

ROLA WYBRANYCH CZYNNIKÓW REGULUJĄCYCH ANGIOGENEZĘ W ROZWOJU I PRZEBIEGU RDZENIAKA ZARODKOWEGO

THE ROLE OF SELECTED PROANGIOGENIC FACTORS IN GROWTH AND DEVELOPMENT OF MEDULLOBLASTOMA

Adrianna KLIMCZAK, Mikołaj PATELSKI, Przemysław TRELA,
Tomasz FLUR, Barbara PIETRZAK, Maciej CZAPLA, Szymon BLIDA

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie: Medulloblastoma jest nowotworem ośrodkowego układu nerwowego najczęściej występującym u dzieci. Obecnie głównymi metodami w walce z rdzeniakiem zarodkowym są chemioterapia, radioterapia oraz chirurgiczne resekcje guza. Wiek młodych pacjentów jest szczególnie istotny, ponieważ ogranicza możliwości pomocy. Typowe leczenie niesie ze sobą szereg powikłań oraz skutków ubocznych. Nadzieje na opracowanie swoistej terapii dają badania nad angiogenezą rdzeniaka zarodkowego. Angiogeneza jest procesem złożonym z wielu etapów prowadzących do powstania nowych naczyń krwionośnych. Zapoczątkować ją może czynnik proangiogeny, hipoksja, natężona produkcja tlenu azotu przez komórki endotelium, bądź naprężenie ścinające przepływającej przez naczynie krwi oddziałujące na komórki śródbłonna. Najistotniejszym czynnikiem indukującym angiogenezę jest VEGF. Proces tworzenia nowych naczyń jest zahamowany, gdy czynniki proangiogenne zostaną zdominowane przez czynniki antyangiogenne.

Angiogeneza jest procesem fizjologicznym, jednakże może warunkować wzrost i rozwój guza, ponieważ komórki nowotworowe potrzebują dostępności tlenu i składników odżywczych. W początkowej fazie rozwoju guza, gdy ilość obecnych naczyń krwionośnych nie jest w stanie sprostać zapotrzebowaniu na tlen występuje hipoksja. Drugą możliwą drogą indukcji angiogenezy jest produkcja czynników proangiogennych przez komórki nowotworowe lub inne komórki otaczające nowotwór.

Cechą naczyń powstałych w procesie nowotworzenia jest dezorganizacja. Odmienne od naczyń rozwiniętych w sposób fizjologiczny, te mają ograniczone możliwości podaży krwi i tym samym stan hipoksji się utrzymuje stymulując dalszą angiogenezę. Nowe naczynia warunkują przetrwanie nowotworu oraz przerzutowanie, które determinuje rozwój choroby i ogranicza skuteczność leczenia.

Niestety przebieg angiogenezy w przypadku rdzeniaka zarodkowego nie jest dobrze zbadany. Dotychczasowe badania wskazują, że jest to guz naczyniozależny co warunkuje jego złośliwość i zdolność przerzutowania. Dalsze badania i pogłębienie wiedzy na temat tego procesu u medulloblastoma dają nadzieję na opracowanie terapii celowanej uboższej w efekty uboczne oraz szansę na dłuższe przeżycie młodych pacjentów.

Słowa kluczowe: medulloblastoma, angiogeneza, VEGF

Summary: Medulloblastoma is a central nervous system tumor that usually occurs in children. Currently the treatments to fight medulloblastoma are chemotherapy, radiotherapy and surgical resection of the tumor. Due to the young age of patients the possibilities of help are limited. Typical treatment involves a number of complications and side effects.

The research on angiogenesis of medulloblastoma may provide hope for patients. Angiogenesis is a complex, multistep process that leads to the formation of new blood vessels. It may be initiated by a proangiogenic factor, hypoxia, increased production of nitric oxide by endothelial cells, or the shear stress of blood flowing through the vessel. VEGF is the most essential inducer of angiogenesis. The process is inhibited when the proangiogenic factors are in excess comparing to antiangiogenic factors. Angiogenesis is a physiological process. However, it can lead to tumor's growth and development. To survive cancer cells need supply of oxygen and nutrients. In the initial stage of tumor development, when the number of present blood vessels is not able to meet the oxygen demand, hypoxia occurs. The second possible way of inducing angiogenesis is the production of proangiogenic factors by tumor cells or other cells surrounding the tumor.

Disorganization is a feature of the vessels formed in the neoplastic process. Contrary to physiologically developed vessels, these have a limited ability to supply blood and thus remain hypoxic. The hypoxia stimulates further angiogenesis. New vessels determine tumor survival and metastasis what makes the treatment less effective.

Unfortunately, the angiogenesis in medulloblastoma is not well studied. The available research indicates that it is a vascular-dependent tumor, which determines its malignancy and metastasis. Further research and deepening the knowledge of this process offer hope for the development of targeted therapy with less side effects and a chance for longer survival of young patients.

Keywords: medulloblastoma, angiogenesis, VEGF

MEDULLABLASTOMA – RDZENIAK ZARODKOWY CHARAKTERYSTYKA, EPIDEMIOLOGIA ORAZ LECZENIE

Rdzeniak zarodkowy jest najczęstszym nowotworem ośrodkowego układu nerwowego o pochodzeniu zarodkowym, dotyczącym w znacznej większości populację wieku dziecięcego. Według klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia WHO, należy do nowotworów o najwyższym – IV stopniu złośliwości. Szacuje się, iż stanowi około 20% wszystkich guzów mózgu występujących u dzieci [39]. Najczęściej rozwija się w obrębie tylnego dołu czaszki, w okolicach robaka mózdzku albo komory IV. Dzięki temu wykazuje skłonności do rozsiewania przez rzutów drogą płynu mózgowo-rdzeniowego i tym sposobem w wielu przypadkach nacieka na sąsiadujące struktury anatomiczne [56]. Tak jak inne nowotwory embrionalne, tworzą go komórki niezróżnicowane lub o niskim stopniu zróżnicowania. W związku z tym nie wykazują one zarówno morfologicznych, jak i immunohistochemicznych cech dojrzałych komórek [12].

Rdzeniak przynależy do grupy nowotworów drobnookrągłoniebieskokomórkowych, charakteryzującej się specyficznym rysem budowy histologicznej. Tworzą go ciasno ułożone, niewielkie komórki z małą ilością cytoplazmy i hi-

perchromatycznym jądrem. W barwieniu hematoksyliną i eozyną przyjmują kolor granatowy. Często posiadają skąpo wykształcone wypustki cytoplazmatyczne. Na tę chwilę, WHO w obowiązującej klasyfikacji nowotworów wyróżnia 5 histologicznych podtypów medulloblastoma: klasyczny (*classic medulloblastoma*), desmoplastyczny/guzkowy (*desmoplastic/nodular medulloblastoma*), z silnie wyrażoną guzkowością (*medulloblastoma with extensive nodularity*), anaplastyczny (*anaplastic medulloblastoma*) i wielkokomórkowy (*large cell medulloblastoma*). Każdy z nich może skutkować odmiennym, specyficznym dla siebie przebiegiem klinicznym choroby. obecnie trwają intensywne badania nad ich podłożem molekularnym [56]. Na ich podstawie rozróżniono co najmniej cztery odrębne podtypy guza: Wnt, SHH (SonicHedgehog), grupa 3 i grupa 4. Grupy Wnt oraz SHH zostały nazwane zgodnie ze ścieżkami molekularnymi, których mechanizmy zostały zachwiane (na skutek mutacji odpowiednich genów białek uczestniczących w szlakach), a które odgrywają istotną rolę w procesach embriogenezy. Grupy 3 i 4 (określane często wspólnie jako: *Non-Wnt/Shh Tumors* z ang.) nie zostały dotychczas wystarczająco dokładnie scharakteryzowane pod względem procesów, odpowiadających za rozwój patologii. Zdecydowano więc, że dopóki nie zostanie poznana bardziej szczegółowo biologia napędzająca wykształcenie zmian nowotworowych w tych przypadkach, nazwy pozostaną bardziej ogólne. Wiele trudności przysparza fakt, że są to jednostki do siebie podobne, często wykazujące zbieżne elementy patologii. Istotnym genem, którego ekspresja często ulega amplifikacji w grupie 3 jest mi.in gen MYC, natomiast w grupie 4 onkogen OTX2. Najwyraźniej niekorzystne rokowanie pacjentów z grupy 3 wskazuje na konieczność poświęcenia jej szczególnej uwagi w aspekcie poszukiwań praktycznych biomarkerów[48].

