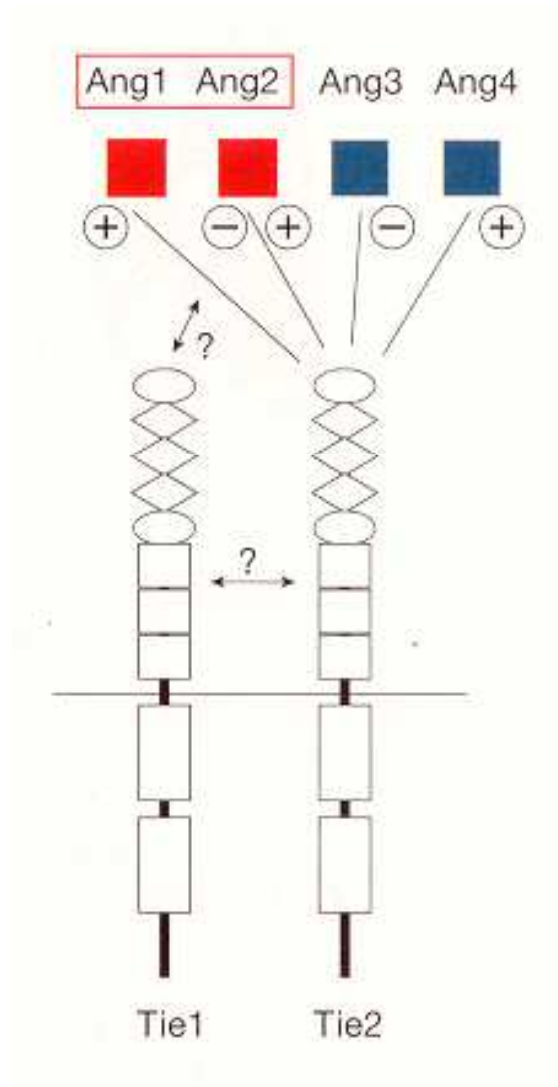
VEGFs a receptory VEGFR

- Všechny faktory mají podobnou strukturu a překrývají se specificitu - všechny jsou schopny interagovat s receptory a indukovat je. Jsou označeny jako **VEGF-A** až **E** a dále byl rozpoznán jako příbuzný faktor **PLGF** („placental growth factor“).
- Tyrosin protein kinázové receptory **VEGFR-1 (Flt-1)**, **VEGFR-2 (KDR, Flk-1)** a **VEGFR-3 (Flt-4)** zprostředkovávají signalizaci faktory VEGF.
VEGFR-2 zprostředkovává hlavní signalizace týkající se růstu a permeability.
VEGFR-1 stimuluje změny v ECM (mohl by mít i negativní roli (možná funguje jako „decoy“ a suprimuje tak funkci VEGFR-2).
VEGFR-3 se zdá být specifický pro lymfatické tkáně.

VEGFs a receptory VEGFR

- VEGF je tak potentní a kritický vaskulární regulátor, že jeho hladina musí být perfektně **regulována** (exprese stimulována hypoxií a signalizací onkogeny; VEGFs mohou být zadržovány v ECM v latentní formě a aktivovány a uvolněny proteázami ECM).
- Poškození i jediné alely VEGF je u myši letální během embryonálního vývoje. Na druhou stranu se zdá, že je celkem postradatelný v dospělosti.
- Nadměrná exprese VEGF (nebo samotné podání VEGF) v dospělých tkáních vede k tvorbě propustných vlásečnic, které vedou ke krvácení, a to vyvolává zánětlivou reakci a otoky (vaskulární permeabilní faktor).

Angiopoietiny a receptory Tie



- Popsány alespoň čtyři typy angiopoetinů **Ang1** až **4** a dva typy receptorů **Tie1** a **Tie2**.
- **Ang1** je nezbytný k udržování klidového stádia a stability již zralé vaskulatury.
- Naopak porušení této stability je nezbytné pro reiniciaci přestavby vaskulatury v dospělosti (např. reprodukční systém žen), která je zajištěna působením antagonisty Ang1 - **Ang2**.

Angiopoietiny a receptory Tie

- **Angiopoetiny** tvoří nejvýznamnější partnery faktorů VEGF při tvorbě vaskulatury.
- Angiopoietiny byly popsány jako ligandy tyrozin protein kinázových receptorů Tie, které byly nalezeny jako receptory **specificky** exprimované v endoteliálních buňkách, podobně jako VEGFRs.
- Angiopoietiny se váží primárně na **Tie2**; Tie1 je vazebným místem spíše jako součást heterodimeru.

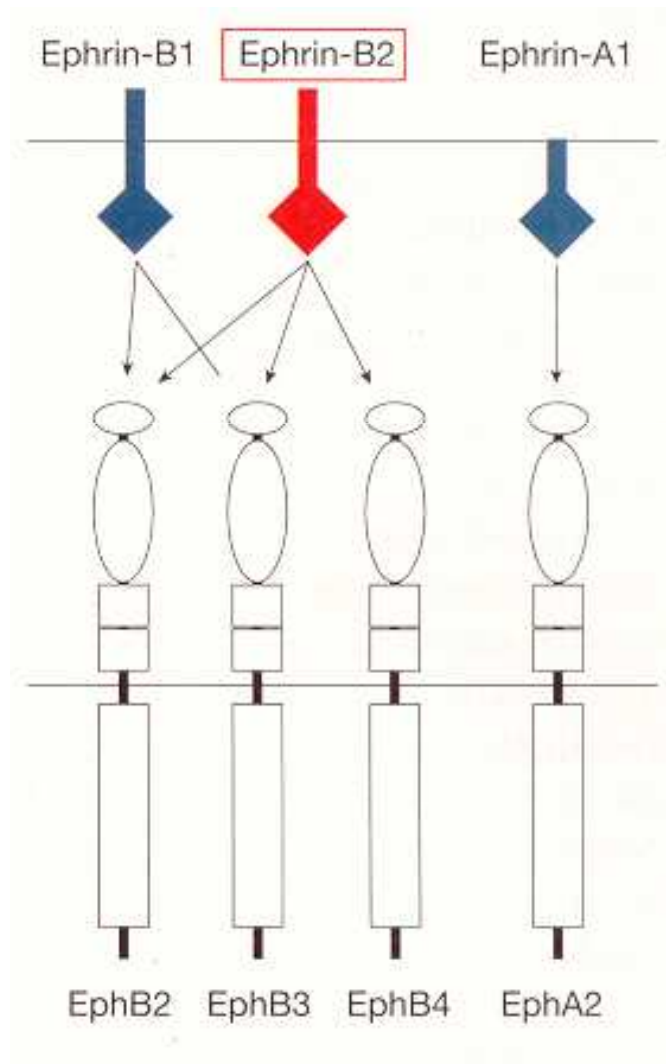
Působení angiopoietinu 1

- **Ang1** samotný asi neindukuje remodelaci vaskulatury, spíše s ní souvisí tím, že optimalizuje interakci endoteliálních buněk s podpůrnými buňkami, která umožňuje získávání dalších kritických signálů z prostředí.
- Produkován hlavně hladkými svalovými buňkami.
- Transgenní overexprese Ang1 spíše zvyšuje velikost vlásečnic (VEGF jejich počet).
- Samotné podání Ang1 spíše stabilizuje a chrání dospělou vaskulaturu, činí ji rezistentní k poškození a propustnosti vyvolanými působením VEGF nebo zánětlivou reakcí.

Působení angiopoietinu 2

- **Ang2** byl popsán na základě své homologie s Ang1 a na základě schopnosti interagovat s Tie2.
- Je produkován endoteliemi.
- Ang2 může aktivovat, ale i antagonizovat Tie2, podle okolností.
- U dospělých je indukována exprese Ang2 v iniciační fázi remodelace vaskulatury. Zřejmě Ang2 destabilizuje a činí více plastickými stávající cévy, které tak připomínají primitivní cévy během vývoje. Tato destabilizace je nutná k následné remodelaci.

