

PREGLEDNI ČLANCI

REVIEW ARTICLES

Medicinski fakultet, Beograd
 Institut za patološku fiziologiju¹
 Institut za kardiovaskularne bolesti Dedinje, Beograd²

Pregledni članci
 Review article
 UDK 616.13-004.6-092
 DOI: 10.2298/MPNS1308297V

PATOFIZIOLOŠKI MEHANIZMI ANGIOGENEZE U ATEROGENEZI

PATHOPHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF ANGIOGENESIS IN ATHEROGENESIS

Danijela VUČEVIĆ¹, Đorđe RADAK², Ivan MILOVANOVIĆ¹, Tatjana RADOSAVLJEVIĆ¹ i
 Dušan MLADENOVIĆ¹

Sažetak

Uvod. Ateroskleroza je progresivna, višefaktorska, difuzna, multisistemska, hronična, inflamacijska bolest, kod koje postoji poremećaj vaskularnog, metaboličkog i imunostistema. Aterogeneza nije do kraja razjašnjena. U tom smislu posebno polje istraživanja predstavlja angiogeneza, imajući u vidu značaj koji proces stvaranja novih krvnih sudova ima u nastanku i razvoju ateromatoznog plaka. **Stadijumi angiogeneze.** Angiogeneza je složen biološki proces, koji obuhvata četiri precizno koordinisana stadijuma (vazodilataciju i povećanje propustljivosti zida krvnog suda, destabilizaciju krvnog suda i razgradnju matriksa, proliferaciju i migraciju endotelnih ćelija i formiranje i stabilizaciju novog krvnog suda). **Medijatori angiogeneze.** Neovaskularizacija je regulisana delikatnom ravnotežom između proangiogenih i antiangiogenih molekula. U regulaciji angiogeneze učestvuju brojni solubilni faktori rasta i inhibitori, citokini, proteaze, proteini ekstracelularnog matriksa, adhezivni molekuli, kao i hipoksija, inflamacija, stres smicanja, hipertenzija i interakcije između ćelija i vanćelijskog matriksa. S tim u vezi, novi krvni sudovi se formiraju zahvaljujući nishodnoj regulaciji angiogenih faktora, ili povišenoj koncentraciji angiogenih inhibitora. **Angiogeneza u tumoru.** U asimptomatskoj fazi kancerogeneze, maligni tumor je retko veći od 1-2 milimetra u prečniku. Međutim, porast njegovih metaboličkih potreba dovodi do stvaranja novih krvnih sudova, tj. tumor zadobija angiogeni fenotip. Molekulsku osnovu angiogenog prekidača čine povećano stvaranje angiogenih faktora i/ili gubitak angiogenih inhibitora. **Zaključak.** Stvaranje novih krvnih sudova značajno doprinosi nastanku i razvoju ateroskleroze.

Ključne reči: Ateroskleroza; Patološka neovaskularizacija; Vaskularni endotel; Aterosklerotski plak; Indukujući agensi angiogeneze; Inhibitori angiogeneze; Proteini angiogeneze; Medijatori inflamacije

Summary

Introduction. Atherosclerosis is a progressive, multifactorial, diffuse, multisystemic, chronic, inflammatory disease, which is manifested by disorders of vascular, immune and metabolic system. Pathogenesis of this disease is not fully understood. Accordingly, angiogenesis represents a special field of research due to its role in atherogenesis. **Steps of Angiogenesis.** Angiogenesis is a complex biological process, which requires the precise coordination of its four steps (vasodilatation and permeability, vessel destabilization and matrix degradation, endothelial cell proliferation and migration, and lumen formation and vessel stabilization). **Mediators of Angiogenic Process.** The process of forming new blood vessels is regulated by a delicate balance between proangiogenic and antiangiogenic molecules. Numerous soluble growth factors and inhibitors, cytokines, proteases, extracellular matrix proteins and adhesion molecules, as well as hypoxia, inflammatory process, shear stress, hypertension and interaction between cells and extracellular matrix strictly control the angiogenic process. Neovascularization is halted due to the downregulation of angiogenic factors or the increase of inhibitors of this process. **Tumor Vascularization.** In the asymptomatic phase of cancerogenesis, cancer rarely exceeds the diameter of 1-2 millimeters. However, when the metabolic demand increases, it leads to tumor vascularization. In this way, tumor switches to an angiogenic phenotype. The molecular basis of angiogenic switch refers to increased production of angiogenic factors and/or loss of angiogenic inhibitors. **Conclusion.** The contribution of angiogenic process has become increasingly meaningful in understanding the pathogenesis of atherosclerosis.

Key words: Atherosclerosis; Neovascularization, Pathologic; Endothelium, Vascular; Plaque, Atherosclerotic; Angiogenesis Inducing Agents; Angiogenesis Inhibitors; Angiogenic Proteins; Inflammation Mediators

Uvod

Angiogeneza podrazumeva nastanak, rast i razvoj novih krvnih sudova iz postojećih malih vena i kapilara.

Džon Hanter (John Hunter) [1].

Napomena

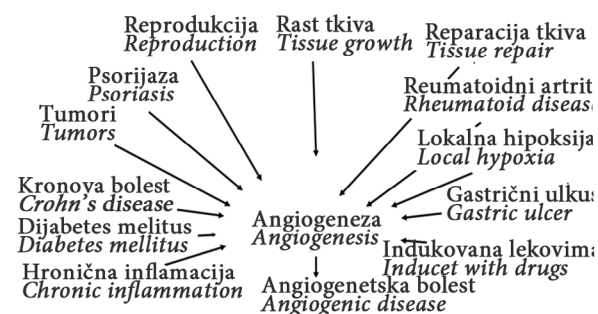
Ovaj rad je finansiran sredstvima iz projekta broj 175015 Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije.

Adresa autora: Doc. dr Danijela Vučević, Institut za patološku fiziologiju,
 11000 Beograd, Dr Subotića 9, E-mail: danijela.vucevic@mfbg.ac.rs

Skraćenice

ADAM	– akronim (<i>A Disintegrin And Metalloproteases</i>)
AK	– aminokiselina
AM	– adrenomedulin
Ca ²⁺	– joni kalcijuma
CGRP	– peptid koji je povezan sa genom za kalcitonin (<i>calcitonin gene-related peptide</i>)
COOH	– karboksilna grupa
CRLR	– receptorski molekul nalik receptoru za kalcitonin (<i>calcitonin receptor-like receptor</i>)
EPC	– endotelne progenitorske ćelije koje vode poreklo od kostne srži
EPO	– eritropoetin
ERK1/2	– kinaze 1 i 2 čiju aktivnost regulišu ekstracelularni signali
ET-1	– endotelin-1
FGF	– faktor rasta fibroblasta (<i>fibroblast growth factor</i>)
aFGF (FGF-1)	– kiseli FGF
bFGF (FGF-2)	– bazni FGF
cGMP	– ciklični guanozin monofosfat
HIF-1 α	– faktor-1 α čije oslobađanje izaziva hipoksija (<i>hypoxia inducible factor-1α</i>)
ICP	– intracelularna petlja
MCP-1	– monocitni protein hemotakse-1 (<i>monocyte chemoattractant protein-1</i>)
MMP	– metaloproteinaze matriksa
NH ₂	– amino grupa
NO	– azot monoksid
PAMP	– <i>proadrenomedulin N-terminal 20 peptide</i>
PDGF	– trombocitni faktor rasta (<i>platelet derived growth factor</i>)
PI3K	– fosfoinozitol 3 kinaza
PLC γ	– fosfolipaza C γ
RAMPs	– <i>receptor-activity-modifying-proteins</i>
TNF α	– tumorski faktor nekroze α
VEGF	– vaskularni endotelni faktor rasta (<i>vascular endothelial growth factor</i>)
VGMĆ	– vaskularne glatke mišićne ćelije
VHL	– protein Fon Hipel-Lindau (<i>von Hippel-Lindau protein</i>)

