



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

1



ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

**Α' ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΚΑΙ ΟΜΩΝΥΜΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ**

**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Κ. ΧΡΙΣΤΟΔΟΥΛΟΣ ΣΤΕΦΑΝΑΔΗΣ
ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ
ΒΕΝΑCΙZUMAB ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΟΑΓΓΕΙΑΚΗ
ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΟΓΚΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ**

ΑΡΧΟΝΤΟΥΛΑ ΜΙΧΕΛΟΓΓΟΝΑ

Αθήνα 2014

Στους γονείς μου,
Ιωάννη και Αργυρώ

Στα αδέρφια μου,
Θάνο, Πασχαλιά και Αντώνη

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ**ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ- ΜΕΛΕΤΙΟΣ ΔΗΜΟΠΟΥΛΟΣ****ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ
ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

Καθηγητής κ. Χριστόδουλος Στεφανάδης

Καθηγητής κ. Αθανάσιος- Μελέτιος Δημόπουλος

Αναπλ. Καθηγητής κ. Κωνσταντίνος Τούτουζας

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Καθηγητής κ. Χριστόδουλος Στεφανάδης

Καθηγητής κ. Αθανάσιος- Μελέτιος Δημόπουλος

Αναπλ. Καθηγητής κ. Κωνσταντίνος Τούτουζας

Καθηγητής κ. Δημήτριος Τούσουλης

Αναπλ. Καθηγητής κ. Ελευθέριος Τσιάμης

Αναπλ. Καθηγητής κ. Κωνσταντίνος Τεντολούρης

Επικ. Καθηγήτρια κα. Κωνσταντίνα Αγγέλη

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ευχαριστίες.....	7
Βιογραφικό σημείωμα.....	9
Περίληψη.....	24
1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
1.1.Εισαγωγή.....	28
1.2.Αγγειογένεση και μοριακοί μηχανισμοί.....	30
1.2.1. Αγγειογένεση και Νεοαγγειογένεση.....	30
1.2.2. Μηχανισμοί αγγειογένεσης.....	32
1.2.3. Παράγοντες ρύθμισης αγγειογένεσης.....	33
1.2.4. Ο ρόλος του VEGF στην ενεργοποίηση της αγγειογένεσης.....	38
1.2.4.1. Οι διαφορετικές ισομορφές του VEGF.....	38
1.2.4.2. Οι υποδοχείς του VEGF.....	43
1.2.4.3. Δράση του VEGF κι αγγειογένεση.....	47
1.2.4.4. Ο VEGF στην εμβρυογένεση.....	48
1.2.4.5. Ο VEGF στη φυσιολογία του ενηλίκου.....	49
1.2.4.6. Ο VEGF σε μη ογκολογικές νόσους.....	50
1.2.4.7. Ο VEGF στον καρκίνο.....	51
1.3.Αγγειογένεση και νόσοι.....	55
1.3.1. Αγγειογένεση και καρκίνος.....	55
1.3.2. Αγγειογένεση και καρδιαγγειακή νόσος.....	58

1.4. Αναστολείς της αγγειογένεσης	68
1.4.1. Αναστολείς αγγειογένεσης στη θεραπεία του καρκίνου	68
1.4.2. Η μπεβασιζουμάμπη στη θεραπεία του καρκίνου	69
1.4.3. Μηχανισμός δράσης της μπεβασιζουμάμπης	71
1.4.4. Μπεβασιζουμάμπη και αθηρωματική πλάκα	72
1.4.5. Μπεβασιζουμάμπη και καρδιαγγειακές επιπλοκές	76
1.4.6. Μπεβασιζουμάμπη και μη καρδιαγγειακές επιπλοκές	82
2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
2.1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	84
2.2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	85
2.2.1. Πληθυσμός της μελέτης	85
2.2.2. Κριτήρια αποκλεισμού	86
2.2.3. Καταγραφή ιστορικού	87
2.2.4. Καταγραφή μειζόνων καρδιαγγειακών συμβαμάτων	88
2.2.5. Αιματολογικός έλεγχος	88
2.2.6. Ηλεκτροκαρδιογραφικός έλεγχος	88
2.2.7. Υπερηχογραφικός έλεγχος	89
2.2.8. Στατιστική ανάλυση	90
2.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	92
2.3.1. Δημογραφικά χαρακτηριστικά	92
2.3.2. Καταγραφή μειζόνων καρδιαγγειακών συμβαμάτων	94
2.3.3. Υπερηχογραφικά δεδομένα	97