Ephriny a receptory EphB

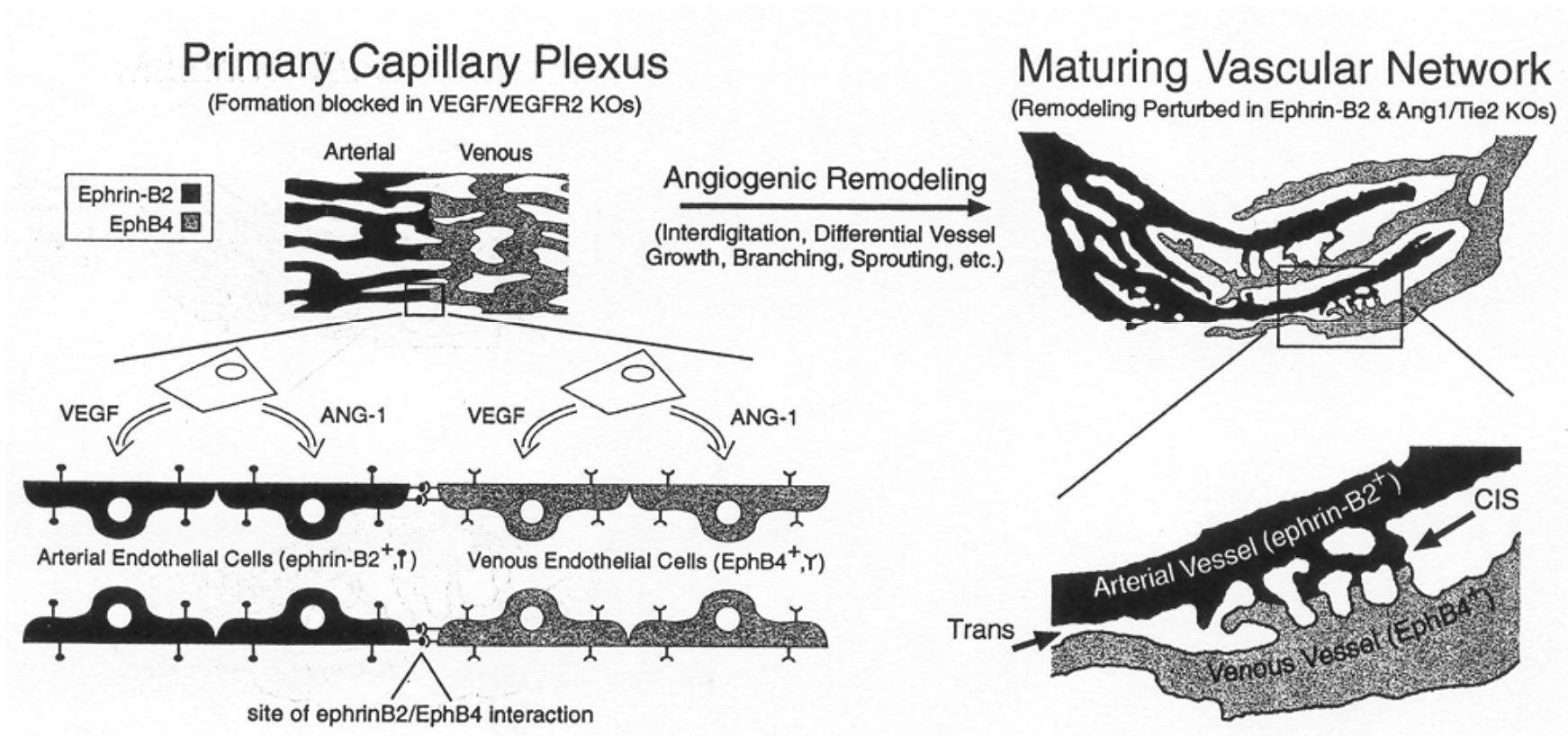


- Receptory Eph jsou tyrozin protein kinázy, ephriny jsou jejich ligandy.
- Ephriny - na rozdíl od ostatních ligandů - musí být pevně přichyceny k povrchu buňky, aby mohly aktivovat své receptory.
- Ve vývoji vaskulatury se uplatňují především **Ephrin-B2** a receptor **EphB4**.

Ephrin-B2 a receptor EphB4

- Ephrin-B2 a receptor EphB4 se vyznačují výrazně reciprokou expresí během vývoje vaskulatury.
Ephrin-B2 označuje endotelium primordiálních tepenných cév a receptor EphB4 označuje primitivní žilné cévy.
- Ephrin-B2 i v dalším vývoji je exprimován na tepnách, ale také v okolních tkáních obklopujících tepny (hladké svalstvo v okolí tepen), zřejmě zajišťuje vzájemné interakce těchto tkání. Silná re-exprese Ephrinu-B2 je také součástí remodelace vaskulatury během reprodukčního cyklu žen.
- I když Ephrin-B2 a EphB4 tvoří „klasickou dvojici“ ligand-receptor - jejich vzájemné interakce jsou zřejmě možné pouze na rozhraní arterií a vén (← Ephrin-B2 je pevně přichycen na buněčném povrchu!!)

Ephrin-B2 a EphB4 odlišují tepny a žíly



vaskulogeneze → angiogeneze → arteriogeneze ???

Úloha VEGF, Ang1 a 2, Ephrinu-B2 a EphB4 při vaskulogenezi a angiogenezi

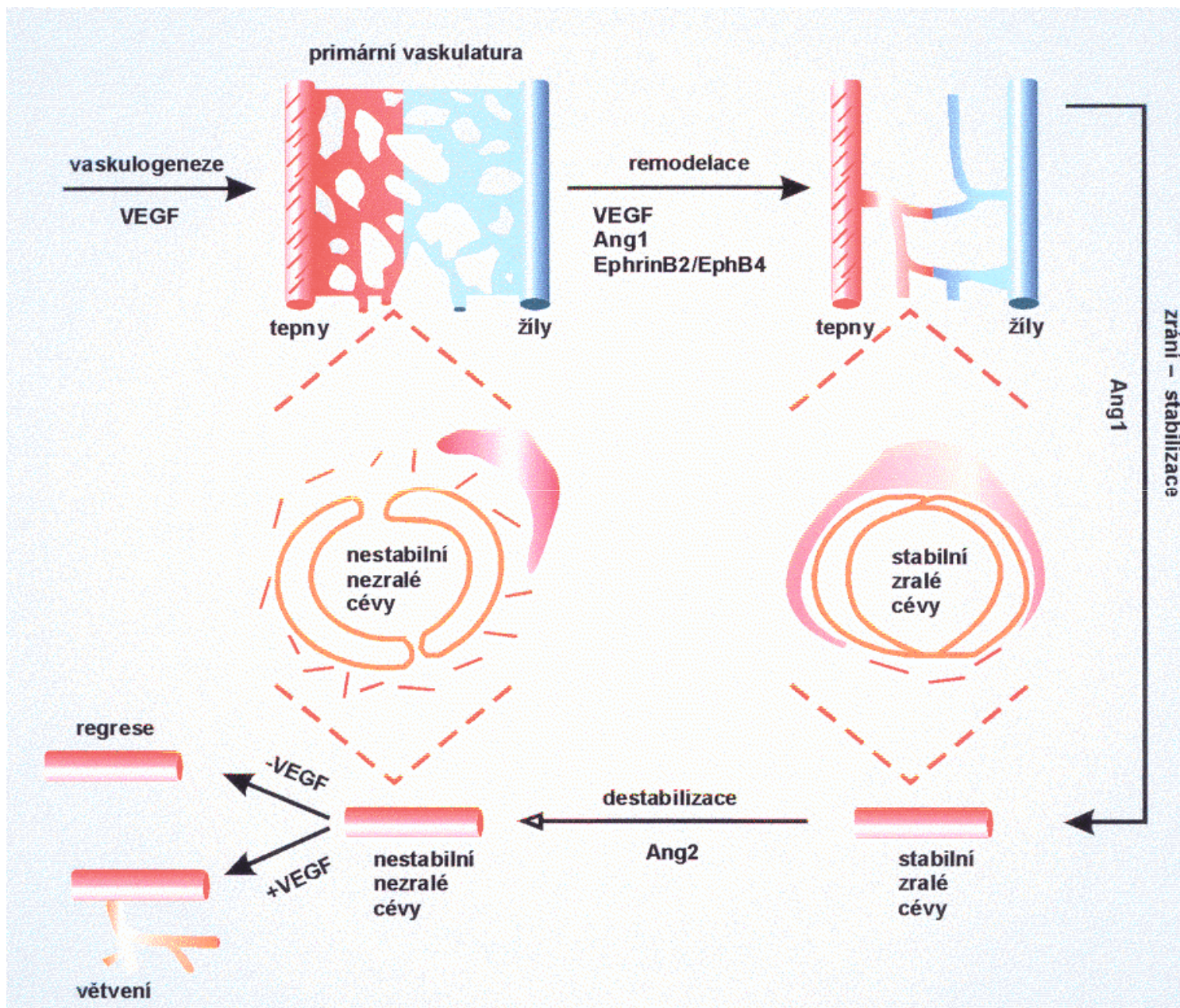
Vaskulogeneze - uplatňuje se **VEGF** a také od samého začátku **Ephrin-B2** a **EphB4** rozlišují primitivní tepny a cévy.