U naučnim krugovima termin angiogeneza prvi je upotrebio engleski hirur Džon Hanter 1787. godine, nastojeći da opiše neovaskularizaciju u rogu irvasa [1]. Angiogeneza predstavlja fiziološki proces, koji omogućava rast, razvoj i reparaciju



Shema 1. Fiziološka i patološka angiogeneza
Scheme 1. Physiological and pathological angiogenesis

tkiva, kao i odvijanje reprodukcije funkcije (menstrualni ciklus, ovulacija, graviditet). Nasuprot tome, patološki razvoj mikrocirkulacije, koji se manifestuje prekomernom ili deficitarnom angiogenezom (angiogenezna bolest), uključen je u etiopatogenezu mnogih neoplastičnih i neneoplastičnih bolesti, uključujući i aterosklerozu (**Shema 1**) [2].

Aterosklerozna je progresivna, multifaktorska bolest, koja dovodi do očvršćavanja, zakrečavanja i suženja velikih arterija (aorte, karotidnih arterija, ilijačnih arterija, arterija mozga, koronarnih arterija) i arterija srednje veličine, sa predilekcionom lokalizacijom na mestima račvanja, odnosno njihovog odvajanja. U zavisnosti od lokalizacije, stepena suženja, anatomskih karakteristika vaskularne mreže i dužine trajanja okluzije, aterosklerozna i ishemija tkiva koju ona izaziva najčešće uzrokuju infarkt miokarda, moždani udar i perifernu vaskularnu bolest [3]. Aterogeneza je diskretan i podmukao proces koji počinje u ranom uzrastu i traje doživotno. Početne patološke promene se nalaze u intimi arterija. Osnovna karakteristična lezija je aterosklerozna ploča (plak – franc. *plaque*), tj. aterom (grčki *atheroma*) [4]. Po pravilu, aterosklerozna ostaje neotkrivena sve do kliničkog ispoljavanja njenih komplikacija (hemodinamički značajne stenozne krvnih sudova, fisure, rupture, hemoragije, tromboza, embolija, i dr.), koje dovode do smrti više od 19 miliona ljudi godišnje [5]. Ovoj bolesti, koja poslednjih nekoliko decenija poprima pandemijski karakter, s razlogom se pridaje veliki značaj na svim nivoima medicinskog istraživanja [3,4,6–11]. Međutim, uprkos velikoj pažnji koja se posvećuje proučavanju ateroskleroze, pokretač primarnog patološkog događaja još uvek je nepoznat. U tom smislu, posebno polje istraživanja predstavlja angiogeneza, imajući u vidu značaj koji proces stvaranja novih krvnih sudova ima u nastanku i razvoju ateromatoznog plaka. S tim u vezi, savremeno poimanje angiogeneze definiše kao formiranje novih krvnih sudova nastalih kao odgovor na dejstvo angiogenih faktora, koji se oslobađaju iz ishemijskih tkiva, tkiva koja se naglo razvijaju i/ili izrazito metabolički aktivnih tkiva [2,12–14].

Stadijumi angiogeneze

Angiogeneza je složen biološki proces, koji obuhvata četiri koordinisana stadijuma (vazodilataciju i povećanje propustljivosti zida krvnog suda, destabilizaciju krvnog suda i razgradnju matriksa, proliferaciju i migraciju endotelih ćelija, formiranje i stabilizaciju novog krvnog suda) [2].

Vazodilatacija i povećanje propustljivosti zida krvnog suda. Vazodilataciju krvnog suda doprinosi azot-monoksid (NO) osloboden iz endotelih ćelija, koji stimulišući guanilat-ciklazu dovodi do povećanja sinteze cikličnog guanozin-monofosfata (cGMP). Sintetisani cGMP, potom, izaziva relaksaciju glatke muskulature krvnog suda [12]. Pored toga, u endo-

telnim ćelijama se formiraju organele, sastavljene od vezikula i vakuola, koje uzrokuju povećanu propustljivost zida krvnog suda. Naime, vezikule i vakuole su fenestrirane, čime je omogućena njihova međusobna komunikacija [15]. U toku angiogeneze fibrinogen i plazminogen, kao proteini plazme velike molekulske težine, koriste ove organele za svoj transport iz cirkulacije u okolno tkivo, u kojem će kasnije poslužiti kao vezivna potka kako bi se endotelne ćelije održale na okupu. U manjem obimu ekstravazacija proteina plazme vrši se i kroz međuendotelne ćelijske spojeve [16].

Destabilizacija krvnog suda i razgradnja matriksa. U ovom stadijumu angiogeneze, pre nego što endotelne ćelije započnu svoj rast, dolazi do odstranjivanja potpornih ćelija iz zida krvnog suda, tzv. pericita. Ovaj proces prati razgradnja bazalne membrane na koju naležu endotelne ćelije i remodelovanje perivaskularne strome. Tako strukturni proteini ekstracelularnog matriksa učestvuju u „pupljenju” krvnih sudova u tkivu u velikoj meri kroz interakcije sa integrinskim receptorima u endotelnim ćelijama. Preostali proteini vanćelijskog matriksa (npr. trombospondin i tenascin C) učestvuju u angiogenezi destabilizacijom interakcija ćelija i ekstracelularnog matriksa, što olakšava kontinuiranu ćelijsku migraciju, ili tako što razgrađuju ekstracelularni matriks i na taj način omogućavaju remodelovanje i urastanje novih krvnih sudova (npr. aktivator plazminogena i matriks metaloproteinaze /MMP/) [2].

Proliferacija i migracija endotelnih ćelija. Endotelne ćelije se normalno retko dele (jednom u tri godine). Zbog toga je, kada se izuzmu krvni sudovi uključeni u regeneraciju tkiva, ženski reproduktivni ciklus i graviditet, adulta vaskularna uglavnom „mirna” [12]. Međutim, u uslovima hronične inflamacije, koja je prisutna u aterosklerozno izmenjenom krvnom sudu, pod uticajem brojnih stimulatora angiogeneze, dolazi do proliferacije endotelnih ćelija. Ove ćelije, zatim, privučene hemoatraktantima migriraju kroz dezintegriranu bazalnu membranu u remodelovano i razmekšano perivaskularno polje [2].

Formiranje i stabilizacija novog krvnog suda. Nakon prelaska u područje smanjene vaskularizacije, endotelne ćelije se međusobno povezuju, grupišu u jedan sloj i stvaraju kapilarne formacije. Potom mezenhimske ćelije iz okolnog tkiva proliferišu i migriraju u pravcu ovih kapilarnih formacija, gde se diferenciraju u pericite, čime se završava proces stvaranja novog krvnog suda [2]. Na taj način, neovaskularizacija u ateromu povećava površinu za distribuciju inflamacijskih ćelija, pre svega leukocita. Tako, novi krvni sudovi ekspriimiraju veći broj vaskularnih ćelijskih adhezivnih molekula-1 (VCAM-1 → engl. *vascular cell adhesion molecule-1*) u poređenju sa endotelnim ćelijama koje pokrivaju plak. Uz to, oni omogućavaju bolju ishranu plaka kiseonikom i hranljivim materijama. Međutim, novi krvni sudovi su fragilni i

njihova ruptura dovodi do krvarenja u plaku, proliferacije vaskularnih glatkih mišićnih ćelija (VGMC) i povećanja matriksa [17]. Sloj intime bogat proteoglikanima, zajedno sa makrofagima, VGMC, limfocitima i mastocitima biva potisnut u područje između lipidne srži i endotelne površine. Lipidna srž plaka je, naročito na lateralnim ivicama i sa luminalne strane, ograničena novoformiranim kapilarima [18].