2.4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ	101
2.5.ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΜΕΛΕΤΗΣ	105
2.6.ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ	106
2.7.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	108
3. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	109
4. ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ	127
5. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1	129

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ολοκληρώνοντας αυτό το επίπονο και συναρπαστικό συνάμα ταξίδι, φτάνω στην ενότητα που κάθε υποψήφιος διδάκτορας σκέπτεται από την αρχή της προσπάθειας του μέχρι την ημέρα της παρουσίασης της εργασίας του: στις ευχαριστίες για τους ανθρώπους εκείνους χωρίς τους οποίους τίποτα από αυτά δεν θα συνέβαινε και τίποτα δεν θα είχε την ίδια αξία.

Αρχικά, θέλω να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα Καθηγητή μου κ. Χριστόδουλο Στεφανάδη για την συνεχή έμπνευση και στήριξη του. Η εμπιστοσύνη που δείχνει στους νέους επιστήμονες που θέλουν να ασχοληθούν με την έρευνα αποτελεί φάρο σε μία εποχή εξαιρετικά δύσκολη παγκοσμίως.

Ευχαριστώ τον καθηγητή κ. Δημήτριο Τούσουλη για την πολύτιμη συμπαράστασή του κατά τη διάρκεια των πολυετών διδακτορικών μου σπουδών, καθώς και τον καθηγητή κ. Μελέτιο-Αθανάσιο Δημόπουλο για τις καθοδηγητικές του υποδείξεις.

Θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Τούτουζα για την τιμή που μου έκανε να βρίσκομαι ανάμεσα στους συνεργάτες του τα τελευταία έξι χρόνια. Για εμένα δεν είναι απλά δάσκαλος, αλλά αποτελεί πρότυπο επιστημοσύνης, εργατικότητας και πίστης σε αξίες. Τον ευχαριστώ όχι μόνο για όσα με υπομονή με δίδαξε, αλλά και γιατί με επηρέασε ως άνθρωπο με την οπτική του στα πράγματα και τη στάση ζωής του.

Ευχαριστώ θερμά τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Ελευθέριο Τσιάμη για τις καίριες παραινέσεις και τη χωρίς φειδώ βοήθεια του σε όλη την πορεία μου μέχρι τώρα.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Τεντολούρη και την Επίκουρο Καθηγήτρια κα. Κωνσταντίνα Αγγέλη, μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής, για τη διακριτική τους στήριξη που ήταν πολύτιμη.

Θέλω να ευχαριστήσω από καρδιάς την Διδάκτορα του Πανεπιστημίου Αθηνών κα. Μαρία Δρακοπούλου που με έκανε να αγαπήσω την έρευνα, με την προσήλωση και αγάπη της για αυτήν. Η φιλία, η κατανόηση και η αυστηρή της κριτική αποτελούσε υπομόχλιο στην προσπάθειά μου.

Επίσης, ευχαριστώ τον επιμελητή της Α Πανεπιστημιακής Καρδιολογικής Κλινικής κ. Ανδρέα Συνετό για την ενεργό του συνεισφορά, καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διδακτορικής μου διατριβής, που υπήρξε καθοριστική.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Αριστοτέλη Μπάμια και στην Διδάκτορα του Πανεπιστημίου Αθηνών κα. Φλώρα Ζαγουρή για την βοήθειά τους και την άψογη συνεργασία μας από την πρώτη στιγμή. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη της Α Πανεπιστημιακής Καρδιολογικής Κλινικής υπό την διεύθυνση του Καθηγητή κ. Χριστόδουλου Στεφανάδη γιατί ο καθένας συνέβαλλε με τον τρόπο του στην ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής.

Αρχοντούλα Ι. Μιχελόγγονα

Ιούνιος 2014

ΑΝΑΛΥΤΙΚΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

1. ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο: Μιχελόγγονα Αρχοντούλα

Όνομα πατρός: Ιωάννης

Όνομα μητρός: Αργυρώ

Ημερομηνία γέννησης: 20 Μαΐου 1982

Τόπος γέννησης: Σπάρτη, Ελλάς

Υπηκοότητα: Ελληνική

Διεύθυνση οικίας: Ταινάρου 7, Πειραιάς 18453

Τηλέφωνα οικίας: 210-4900894

Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο: amichelongona@yahoo.gr

Οικογενειακή Κατάσταση: άγαμος.

2. ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ – ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ – ΔΙΠΛΩΜΑΤΑ

Εγκύκλιες σπουδές:

2000: Αποφοίτηση από τη Μέση Εκπαίδευση

2008: Αποφοίτηση από την Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

Μεταπτυχιακή εκπαίδευση:

2008- σήμερα: Συμμετοχή σε Ερευνητικά Πρωτόκολλα στην Α΄ Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική στο Ιπποκράτειο Νοσοκομείο Αθηνών

2009- 2010: Εκπλήρωση της υποχρεωτικής υπηρεσίας υπαίθρου και 12μηνης θητείας στο Π.Ι Μαγγανίτη Ικαρίας.

2011- 2013: Ειδικότητα στην Β΄ Παθολογική κλινική του Ειδικού Αντικαρκινικού Νοσοκομείου Μεταξά στην Παθολογία προς ειδίκευση στη Καρδιολογία

2011- 2013: Συμμετοχή ως ερευνήτρια σε διεθνείς πολυκεντρικές μελέτες και παρακολούθηση διεθνών συναντήσεων ερευνητών

2013: Παρακολούθηση εκπαίδευσης και απόκτηση διπλώματος GCP (Good clinical practice) από το Πανεπιστήμιο του Cambridge

Τιμητικές διακρίσεις:

Υποτροφία σπουδών από το Γερουλάκειο Ίδρυμα (2002-2008)

Ξένες Γλώσσες:

Αγγλικά (άριστα) , Γαλλικά (άριστα), Ιταλικά (βασική γνώση)

3. ΚΕΦΑΛΑΙΑ ΣΕ ΒΙΒΛΙΑ

1. Coronary Atherosclerosis: Current Management and Treatment

Editors: Drs Arampatzis, McFadden, Michalis, Virmani and Serruys.

K. Toutouzas, M. Drakopoulou, **A. Michelongona**, E. Tsiamis, C. Stefanadis:
Thermal assessment of the human coronary atherosclerotic plaque: Current status
and potential clinical implications'

2. Imaging Coronary Atherosclerosis

Editors: Stephen Nicholls and Tim Crowe

K. Toutouzas, **A. Michelongona**, M. Drakopoulou, C. Stefanadis Finding the hot
plaque: intravascular thermography.

4. ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΑΝΤΗΣΕΙΣ

Ελληνικά και διεθνή συνέδρια όπου παρουσιάστηκαν επιστημονικές εργασίες

A. Ελληνικά

1. Α. Καρανάσος, Κ. Τούτουζας, Μ. Ρήγα, Α. Συνετός, Μ. Δρακοπούλου, Χ. Πατσά, **A. Μιχελόγγονα**, Ε. Τσιάμης, Ε. Στεφανάδη, Χ. Στεφανάδης. Η ύπαρξη λεπτής ινώδους κάψας και ρήξης της πλάκας προβλέπουν χειρότερη έκβαση της θρομβόλυσης. Μια μελέτη με οπτική συνεκτική τομογραφία. *Ελληνική Καρδιολογική Επιθεώρηση, 2009, 50, συμπλήρωμα Α*
2. Κ. Τούτουζας, Α. Συνετός, Μ. Δρακοπούλου, Α. Καρανάσος, Μ. Ρήγα, **A. Μιχελόγγονα**, Χ. Γράσσο, Η. Σιώρης, Ε. Στεφανάδη, Χ. Στεφανάδης. Θερμική ετερογένεια σε αθηροσκληρωτική αγγειακή νοσο. Πειραματική μελέτη με θερμογραφία μικροκυμάτων. *Ελληνική Καρδιολογική Επιθεώρηση, 2009, 50, συμπλήρωμα Α*
3. Κ. Τούτουζας, Α. Συνετός, Μ. Δρακοπούλου, Θ. Παπαϊωάννου, **A. Μιχελόγγονα**, Α. Καρανάσος, Χ. Πατσά, Ι. Νταρλαδήμας, Κ. Τεντολούρης, Χ. Στεφανάδης. Αυξημένη θερμική ετερογένεια σε ένοχες βλάβες: νέες προοπτικές στην ανίχνευση των υψηλού κινδύνου πλακών χρησιμοποιώντας μια νέα προσέγγιση. *Ελληνική Καρδιολογική Επιθεώρηση, 2009, 50, συμπλήρωμα Α*
4. Μ. Ρήγα, Α. Καρανάσος, Κ. Τούτουζας, Μ. Δρακοπούλου, Α. Συνετός, Ι. Καραμπελάς, **A. Μιχελόγγονα**, Ε. Τσιάμης, Χ. Στεφανάδης. In vivo σύγκριση με οπτική συνεκτική τομογραφία των μορφολογικών χαρακτηριστικών των ενόχων βλαβών σε ασθενείς με nstemi και stemi. *Ελληνική Καρδιολογική Επιθεώρηση, 2010, 51, συμπλήρωμα Α*