Rdzeniak zarodkowy po raz pierwszy został opisany przez Harveya Cushinga i Percivala Baileya w 1925 roku, którzy tym samym odróżnili go od scharakteryzowanego w owym czasie guza glejowego, określanego wspólnie spongioblastoma. Badacze chcieli w ten sposób podkreślić jego odmiennie niż wcześniej sądzono, pochodzenie. Zaprzeczyli oni ówczesnym przekonaniom o źródle rozwoju rdzeniaka z jednej z pięciu pluripotencjalnych komórek macierzystych, zasiedlających cewę nerwową. Do tej pory jednak, nie udało się zidentyfikować żadnej komórki embrionalnej, którą można by utożsamiać z Medulloblastoma[31]. Na początku lat osiemdziesiątych XX wieku, bazując na podobieństwie histologicznym pomiędzy rdzeniakami a innymi drobnymi guzami niebieskokomórkowymi, które rozwijają się poza tylnym dołem czaszki, zawniosowano, aby sklasyfikować je wspólnie w ramach grupy prymitywnych guzów neuroektodermalnych (ang. *Peripheral primitive neuroectodermal tumour*, PNET). Jednak, ze względu na odmienną molekularną drobnoniebieskokomórkowych guzów tylnego dołu od tych występujących na obszarach szyszynki czy też w korze mózgu, zdecydowano o odgraniczeniu rdzeniaka zarodkowego od pozostałych PNET. Światowa

Organizacja Zdrowia (WHO) (Kleihues et al., 1993) zatwierdziła tę klasyfikację, co wzbudziło wiele kontrowersji. Wielu uczonych wciąż spiera się w tej kwestii, twierdząc, iż dotychczas nie przedstawiono wystarczających dowodów, pozwalających na rozróżnienie wyżej wymienionych nowotworów [12].

Leczenie rdzeniaka opiera się na terapii wielodyscyplinarnej, obejmuje chemioterapię i radioterapię oraz w przypadkach, które na to pozwalają, interwencje chirurgiczne w postaci resekcji guza. Metody dostosowuje się przede wszystkim do wieku dziecka. Leczenie dobierane jest również na podstawie stratyfikacji ryzyka, wielkości i rozległości guza, obecności przerzutów oraz, coraz częściej, histologii komórek nowotworu i molekularnych mechanizmach towarzyszących danym podtypom. Obecnie, szczególne obawy budzi poddawanie radioterapii bardzo małych pacjentów (poniżej 3 roku życia). Należy również wspomnieć o niepokojących powikłaniach wtórnych długoterminowego leczenia. Badania nad jakością postkuracyjnego życia, stanowią obecnie obiekt szczególnego zainteresowania. Powikłania obejmują degenerację funkcji neurokognitywnych, endokrynologicznych, upośledzenie wzrostu i, utratę słuchu oraz wtórne nowotwory [14]. Nadzieję niosą badania prowadzone nad molekularnymi patomechanizmami rozwoju i funkcjonowania rdzeniaków. Coraz bardziej rozległa wiedza i rozwój technologii pozwalają wierzyć w opracowanie skuteczniejszych form leczenia w niedalekiej przyszłości. Lekarze skłaniają się częściej ku stosowaniu bardziej swoistych metod terapeutycznych, co tym samym umożliwi zminimalizowanie stopnia nasilenia, tak często towarzyszących skutków ubocznych [1].

ANGIOGENEZA – CHARAKTERYSTYKA

Odpowiednie zaopatrzenie tkanki w tlen i składniki odżywcze możliwe jest dzięki obecności naczyń krwionośnych. Rozwinięcie ich gęstej sieci umożliwia sprostanie wzmózonemu zapotrzebowaniu na substraty w momencie natężonej aktywności metabolicznej. Jednocześnie, wraz z krwią usuwane są zbędne produkty przemiany materii i tym samym stan homeostazy zostaje utrzymany. Powstawanie nowych naczyń krwionośnych w warunkach fizjologicznych przebiega na drodze trzech odmiennych mechanizmów: waskulogenezy, angiogenezy oraz arteriogenezy [52].

Waskulogeneza jest procesem powstawania naczyń krwionośnych *de novo* z prekursorów komórek śródbłonna (angioblastów) w okresie embrionalnym. W odróżnieniu od niej angiogeneza polega na tworzeniu, ekspansji oraz wzroście nowych kapilar na bazie już istniejących w wyniku proliferacji komórek śródbłonna [25, 43]. Istotnym jest fakt, iż stanem podstawowym komórek śródbłonna organizmów dorosłych jest stan spoczynku. Proliferyują one jedynie w ściśle określonych sytuacjach takich jak odnowa endometrium, rozwój łożyska, owulacja

czy potrzeba poprawy perfuzji organu. Ponadto w przypadku uszkodzenia tkanki angiogeneza warunkuje proces gojenia, jest więc naturalnym i pożądanym zjawiskiem fizjologicznym [28, 42, 52].

Arteriogeneza z kolei jest procesem polegającym na przekształceniu naczyń kolateralnych w przewodzące krew tętnice. W odróżnieniu od wcześniej wspomnianej waskulogenezy czy angiogenezy, arteriogeneza pozostaje niezależna od hipoksji. Jest ona indukowana mechanicznie poprzez wzrost napięcia ścinającego. W sytuacji okluzji arteriogeneza jest więc wrodzonym mechanizmem pozwalającym na wznowienie perfuzji w obszarach o upośledzonym ukrwieniu. Jest to istotny klinicznie proces w przypadku choroby niedokrwiennej serca czy udaru mózgu [10, 23].

Angiogeneza jest skomplikowanym procesem przebiegającym wieloetapowo. Do jej zapoczątkowania niezbędne jest zadziałanie czynnika proangiogenego. Największe znaczenie mają czynniki chemiczne, takie jak czynnik wzrostu śródbłonka naczyniowego (VEGF), czynnik wzrostu fibroblastów (FGF), angiotensyna, płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF), czynnik wzrostu hepatocytów (HGF), transformujący czynnik wzrostu alfa oraz beta (TGF- α ; TGF- β), czynnik martwicy nowotworów (TNF) czy interleukina 8 (IL-8) [42, 52]. Innymi czynnikami indukującymi angiogenezę są hipoksja i zwiększona produkcja tlenu azotu przez komórki śródbłonka naczyń. Ponadto działające na powierzchnię śródbłonka naprężenie ścinające przepływającej krwi jest czynnikiem mechanicznym prowadzącym do rozwoju krążenia obocznego [33].

Po zadziałaniu czynnika proangiogenego komórki śródbłonka znajdujące się w stanie spoczynku ulegają aktywacji powodując wzrost przepuszczalności ściany naczyń. Następnie maleje siła połączeń otaczających od zewnątrz śródbłonek pericytów, powodując oddalanie się od siebie obu warstw [7]. Komórki śródbłonka tworzą i uwalniają enzymy proteolityczne, które degradują macierz zewnątrzkomórkową oraz błonę podstawną. W procesie tym w naczyniu powstaje szczelina, która zostaje otoczona migrującymi i proliferującymi komórkami endotelialnymi, co zapoczątkowuje tworzenie nowych struktur będących przedłużeniem pierwotnego naczynia. Proces formowania takiego odgałęzienia nosi nazwę „kiełkowania” (*sprouting*). Kolejnym etapem jest synteza błony podstawnej i dojrzewanie komórek śródbłonka, które przechodzą w stan spoczynku. Stabilizacja nowopowstałego naczynia możliwa jest dzięki powtórnemu przyleganiu pericytów. Rosnąca sieć naczyń ulega fuzji, a tym samym wzrasta przepływ krwi [7, 42].