Na **angiogenní remodelaci** a **zrání** se vedle **VEGF** a **Ephrinu-B2/EphB4** dále podílí **Ang1**, který následně udržuje zralou vaskulaturu v klidovém stádiu.

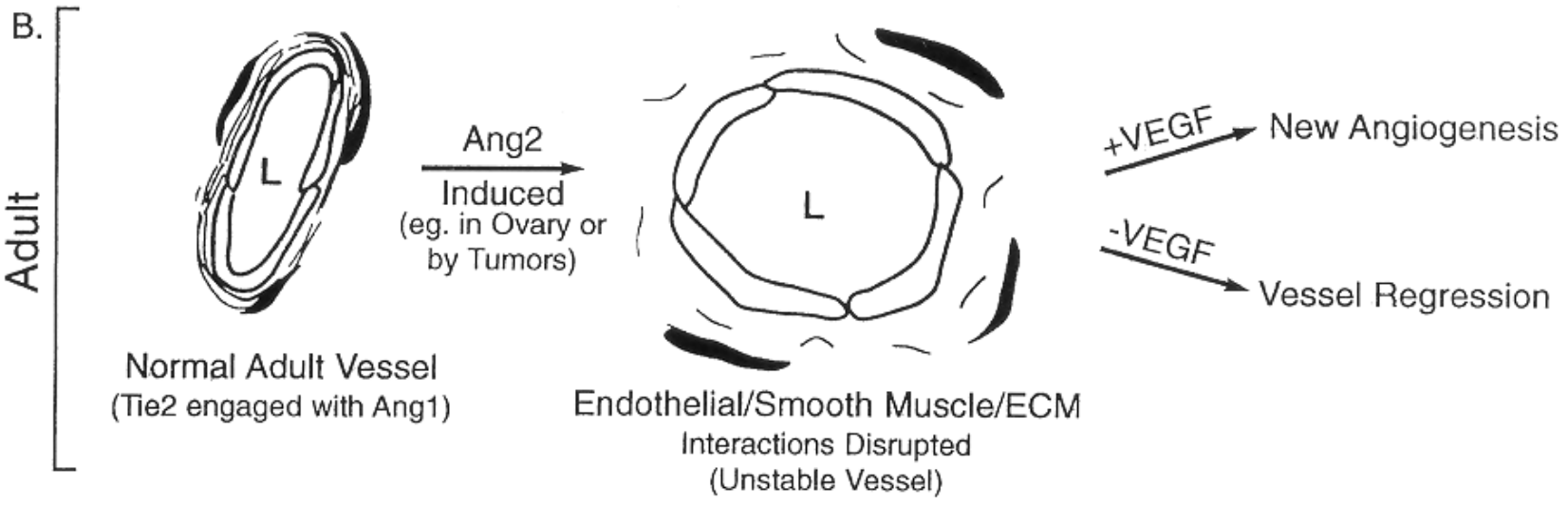
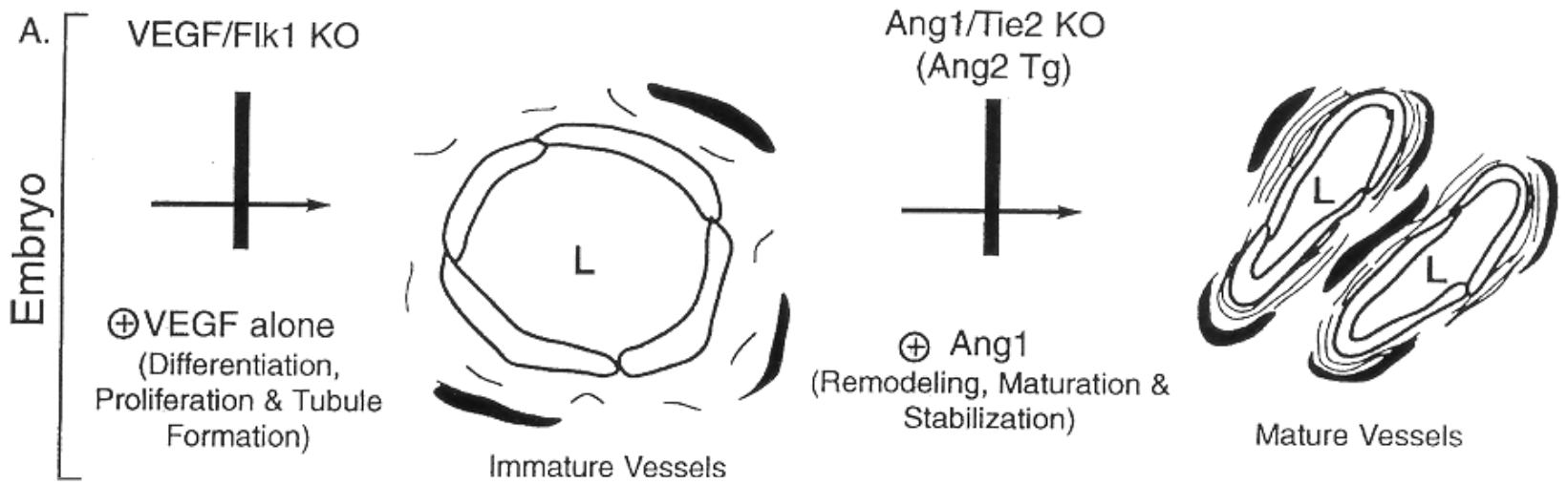
Pro **destabilizaci** je nezbytné působení **Ang2**.

Destabilizovaná nebo nezralá vaskulatura prochází buď **regresí** nebo **angiogenním větvením** v závislosti na přítomnosti nebo nepřítomnosti **VEGF**.