5. Κ. Σταθογιάννης, Κ. Τούτουζας, Κ. Σπάργιας, Γ. Λάτσιος, Α. Συνετός, **Α. Μιχελόγγονα**, Μ. Χρυσοχέρης, Α. Χαλαπάς, Α. Αντωνιάδης, Γ. Παυλίδης, Χ. Στεφανάδης. Κλινικά και αιμοδυναμικά αποτελέσματα σε ασθενείς με αναντιστοιχία αορτικού δακτυλίου ασθενούς-προσθετικής αορτικής βαλβίδας έπειτα από tavi με τη medtronic corevalve και την edwards saprien xt. *Ελληνική Καρδιολογική Επιθεώρηση, 2012, 53, συμπλήρωμα Α*
6. Μ. Δρακοπούλου, **Α. Μιχελόγγονα**, Κ. Τούτουζας, Χ. Νικολάου, Α. Συνετός, Π.Μπούνας, Κ. Σταθογιάννης, Ε. Τσιάμης, Χ. Γράσσο, Γ. Αγρογιάννης, Ε. Πατσούρης, Η. Σιώρης, Χ. Στεφανάδης. Αξιολόγηση της φλεγμονής των αθηρωματικών πλακών των καρωτίδων με τη μέθοδο της ακτινομετρίας μικροκυμάτων: συσχέτιση με ιστολογικά ευρήματα. *Ελληνική Καρδιολογική Επιθεώρηση, 2012, 53, συμπλήρωμα Α*
7. **Α. Μιχελόγγονα**, Κ. Τούτουζας, Μ. Δρακοπούλου, Χ. Νικολάου, Π. Μπούνας, Α. Συνετός, Κ. Σταθογιάννης, Ε. Τσιάμης, Χ. Γράσσο, Γ. Αγρογιάννης, Ε. Πατσούρης, Η. Σιώρης, Χ. Στεφανάδης. Πρώτη κλινική εφαρμογή της ακτινομετρίας μικροκυμάτων σε ανθρώπινες καρωτίδες: μια νέα μη επεμβατική μέθοδος για την ανίχνευση της τοπικής φλεγμονής. *Ελληνική Καρδιολογική Επιθεώρηση, 2012, 53, συμπλήρωμα Α*
8. Κ. Σταθογιάννης, Κ. Τούτουζας, Κ. Σπάργιας, Γ. Λάτσιος, Α. Συνετός, **Α. Μιχελόγγονα**, Μ. Χρυσοχέρης, Α. Χαλαπάς, Α. Αντωνιάδης, Γ. Παυλίδης, Χ. Στεφανάδης. Προγνωστικοί παράγοντες της αναντιστοιχίας αορτικού δακτυλίου ασθενούς-προσθετικής αορτικής βαλβίδας σε ασθενείς που υποβάλλονται σε tavi με corevalve και saprien xt. *Ελληνική Καρδιολογική Επιθεώρηση, 2012, 53, συμπλήρωμα Α*