Angiogeneza poprzez „kiełkowanie” uznawana jest za dominujący mechanizm rozwoju nowych naczyń w życiu pozapłodowym. Istnieją także inne typy angiogenezy, które przyczyniają się do rozrostu sieci naczyń krwionośnych u organizmów dorosłych [32]. Jednym z nich jest angiogeneza wgłębna, inaczej zwana angiogenezą rozszczepiającą, polegającą na podzieleniu pierwotnego naczynia na dwa potomne. W przypadku angiogenezy wgłębnej połączenia komórek

śródbłonna ulegają osłabieniu. Następnie warstwa perycytów oddala się od endotelium, a uwolnione czynniki proangiogenne mobilizują fibroblasty, które migrują w kierunku rozwarstwienia śródbłonna. Fibroblasty zaczynają odkładać włókna kolagenowe i powstaje wewnątrznaczyniowy filar. Wnikająca poprzez wgłębienie macierz zewnątrzkomórkowa umożliwia tworzenie błony podstawnej, a finalnie separację dwóch nowych naczyń [7].

Prawidłowy przebieg angiogenezy determinowany jest równowagą pomiędzy czynnikami proangiogennymi, o których wspomniano powyżej, a czynnikami antyangiogennymi, do których zalicza się m.in. trombospondynę-1, endostatynę, angiostatynę, tumstatynę, wazostatynę czy interferon- γ . Tworzenie nowych naczyń krwionośnych zachodzi, gdy produkcja czynników stymulujących angiogenezę przeważa nad produkcją czynników antyangiogennych. W przypadku sytuacji odwrotnej angiogeneza ustaje. (IF- γ) [32].

Tworzenie nowych naczyń krwionośnych nie zawsze przebiega prawidłowo. Zachwianie równowagi i nadprodukcja czynników proangiogennych może powodować rozrastanie się naczyń w sposób niekontrolowany. Naczynia krwionośne powstające w przebiegu patologicznej angiogenezy są nadmiernie przepuszczalne dla osocza i jego białek, kiełkują w sposób nieregularny, a ich dystrybucja jest nierównomierna. Konsekwencją patologicznej angiogenezy jest wiele stanów chorobowych m.in. stany zapalne, czy neowaskularyzacja oczna polegająca na tworzeniu naczyń w obrębie oka w miejscach, gdzie nie występują w stanie fizjologicznym. Angiogeneza wykazuje także szczególne znaczenie w przypadku nowotworzenia, gdzie przyczynia się w sposób znaczący do wzrostu i rozwoju guza [28].

WYBRANE CZYNNIKI PROANGIOGENNE

Angiogeneza jest procesem, którego inicjacja oraz przebieg, wymagają współdziałania dużej grupy czynników. Wydaje się jednak, że część z nich pełni kluczową rolę w tym procesie. Należy do nich m.in.: naczyniowo – śródbłonkowy czynnik wzrostu VEGF.

Naczyniowo nabłonkowy czynnik wzrostu – VEGF (ang. *vascular endothelial growth factor*) jest to główny, bezpośredni czynnik wpływający na angiogenezę i to zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i patologicznych. Należy on do płytkowych czynników wzrostu i wpływa na każdy etap rozwoju naczyń [3].

Dzieje się to głównie na skutek oddziaływania VEGF na komórki śródbłonna naczyń. Bierze on udział w angiogenezie poprzez następujące mechanizmy:

- zwiększenie przepuszczalności naczyń i to w sposób znacznie silniejszy niż czynią to inne czynniki proangiogenne na przykład Ang-2 [39], czy

histamina (działa aż 50 razy silniej), co powoduje gromadzenie się płynu i białek w przestrzeni pozanaczyniowej [61].

- działanie mitogenne na komórki śródbłónka, pobudzenie ich proliferacji oraz migracji komórek co skutkuje tworzeniem się prymitywnych naczyń [51].
- niszczenie przestrzeni pozakomórkowej poprzez aktywację enzymów proteolitycznych doprowadzając do wytworzenia przestrzeni, w których mogą tworzyć się nowe naczynia [61].
- zapewnienie utrzymania przy życiu nowych naczyń poprzez ich ochronę przed apoptozą wywołaną przez interferon oraz poprzez bezpośrednią produkcję białka antyapoptycznego Bcl-2 [61]. Z tego powodu VEGF nazywany jest czynnikiem przetrwania (ang. *survival factor*) i działa on w ten sposób zarówno na komórki nowotworowe, jak i prawidłowe komórki śródbłónka [51].

U osób zdrowych VEGF również występuje i odpowiada za utrzymanie homeostazy, działa neuroprotekcynie w siatkówce i OUN, jest także konieczny do rozwoju embrionalnego czy gojenia się ran [61]. Czynniki regulujące syntezę i ekspresję VEGF dzieli się na zewnętrzne i wewnętrzne. Najważniejszym czynnikiem egzogennym, środowiskowym jest hipoksja. Niedotlenienie, na drodze zwiększenia ilości czynnika indukowanego hipoksją – HIF-1, bezpośrednio zwiększa produkcję VEGF, ale wpływa również na ekspresję jego receptorów [61]. Wpływ na tworzenie czynnika VEGF mają również czynniki wzrostu i cytokiny (interleukina 1 oraz 6) oraz hormony, czy takie związki chemiczne jak trombina czy czynnik tkankowy TF [39]. Czynniki wewnętrzne wpływające na ekspresję VEGF to mutacje genów supresorowych i aktywacja genów [39]. Potwierdzono, że mutacja genów Ras i p53 zwiększa ekspresję VEGF [19].

Istnieją cztery izoformy tego czynnika, które różnią się ilością tworzących je aminokwasów – odpowiednio 121, 165, 189 oraz 206 a także właściwościami fizykochemicznymi. Najczęściej występująca izoforma to VEGF 165 [39]. Aby wywołać efekt biologiczny VEGF musi połączyć się ze swoimi receptorami, które znajdują się w większości w błonie komórek śródbłónka naczyń. Najważniejsze z nich to VEGFR-1 oraz VEGFR-2. Receptory VEGFR-1 wykazują 10-krotnie większe powinowactwo do czynnika wzrostu, jednakże na powierzchni błon komórkowych jest ich znacznie mniej niż VEGFR-2. VEGFR-1 nazywane są też receptorami przynętowymi, gdyż wychwytyjąc VEGF doprowadzają do zmniejszenia aktywności czynnika i w konsekwencji zapobiegają proliferacji śródbłónka [39]. Poprzez połączenie z receptorem VEGFR-2 dochodzi do pobudzenia rozrostu komórek śródbłónka, zwiększenia przepuszczalności naczyń krwionośnych oraz inicjacji angiogenezy. Po połączeniu z receptorem VEGFR-1 czynnik może działać pobudzająco, ale i hamująco na naczyniotworzenie [39].

ANGIOGENEZA I WYBRANE CZYNNIKI PROANGIOGENNE W NOWOTWORZENIU

Komórki nowotworowe, tak jak każde inne, potrzebują do prawidłowego funkcjonowania dopływu tlenu oraz związków odżywczych, dostarczanych im przez naczynia krwionośne. Naczynia te są też drogą odpływu powstających w komórkach zbędnych produktów przemiany materii. Szacuje się, że podczas początkowej fazy wzrostu zmiany nowotworowej, kiedy korzysta ona jedynie z dostępności naczyń zaopatrujących otaczające ją tkanki, jej wielkość nie przekracza zazwyczaj 2-3 mm³. Po osiągnięciu tej wielkości, procesy apoptozy i proliferacji komórek nowotworowych równoważą się [60].