Medijatori angiogeneze

U regulaciji angiogeneze učestvuju brojni solubilni faktori, kao i faktori u vezi sa ćelijskom membranom (**tabele 1 i 2**) [2,14,19,20–23]. Interakcije ćelija i vanćelijskog matriksa, hemodinamički efekti (stres smicanja, engl. *shear stress*, povišen krvni pritisak, itd.), hipoksija i inflamacijski proces takođe su uključeni u regulaciju angiogeneze [12,16,24–26]. Prevaga stimulatora angiogeneze nad inhibitorima ovog procesa, podstiče i rast tumora, pojačava dinamiku hroničnog zapaljenja i ubrzava zarastanje rana i preloma [11,14,27].

Stimulatori angiogeneze. Do danas je otkriveno preko 112 faktora rasta endotelnih ćelija, od kojih su najviše proučeni vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF, engl. *vascular endothelial growth factor*) i faktor rasta fibroblasta (FGF, engl. *fibroblast growth factor*). Ova dva najpotentnija vaskularna mitogena deluju sinergistički u stvaranju novih i rastu već postojećih krvnih sudova [12]. Poznato je, takođe, da endotelni faktori rasta pokreću proliferaciju vaskularnih ćelija kao delovi kaskadne reakcije, u sadejstvu sa drugim biološki aktivnim molekulima, receptorima i putevima njihove signalne transdukcije [2]. S tim u vezi, za većinu medijatora angiogeneze utvrđeni su signalni putevi koje oni koriste u endotelnim ćelijama za ostvarivanje svog direktnog angiogenog efekta. Tako, na primer, VEGF svoje angiogeno dejstvo ostvaruje aktivacijom više signalnih molekula u endotelnim ćelijama, uključujući fosfolipazu Cy ($PLC\gamma$), kinazu 1 i 2, čiju aktivnost regulišu ekstracelularni signali (ERK1/2), fosfoinozitol 3 kinazu (PI3K), protein-kinazu G (PKG), itd. Neki od ovih signalnih molekula, poput ERK1/2 su značajni za biosintezu i/ili aktivaciju transkripcijskog faktora Ets-1, koji vezivanjem za promotorski region određenih gena, učestvuje u stvaranju proteina ključnih za angiogenezu (β_3 subjedinice $\alpha_v\beta_3$ integrina, MMP, i dr.) [21]. Takođe je i za većinu drugih stimulatora angiogeneze pokazano da mogu podstaći stvaranje novih krvnih sudova pored ostalog i povećanjem sinteze Ets-1 i/ili njegovom aktivacijom u endotelnim ćelijama [13].

Po hemijskom sastavu VEGF je dimerički glikoprotein sa brojnim izoformnim oblicima. VEGF je u formi VEGF-A, -B, -C i D identifikovan kako u intaktnim ćelijama, tako i u ćelijama tumora, pri čemu VEGF-A označava VEGF u širem smislu, dok VEGF-C selektivno deluje na limfatičnu va-

Tabela 1. Najznačajniji proangiogeni molekuli
Table 1. The most important proangiogenic molecules

Aktivatori plazminogena	<i>Plasminogen activators</i>
Angiopoetini	<i>Angiopoietins</i>
Angiotenzin II	<i>Angiotensin II</i>
CXC hemokini sa ELR motivom	<i>CXC chemokines with ELR motif</i>
Endotelini	<i>Endothelins</i>
Eritropoetin (EPO)	<i>Erythropoietin (EPO)</i>
E-selektin	<i>E-selectin</i>
Familija vaskularnih endotelnih faktora rasta (familija-VEGF)	<i>Family of vascular endothelial growth factors (VEGF-family)</i>
Familija fibroblastnih faktora rasta (familija-FGF)	<i>Family of fibroblast growth factors (FGF-family)</i>
Faktori rasta slični insulinu (IGFi)	<i>Insulin-like growth factors (IGFs)</i>
Integrini	<i>Integrins</i>
Interleukini	<i>Interleukins</i>
Inhibitor aktivatora plazminogena (IAP)	<i>Plasminogen activator inhibitor (IAP)</i>
Leptin	<i>Leptin</i>
Metaloproteinaze matriksa (MMP)	<i>Matrix metalloproteinases (MMPs)</i>
Azot monoksid (NO)	<i>Nitric oxide (NO)</i>
Trombocitni faktor rasta (PDGF)	<i>Platelet derived growth factor (PDGF)</i>
Rezistin	<i>Resistin</i>
Neuropeptid Y (NPY)	<i>Neuropeptide Y (NPY)</i>
Transformišući faktor rasta β (TGF β)	<i>Transforming growth factor β (TGFβ)</i>
Tumorski faktor nekroze α (TNF α)	<i>Tumor necrosis factor α (TNFα)</i>
Urotenzin II	<i>Urotensin II</i>
Vaskularni ćelijski adhezivni molekul-1 (VCAM-1)	<i>Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)</i>
Vazoaktivni intestinalni peptid (VIP)	<i>Vasoactive intestinal peptide (VIP)</i>

skulaturu [2]. VEGF se nalazi u tkivima u malim količinama. Međutim, naglašena ekspresija ovog vaskularnog mitogena prisutna je u podocitima bubrega i ćelijama miokarda. VEGF ima ključnu ulogu u fiziološkoj angiogenezi, aterosklerozi, dijabetesnoj retinopatiji, reumatoidnom artritisu i razvoju brojnih tumora kod ljudi. Povećana produkcija VEGF iz imunih i inflamacijskih ćelija obolelih od reumatoidnog artritisa može posredovati u urastanju vaskularnog panusa u zglob [12]. Snižena koncentracija ovog vaskularnog mitogena u organizmu se dovodi u vezu sa olakšanim nastankom ulkusa na želucu i organskih disfunkcija u preeklampsiji [2].

VEGF doprinosi inicijalnoj vazodilataciji podstičući stvaranje NO. Pored toga, brojni endotelni faktori rasta, uključujući trombocitni faktor rasta (PDGF, engl. *platelet derived growth factor*), tumorski faktor nekroze α (TNF α), transformišući faktor rasta β (TGF β , engl. *transforming growth factor β*) i interleukin-1 β (IL-1 β) učestvuju u angiogenezi tako što podstiču ekspresiju VEGF, koji potom indukuje sintezu aktivatora plazminogena i MMP-1 u endotelnim ćelijama, i tako podržava remodelovanje perivaskularnog matriksa [21,28]. Članovi familije VEGF se vezuju za receptore (VEGFR-1,2 i -3) koji imaju tirozin-kinaznu ak-

tivnost. U angiogenezi značajnu ulogu ima VEGFR-2, koji se nalazi na endotelnim ćelijama [21].