- 9. Α. Μιχελόγγονα, Κ. Τούτουζας, Α. Συνετός, Ι. Καπελάκης, Μ. Ρήγα, Σ.Μ. Κυβέλου, Φ. Ζαγούρη, Α. Μπάμιας, Μ.Α. Δημόπουλος, Χ. Στεφανάδης.** Υπερηχοκαρδιογραφική εκτίμηση της επίδρασης της χορήγησης bevacizumab στη συστολική και διαστολική λειτουργία της αριστερής κοιλίας σε ογκολογικούς ασθενείς. *Ελληνική Καρδιολογική Επιθεώρηση, 2012, 53, συμπλήρωμα Α*
- 10. Α. Μιχελόγγονα, Κ. Τούτουζας, Α. Συνετός, Φ. Ζαγούρη, Α. Μπάμιας, Μ. Δρακοπούλου, Σ.Μ. Κυβέλου, Μ.Α. Δημόπουλος, Χ. Στεφανάδης.** Προσθήκη bevacizumab στη θεραπεία ογκολογικών ασθενών, αυξάνει την επίπτωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων: αποτελέσματα προοπτικής μελέτης. *Ελληνική Καρδιολογική Επιθεώρηση, 2012, 53, συμπλήρωμα Α*

B. Διεθνή

1. K. Toutouzas, A. Synetos, M. Drakopoulou, E. Tsiamis, A. Karanasos, **A. Michelongona**, H. Grassos, E. Stefanadi, E. Siores, C. Stefanadis. An Experimental Study With Microwave Thermography for the Assessment of Atherosclerotic Vascular Disease. *Circulation, Nov 2009; 120: S1113*
2. K. Toutouzas, A. Synetos, M. Drakopoulou, E. Tsiamis, A. Karanasos, **A. Michelongona**, H. Grassos, E. Stefanadi, C Stefanadis. Thermal heterogeneity in atherosclerotic vascular disease. An experimental study with microwave thermography *European Heart Journal. 2009;30:29 (395)*
3. A. Synetos, K. Toutouzas, M. Drakopoulou, A. Karanasos, E. Tsiamis, C. Tsioufis, **A. Michelongona**, D. Tousoulis, E. Stefanadi, C Stefanadis. Complex angiographic plaque morphology is correlated with plaque rupture as estimated by optical coherence tomography. *European Heart Journal. 2009;30:592 (3559)*
4. K. Toutouzas, A. Synetos, M. Drakopoulou, E. Tsiamis, M. Riga, A. Karanasos, **A. Michelongona**, H. Grassos, E. Stefanadi, E. Siores, C. Stefanadis. An experimental study with microwave thermography for the assessment of atherosclerotic vascular disease *AICT 2009;P-29*
5. A. Synetos, K. Toutouzas, A. Karanasos, K. Stathogiannis, **A. Michelongona**, E. Tsiamis, N. Koufakis, C. Tentolouris, E. Stefanadi, C Stefanadis. High-risk morphological characteristics of the culprit lesion in myocardial infarction patients are associated with impaired flow following thrombolytic administration. *European Heart Journal. 2010;31:495 (P3011)*

6. M. Riga, K. Toutouzas, A. Karanasos, A. Synetos, M. Drakopoulou, J. Karampelas, E. Tsiamis, **A. Michelongona**, E. Stefanadi, C Stefanadis. Optical coherence tomography for in vivo study of rupture site morphological characteristics in culprit lesions of patients with acute coronary syndrome. *European Heart Journal. 2010;31:795 (P4630)*
7. A. Karanasos, M. Riga, K. Toutouzas, E. Tsiamis, M. Drakopoulou, A. Synetos, **A. Michelongona**, C. Tsioufis, C.Stefanadis. Association of Complex Angiographic Morphology with Plaque Rupture and Thin Fibrous Cap by Optical Coherence Tomography *AICT 2010;PP-20*
8. A. Karanasos, K. Toutouzas, M. Riga, M. Drakopoulou, K. Stathogiannis, **A. Michelongona**, E. Tsiamis, E. Stefanadi, A. Androulakis, C Stefanadis. Culprit lesions in proximal segments of coronary arteries are associated with thin fibrous cap and plaque rupture as assessed by optical coherence tomography. *European Heart Journal. 2010;31:798 (P4643)*
9. **A. Michelongona**, K. Toutouzas, I. Kapelakis, S.M. Kyvelou, A. Synetos, M. Riga, F. Zagouri, A. Bamias, M.A. Dimopoulos, C. Stefanadis. Inhibition of neovascularisation by bevacizumab has a direct effect on left ventricular function, a prospective study. *European Heart Journal. 2011;32:615 (P3553)*
10. M. Drakopoulou, K. Toutouzas, A. Synetos, **A. Michelongona**, C. Patsa, G. Agrogiannis, E. Patsouris, C. Grassos, E. Siores, C. Stefanadis. Increased thermal heterogeneity in advanced atherosclerotic lesions: Experimental application of microwave radiometry. *European Heart Journal. 2011;32:198 (P1396)*
11. M. Drakopoulou, K. Toutouzas, C. Clonaris, C. Aggeli, **A. Michelongona**, E.Tsiamis, C. Nikolaou, H. Grassos, E. Siores, C. Stefanadis. Increased