A



B



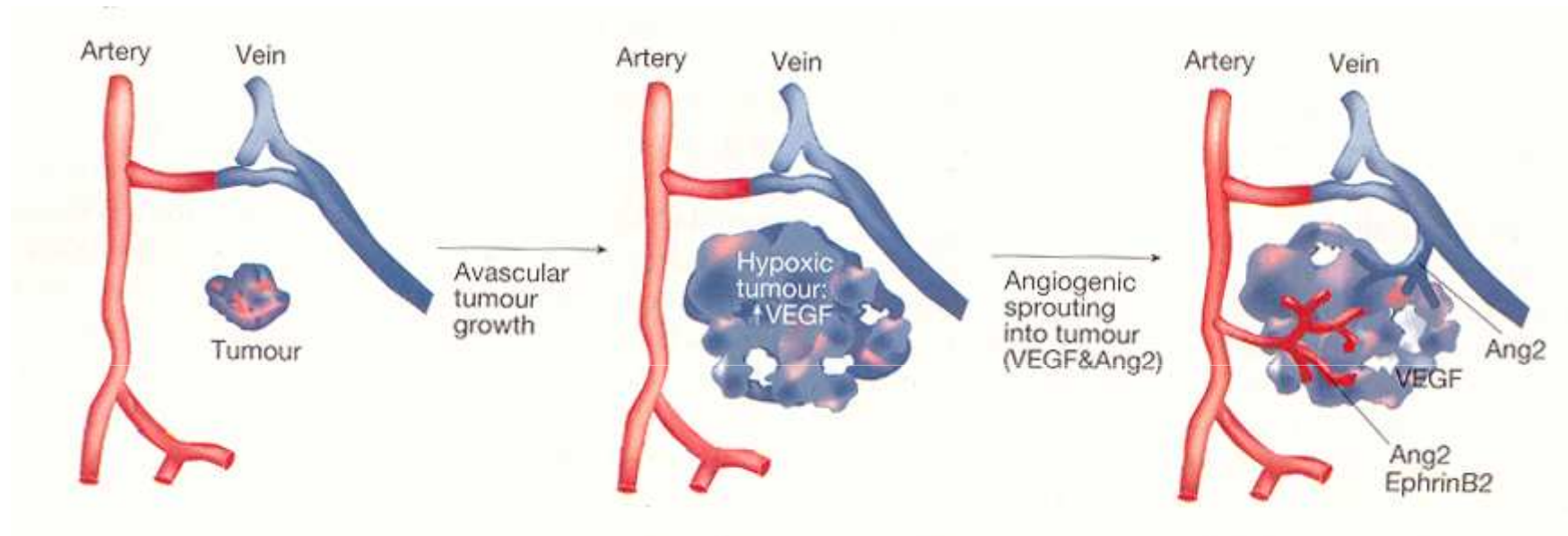
Modely nádorové angiogeneze

A. Avaskulární počátek kancerogeneze

- Podle původní představy se mnoho nádorů na počátku vyvíjí jako avaskulární hmota, u které se až následně indukuje angiogeneze nutná pro další vývoj nádoru.
- To zřejmě platí u mnoha epitelálních nádorů, které jsou zpočátku odděleny od okolo ležících cév bazální membránou, která musí být poškozena, aby nádor získal přístup ke stávajícímu cévnímu systému.

Tento model také platí pro některé experimentální modely, kdy jsou nádory uměle umístěny např. subkutánně.

Model avaskulárního počátku kancerogeneze



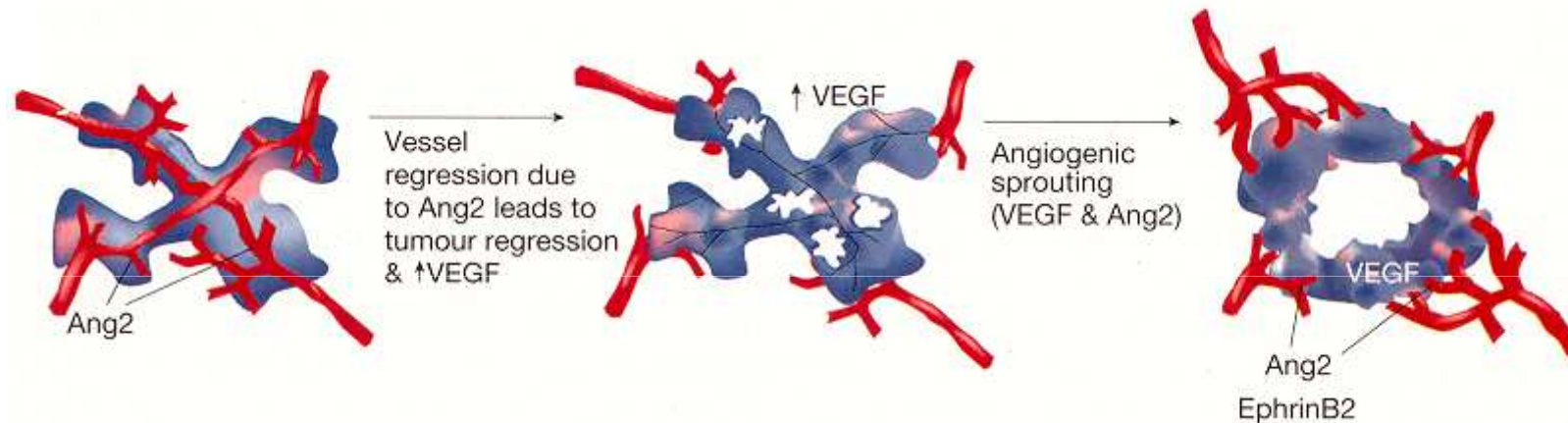
V původně avaskulárním nádoru vzniká výrazná **hypoxie**, která může vést k indukci VEGF. V následné fázi dochází k propojení nově vznikající vaskulatury nádoru se stávajícím hostitelským cévním systémem. Na remodelaci a novém větvení cévního systému se podílejí Ang2, VEGF a Ephrin-B2 a EphB4.

Modely nádorové angiogeneze

B. Kooptace stávajícího cévního systému na počátku kancerogeneze

- Podle novějšího modelu mnoho nádorů (a zvláště metastáz) při svém vývoji neindukují vznik vlastního cévního systému, ale spíše kooptují již existující cévní systém. Vyvíjejí se tak na svém začátku jako malé, ale dobře prokrvené nádory.

Model kooptace stávajícího cévního systému na počátku kancerogeneze



Na počátku kooptace prochází původní kooptovaný cévní systém **regresí**, jako reakcí na „nesprávnou“ kooptaci, a to za účasti **Ang2**. Vzniká tak sekundárně hypoxický (a v centrální části nekrotický) nádor, což vede k indukci VEGF. „Úspěšný“ nádor překoná tuto fázi a v jeho okrajových částech dochází k mohutné indukci nové angiogenní remodelace a větvení. S tím souvisí vysoká exprese **VEGF**.

Praktické využití znalostí o nádorové angiogenezi

1. Terapie nádorů

Blok aktivity **VEGF** zatím představuje nejúspěšnější anti-angiogenní taktiku při terapii nádorů!

- blok angiogeneze
- regrese nezralých stádií

2. Diagnostika nádorů

Prvním markerem provázejícím nádorovou angiogenezi je zvýšená exprese **Ang2**.

Angiogenní zapnutí

- Angiogeneze je nezbytná pro rychlou expanzi nádorových buněk.

⇒ Otázky:

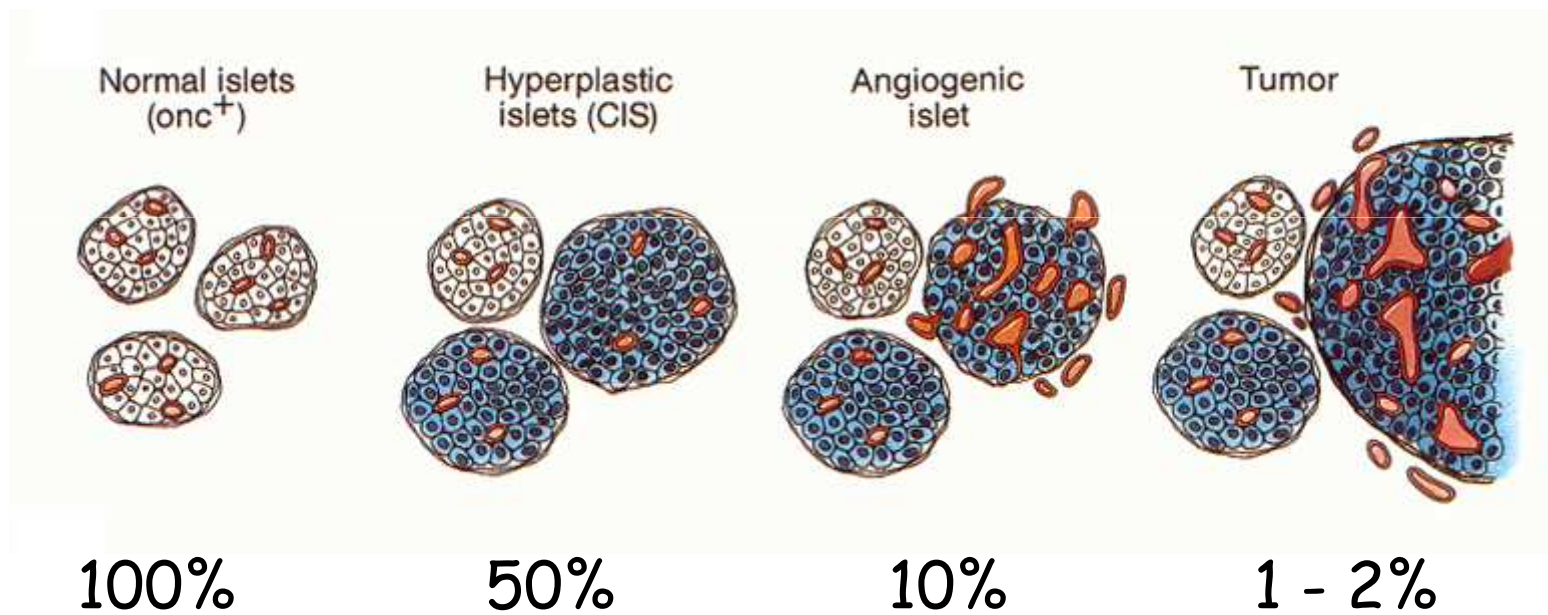
- Kdy se objevuje během kancerogeneze?
- Kolik času je potřeba k navození angiogenního stavu?
- Je to postupný proces od neangiogenního k angiogennímu stavu?