Do danas je izolovano preko 20 članova familije FGF i 4 različita receptora za FGF (FGF R), koji funkcionišu posredstvom aktivnosti tirozin-kinaze. FGF produkuju neadekvatno prokrvljena tkiva i tumori. Kiseli FGF (aFGF /FGF-1/) i bazni FGF (bFGF /FGF-2/) predstavljaju dva najrasprostranjenija oblika ovog stimulatora angiogeneze, koji se vezuju za sva četiri FGF receptora, delujući kao vaskularni mitogeni i faktori hemotakse za endotelne ćelije, fibroblaste i druge tipove ćelija. FGF-2 se ugrađuje u bazalnu membranu, a zatim oslobađa kad specifični enzimi razgrade ovu strukturu. Ovako oslobođeni faktor može da stimuliše proliferaciju VGMĆ, koja kasnije može dovesti ili do reparacije intime ili do još veće njene lezije, kao što je neointimalna hiperplazija [12]. Povišena koncentracija FGF-2 je nađena u mozgu i hipofizi. U endotelnim ćelijama Kapošijevog (*Kaposi*) sarkoma, kao i u serumu i urinu pacijenata sa uznapredovalim raznim tipovima karcinoma, takođe je prisutan povišen sadržaj FGF-2 [2]. Koncentracija bFGF je 23 puta niža kod obolelih od ulkusne bolesti u odnosu na zdrave osobe [12]. Oralna upotreba aFGF indukuje angiogenezu u ulceroznom slivu i ubrzava reparaciju oštećenja želudačne slu-

Tabela 2. Najznačajniji antiangiogeni molekuli
Table 2. The most important antiangiogenic molecules

Angiostatin	<i>Angiostatin</i>
Antitrombin III	<i>Antithrombin III</i>
Arestin	<i>Arrestin</i>
Endorepelin	<i>Endorepellin</i>
Endostatin	<i>Endostatin</i>
Fibulin	<i>Fibulin</i>
Fragment prolaktina	<i>Prolactin fragment</i>
Grelin	<i>Ghrelin</i>
Inhibitor aktivatora plazminogena (IAP)	<i>Plasminogen activator inhibitor (IAP)</i>
Interferon α (INF α)	<i>Interferon α (INFα)</i>
Interferon β (INF β)	<i>Interferon β (INFβ)</i>
Kanstatin	<i>Canstatin</i>
Kolagen XVIII	<i>Collagen XVIII</i>
Metaloproteinaze matriksa (MMP)	<i>Matrix metalloproteinases (MMPs)</i>
Natriuretikički peptidi	<i>Natriuretic peptides</i>
Prolaktin	<i>Prolactin</i>
Somatostatin	<i>Somatostatin</i>
Tkivni inhibitori MMP	<i>Tissue inhibitors of MMP</i>
Trombocitni faktor-4	<i>Platelet factor-4</i>
Trombospondin-1	<i>Thrombospondin-1</i>
Trombospondin-2	<i>Thrombospondin-2</i>
Troponin-1	<i>Troponin-1</i>
Tumstatin	<i>Tumstatin</i>
Vaskulostatin	<i>Vasculostatin</i>
CXC hemokini bez ELR motiva	<i>CXC chemokines free of ELR motif</i>

znice kod eksperimentalnih životinja. Pokazano je, takođe, da *Helicobacter pylori* proizvodi angiogene inhibitore, koji usporavaju proces izlječenja ulkusa na želucu [2].

Integrini imaju važnu ulogu u regulaciji angiogeneze. Tako, na primer, $\alpha_v\beta_3$ integrin, član β_3 potfamilije integrina, doprinosi angiogenezi na više načina. Vezivanjem MMP-2 i lokalizovanjem aktivne forme ovog enzima na prednjim krajevima krvnih sudova u nastajanju, $\alpha_v\beta_3$ integrin učestvuje u remodelovanju ekstracelularnog matriksa [2]. Takođe, $\alpha_v\beta_3$ integrin omogućava adheziju endotelih ćelija za proteine ekstracelularnog matriksa i njihovu migraciju kroz ovu sredinu, a održavanjem aktivnosti ERK1/2, $\alpha_v\beta_3$ integrin u kooperaciji sa drugim stimulatorima angiogeneze utiče i na proliferaciju, maturaciju i preživljavanje endotelih ćelija u toku angiogeneze [19].

Hemokini su familija sekretornih proteina, relativno male molekulske težine (8-12 kDa), čija je primarna funkcija da indukuju usmerenu migraciju ćelija (hemotaksiju) u pravcu mesta hemokinske produkcije. Na osnovu broja cisteinskih rezidua (C) na amino (NH_2) kraju hemokinskog molekula i umetnutih aminokiselina (X je umetnuta bilo koja aminokiselina osim cisteina) između njih, hemokini su podeljeni u četiri potfamilije označene

kao C, CC, CXC i CX₃C. Hemokini svoja biološka dejstva ostvaruju preko G-protein vezanih receptora eksprimiranih na površini ciljnih ćelija. Hemokinski receptori su glikoproteini prosečne dužine oko 350 aminokiselina (AK), sastavljeni od sedam transmembranskih domena (TM1-7), tri ekstracelularne petlje (ECP1-3) i tri intracelularne petlje (ICP1-3). Karboksilni (COOH) kraj receptora je smešten u citoplazmi, a NH_2 završetak se nalazi izvan ćelije. Preko NH_2 kraja i ECP receptori se vezuju za hemokine, a preko ICP i COOH receptori su povezani sa G-proteinom [29]. Imajući u vidu da gotovo svaka ćelija u organizmu, uključujući i one u sastavu tumora, može biti izvor hemokina i eksprimirati hemokinski receptor na svojoj površini, funkcije hemokina nisu ograničene samo na leukocite. Naime, pokazano je da hemokini takođe mogu delovati na endotelne ćelije [30]. Tako, CXCL1, CXCL2, CXC3, CXCL8 i CXCL9 stimulišu angiogenezu. Pokazano je, takođe, da od strukture NH_2 završetka zavisi ispoljavanje efekata CXC-hemokina na angiogenezu. Na primer, onkogeni povezani sa rastom (Gro, engl. *growth related oncogenes*) α , β i γ , interleukin-8 (IL-8), granulocitni protein hemotakse-2 (GCP-2, engl. *granulocyte chemoattractant protein-2*) i ENA-78 (engl. *epithelial neutrophil activa-*

ting protein 78) dele tri aminokiseline (Glu-Leu-Arg), tzv. ELR motiv. Članovi ove podgrupe hemotaktički deluju na endotelne ćelije *in vitro* i indukuju neovaskularizaciju u tkivu rožnjače *in vivo* [27].

Na osnovu dosadašnjih istraživanja, veliki su izgledi da epitet „angiogeni“ ponesu i monocitni protein hemotakse-1 (MCP-1, engl. *monocyte chemoattractant protein-1*), u literaturi poznat i pod imenom CCL2, kao i CCL5 (RANTES, engl. *Regulated on Activation Normal T Expressed and Secreted*). Ovi biološki aktivni molekuli spadaju u CC hemokine, koji imaju dve cisteinske rezidue na svom NH₂ kraju koje se nalaze neposredno jedna uz drugu. CC hemokini se vezuju za CC receptore na ciljnim ćelijama. CCL2 i CCL5 oslobađaju endotelne ćelije, fibroblasti, ćelije tumora i makrofagi koji su povezani sa tumorima (TAMs, engl. *tumor-associated macrophages*). Smatra se da je funkcija ovih hemokina privlačenje monocita na mesto tkivnog oštećenja, koji, zatim, luče angiogene faktore sa direktnim delovanjem na endotelne ćelije [23,29]. S obzirom da je ekspresija MCP-1 u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa stepenom angiogeneze u području inflamacije, sugerisano je da ovaj hemokin može i direktno da utiče na angiogenezu vezivanjem za svoj CCR2 receptor na endotelnim ćelijama. U tom smislu, transkripcijski faktor Ets-1 uzet je u razmatranje kao potencijalna meta hemokina CCL2 za ostvarivanje njegove angiogene uloge. Takođe, CCL2 je značajno prisutan i u malignim tumorima sa izraženom angiogenezom, kao i u tumorima vaskularnog porekla čiji se nastanak povezuje sa pojavom patološke angiogeneze. Međutim, precizni molekularni mehanizmi angiogenog delovanja CCL2 u kancerogenezi još uvek su nepoznati [27,29].