Thermal Heterogeneity in Carotid Arteries as a Surrogate Marker for Coronary Artery Disease: First Clinical Application of Microwave Radiometry. *Circulation. 2011;124:A15779*

12. M. Drakopoulou, K. Toutouzas, C. Nikolaou, **A. Michelongona**, A. Synetos, G. Agrogiannis, E. Patsouris, E. Siores, H. Grassos, C. Stefanadis. A New Non-Invasive Method for the Detection of Local Inflammation Atherosclerotic Lesions: an Experimental Study with Microwave Radiometry. *Circulation. 2011;124:A15565*
13. K. Toutouzas, C. Grassos, M. Drakopoulou, A. Synetos, **A. Michelongona**, C. Patsa, G. Agrogiannis, E. Patsouris, E. Siores, C. Stefanadis. Non-invasive assessment of atherosclerotic plaque inflammation by microwave radiometry: an experimental and histopathological study. *European Heart Journal. 2011;32:656 (P3824)*
14. A. Synetos, M. Drakopoulou, K. Toutouzas, C. Nikolaou, K. Stathogiannis, **A. Michelongoana**, E. Tsiamis, C. Grassos, E. Siores, C. Stefanadis. Non-invasive assessment of carotid plaque inflammation: First clinical application of microwave radiometry. *AICT2011;P12*
15. C. Stefanadis, A. Synetos, **A. Michelongona**, E. Tsiamis, F. Zagouri, A. Bamias, M. A. Dimopoulos, S. Kyvelou, I. Kapelakis, K. Toutouzas. The Systemic Use of Bevacizumab Has a Direct Effect on Left Ventricular Function. A Prospective Echocardiography Study. *Circulation. 2011;124:A16141*
16. A. Synetos, M. Drakopoulou, K. Toutouzas, H. Nikolaou, K. Stathogiannis, **A. Michelongona**, E. Tsiamis, C. Grassos, E. Siores, C. Stefanadis. Noninvasive assessment of carotid plaque inflammation: first clinical application of microwave radiometry. *European Heart Journal. 2011;32:834 (P4727)*

17. M. Riga, K. Toutouzas, A. Karanasos, E. Tsiamis, A. Synetos, **A. Michelongona**, M. Drakopoulou, C. Stefanadis. Optical coherence tomography in combination with intracoronary thermography for the detection of functional and morphological characteristics of culprit lesions in patients with ACS. *European Heart Journal*. 2011;32:832 (P4716)
18. M. Riga, K. Toutouzas, A. Karanasos, M. Drakopoulou, J. Karampelas, E. Tsiamis, **A. Michelongona**, C. Tsioufis, C. Stefanadis. In vivo comparison of morphological characteristics of culprit lesions between patients with st elevation myocardial infarction and non st elevation acute coronary syndrome. An optical coherence tomography study. *Journal of the American College of Cardiology*. 2010;55: A190.E1774.
19. K. Toutouzas, M. Riga, E. Tsiamis, A. Karanasos, M. Drakopoulou, A. Synetos, **A. Michelongona**, E. Stefanadi, C. Tsioufis, C. Stefanadis. In vivo comparison of morphological characteristics of rupture site in culprit lesions between patients with ST and Non-ST elevation acute coronary syndromes: an optical coherence tomography study. *Journal of the American College of Cardiology*. 2011;57(14):E1599
20. C. Nikolaou, K. Toutouzas, **A. Michelongona**, K. Stathogiannis, K. Aggeli, I. Felekos, A. Synetos, E. Tsiamis, D. Tousoulis, C. Stefanadis. Correlation between microwave radiometry temperatures and intraplaque neoangiogenesis visualized by contrast-enhanced carotid ultrasound: a population study. *J. Am. Coll. Cardiol., March 27, 2012; 59: E1158*.
21. **A. Michelongona**, K. Toutouzas, A. Synetos, F. Zagouri, A. Bamias, M. A. Dimopoulos, S. Kyvelou, I. Kapelakis, D. Tousoulis, C. Stefanadis. The addition of bevacizumab in the treatment of patients with metastatic cancer,