→ Odpověď (na základě několika modelů):

- Zapnutí angiogeneze je svébytným, samostatným krokem kancerogeneze a často se odehraje v ranných stádiích vývoje nádoru.

Model angiogenního zapnutí - 1

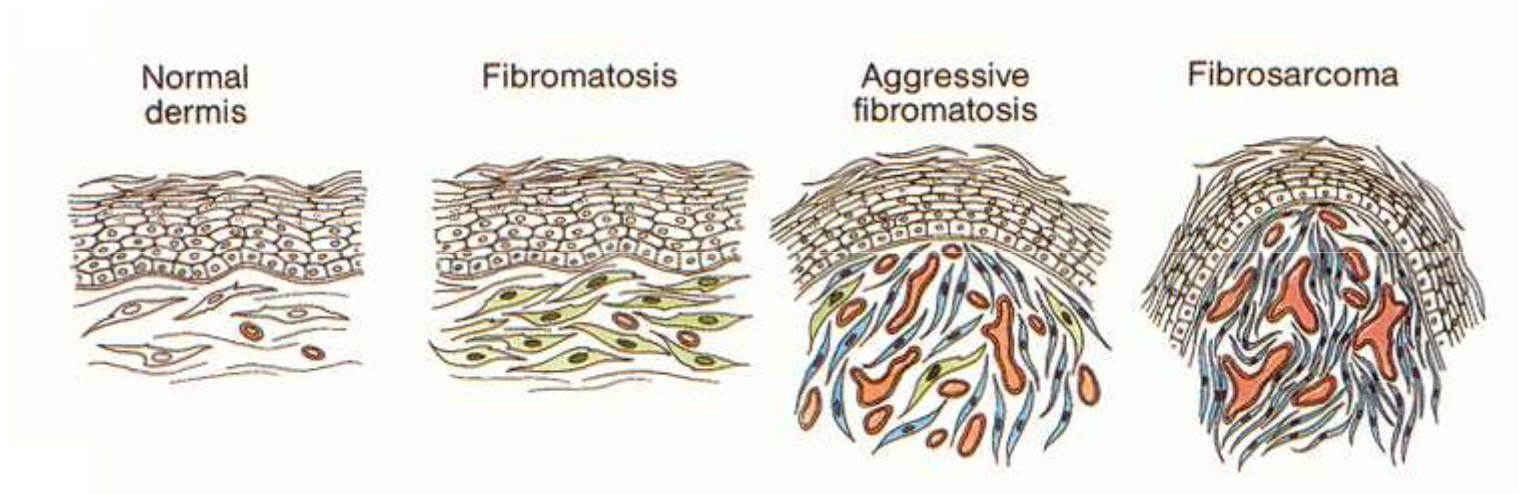
Transgenní „RIP-Tag“ myši, u kterých β buňky produkující inzulín exprimují velký T antigen viru SV40. Tyto buňky se nacházejí asi ve 400 ostrůvcích v pankreatu. V několika ostrůvcích se během 12-16 týdnů vytvoří solidní nádory, u kterých lze zřetelně určit diskrétní stadia vývoje nádoru.



Do různých stádií vývoje nádoru se dostanou jen určité frakce (podíly) ostrůvků. A frakce „angiogenních“ ostrůvků zřetelně představuje svébytné stádium.

Model angiogenního zapnutí - 2

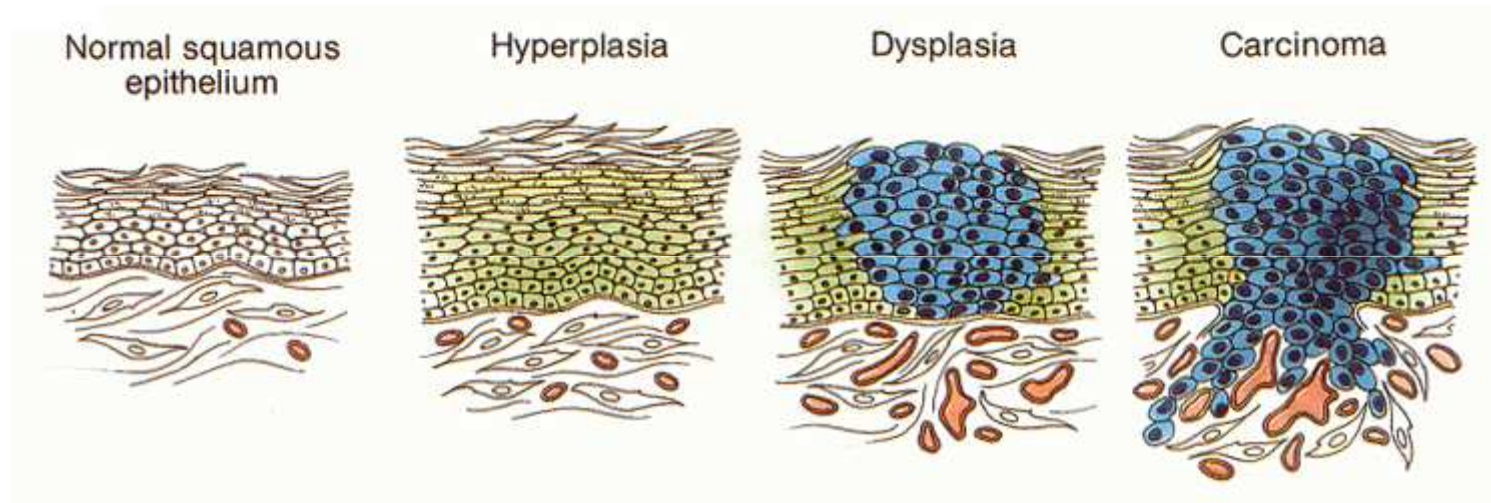
Transgenní myši, které exprimují onkogen papillomavirů, který vyvolává vznik dermálního fibrosarkomu.



Vaskularizace a růst nových cév se zřetelně objevovaly v pozdním preneoplastickém stádiu - ve stádiu agresivní fibromatózy, a byly vždy zřetelně přítomny také v konečných stádiích - ve fibrosarkomech.