Aby tkanka nowotworowa mogła kontynuować swój wzrost, musi dojść do procesu neowaskularyzacji, dzięki któremu znacząco poprawia się jej ukrwienie. Najlepiej poznanym mechanizmem prowadzącym do rozbudowy sieci naczyniowej guza jest angiogeneza pączkująca, prowadząca do powstania nowych naczyń krwionośnych z wcześniej już istniejących dzięki ich wzrostowi i rozgałęzianiu w kierunku strefy awaskularnej [45, 60].

Stymulacja angiogenezy jest procesem niezwykle złożonym i zależnym od równowagi między czynnikami proangiogennymi i antyangiogennymi, regulującymi homeostazę naczyniową. W warunkach fizjologicznych równowaga ta jest zwykle przesunięta w kierunku czynników antyangiogennych i angiogeneza jest wstrzymana [60].

Podczas rozwoju guza czynniki kontrolujące angiogenezę są wydzielane nie tylko przez komórki nowotworowe, ale także przez komórki tworzące mikrośrodowisko guza, do których należą fibroblasty o fenotypie CAF, komórki endotelialne, pericyty, adipocyty oraz komórki układu immunologicznego, głównie monocyty, makrofagi, limfocyty i komórki dendrytyczne. Ważnymi elementami mikrośrodowiska nowotworu są również naczynia krwionośne i limfatyczne, komórki nerwowe oraz macierz pozakomórkowa ECM [47].

Przewaga czynników promujących angiogenezę może zostać w mikrośrodowisku nowotworowym uzyskana dwoma drogami. Pierwszą z nich jest nabycie przez część komórek guza tzw. fenotypu angiogenego. Dochodzi do tego w skutek spontanicznych mutacji lub zmian epigenetycznych w obrębie onkogenów, genów supresorowych lub też genów kodujących czynniki proangiogenne [49, 57, 60]. Drugą możliwością jest stymulacja szlaków uwalniających czynniki proangiogenne w wyniku przedłużającej się hipoksji. Hipoksja jest niezwykle często obserwowana w obrębie rosnących nowotworów i jest oczywistym skutkiem niedostatecznego ukrwienia komórek. Odpowiedź komórek na te niesprzyjające warunki jest regulowana głównie poprzez stymulację syntezy rodziny czynników regulowanych hipoksją (HIF) [4]. Jest to grupa czynników transkrypcyjnych mająca zdolność wpływania na wiele genów komórek nowotworowych zaangażowanych

w takie procesy jak proliferacja, apoptoza, regulacja pH mikrośrodowiska czy też indukcja angiogenezy [4]. Do tych ostatnich należy gen kodujący czynnik VEGF – główny czynnik proangiogeny produkowany przez komórki guza w warunkach hipoksji [4, 49]. Hipoksja odgrywa istotną rolę również w wielu innych procesach – może na przykład stymulować rekrutację komórek prekursorowych ze szpiku kostnego i ich różnicowanie do komórek endotelialnych [44, 60], pobudzać komórki endotelialne do proliferacji [44] czy też, wpływając na równowagę cytokin w mikrośrodowisku guza, tłumić odpowiedź immunologiczną organizmu [60].

Najbardziej istotnym czynnikiem kontrolującym proces angiogenezy jest czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF). Choć w mikrośrodowisku guza to komórki nowotworowe są głównymi komórkami produkującymi ten czynnik, to wydzielany może być on również przez inne komórki, takie jak fibroblasty o fenotypie CAF lub też przez płytki krwi [60]. VEGF nie tylko indukuje angiogenezę, ale także chroni nowopowstałe naczynia guza przed apoptozą, za pomocą czynników antyapoptycznych, głównie Bcl-2 [5]. Ponadto bierze on udział w szlakach prowadzących do zmniejszenia liczby połączeń między komórkami endotelialnymi, a w konsekwencji zwiększenia przepuszczalności naczyń w obrębie guza [36].

Innym czynnikiem proangiogenym, mogącym mieć duże znaczenie w trakcie rozwoju guza, jest SDF-1 (nazywany też białkiem CXCL12). Poza wpływem na indukcję angiogenezy, stymuluje on komórki wielu rodzajów nowotworów to proliferacji, migracji czy inwazji naczyniowej [26]. Udowodniono również pozytywny wpływ SDF-1 na możliwość przetrwania komórek guza w niekorzystnych warunkach oraz zdolność tego czynnika do lokalnej supresji odpowiedzi immunologicznej [2].

Z kolei czynnikiem mającym ogromne znaczenie w komunikacji między komórkami nowotworowymi a innymi komórkami mikrośrodowiska guza jest płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF). Poza właściwościami proangiogenymi, ma on duże znaczenie w stabilizacji uformowanych naczyń poprzez wywieranie wpływu na pericyty [15, 22]. Wykazano, że PDGF może odgrywać rolę w unikaniu przez komórki nowotworowe odpowiedzi immunologicznej organizmu poprzez interakcję z makrofagami [15].

Naczynia krwionośne powstające w procesie angiogenezy w obrębie zmiany nowotworowej różnią się znacząco od tych występujących fizjologicznie. Cechuje je duży stopień dezorganizacji, brak wyraźnego zróżnicowania na naczynia włosowate, żyłne i tętnicze, duży stopień przepuszczalności oraz powolny przepływ krwi. Te anormalne cechy prowadzą do mało efektywnego odżywienia zaopatrywanej przez nie tkanki, co skutkuje przewlekłą hipoksją komórek nowotworowych i ciągłą indukcją powstawania kolejnych naczyń [57].

W przypadku części nowotworów proces angiogenezy może być istotny nie tylko ze względu na umożliwienie przetrwania i wzrostu guza, ale również daje sposobność dla rozpoczęcia procesu jego przerzutowania. Przerzutowanie jest główną

przyczyną zgonów związanych z chorobą nowotworową [27]. W procesie tym komórki nowotworowe przedostają się do naczyń i wraz z krwią docierają do odległych tkanek, w których opuszczają naczynie i rozpoczynają proliferację w nowym środowisku. Ich zdolność przedostania się do krążenia zależy ściśle od interakcji z pozostałymi komórkami mikrośrodowiska. Pericyty otaczające naczynia w tkance nowotworowej cechują się mniejszym przyleganiem do komórek endotelialnych, co skutkuje powiększeniem przestrzeni, przez które mogą przenikać komórki nowotworowe [60]. Również same komórki endotelialne mogą w mikrośrodowisku guza przyjmować charakterystyczne fenotypy i wydzielając czynniki angiokrynne wpływać na progresję komórek nowotworowych [27, 60]. Ogromne znaczenie dla procesu intrawazacji ma pojawienie się w mikrośrodowisku nowotworu czynników takich jak VEGF, MMP czy ANGPTL4, których sekrecja przez wiele komórek jest napędzana głównie przewlekłą hipoksją w tymże środowisku [27, 60].

ANGIOGENEZA W RDZENIAKU ZARODKOWYM

Proces angiogenezy w rdzeniaku zarodkowym nie jest dobrze poznany, jednakże istnieją nieliczne badania, których wyniki sugerują, iż jest to guz naczyniozależny. Rdzeniak zarodkowy jest najczęstszym guzem embrionalnym wśród populacji pediatrycznej. Spośród 4 podgrup molekularnych Wnt, SHH, grupa 3 i grupa 4, najwyższym poziomem angiogenezy wykazuje się grupa 3, która cechuje także się najgorszymi rokowaniami. Proces angiogenezy jest cechą charakterystyczną rozwoju tego guza, a utkanie ich tworzy charakterystyczne struktury glomuroidalne co również stanowi o jego złośliwości [53, 54].