- increases the incidence of cardiovascular events: a prospective study. *J. Am. Coll. Cardiol.*, March 27, 2012; 59: E537
22. **A. Michelongona**, K. Toutouzas, A. Synetos, E. Tsiamis, I. Kapelakis, F. Zagouri, A. Bamias, M. A. Dimopoulos, S. Kyvelou, D. Tousoulis, C. Stefanadis. Echocardiography assessment of the impact of bevacizumab on systolic and diastolic function of left ventricle in patients with metastatic cancer. *J. Am. Coll. Cardiol.*, March 27, 2012; 59: E1247.
23. **A. Michelongona**, K. Toutouzas, A. Synetos, E. Tsiamis, F. Zagouri, A. Bamias, M.A. Dimopoulos, S. Kyvelou, D. Tousoulis, C. Stefanadis. The addition of bevacizumab in the adjuvant chemotherapy of cancer patients increases the incidence of major cardiovascular events: a prospective study. *European Heart Journal*. 2012;33:279 (P1732)
24. C. Nikolaou, K. Toutouzas, C. Aggeli, M. Drakopoulou, I. Felekos, **A. Michelongona**, K. Stathogiannis, E. Tsiamis, D. Tousoulis, C. Stefanadis. Association of ultrasound characteristics, angiogenesis and thermal heterogeneity in mild atherosclerotic carotid artery disease. *European Heart Journal*. 2012;33:404 (P2458)
25. A. Synetos, K. Toutouzas, A. Karanasos, C. Nikolaou, **A. Michelongona**, E. Tsiamis, D. Tousoulis, C. Stefanadis. Prognostic models for cardiovascular events after successful primary percutaneous coronary intervention. *European Heart Journal*. 2012;33:501 (2995)
26. **A. Michelongona**, K. Toutouzas, A. Synetos, I. Kapelakis, F. Zagouri, A. Bamias, M.A. Dimopoulos, S. Kyvelou, D. Tousoulis, C. Stefanadis. Inhibition of neovascularisation by bevacizumab has a direct effect on left ventricular function. A prospective study. *European Heart Journal*. 2012;33:564 (P3351)

27. K. Toutouzas, M. Drakopoulou, **A. Michelongona**, C. Aggeli, I. Felekos, H. Grassos, A. Synetos, E. Tsiamis, E. Siores, C. Stefanadis. Plaque Neovascularization Correlates With Thermal Heterogeneity As Measured By Microwave Radiometry. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(17_S)
28. A. Synetos, K. Toutouzas, A. Karanasos, C. Nikolaou, **A. Michelongona**, D. Panagiotakos, E. Tsiamis, C. Tsioufis, D. Tousoulis, C. Stefanadis. Clinical Syntax Score And Long-Term Outcome After Successful Primary PCI. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(17_S)
29. M. Drakopoulou, K. Toutouzas, K. Masoura, **A. Michelongona**, G. Benetos, E. Tolis, P. Bounas, E. Tsiamis, D. Tousoulis, E. Siores, C. Stefanadis. Thermal Heterogeneity in Carotid Arteries as a Surrogate Marker for Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol.* 2013;61(10_S)
30. E. Michalopoulou, P. Stamatis, **A. Michelongona**, J. Xenogiannis, G. Dimitriadis. Hypertension and targeted therapies for cancer. **ESC Congress 2013**
31. E. Michalopoulou, P. Stamatis, J. Xenogiannis, **A. Michelongona**. Hypertension induced by antiangiogenic cancer therapy: adverse effect or target? **23rd meeting on hypertension and cardiovascular protection 2013**