Model angiogenního zapnutí - 3

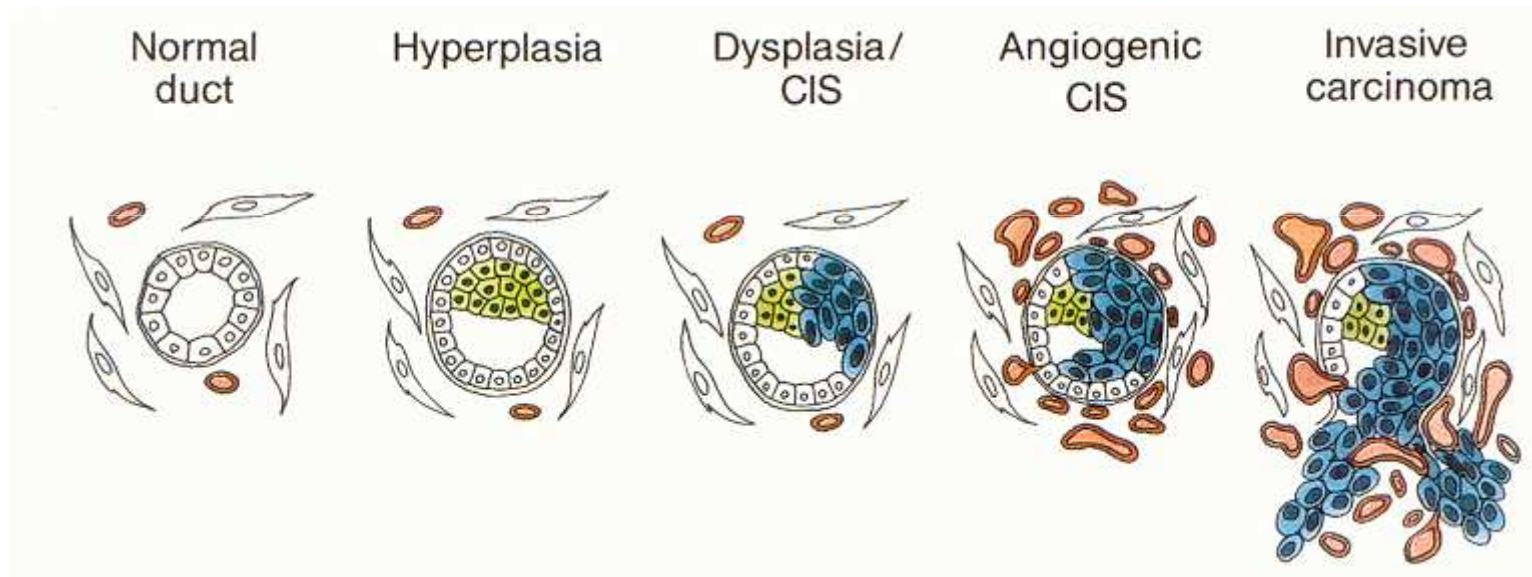
Myší bazální keratinocyty byly progresivně transformovány v karcinomy dlaždicobuněčných buněk expresí onkogenu viru HPV16.



Zapnutí angiogeneze bylo opět zřetelně patrné jako samostatný krok. Slabá angiogenní aktivita byla pozorovatelná v hyperplastických stádiích (lehce zvýšená hustota kapilár), mohutná angiogeneze se objevila v dysplastickém stádiu.

Model angiogenního zapnutí - 4

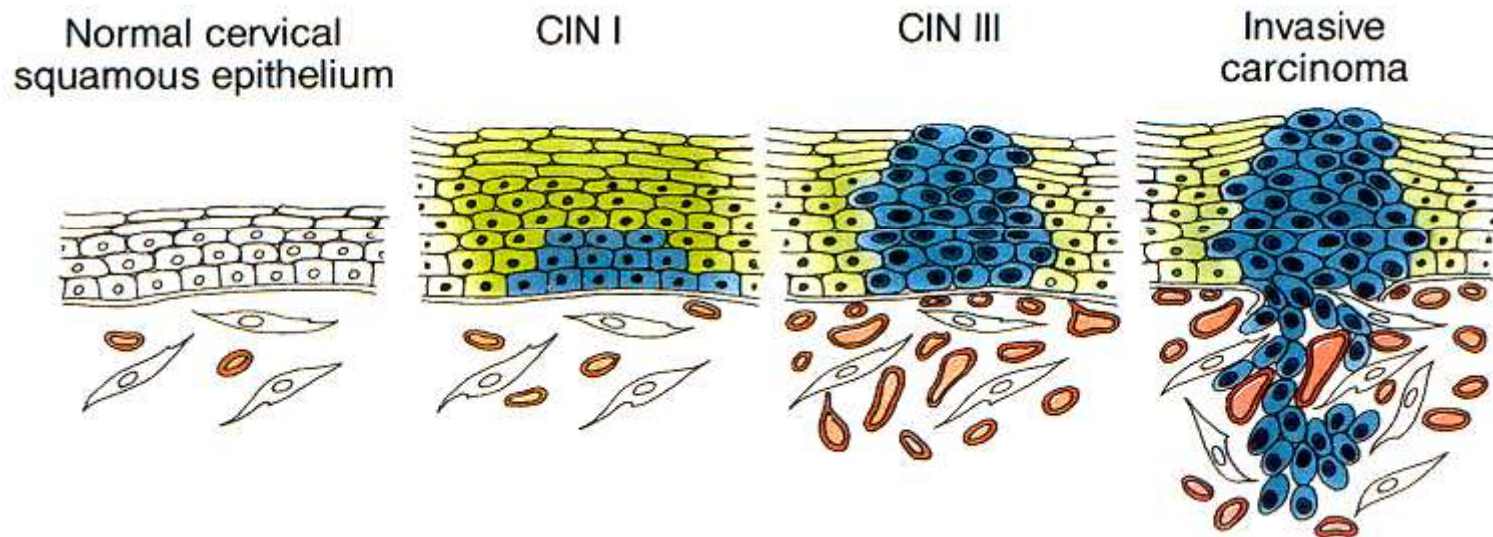
Lidský model - duktální karcinom prsu - hustota krevních vlásečnic byla studována imunohistochemicky - barvením buněčných endoteliálních markerů vWF a CD31.



- Angiogenní karcinom *in situ* představoval přechodné a distinktní stádium mezi neangiogenním karcinomem *in situ* a invazivním karcinomem.
- Hustota krevních vlásečnic je u invazivního karcinomu prsu prognosticky významná.

Model angiogenního zapnutí - 5

Lidský model - karcinom děložního čípku - hustota krevních vlásečnic byla studována imunohistochemicky - barvením buněčných endoteliálních markerů vWF a CD31.



Mírné zvýšení hustoty cév se objevovalo ve stádiu CIN I/II, zatímco ve stádiu CIN III už je mnoho nových cév, což jasně indikuje angiogenní zapnutí - z klidové (quiescentní) stávající vaskulatury k nové vaskularizaci: nové cévy se výrazně objevily těsně pod bazální membránou dysplastického epithelia.

Zapnutí angiogeneze

- Angiogeneze je nezbytná pro rychlou expanzi nádorových buněk.
- Zapnutí angiogeneze je svébytným, samostatným krokem kancerogeneze.

Zapnutí angiogeneze je do jisté míry rychlý jednorázový krok - „switch“.

Podle **hypotézy rovnováhy** je angiogenní zapnutí regulováno rovnováhou mezi aktivátory a inhibitory angiogeneze: převaha inhibitorů nad aktivátory vypíná angiogenezi, převaha aktivátorů nad inhibitory ji zapíná.

Aktivátory angiogeneze

- **VEGFs** a jejich receptory.
- Bazický fibroblastový růstový faktor **bFGF** (FGF-2) a acidický fibroblastový růstový faktor **aFGF** (FGF-1). Tyrozin kinázové receptory FGFR1-4 jsou obecněji exprimovány než třeba VEGFRs.
VEGF a bFGF mohou fungovat synergisticky.

Dnes popsáno více než 20 induktorů angiogeneze, ale zmíněné faktory jsou zvláště často detekovány ve zvýšené hladině u mnoha nádorů. Některé aktivátory jsou zřetelně tkáňově specifické.

Aktivátory angiogeneze

Jak je indukována exprese aktivátorů angiogeneze?

Epigenetické příčiny:

- **hypoxie**
- deprivace glukózy, ..

Genetické příčiny:

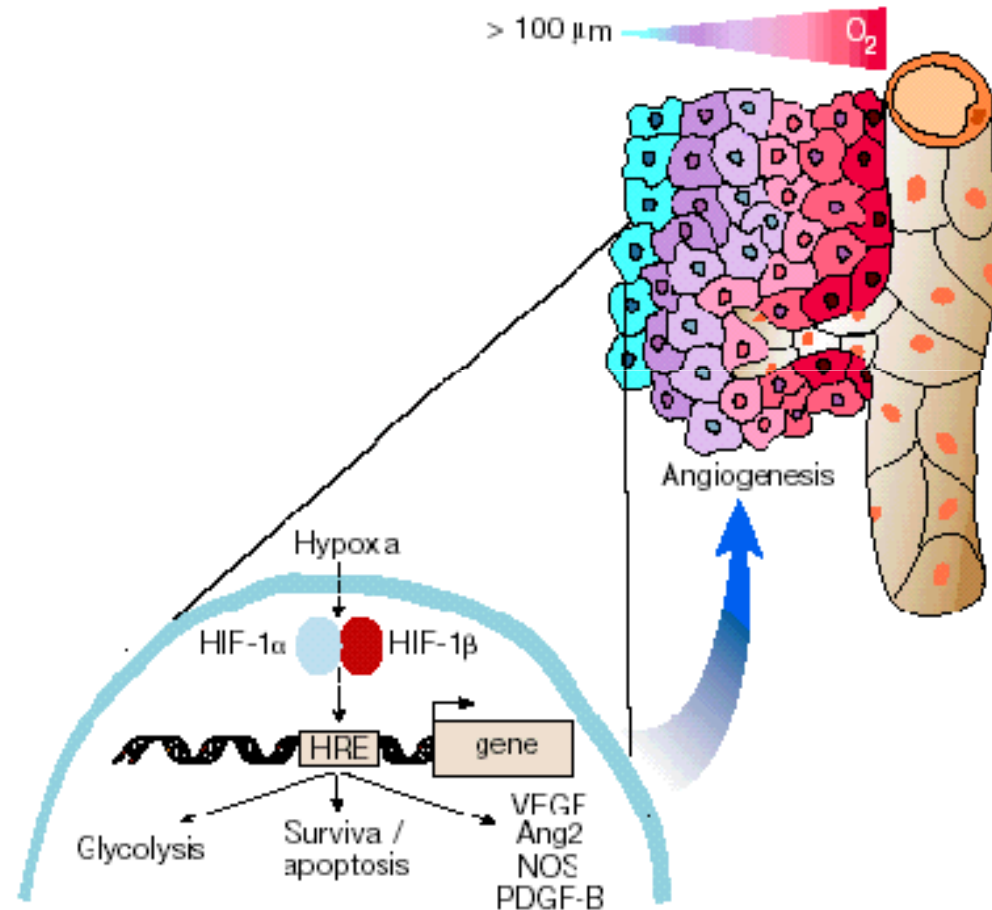
- především jasně prokázaná souvislost mezi mutací **ras** a VEGF. Ras je nezbytný pro udržování správné hladiny VEGF:
mutace ras → zvýšení hladiny VEGF

Úloha hypoxie v nádorové angiogenezi

V „neangiogenním“ nádoru vznikají nepravidelná místa s různou mírou hypoxie (stav snížené hladiny O_2):

1. Tlak na **selekcii** klonů s proangiogenním fenotypem.

2. Hypoxie aktivuje transkripční faktory **HIFs**, které transaktivují angiogenní geny, např. **VEGF**, **PDGF-B**, **Ang2**, **Nos** a další).



Transkripční faktor HIF-1

- aktivován jako odpověď na hypoxii ve všech typech tkání /buněk savčího organismu
- heterodimer složen z podjednotek HIF-1 α a HIF-1 β
- pouze podjednotka HIF-1 α regulována kyslíkem (hydroxylace HIF-1 α na zbytcích prolinu, následná ligace ubikvitinu a poté degradace proteazomem - viz kapitola o **VHL**), jednotka HIF-1 β je exprimována konstitutivně;

při nedostatku kyslíku je hydroxylace inhibována, HIF-1 α je translokována do jádra a stabilizována vazbou s HIF-1 β

Inhibitory angiogeneze

- **Thrombospondin-1 (TSP-1)**: sekretovaný glykoprotein, ve vysoké hladině u normálních buněk, v nízké hladině u mnoha nádorových buněk. Váže se na transmembránový receptor endoteliálních buněk CD36, který je spojen s intracelulární Src-like tyrozinkinázou.
Exprese TSP-1 je regulována **p53**:
inaktivace p53 → snížení hladiny TSP-1
- Souvislost: Ras (protoonkogen) - aktivátory angiogeneze X
p53 (nádorový supresor) - inhibitory angiogeneze.

Aktivace inhibitorů angiogeneze

- Typickým znakem mnoha inhibitorů angiogeneze je, že jsou často v buňce nebo v ECM přítomny ve formě neaktivních nebo málo aktivních prekurzorů (**fibronectin**, **plasminogen**, **platelet factor-4**), které mohou být proteolytickým štěpením aktivovány v účinné inhibitory angiogeneze (**plasminogen** → **angiostatin**) - rychlý mechanismus, který se pravděpodobně uplatňuje při procesech hojení, ovulace, ..). Podobně **platelet factor-4** je slabý inhibitor angiogeneze, ale může z něho být vyštěpán fragment s 50x vyšší inhibiční potencí.

Aktivace aktivátorů angiogeneze

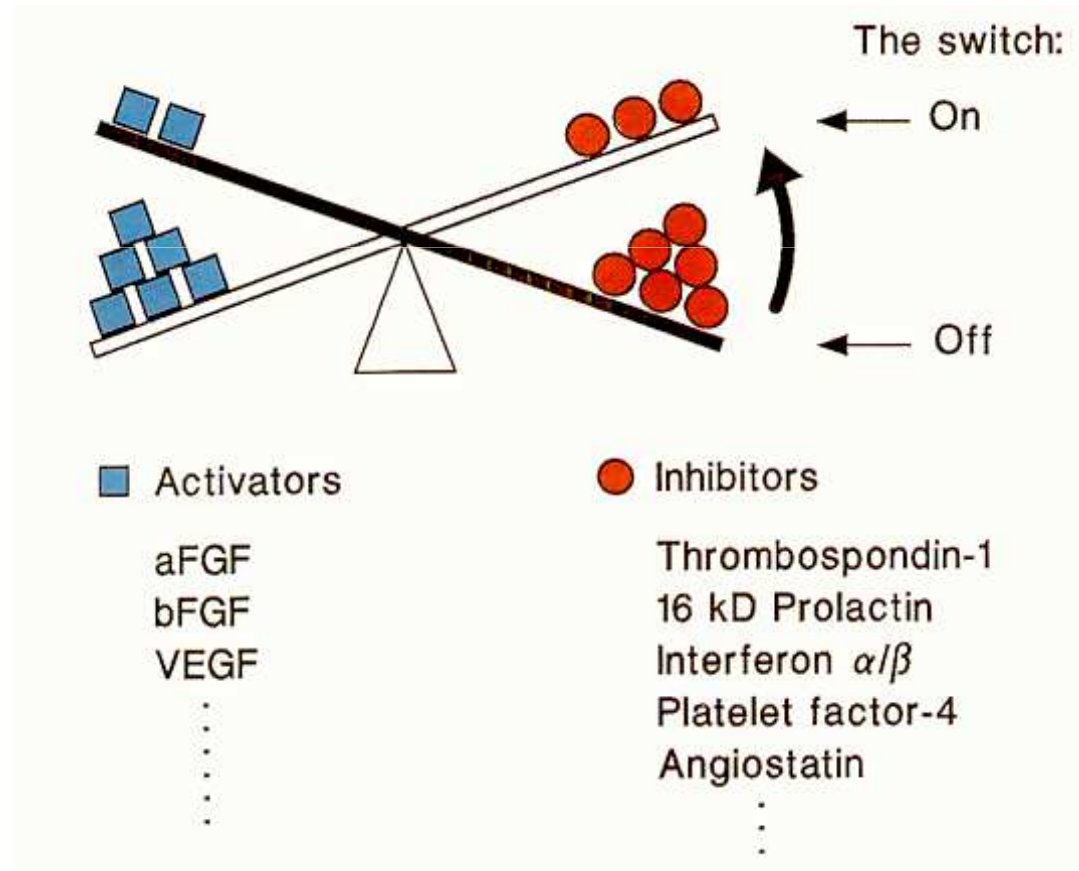
- Normální vaskulatura u dospělého bývá quiescentní (klidová). Zapíná se jen přechodně jako součást fyziologických procesů hojení ran, v souvislosti s reprodukčním cyklem žen,...
- Během progresu nádorů je „angiogenní spínač“ (*angiogenic switch*) téměř neustále aktivován (*on*), což způsobuje, že normálně klidová vaskulatura se téměř neustále rozvíjí a větví, aby tak pomohla vyživovat expandující nádor.

Aktivace aktivátorů angiogeneze

- Podobně jako inhibitory jsou „vždy připraveny“ i aktivátory, jen zcela odlišným mechanismem.
- FGFs a další angiogenní faktory mohou být uloženy (zadržovány) v extracelulární matrix mnoha buněčných typů (včetně endoteliálních buněk) a uvolňovány - aktivovány při proteolytické degradaci ECM.
- Taková regulace aktivátorů a inhibitorů umožňuje zvládnout úkol: na jedné straně udržovat velmi stabilní klidové stádium vaskulatury a na straně druhé rychle reagovat v případě potřeby zapnutím angiogeneze.