Badania wykonane na trzech niezależnych grupach pacjentów wykazały podwyższony poziom mRNA VEGF-A wśród pacjentów grupy 3 oraz różnicę w przeżywalności pacjentów spośród wszystkich grup na korzyść pacjentów z niską ekspresją. [53] W trakcie badań wykonano ksenoprzeszczepy trzech różnych typów rdzeniaka zarodkowego trzem grupom myszy laboratoryjnych, a następnie określano z wykorzystaniem DSC MRI unaczynienie rozwijających się guzów oraz przeżywalność osobników z danym typem guza, zaś wyniki DSC MRI potwierdzono badaniami histologicznymi *post mortem*. Wykazano, że najniższą przeżywalnością cechowały się zwierzęta z przeszczepionym guzem o najwyższej ekspresji mRNA VEGF-A i zwiększała się ona wśród grup z przeszczepionymi guzami o mniejszym unaczynieniu. Opisano również trzy wzorce unaczynienia guza: zorganizowane, mikronaczynia rozproszone „DM” (ang. *diffuse microvascular*) oraz heterogenne. Wzorec zorganizowany cechuje się równomiernym rozłożeniem naczyń krwionośnych o podobnej średnicy w obrębie całego guza, w przypadku „DM” dochodzi do rozwoju małych naczyń krwionośnych rozmieszczonych w obrębie całego guza bez lub z minimalną ilością większych naczyń, natomiast unaczynienie heterogeniczne jest połączeniem cech unaczynienia zorganizowanego i „DM”. Pod względem przeżycia, najlepsze

wyniki uzyskała grupa myszy z guzem o unaczynieniu zorganizowanym, a najgorsze – z mikrounaczynieniem rozproszonym „DM”, co sugeruje wpływ typu unaczynienia na złośliwość rdzenia zarodkowego. Badanie wykazało, że ekspresja mRNA VEGF-A w przeszczepianym guzie odpowiada ekspresji w mózgu, wydaje się zatem, że egzogeny VEGF-A indukuje wydzielanie tego czynnika przez komórki gospodarza.

Badania Huber i wsp. wykazało obecność wielu czynników proangiogennych wśród 93% badanych pacjentów z rdzeniakiem zarodkowym z czego najważniejszymi były VEGF165, VEGF-A i VEGF-B. W niniejszych badaniach VEGF165 był jednym z najpowszechniejszych czynników proangiogennych w liniach komórkowych PNET i pierwotnych PNET/MB oraz poziom jego ekspresji był zbliżony do poziomu obserwowanego u dzieci z guzami glejowymi. Dodatkowo badania wykazały, iż ekspresje VEGF, VEGF-B oraz Ang-2 były ze sobą skorelowane, co sugeruje jednoczesny udział kilku czynników proangiogennych w regulacji neowaskularyzacji w PNET/MB [17].

Z wykorzystaniem metod immunohistochemicznych zidentyfikowano wzmożoną angiogenezę oraz ekspresję VEGFA, FLT1 oraz HBEGF w mysim modelu guza grupy SHH pozbawionym Pten, który jest jednym z głównych inhibitorów przekazywania sygnału przez kinazę PI-3. Przeprowadzone badania wykazały, iż niedobór ten wpływa na zmianę histologii rdzenia zarodkowego z klasycznej na ekstensywnie guzowatą (MBEN). Guzy MBEN charakteryzują się niższym indeksem proliferacyjnym i zróżnicowaniem neurocytowym, jednakże żadne badania nie wykazały niższej przeżywalności osobników z tym typem guza [6].

Receptory VEGF występują naturalnie w komórkach śródbłonna naczyniowego w małych ilościach, jednakże ulegają one nadekspresji w komórkach śródbłonna naczyń krwionośnych rdzenia zarodkowego. Istnieje wiele dowodów wskazujących na wpływ czynników angiogennych na tempo wzrostu guzów oraz na ich potencjał w tworzeniu przerzutów [29].

Mimo, iż badania poświęcone neowaskularyzacji w rdzeniaku zarodkowym są nieliczne, to wydaje się, że istnieje zależność pomiędzy tym procesem a wzrostem i rozwojem nowotworu, a także korelacja z przeżywalnością pacjentów. Szczególnie dotyczy to pacjentów, których guzy wykazują cechy typowe dla grupy 3. W związku z powyższym wydaje się, że angiogeneza może być nowym celem terapii medulloblastoma.

TERAPIA ANTYANGIOGENNA W RDZENIAKU ZARODKOWYM

Metody leczenia rdzenia zarodkowego uzależnione są przede wszystkim od stopnia rozwoju nowotworu oraz od wieku chorego. Podstawowym schematem leczenia jest operacja neurochirurgiczna oraz wdrożona pooperacyjnie radioterapia [8, 31, 37]. W niektórych przypadkach, m.in. u dzieci poniżej 3 roku życia,

rezygnuje się z radioterapii i wdrażane jest zastępcze leczenie często wykorzystywanymi chemioterapeutykami [20, 21, 38]. Takie postępowanie wiąże się jednak często z poważnymi skutkami ubocznymi, w związku z czym coraz więcej zespołów badawczych opracowuje nowoczesne podejście do leczenia rdzeniaka zarodkowego, wykorzystujące wiedzę na temat czynników wzrostu mających kluczowe znaczenie w rozwoju guza [30]. Badania kliniczne nad takimi formami terapii wykazują, że są one mniej obciążające dla organizmu i charakteryzują się występowaniem łagodniejszych form niepożądanych efektów leczenia.

Obecnie jednym z głównych celów dla naukowców jest dokładne poznanie mechanizmu działania czynników, które indukują nie tylko rozrost samego nowotworu, ale także przyczyniają się do angiogenezy w jego obrębie. Wiedza ta umożliwiłaby opracowanie terapii wycelowanych w konkretne szlaki transdukcji sygnału odpowiedzialne za proliferację komórek oraz angiogenezę. Zablockowanie bądź wzmocnienie niektórych z nich może okazać się przełomem w walce z wieloma nowotworami, w tym z rdzeniakiem zarodkowym. Aktualnie wiele leków przechodzi kolejne fazy badań klinicznych i przynosi obiecujące rezultaty. Należą do nich m.in.: mebendazol oraz foretinib.

Mebendazol jest lekiem dość powszechnie stosowanym przy zarażeniach pasożytami. Jednak ostatnie badania wskazują, iż może on znaleźć zastosowanie także w terapiach niektórych nowotworów układu nerwowego, także rdzeniaka zarodkowego, zastępując powszechnie stosowaną winkrystynę [1, 9]. Lek ten charakteryzuje się możliwością oddziaływania na liczne szlaki wewnątrz-, jak i zewnątrzkomórkowe oraz zdolnością do łączenia się ze strukturami wewnątrzkomórkowymi, w tym z tubuliną. Oddziaływanie to blokuje podziały komórkowe, jak również utrudnia sygnalizację międzykomórkową.

Inną ważną właściwością mebendazolu jest zdolność do inhibicji receptora naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGFR2), przez co blokowany jest szlak sygnałowy odpowiadający za angiogenezę [35]. Co więcej, badania kliniczne nad skutecznością mebendazolu w terapii głejaka przeprowadzane na ludziach wskazują na jego duże bezpieczeństwo nawet przy stosowaniu wysokich dawek leku. Stąd też w leku tym pokłada się duże nadzieje w kontekście nowej terapii antyangiogennej rdzeniaka zarodkowego [1].

Foretinib jest eksperymentalnym lekiem, którego działanie testowane jest pod kątem leczenia licznych nowotworów. Podobnie jak Mebendazol, Foretinib jest inhibitorem dla receptora czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (VEGFR2), dzięki czemu może wpływać na ograniczenie angiogenezy w polu zmiany nowotworowej. Hamuje także szlak wątrobowego czynnika wzrostu (HGFR), będącego ważnym punktem w trakcie rozwoju mózdzku [18]. Zapobiega w ten sposób nadmiernej proliferacji komórek oraz indukuje wejście komórek nowotworowych w szlak apoptozy w rdzeniaku zarodkowym typu SHH. Co istotne, zauważono, że Foretinib ma zdolność przekraczania bariery krew-mózg oraz jest

dobrze metabolizowany. Badania na myszach pokazały, iż Foretinib wpływał hamująco na rozwój pierwotnej zmiany nowotworowej, jej unaczynienia, ale także ogranicza częstość występowania przerzutów [48].