Angiopoetini predstavljaju važne regulatore angiogeneze, koji se vezuju za transmembranski receptor Tie-2 i najverovatnije Tie-1. Ovi receptori su od esencijalnog značaja za pravilno formiranje i razvoj krvnih sudova. Tie receptori su deo familije receptora tirozin kinaze (RTK, engl. *receptor tyrosine kinase*), koja je podeljena na dve glavne podgrupe shodno AK sastavu (familija VEGF koja uključuje Flt-4 i Flk-1/KDR, i familija VEGF koja obuhvata Tek /Tie-2/ i Tie-1 receptore). Smatra se da angiopoetin-1 (angpt-1), koji sekretuju periciti, mezenhim i VGMC stabilizuje novoformirane krvne sudove. Angpt-2 sekretuju endotelne ćelije i VGMC. Prisustvo ovog biološki aktivnog molekula je uočeno u uterusu, ovarijumima, placenti, prostati, skeletnim mišićima, tankom crevu, srcu i nekim područjima mozga. Angiopoetini koriste isti domen za vezivanje sa Tie receptorima, dok Angpt-1 i Angpt-2 koji su neophodni za diferencijaciju i proliferaciju endotelnih ćelija mogu da se vezuju i sa drugim receptorima, uključujući integrine. Tie-2 receptor učestvuje u aktivaciji transkripcijskih faktora (STATs) 1, 2, 3 i 5. STAT 3 je bitan faktor u inicijaciji i regulaciji angiogeneze [20].

U regulaciji angiogeneze učestvuju i *endotelini* (ET). Endotel stvara endotelin-1 (ET-1), pored

ostalog, kao odgovor na stimulaciju TGF- β . ET-1 se, osim u vaskularnom tkivu, sintetiše i u mozgu [31]. Prekomerna ekspresija ovog endotelina i njegovih receptora je uočena i u kancerogenezi (karcinom pluća, karcinom debelog creva, i dr.). ET-2 i ET-3 su izoforme endotelina koje se sreću u tkivu mozga, bubrega, nadbubrežne žlezde i intestinalnog trakta. Danas se smatra da postoji i četvrti oblik endotelina označen kao vazoaktivni intestinalni kontraktor (VIC, engl. *vasoactive intestinal contractor*) [19]. ET_A i ET_B predstavljaju receptore za endoteline, spregnute sa G-proteinom, koji ima sedam domena vezanih za PLC i PKC. ET_A receptor ima najveći afinitet za ET-1, a najmanji za ET-3, dok ET_B receptor pokazuje podjednak afinitet za sva tri endotelina. Aktivnost ET_A i ET_B receptora određuje kakav će biti odnos između vazokonstrikcije i vazodilatacije. ET_A receptor glatkih mišića pokazuje veći afinitet za ET-1 nego ET-3, izazivajući vazokonstrikciju. Aktivaciju ET_A receptora prati aktivacija PLC, hidroliza fosfoinozitol difosfata (PIP₂) i mobilizacija intracelularnog kalcijuma (Ca²⁺) posredstvom diacil glicerola (DAG) i PKC. Istovremeno, aktiviraju se voltažno zavisni Ca²⁺ kanali, koji omogućavaju transmembranski ulazak Ca²⁺. Aktivacija ET_B receptora omogućava oslobađanje prostaciklina i nastaje vazodilatacija. U fiziološkim uslovima, koncentracija endotelina u cirkulaciji je veoma mala [31]. Međutim, aterogeneza podstiče produkciju endotelina, pri čemu je ekspresija endotelinskih receptora nishodno regulisana [19]. U takvim okolnostima, najznačajniji stimulus za povećano stvaranje i oslobađanje endotelina u humanim ateroskleroznim krvnim sudovima su oksidacijski modifikovani lipoproteini male gustine (oxLDL) [11]. Ovi proteini tom prilikom utiču i na aktivnost nekoliko proteaza članova ADAM (engl. *A Disintegrin And Metalloproteases*) familije (ADAM 8, 9, 10, 15 i 17), koji su uključeni u regulaciju angiogeneze [14]. Pored endotelinih ćelija, i VGMC, naročito one koje migriraju u intimu u toku aterogeneze, mogu proizvoditi endoteline, i na taj način doprineti ubrzanom razvoju neovaskularizacije [31]. Pored toga, nedavna istraživanja su pokazala da neovaskularizacija ateroskleroznih lezija favorizuje njihovu progresiju. Štaviše, tom prilikom je utvrđeno da VGMC koje učestvuju u stvaranju plaka zadržavaju proangiogeni fenotip. Smatra se, takođe, da bi ove ćelije mogle biti glavni organizatori angiogenog odgovora u ranoj fazi aterogeneze [13].

Eritropoetin (EPO) je glikoprotein koji proizvode hepatociti fetusa, a nakon rođenja u kori bubrega ga stvaraju peritubularne ćelije nalik fibroblastima. Faktor koji oslobađa hipoksija (HIF, engl. *hypoxia inducible factor*) indukuje njegovu gensku ekspresiju. EPO deluje preko dva receptorska molekula posredstvom signalnog puta koji obuhvata janus kinaze (JAK), STAT i PI3K, i na taj način stimuliše angiogenezu i rast tumora, a inhibira apoptozu [19].

Angiotenzin II (ANG) je oktapeptid koji deluje preko dva glavna podtipa G-proteinskih receptora, a to su AT₁-R i AT₂-R, koji su eksprimirani na vaskulaturi [19].

Adrenomedulin (AM) i *PAMP* (engl. *proadrenomedulin N-terminal 20 peptide*) su peptidi koji vode poreklo od proadrenomedulina i sintetisu se u srcu i krvnim sudovima. AM svoju funkciju ostvaruje preko receptora koji potiču od receptorskog molekula nalik receptoru za kalcitonin (CRLR, engl. *calcitonin receptor-like receptor*). CRLR, u zavisnosti od njegovih interakcija sa članovima familije proteina označenih kao RAMPs (engl. *receptor-activity-modifying proteins*) može da deluje ili kao peptid koji je povezan sa genom za kalcitonin (CGRP, engl. *calcitonin gene-related peptide*), ili kao receptor za AM. Tako RAMP₁ stvara CGRP R iz CRLR, dok RAMP₂ i RAMP₃ produkuju AM R označene kao AM₁-R i AM₂-R. AM ispoljava angiogeni efekat i u fiziološkim i u patološkim uslovima posredstvom AM₁-R i AM₂-R, koji aktiviraju MAPK (engl. *mitogen-activated protein kinase*), Akt kaskadni signalni put i kinazu uključenu u fokalne adhezivne procese. AM stimuliše razvoj vaskularnih kolaterala kao odgovor na akutnu ishemiju. Povišena koncentracija ovog angiogenog molekula je nađena i u različitim tipovima karcinoma. Slično AM, PAMP dovodi do migracije endotelnih ćelija i ubrzanog rasta tumora [19].

Urotenzin-II je ciklični peptid sastavljen od 11 AK, koji preko receptora označenog kao UT-R stimuliše neovaskularizaciju u srcu, velikim arterijama, mikrovaskulaturi nervnog tkiva i nekoliko tumorskih ćelijskih linija [19].