Hypotéza rovnováhy zapnutí - přepnutí angiogeneze

(„The balance hypothesis for angiogenic switch“)



Přehled mediátorů angiogeneze

- **Proangiogenní faktory**

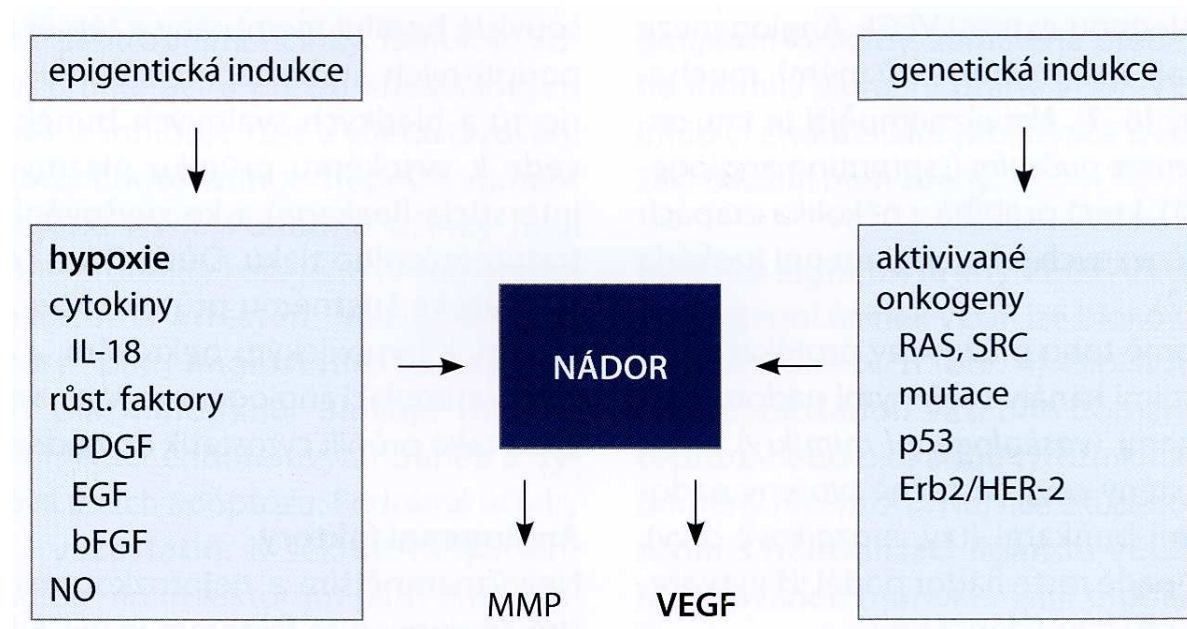
rodina VEGF, angiopoietiny, HGF, MMP, FGFb, PD-EPDGF, PDGF, EGF, TNF, IL-6, integriny

- **Antiangiogenní faktory**

trombospondin, endostatin (fragment kolagenu XVIII), tumstatin, kanstatin (fragmenty kolagenu IV), angiostatin, vazostatin, TGF β , IFN α , IFN β , TIMPs, PAI, IL-12, IL-18, vasohibin

⇒ biologický reostat, který zahrnuje nádorové i nenádorové buňky (někdy více příspěvek aktivace *ras*, *myc*, jindy více vliv pericytů, zánětu, ...)

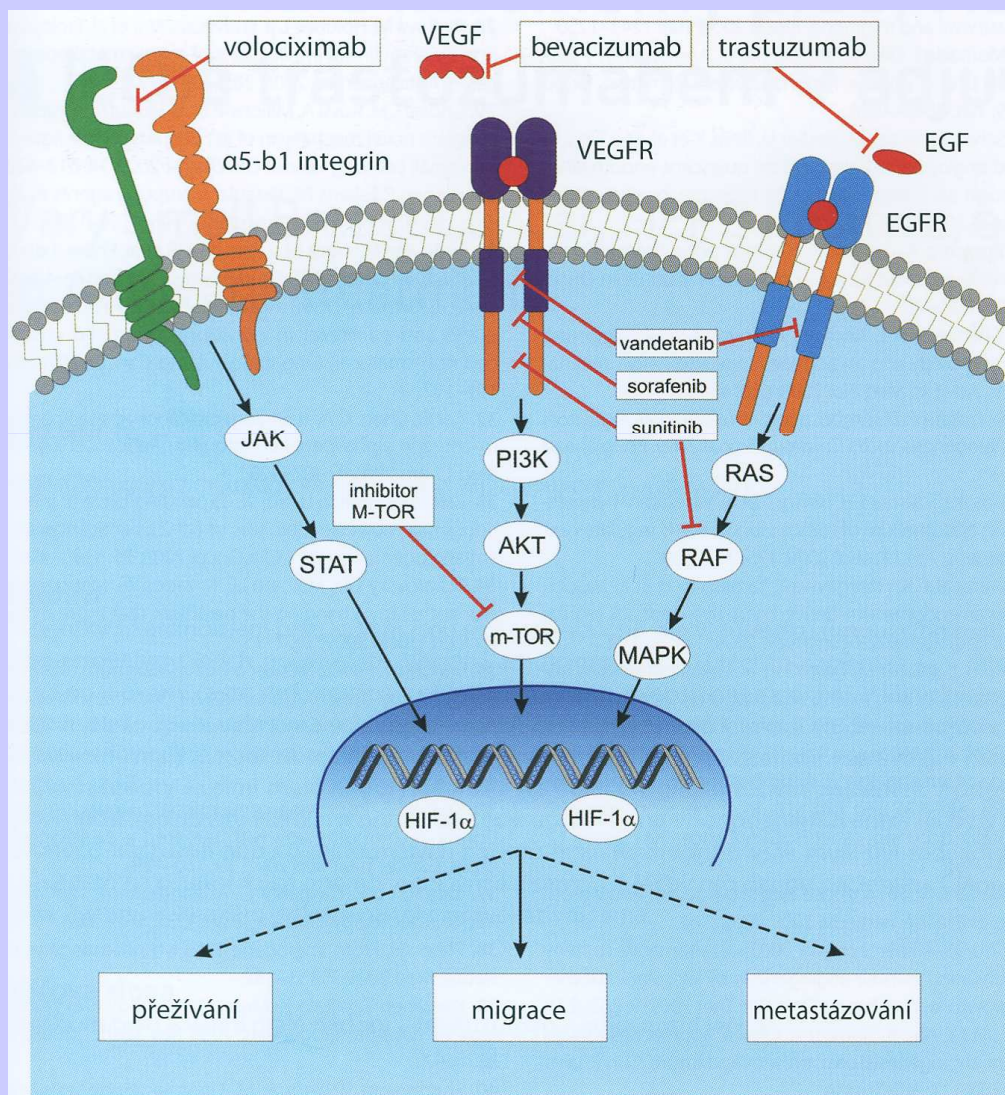
Indukce angiogenních faktorů



Pericyty

- specializované buňky mesenchymálního původu, příbuzné buňkám hladkého svalstva
- těsně přiléhají na vnější stranu endoteliálních buněk, které tvoří základní strukturu cév
- podporují endoteliální buňky mechanicky i fyziologicky: poskytují parakrinní stimulaci (např. uvolňují Ang-1; podílejí se - s endoteliálními b. - na tvorbě cévní bazální membrány
- mělo se za to, že zcela chybí v nádorové vaskulatuře; jejich přítomnost ale byla prokázána, i když ve značně nižší úrovni, jsou pro funkční vaskulaturu nezbytné
- exprimují na svém povrchu receptory pro PDGF: farmakologická inhibice tohoto receptoru vede ke snížení hladiny pericytů, což nádorovou (nikoli nenádorovou!!) vaskulaturu destabilizuje

Možnosti inhibice signální dráhy VEGF



1. neutralizace ligandu VEGF humanizovanou monoklonální protilátkou: **bevacizumab-Avastin**, ...

2. blokace vazebné domény receptoru monoklonální protilátkou: **volociximab**, ...

3. inhibitory tyrozin protein kinázové domény receptorů: **sunitinib**, **sorafenib**, ...

KONEC