Duże nadzieje związane z terapią w rdzeniaku zarodkowym pokłada się także w badaniach nad nowotworowymi komórkami macierzystymi. Badania te dotyczą w dużej mierze szlaków transdukcji sygnału oraz genów odpowiedzialnych m.in. za angiogenezę. Wycelowanie leczenia właśnie w te komórki może być o tyle istotne, iż stanowią one populację komórek odpowiadających nie tylko za rozrost zmiany, ale także za jej zapoczątkowanie, utrzymanie, za występowanie przerzutów, ale również za nawroty choroby. Co więcej, wykazują odporność na tradycyjne leczenie takie jak chemioterapia oraz radioterapia [16]. Zatem opracowanie metody terapeutycznej, która pozwoliłaby na niszczenie tych komórek, znacznie ułatwiłaby proces leczenia.

Pomimo tego, że większość prób przynosiła niezadowalające rezultaty, pojawiają się bardziej obiecujące metody, takie jak stosowanie GDC-0941 w celu inhibicji szlaku 3-kinaz fosfotydyloinozytolu PI3K/Akt, które wyraźnie zmniejsza ilość komórek CD133+ mających właściwości komórek macierzystych nowotworu [12]. Szlak PI3K/Akt ma istotne znaczenie w metabolizmie komórkowym, w trakcie podziałów komórek, ale również w procesie angiogenezy. Poprzez wpływ zewnętrznych czynników wzrostu, w tym VEGF, oddziałuje na szlak sygnałowy związany z tlenkiem azotu(II) NO. Obydwa szlaki wywołują kaskadę reakcji doprowadzających do formowania naczyń krwionośnych zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i patologicznych[46]. Zatem jego zahamowanie mogłoby potencjalnie prowadzić do ograniczenia unaczynienia w obrębie zmiany nowotworowej.

Oprócz szlaku PI3K/Akt analizie poddawany jest również szlak STAT3, którego inhibicja przez cucurbitacynę I czy celekoksyb pozwala na znaczne zmniejszenie właściwości proliferacyjnych komórek CD133+[58]. Szlak STAT3, podobnie jak PI3K/Akt, pełni znaczącą rolę w przebiegu angiogenezy w chorobach nowotworowych. Jak pokazują badania, białko STAT3 może przyłączać się do miejsca promotorowego w genie kodującym VEGF i w ten sposób indukować jego wzmożoną ekspresję. Skutkiem tego jest wzmożona proliferacja komórek nowotworowych oraz tworzenie naczyń krwionośnych w obrębie zmiany[34]. Z tego względu opracowywane są terapie mające na celu zablokowanie aktywności STAT3, a tym samym zmniejszenie ekspresji VEGF oraz zahamowanie angiogenezy. Oprócz cucurbitacyny I oraz celekoksybu działanie hamujące względem STAT3 wykazują także dasatinib w terapii łączonej z cisplatyną, ruxolitinib oraz tofacitinib, które w modelach przedklinicznych wykazują dużą skuteczność. W związku z powyższym planowane jest rozpoczęcie badań klinicznych, które potwierdziłyby ich skuteczność oraz bezpieczeństwo stosowania w przyszłych terapiach antyangiogennych [55].

PODSUMOWANIE

Rdzeniak zarodkowy jest najczęściej występującym nowotworem złośliwym o pochodzeniu embrionalnym ośrodkowego układu nerwowego u dzieci. Jego anatomiczne położenie skutkuje możliwością wystąpienia przerzutów drogą płynu mózgowo-rdzeniowego, co czyni go jeszcze bardziej śmiertelnym.

Spośród wielu mechanizmów, które sprzyjają powstaniu, wzrostowi i przerzutowaniu rdzeniaka zarodkowego, istotnym procesem nań oddziaływującym jest angiogeneza, która zapewnia prawidłowe ukrwienie guza, a tym samym jego odżywienie i dotlenienie, jak również umożliwia powstawanie wtórnych ognisk nowotworowych w miejscach odległych. Angiogeneza ma skomplikowany przebieg i jest kontrolowana przez szereg czynników proangiogennych i antyangiogennych. Równowaga między nimi reguluje zachodzenie angiogenezy. W trakcie powstawania i rozwoju nowotworów, w tym także rdzeniaka, dochodzi do zaburzenia procesu naczyniotworzenia, z reguły na skutek zwiększonej ekspresji czynników stymulujących angiogenezę.

Rdzeniak zarodkowy jest nowotworem, dla rozwoju którego duże znaczenie ma proces angiogenezy. Charakteryzuje się on nadekspresją czynników proangiogennych. Badania udowodniły, że występuje korelacja między przeżywalnością, a stopniem wydzielania czynników proangiogennych, głównie VEGF, przez rdzeniaka zarodkowego. Inną zauważoną prawidłowością jest zwiększenie się ilości swoistych receptorów dla VEGF w śródbłonku naczyń krwionośnych tego guza. Ponadto, układ nowotworzących się naczyń krwionośnych w obrębie guza może mieć znaczenie prognostyczne.

Badania dotyczące procesu angiogenezy w rdzeniaku zarodkowym mają duże znaczenie dla optymalizacji jego leczenia. Zablokowanie tworzenia nowych naczyń lub zahamowanie tego procesu jest istotnym etapem leczenia. Wciąż podstawową procedurą leczenia rdzeniaka zarodkowego jest operacja chirurgiczna i radioterapia. Radioterapia nie może być jednak stosowana u dzieci poniżej 3 roku życia, dlatego rozwój terapii chemioterapeutykami jest kluczowy w walce z tym często występującym nowotworem. Lekiem blokującym szlak angiogenezy jest mebendazol, który doprowadza do inhibicji VEGF 2. Jednocześnie lek jest bezpieczny w stosowaniu. Podobnie działającym lekiem jest foretinib, który oprócz blokowania VEGF 2, hamuje szlak wątrobowego czynnika wzrostu (HGFR), skutkiem tego jest indukowanie apoptozy komórek guza.

Przeprowadzone dotychczas badania wskazują na istotną rolę procesu angiogenezy w rozwoju rdzeniaka zarodkowego. Tym samym stosowanie leków o charakterze antyangiogennym u pacjentów z medulloblastoma, u których konwencjonalne leczenie nie jest możliwe lub nie przynosi oczekiwanych rezultatów, daje duże nadzieje na opracowanie skutecznych form terapii. Jednak zagadnienie to wymaga przeprowadzenia dalszych badań, w tym na poziomie klinicznym.