Adipociti sekretuju citokine (VEGF i TNF- α) i adipokine (*leptin*, *adiponektin* i *rezistin*), koji su uključeni u modulaciju angiogeneze. U ljudi leptin je peptid sastavljen od 167 AK, koji nastaje kao produkt transkripcije *ob* gena. Ovaj adipokin funkcioniše posredstvom specifičnih receptora (Ob-Ra, -b, -c, -d, -e i -f). Endotelne ćelije eksprimiraju Ob-Ra i Ob-Rb, a zatim proliferišu posredstvom aktivacije STAT 3 i ERK1/2. U placenti je povišena koncentracija leptina, koja obezbeđuje održavanje vaskularne propustljivosti [19].

Adiponektin je produkt masnog tkiva, koji kod ljudi egzistira ili kao peptid čiju strukturu čini 230 AK (deluje preko receptora označenog kao adipor₂), ili kao globularna forma proteina sastavljena od 147 AK (deluje preko adipor₁). Smatra se da adiponektin doprinosi vaskularnom remodelovanju sprečavanjem oslobađanja IL-8 iz endotelnih ćelija, što utiče na aktivnost nuklearnog faktora-k β (NF-k β), protein-kinaze zavisne od cikličnog adenozin-monofosfata (cAMP-PK) i PI3K-Akt kaskada [19].

Rezistin je adipokin koji deluje kao stimulator angiogeneze podstičući proliferaciju VGMC posredstvom ERK1/2 i PI3K signalnih puteva [19].

Neuropeptid Y (NPY) u eksperimentalnim uslovima preko receptora koji su vezani sa G protei-

nom, označenih kao Y₁-R i Y₂-R, stimuliše proliferaciju VGMC aorte, dok putem Y₂-R i Y₅-R podstiče rast i neovaskularizaciju neuroblastoma [19].

Deficitarna angiogeneza karakteriše srčanu slabost i oštećenja tkiva izazvana *lokalnom hipoksijom* i ishemijom. Oboljenja bubrega i gubitak koštane mase karakteriše progresivan gubitak mikrovaskulature. Plućnu fibrozu i emfizem takođe karakterišu redukovani angiogeni signali. U stanjima lokalne hipoksije uzrokovane vaskularnom ishemijom podstaknuto je oslobađanje HIF-1 α i VEGF, koji utiču na stvaranje novih krvnih sudova (kolaterala) [16]. Tako, u slučaju arterijske okluzivne bolesti, kod koje uglavnom usled ateroskleroze dolazi do stenoze i okluzije perifernih, koronarnih, renalnih, cerebralnih i drugih arterija, sudovne grančice suženih vaskularnih stabala preuzimaju njihovu funkciju. One tada ne samo da nastavljaju da snabdevaju krvlju kapilarno korito, već i preusmeravaju krv oko obolelog segmenta. Štaviše, u takvim okolnostima povećava se stres smicanja u suženim arterijama, dovodeći do proširenja kolaterala. U nekim slučajevima kolateralizacija nastala na ovaj način je bila efikasna u sprečavanju razvoja ishemije u mirovanju ili čak u toku stresa [12]. Međutim, kod većine obolelih od arterijske okluzivne bolesti kolaterale nisu u mogućnosti da snabdeju tkivo dovoljnom količinom krvi, što dovodi do hipoksije. S tim u vezi, intenzivno se istražuju angiogeni faktori rasta koji bi u terapijskom smislu kompletno premostili prepreku kod obolelih od koronarne i periferne arterijske bolesti. Preklinička ispitivanja farmakološkog stvaranja kolaterala (angiogeneza indukovana lekovima) na eksperimentalnim modelima miokardne ishemije i ishemije donjih ekstremiteta dala su ohrabrujuće rezultate [2]. Članovi FGF familije su prvi korišćeni kao potencijalna terapija periferne vaskularne bolesti i ishemijske bolesti srca i mozga [32]. Naime, bFGF je aplikovan zčečevima sa akutnom perifernom ishemijom u dnevnoj dozi od 1 do 2 μ g. Nakon dvonedeljnog tretmana, u donjim ekstremitetima životinja angiografskim merenjem kapilarne gustine ustanovljeno je znatno povećanje broja kolateralnih krvnih sudova. Do sličnog rezultata se došlo i korišćenjem eksperimentalnog modela ishemije ekstremiteta pacova, koja je postignuta ligiranjem femoralne arterije. Time je bFGF postao dobar kandidat za terapiju periferne vaskularne bolesti, što je dalo podsticaj da se na kardijalnim eksperimentalnim modelima nastave istraživanja njegovog farmakološkog potencijala. Tako je na eksperimentalnom modelu infarkta miokarda, koji je izazvan arteficialnim stvaranjem tromba u levoj koronarnoj arteriji, pokazano da bFGF dovodi do smanjenja veličine infarkta, povećanja arterijske i kapilarne mreže u blizini infarktne zone, kao i oporavka funkcije miokarda. Slično tome, korišćenjem eksperimentalnog kardijalnog modela ishemije izazvane vazokonstriktivnim sredstvima, došlo se do zaključka da bFGF nakon aplikovanja u periadventički prostor u blizini ishemijske zone izaziva po-

većanje protoka kroz koronarne arterije i u skladu s tim, smanjenje progresije bolesti [12].

Nedavna istraživanja su istakla mogućnost korišćenja HIF-1 α u terapijske svrhe, s obzirom da ovaj stimulator angiogeneze, kao glavni transkripcijski faktor koji se oslobađa u ishemijskim uslovima, ima ulogu u modulaciji ćelijskog metabolizma, a takođe učestvuje i u procesima ćelijske proliferacije i diferencijacije [16]. Osim toga, u toku su ispitivanja koja će razjasniti u kom stepenu VEGF može biti pogodan za lečenje pacijenata sa ishemijskim oštećenjima tkiva [2]. Pokazano je da oslobađanje VEGF izazvano ishemijom istovremeno stimuliše endotelne progenitorske ćelije koje vode poreklo od kostne srži (EPC), pa one prelaze u ishemijsko područje i potom se inkorporiraju u neovaskularizovana cirkulacijska korita. Smatra se da EPC dovode do proliferacije rezidentnih endotelnih ćelija i potencijalno rezidentnih matičnih ćelija. Pored toga, EPC mogu da učestvuju u reendotelizaciji vaskularnih implanata, kao i u neovaskularizaciji rana na koži i kancerogenezi. Mehanizam kojim se EPC iz kostne srži navode (engl. *homing*) da migriraju ka mestima povrede još nije poznat [32]. Na značaj proliferacije rezidentnih endotelnih ćelija u angiogenezi ukazala su i eksperimentalna istraživanja neovaskularizacije u tkivima zahvaćenim *hroničnom inflamacijom*. Tom prilikom je uočeno da se za približno hiljadu dana obnovi preko bilion endotelnih ćelija koje oblažu skoro 1 000 m² površine, koliko zbirno zauzimaju krvni sudovi odraslog čoveka telesne težine 70 kg. Pokazano je, takođe, da je čak i mali procenat proliferacije endotelnih ćelija koji nastaje kao odgovor na arterijsku okluziju ili dejstvo egzogenih faktora rasta dovoljan da se obezbedi osnova za formiranje novog krvnog suda [12]. U uslovima hronične inflamacije, formirani novi krvni sudovi mogu da uzrokuju dodatno rasplamsavanje zapaljenjskog procesa, što se uočava u različitim patološkim stanjima (aterosklerozi, reumatoidnom artritisu, psorijazi, itd.) [11, 12]. Tako, kod osoba koje boluju od reumatoidnog artritisa angiogeneza doprinosi rastu i održavanju sinovijskog panusa [2]. Slično tome, kod obolelih od psorijaze prekomerno aktivirani keratinociti proizvode i sekretuju stimulatore angiogeneze, koji dovode do formiranja novih krvnih sudova u koži. Neovaskularizacija je prisutna i u epidermisu, koji predstavlja avaskularni deo kože, u kome novoformirani krvni sudovi doprinose nastanku psorijaznog plaka [12].