LITERATURA

- [1] ARCHER TC, MAHONEY EL, POMEROY SL. Medulloblastoma: Molecular Classification-Based Personal Therapeutics. *Neurotherapeutics* 2017; **14**: 265-273. doi: 10.1007/s13311-017-0526-y.
- [2] BAI R-Y, STAEDTKE V, RUDIN CM, BUNZ F, RIGGINS GJ. Effective treatment of diverse medulloblastoma models with mebendazole and its impact on tumor angiogenesis. *Neuro Oncol* 2015; **17**: 545-554. doi: 10.1093/neuonc/nou234.
- [3] BALKWILL F. The significance of cancer cell expression of the chemokine receptor CXCR4. *Semin-CancerBiol* 2004; **14**: 171-179. doi: 10.1016/j.semcancer.2003.10.003.
- [4] BANYŚ A, BUŁAŚ L, DŁUGOSZ E, SZULC-MUSIAŁ B, JANKOWSKI A (2009) Angiogeneza w chorobie nowotworowej. **64**: 247-250.
- [5] CAMUZI D, DE AMORIM ÍSS, RIBEIRO PINTO LF, OLIVEIRA TRIVILIN L, MENCALHA AL, SOARES LIMA SC (2019) Regulation Is in the Air: The Relationship between Hypoxia and Epigenetics in Cancer. *Cells* 8. doi: 10.3390/cells8040300.
- [6] CARMELIET P (2005) VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Oncology* 69 Suppl 3: 4-10. doi: 10.1159/000088478.
- [7] CASTELLINO RC, BARWICK BG, SCHNIEDERJAN M, BUSS MC, BECHER O, HAMBARD-ZUMYAN D, MACDONALD TJ, BRAT DJ, DURDEN DL (2010) Heterozygosity for Pten promotes tumorigenesis in a mouse model of medulloblastoma. *PLoS One* **5**: e10849. doi: 10.1371/journal.pone.0010849.
- [8] DARWEESH RS, AYOUB NM, NAZZAL S (2019) Gold nanoparticles and angiogenesis: molecular mechanisms and biomedical applications. *Int J Nanomedicine* **14**: 7643-7663. doi: 10.2147/IJN.S223941.
- [9] DE BRAGANCA KC, PACKER RJ (2013) TREATMENT OPTIONS FOR MEDULLOBLASTOMA AND CNS PRIMITIVE NEUROECTODERMAL TUMOR (PNET). *CURR TREAT OPTIONS Neurology* **15**: 593-606. doi: 10.1007/s11940-013-0255-4.
- [10] DE WITT M, GAMBLE A, HANSON D, MARKOWITZ D, POWELL C, AL DIMASSI S, ATLAS M, BOOCKVAR J, RUGGIERI R, SYMONS M (2017) Repurposing Mebendazole as a Replacement for Vincristine for the Treatment of Brain Tumors. *Mol Med* **23**: 50-56. doi: 10.2119/molmed.2017.00011.
- [11] DEINDL E, QUAX PHA (2020) Arteriogenesis and Therapeutic Angiogenesis in Its Multiple Aspects. *Cells* 9. doi: 10.3390/cells9061439.
- [12] DOMAGAŁA W (2007) Molekularne podstawy karcynogenezy i ścieżki sygnałowe niektórych nowotworów ośrodkowego układu nerwowego. *Polski Przegląd Neurologiczny* **3**: 127-141.
- [13] EHRHARDT M, CRAVEIRO RB, HOLST MI, PIETSCH T, DILLOO D (2014) The PI3K inhibitor GDC-0941 displays promising in vitro and in vivo efficacy for targeted medulloblastoma therapy. *Oncotarget* **6**: 802-813.
- [14] GERBER NU, MYNAREK M, VON HOFF K, FRIEDRICH C, RESCH A, RUTKOWSKI S (2014) Recent developments and current concepts in medulloblastoma. *Cancer Treat Rev* **40**: 356-365. doi: 10.1016/j.ctrv.2013.11.010.
- [15] HUANG F, WANG D, YAO Y, WANG M (2017) PDGF signaling in cancer progression. **12**.
- [16] HUANG G-H, XU Q-F, CUI Y-H, LI N, BIAN X-W, LV S-Q (2016) Medulloblastoma stem cells: Promising targets in medulloblastoma therapy. *Cancer Sci* **107**: 583-589. doi: 10.1111/cas.12925.
- [17] HUBER H, EGGERT A, JANSS AJ, WIEWRODT R, ZHAO H, SUTTON LN, RORKE LB, PHILLIPS PC, GROTZER MA (2001) Angiogenic profile of childhood primitive neuroectodermal brain tumours/medulloblastomas. *European Journal of Cancer* **9**.
- [18] IERACI A, FORNI PE, PONZETTO C (2002) Viable hypomorphic signaling mutant of the Met receptor reveals a role for hepatocyte growth factor in postnatal cerebellar development. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**: 15200-15205. doi: 10.1073/pnas.222362099.
- [19] KAJDANIUK D, MAREK B, FOŁTYN W, KOS-KUDŁA B (2011) Naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF) w endokrynologii i onkologii. *Endokrynologia Polska* **62**: 456-464.

- [20] KANN BH, LESTER-COLL NH, PARK HS, YEBOA DN, KELLY JR, BAEHRING JM, BECKER KP, YU JB, BINDRA RS, ROBERTS KB (2017) Adjuvant chemotherapy and overall survival in adult medulloblastoma. *Neuro Oncology* **19**: 259-269. doi: 10.1093/neuonc/now150.
- [21] KHATUA S, SONG A, SRIDHAR DC, MACK SC (2018) Childhood Medulloblastoma: Current Therapies, Emerging Molecular Landscape and Newer Therapeutic Insights. *Curr Neuropharmacol* **16**: 1045-1058. doi: 10.2174/1570159X15666171129111324.
- [22] KILVAER TK, RAKAEE M, HELLEVIK T, VIK J, PETRIS LD, DONNEM T, STRELL C, OSTMAN A, BUSUND L-TR, MARTINEZ-ZUBIAURRE I (2019) Differential prognostic impact of platelet-derived growth factor receptor expression in NSCLC. *Scientific Reports* **9**: 10163. doi: 10.1038/s41598-019-46510-3.
- [23] KLUEVER A-K, BRAUMANDL A, FISCHER S, PREISSNER KT, DEINDL E (2019) The Extraordinary Role of Extracellular RNA in Arteriogenesis, the Growth of Collateral Arteries. *Int J Mol Sci* **20**. doi: 10.3390/ijms20246177.
- [24] KOWALEWSKA-CELEJEWSKA M, SKRZYPKOWSKA M, MYŚLIWSKA J, SIEBERT J (2012) Angiogenina i czynniki proangiogenne jako marker i cel terapii nowotworowych. *Forum Medycyny Rodzinnej* **6**: 68-73.
- [25] LUGANO R, RAMACHANDRAN M, DIMBERGA (2020) Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities. *Cell Mol Life Sci* **77**: 1745-1770. doi: 10.1007/s00018-019-03351-7.
- [26] MA D-M, LUO D-X, ZHANG J (2016) SDF-1/CXCR7 axis regulates the proliferation, invasion, adhesion, and angiogenesis of gastric cancer cells. *World J Surg Oncol* **14**. doi: 10.1186/s12957-016-1009-z.
- [27] MAISHI N, HIDA K (2017) Tumor endothelial cells accelerate tumor metastasis. *Cancer Sci* **108**: 1921-1926. doi: 10.1111/cas.13336.
- [28] MARKIEWSKI MM, DAUGHERITY E, REESE B, KARBOWNICZEK M (2020) The Role of Complement in Angiogenesis. *Antibodies (Basel)* **9**. doi: 10.3390/antib9040067.
- [29] MARMÉ D (1996) Tumor angiogenesis: the pivotal role of vascular endothelial growth factor. *World J Urol* **14**: 166-174. doi: 10.1007/BF00186896.
- [30] MENYHÁRT O, GYÖRFFY B (2020) Molecular stratifications, biomarker candidates and new therapeutic options in current medulloblastoma treatment approaches. *Cancer Metastasis Rev* **39**: 211-233. doi: 10.1007/s10555-020-09854-1.
- [31] MILLARD NE, DE BRAGANCA KC (2016) Medulloblastoma. *J Child Neurology* **31**:1341-1353. doi: 10.1177/0883073815600866.
- [32] MOCCIA F, NEGRI S, SHEKHA M, FARIS P, GUERRA G (2019) Endothelial Ca²⁺ Signaling, Angiogenesis and Vasculogenesis: Just What It Takes to Make a Blood Vessel. *Int J Mol Sci* **20**. doi: 10.3390/ijms20163962.
- [33] MORAGA A, LAO KH, ZENG L (2017) Angiogenesis and Cardiovascular Diseases: The Emerging Role of HDACs. In: Simionescu D, Simionescu A (eds) *Physiologic and Pathologic Angiogenesis – Signaling Mechanisms and Targeted Therapy. In Tech*.
- [34] NIU G, WRIGHT KL, HUANG M, SONG L, HAURA E, TURKSON J, ZHANG S, WANG T, SINIBALDI D, COPPOLA D, HELLER R, ELLIS LM, KARRAS J, BROMBERG J, PARDOLL D, JOVE R, YU H (2002) Constitutive Stat3 activity up-regulates VEGF expression and tumor angiogenesis. *Oncogene* **21**: 2000-2008. doi: 10.1038/sj.onc.1205260.
- [35] NYGREN P, FRYKNÄS M, AGERUP B, LARSSON R (2013) Repositioning of the anthelmintic drug mebendazole for the treatment of colon cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* **139**: 2133-2140. doi: 10.1007/s00432-013-1539-5.
- [36] OKAMOTO T, USUDA H, TANAKA T, WADA K, SHIMAOKA M (2019) The Functional Implications of Endothelial Gap Junctions and Cellular Mechanics in Vascular Angiogenesis. *Cancers (Basel)* **11**. doi: 10.3390/cancers11020237.
- [37] PACKER RJ, GAJJAR A, VEZINA G, RORKE-ADAMS L, BURGER PC, ROBERTSON PL, BAYER L, LAFOND D, DONAHUE BR, MARYMONT MH, MURASZKO K, LANGSTON J,