Inhibitori angiogeneze. Inhibitori angiogeneze normalno štite vaskularni endotel od mitogenih stimulusa. Više od 300 potencijalnih inhibitora je identifikovano, od kojih se 80 nalazi u fazi kliničkih ispitivanja [2]. *Trombospondin-1* je heparin-vezujući protein ekstracelularnog matriksa, koji inhibira proliferaciju endotelnih ćelija u različitim tkivima, uključujući i tumore [27]. *Angiostatin* indukuje regresiju velikih tumora i inhibira rast primarnih tumora do 98% [2]. *Endostatin* predstavlja C-terminalni proteolitički fragment kolagena XVIII,

koji ulazi u sastav bazalne membrane. Smatra se da ovaj angiostatik indukuje apoptozu endotelnih ćelija i inhibira aktivnost MMP [2]. *Somatostatin* je inhibitor angiogeneze koji je u organizmu prisutan u vidu dve biološki aktivne forme (somatostatin 14 i somatostatin 28). On deluje preko pet podtipova receptora spregnutih sa G proteinom (SST1-R, SST2-R, SST3-R, SST4-R i SST5-R). Kod ljudi krvni sudovi imaju povećan broj SST1 receptora, dok je ekspresija SST2 i SST4 receptora snižena. Nasuprot tome, izrazita zastupljenost SST2 receptora uočava se u krvnim sudovima tumora. Putem ovih receptora somatostatin inhibira proliferaciju endotelnih ćelija, ili do ovog efekta dovodi indirektnim putem, suprimirajući produkciju VEGF [19]. U angiostatike se ubraja i *grelin*, koji u brojnim tkivima i organima preko svojih GHS-R1a i GHS-R1b receptora značajno snižava aktivnost tirozin-kinaze i ERK1/2, i na taj način inhibira dejstvo FGF-2 [19]. *Natriuretčki peptidi* (atrijalni natriuretčki peptid/*ANP*) i moždani natriuretčki peptid/*BNP*, engl. *brain natriuretic peptide*), koji se sintetišu u srcu, kao i natriuretčki peptid endotelnih ćelija (*CNP*) inhibitori su angiogeneze koji u krvnim sudovima čoveka sprečavaju proliferaciju endotelnih ćelija vezivanjem za tri podtipa receptora (A-R i B-R, koji modulišu kalijumske kanale putem produkcije cGMP, i C-R, čija aktivnost ne zavisi od guanilatciklaze). Natriuretčki peptidi do ovog efekta dovode i indirektnim putem, posredstvom nishodne regulacije VEGF sistema. Pokazano je, takođe, da bi prekomerna ekspresija neuropeptida mogla da bude uzrok relativne nedelotvornosti spontane neovaskularizacije kod nekih pacijenata sa hroničnom srčanom ishemijom, kao i njihovog slabog odgovora na kliničke tretmane angiogenim sredstvima [19].

Angiogeneza u tumoru

Tumor dijametra 1–2 mm difuzijom dobija sve materije koje su mu neophodne za rast, tako da dalja sudbina tumora zavisi od razvoja adekvatne neovaskularizacije. Kada angiogeni faktori odnesu prevagu nad angiogenim inhibitorima, počinje formiranje novih krvnih sudova u tumoru, što označava prelazak premaligniteta u zloćudni tumor. Angiogeni faktori koje izlučuju tumorske ćelije 10 000 puta povećavaju sposobnost deobe endotelnih ćelija. One zatim migriraju, i tom prilikom razgrađuju bazalnu membranu kapilara i međućelijsku supstanciju zahvaljujući proteazama koje same luče, ili ih izlučuju tumorske ćelije i makrofagi. Na kraju, endotelne ćelije izgrađuju tumorske krvne sudove, koji su propustljiviji, prošireni i nasumično povezani [19]. Krvni sudovi tumora predstavljaju ulaz tumorskih ćelija u cirkulaciju, što je prvi korak ka razvoju metastaza. Naime, utvrđeno je da je angiogeneza u neposrednoj vezi sa zloćudnom transformacijom tumora, odnosno što je angiogeneza naglašenija, tumor je zloćudniji i brže metastazira. Osim toga, kvantitetom angiogeneze u situacijama kada je dijagnostikovao tu-

mor može se predvideti rizik metastaze i recidiva [12]. Ustanovljeno je, takođe, da novostvorene endotelne ćelije podstiču rast okolnih tumorskih ćelija oslobađanjem faktora rasta, kao što su faktori rasta slični insulinu (IGFs, engl. *insuline-like growth factors*), PDGF i faktor stimulacije granulocitno-monocitnih kolonija (GM-CSF, engl. *granulocyte colony stimulating factor*) [27].

U ranoj fazi rasta, većina humanih tumora ne izaziva angiogenezu. Oni godinama ostaju mali ili *in situ*, dok prekidač za angiogenezu (engl. *angiogenic switch*) ne okonča ovo stanje vaskularnog mirovanja [19]. Molekulsku osnovu angiogenog prekidača čine povećano stvaranje angiogenih faktora i/ili gubitak angiogenih inhibitora. Ove medijatore angiogeneze mogu da stvaraju same tumorske ćelije, inflamacijske ćelije (makrofagi i dr.) i druge ćelije strome povezane sa tumorom [27]. Poznato je da angiogenezu kod tumora podstiče hipoksija, što rezultuje povećanom ekspresijom angiogenih faktora (VEGF, IL-8, bFGF, i dr.) i redukovanim ispoljavanjem inhibitora angiogeneze (faktora trombocita-4, trombospondina, angiostatina i dr.). U takvim uslovima stimulirano je stvaranje VEGF putem prethodne aktivacije HIF-1 α , koji predstavlja transkripcijski faktor osetljiv na nivo kiseonika. HIF-1 α se neprekidno stvara, pri čemu se za njega u uslovima normalnog nivoa kiseonika vezuje protein *Fon Hipel-Lindau* (VHL) izazivajući njegovu razgradnju ubikvitinskim putem. U stanjima hipoksije, koja se uočavaju u tumorima koji su dostigli kritične dimenzije, nedostatak kiseonika sprečava VHL da prepozna HIF-1 α , tako da HIF-1 α prelazi u jedro i aktivira transkripciju ciljnih gena sa oslobađanjem VEGF kao posledicom. Na taj način VHL

se ponaša kao tumor-supresorski gen. Pritom su mutacije gena VHL u germinativnim ćelijama udružene sa naslednim oblicima karcinoma bubrežnog parenhima, feohromocitomom, hemangiomom centralnog nervnog sistema, angiomom mrežnjače i cistama bubrega (sindrom VHL) [16]. Pored toga, stimulatori i inhibitori angiogeneze su regulisani i drugim genima, koji su često mutirani u malignim tumorima. Na primer, u normalnim ćelijama p⁵³ može da podstakne stvaranje trombospondina-1 koji inhibira angiogenezu, uz istovremeno suzbijanje ispoljavanja VEGF, koji podstiče neovaskularizaciju. Na taj način gubitak p⁵³ u tumorskim ćelijama obezbeđuje tolerantnije okruženje za angiogenezu. Na transkripciju VEGF utiču i signali puta RAS-MAP kinaze, dok mutacije *RAS* ili *MYC* stimulišu stvaranje VEGF [19].

Proteaze koje potiču direktno iz tumorskih ćelija ili ćelija strome kao reakcija na tumor, takođe su uključene u regulaciju odnosa angiogenih i antiangiogenih faktora. Mnoge proteaze mogu izazvati oslobađanje bFGF deponovanog u ekstracelularnom matriksu. Nasuprot tome, tri snažna inhibitora angiogeneze, angiostatin, endostatin i vaskulostatin, nastaju proteolitičkim cepanjem plazminogena, kolagena i transtiretina [2].

Zaključak

Naučnici su još uvek daleko od potpunog razumevanja patofizioloških mehanizama angiogeneze u aterosklerozi. Ostaje nada da će buduća istraživanja angiogenezne bolesti moći da rasvetle za sada skrivena mesta potencijalne terapijske intervencije.

Literatura

- Palmer JF. The works of John Hunter. London: Green and Longman; 1835.
- Bisht MDC, Bist DSS. Angiogenesis: future of pharmacological modulation. *Indian J Pharmacol* 2010;42(1):2-8.
- Vučević D, Radak Đ, Radosavljević T, Mladenović D, Milovanović I. Ateroskleroza u svetlu postojećih naučnih teorija. *Med Istraž* 2008;42(2):29-36.
- Vučević D, Radak Đ, Radosavljević T, Mladenović D, Milovanović I. Fibrozni plak kao metabolički stadijum aterogeneze. *Med Istraž* 2009;43(1):35-47.
- Rapp JH, Owens CD, Johnson MD. Blood vessel and lymphatic disorders. In: Mc Phee SJ, Papadakis MA, eds. *Current medical diagnosis and treatment*. New York: Mc Graw Hill Companies; 2011. p. 446-69.
- Vučević D, Čolić J, Šljivančanin T, Radosavljević T, Mladenović D. Lipidni profil i sadržaj gvožđa u serumu kunića sa eksperimentalnom aterosklerozom. *Med Istraž* 2010;44(2):43-52.
- Vučević D, Radosavljević T, Mladenović D, Šteković J, Gajin P, Milovanović I, et al. Lipidni profil u serumu kunića sa eksperimentalnom aterosklerozom. *Med Čas* 2010;4:9-15.
- Vučević D, Radak Đ, Gajin P, Radosavljević T, Mladenović D, Milovanović I, i dr. Aktivnost alfa naftil butirata esterase u humanom karotidnom plaku različite morfologije. *Med Istraž* 2011;45(4):56-65.
- Vučević D, Radosavljević T, Mladenović D, Čolić J, Milovanović I, Pešić BČ, i dr. Iron as an agent of oxidative injury in experimental atherosclerosis. *Acta Veterin* 2011;61(5-6):631-41.
- Vučević D, Radak Đ, Kovačević D, Milovanović I, Radosavljević T, Mladenović D, et al. Citohemijska analiza alfa naftil acetat esterase u ateroskleroznim lezijama humane karotidne arterije. *Med Istraž* 2012;46(2):33-43.
- Vučević D, Radak Đ, Radosavljević T, Mladenović D, Milovanović I. Zapaljenski proces u aterogenezi: nove činjenice o starom plamenu. *Med Pregl* 2012;65(9-10):388-95.
- Radak Đ, Maravić-Stojković V, Kolar J. Angiogeneza. U: Radak Đ, Maravić-Stojković V, urednici. *Imunologija u genezi i terapiji ateroskleroze*. Beograd: DC Grafički centar; 2004. str. 75-80.
- Noe HT, Michel MJB. Initiation of angiogenesis in atherosclerosis: smooth muscle cells as mediators of the angiogenic response to atheroma formation. *Trends Cardiovasc Med* 2011;21:183-7.
- Van der Vorst EPC, Keijbeck AA, de Winther MPI, Donners MMPC. A disintegrin and metalloproteases: molecular scissors in angiogenesis, inflammation and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2012;224:302-8.

15. Sharma R, Rana A, Kumar C, Thakur S. Endothelium dysfunction, inflammation and cardiovascular disorder. *WebmedCentral Pharmaceutical Sciences* 2011;2(9):WMCOO2176.
16. Sluimer JC, Daemen MJ. Novel concepts in atherogenesis: angiogenesis and hypoxia in atherosclerosis. *J Pathol* 2009;218:7-29.
17. Michel JB, Virmani R, Arbustini E, Pasterkamp G. Intraplaque haemorrhages as the trigger of plaque vulnerability. *Eur Heart J* 2011;32:1977-85.
18. Doyle B, Caplice N. Plaque neovascularization and antiangiogenic therapy for atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:2073-80.
19. Ribatti D, Conconi MT, Nussdorfer GG. Nonclassic endogenous novel regulators of angiogenesis. *Pharmacol Rev* 2007;59:185-205.
20. Trollope AF, Golledge J. Angiopoietins, abdominal aortic aneurysm and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2011;214:237-43.
21. Singh H, Milner CS, Aguilar Hernandez MM, Patel N, Brindle NP. Vascular endothelial growth factor activates the Tie family of receptor tyrosine kinases. *Cell Signal* 2009;21:1346-50.
22. Casagrande V, Menghini R, Menini S, Marino A, Marchetti V, Cavallera M, et al. Overexpression of tissue inhibitor of metalloproteinase 3 in macrophages reduces atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor knock out mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32:74-81.
23. Suffee N, Richard B, Hlawaty H, Oudar O, Charnaux N, Sutton A. Angiogenic properties of the chemokine RANTES/CCL5. *Biochem Soc Trans* 2011;39(6):1649-53.
24. Stoger JL, Goossens P, de Winther MP. Macrophage heterogeneity: relevance and functional implications in atherosclerosis. *Curr Vasc Pharmacol* 2010;8:233-48.
25. Lahoute C, Herbin O, Mallat Z, Tedgui A. Adaptive immunity in atherosclerosis: mechanisms and future therapeutic targets. *Nat Rev Cardiol* 2011;8:348-58.
26. Di Taranto MD, Morgante A, Bracale UM, D'Armiento FP, Porcellini M, Bracale G, et al. Altered expression of inflammation-related genes in human carotid atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis* 2012;220(1):93-101.
27. Coffelt SB, Hughes R, Lewis CE. Tumor-associated macrophages: effectors of angiogenesis and tumor progression. *Biochim Biophys Acta* 2009;1796:11-8.
28. Song Z, Jin R, Yu S, Nanda A, Granger DN, Li GH. Crucial role of CD40 signaling in vascular wall cells in neointimal formation and vascular remodeling after vascular interventions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32:50-64.
29. Gautier EL, Jakubzick C, Randolph GJ. Regulation of the migration and survival of monocyte subsets by chemokine receptors and its relevance to atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29(10):1412-8.
30. Schwarz N, Pruessmeyer J, Hess FM, Dreytmueller D, Pantaler E, Koelsch A, et al. Requirements for leukocyte transmigration via the transmembrane chemokine CX3CL1. *Cell Mol Life Sci* 2010;67:4233-48.
31. Vučević D, Radak Đ, Ilijevski N. Endotelini i homocistein u ishemiji mozga. U: Vučević D, Ilijevski N, Radak Đ, Đorđević-Denić G, urednici. *Patološka dinamika cerebralne ishemijske*. Beograd: Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu; 2006. str. 67-73.
32. Mheid IA, Quyyumi AA. Cell therapy in peripheral arterial disease. *Angiology* 2009;59(6):705-16.

Rad je primljen 1. XI 2012.

Recenziran 27. V 2013.

Prihvaćen za štampu 27. VI 2013.

BIBLID.0025-8105:(2013):LXVI:7-8:297-306.