- SPOSTO R (2006) Phase III study of craniospinal radiation therapy followed by adjuvant chemotherapy for newly diagnosed average-risk medulloblastoma. *J Clin Oncol* **24**: 4202-4208. doi: 10.1200/JCO.2006.06.4980.
- [38] PAULINA JAROSZ P, BARTOSZ WOŹNIAK B (2012) Angiogeneza w chorobach nowotworowych. *Medical Review*.
- [39] PURVIS IJ, AVILALA J, GUDA MR, VENKATARAMAN S, VIBHAKAR R, TSUNG AJ, VELPULA KK, ASUTHKAR S (2019) Role of MYC-miR-29-B7-H3 in Medulloblastoma Growth and Angiogenesis. *J Clin Med* **8**. doi: 10.3390/jcm8081158.
- [40] RAJABI M, MOUSA SA (2017) The Role of Angiogenesis in Cancer Treatment. *Biomedicines* **5**. doi: 10.3390/biomedicines5020034.
- [41] RIZOV M, ANDREEVA P, DIMOVA I (2017) Molecular regulation and role of angiogenesis in reproduction. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology* **56**: 127-132. doi: 10.1016/j.tjog.2016.06.019.
- [42] RONCA R, BENKHEIL M, MITOLA S, STRUYF S, LIEKENS S (2017) Tumor angiogenesis revisited: Regulators and clinical implications. *Med Res Rev* **37**: 1231-1274. doi: 10.1002/med.21452.
- [43] SACEWICZ I, WIKTORSKA M, WYSOCKI T, NIEWIAROWSKA J Mechanizmy angiogenezy nowotworowej. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* **10**.
- [44] SAMAKOVA A, GAZOVA A, SABOVA N, VALASKOVA S, JURIKOVA M, KYSELOVIC J (2019) The PI3k/Akt Pathway Is Associated With Angiogenesis, Oxidative Stress and Survival of Mesenchymal Stem Cells in Pathophysiologic Condition in Ischemia. *Physiol Res* S131-S138. doi: 10.33549/physiolres.934345.
- [45] SAMPLES J, WILLIS M, KLAUBER-DEMORE N (2013) Targeting angiogenesis and the tumor microenvironment. *Surg Oncol Clin N Am* **22**: 629-639. doi: 10.1016/j.soc.2013.06.002.
- [46] SMITH C, FARIA CC, DUBUC AM, REMKE M, GOLBOURN BJ, DIAZ RJ, AGNIHOTRI S, LUCK A, SABHA N, OLSEN S, WU X, GARZIA L, RAMASWAMY V, MACK SC, WANG X, LEADLEY M, REYNAUD D, ERMINI L, POST M, NORTHCOTT PA, PFISTER SM, CROUL SE, KOOL M, KORSHUNOV A, TAYLOR MD, RUTKA JT (2014) FORETINIB IS EFFECTIVE THERAPY FOR METASTATIC SONIC HEDGEHOG MEDULLOBLASTOMA. *Neuro Oncol* **16**: 35. doi: 10.1093/neuonc/nou208.47.
- [47] SOBCZYŃSKA-RAK A, SILMANOWICZ P, POLKOWSKA I (2016) Tumor Angiogenesis – factors influencing the development of a tumor vascular network and assessment of neoangiogenesis in histopathological samples. *Medycyna Weterynaryjna* **72**: 542-548. doi: 10.21521/mw.5563.
- [48] TAYLOR MD, NORTHCOTT PA, KORSHUNOV A, REMKE M, CHO Y-J, CLIFFORD SC, EBERHART CG, PARSONS DW, RUTKOWSKI S, GAJJAR A, ELLISON DW, LICHTER P, GILBERTSON RJ, POMEROY SL, KOOL M, PFISTER SM (2012) Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. *Acta Neuropathol* **123**: 465-472. doi: 10.1007/s00401-011-0922-z.
- [49] TCHORZEWSKA M, KOWALIK M, KULIŚ A, OLEJARZ W (2019) MECHANISMS LEADING TO ANGIOGENESIS IN CANCERS. **60-65**.
- [50] TELEANU RI, CHIRCOV C, GRUMEZESCU AM, TELEANU DM (2019) Tumor Angiogenesis and Anti-Angiogenic Strategies for Cancer Treatment. *J Clin Med* **9**. doi: 10.3390/jcm9010084.
- [51] THOMPSON EM, KEIR ST, VENKATRAMAN T, LASCOLA C, YEOM KW, NIXON AB, LIU Y, PICARD D, REMKE M, BIGNER DD, RAMASWAMY V, TAYLOR MD (2017) The role of angiogenesis in Group 3 medulloblastoma pathogenesis and survival. *Neuro Oncol* **19**: 1217-1227. doi: 10.1093/neuonc/nox033.
- [52] VIRÁG J, KENESSEY I, HABERLER C, PIURKÓ V, BÁLINT K, DÖME B, TÍMÁR J, GARAMI M, HEGEDŰS B (2014) Angiogenesis and angiogenic tyrosine kinase receptor expression in pediatric brain tumors. *Pathol Oncol Res* **20**: 417-426. doi: 10.1007/s12253-013-9711-4.
- [53] WEI J, MA L, LI C, PIERSON CR, FINLAY JL, LIN J (2019) Targeting Upstream Kinases of STAT3 in Human Medulloblastoma Cells. *Curr Cancer Drug Targets* **19**: 571-582. doi: 10.2174/1568009618666181016165604.

- [54] Y C (2009) Tumor angiogenesis and molecular targets for therapy. *Front Biosci (Landmark Ed)* **14**: 3962-3973. doi: 10.2741/3504.
- [55] YANG M-Y, LEE H-T, CHEN C-M, SHEN C-C, MA H-I (2014) Celecoxib suppresses the phosphorylation of STAT3 protein and can enhance the radiosensitivity of medulloblastoma-derived cancer stem-like cells. *Int J Mol Sci* **15**: 11013-11029. doi: 10.3390/ijms150611013.
- [56] ZAKRZEWSKA M, LIBERSKI PP (2011) Podłoże molekularne rdzeniaka wieku dziecięcego. *Aktualności Neurologiczne* **11**: 85-90.
- [57] ZUAZO-GAZTELU I, CASANOVAS O (2018) Unraveling the Role of Angiogenesis in Cancer Ecosystems. *Front Oncol* **8**. doi: 10.3389/fonc.2018.00248.
- [58] ZYGOŃ J (2014) Wpływ naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu i jego receptora Flt-1 na angiogenezę oraz rokowanie w operacyjnym raku jelita grubego. **85**.

Redaktor prowadzący - Michał Nowicki

Otrzymano: 02.09.2021

Przyjęto: 24.09.2021

Adrianna Klimczak

ul. Dąbrowskiego 130b/22, 60-576 Poznań

tel.: 791 729 175

e-mail: klimczakadrianna@gmail.com