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Atrioventricular block 9 days after transcatheter aortic valve implantation.
Toutouzas K, **Michelongona** A, Synetos A, Latsios G, Tsioufis C, Stefanadis C.
Int J Cardiol. 2011 Aug 18;151(1):112-4.
2. Transcatheter aortic valve implantation during the acute phase of acute myocardial infarction. Toutouzas K, **Michelongona** A, Synetos A, Latsios G, Drakopoulou M, Stefanadis C. Int J Cardiol. 2011 Nov 3;152(3):398-400.
3. Vulnerable plaque and inflammation: potential clinical strategies. Drakopoulou M, Toutouzas K, **Michelongona** A, Tousoulis D, Stefanadis C. Curr Pharm Des. 2011 Dec;17(37):4190-209. Review.
4. Systemic administration of bevacizumab increases the risk of cardiovascular events in patients with metastatic cancer. Stefanadis C, Synetos A, Tousoulis D, Tsiamis E, **Michelongona** A, Zagouri F, Bamias A, Dimopoulos MA, Kyvelou S, Kapelakis I, Toutouzas K. Int J Cardiol. 2012 Feb 9;154(3):341-4.
5. Optical coherence tomography assessment of the spatial distribution of culprit ruptured plaques and thin-cap fibroatheromas in acute coronary syndrome.
Toutouzas K, Karanasos A, Riga M, Tsiamis E, Synetos A, **Michelongona** A, Papanikolaou A, Triantafyllou G, Tsioufis C, Stefanadis C. EuroIntervention. 2012 Aug;8(4):477-85.
6. Prognostic models for cardiovascular events after successful primary percutaneous coronary intervention. Toutouzas K, Synetos A, Karanasos A, Nikolaou C, **Michelongona** A, Panagiotakos D, Tsiamis E, Tsioufis C, Tousoulis D, Stefanadis C. Int J Cardiol. 2012 Jun 28;158(1):168-70.
7. Impact of metabolic syndrome on clinical outcomes after new generation drug-eluting stent implantation: the 'obesity paradox' phenomenon is still apparent.

- Patsa C, Toutouzas K, Tsiamis E, Tsioufis C, Spanos A, Karanasos A, **Michelongona** A, Tousoulis D, Stefanadis C. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2013 Apr;23(4):307-13.
8. Detection of subclinical synovial inflammation by microwave radiometry. Zampeli E, Raftakis I, **Michelongona** A, Nikolaou C, Elezoglou A, Toutouzas K, Siores E, Sfikakis PP. *PLoS One*. 2013 May 31;8(5):e64606.
9. Case reports of bail-out maneuvers for implantation of a second core valve prosthesis during the same TAVI procedure. Latsios G, Toutouzas K, Tousoulis D, **Michelongona** A, Synetos A, Stathogiannis K, Mastrokostopoulos A, Stefanadis C. *Int J Cardiol*. 2013 Sep 1;167(5):e134-6.
10. Morphological and functional assessment of carotid plaques have similar predictive accuracy for coronary artery disease. Toutouzas K, Benetos G, Drakopoulou M, **Michelongona** A, Nikolaou C, Masoura C, Stathogiannis K, Aggeli C, Tsiamis E, Siores E, Stefanadis C. *Stroke*. 2013 Sep;44(9):2607-9.

6. ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ (citations)

Drakopoulou M, Toutouzas K, **Michelongona A**, Tousoulis D, Stefanadis C.
Vulnerable plaque and inflammation: Potential clinical strategies. *Current
pharmaceutical design*. 2011;17:4190-4209

Αναφέρεται σε:

PLOS ONE 8(4), April 2013
ACTA BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA SINICA , 45(3), 194-202, MAR 2013
CURRENT PHARMACEUTICAL DESIGN, 19 (9): 1593, Mar 2013
CURRENT PHARMACEUTICAL DESIGN, 19(9):1626, Mar 2013
CURRENT PHARMACEUTICAL DESIGN, 19(9):1651, Mar 2013
JOURNAL OF ATHEROSCLEROSIS AND THROMBOSIS, 20(3):215-227, 2013
CURRENT PHARMACEUTICAL DESIGN, 17(37):4087, DEC 2011

Stefanadis C, Synetos A, Tousoulis D, Tsiamis E, **Michelongona A**, Zagouri F,
Bamias A, Dimopoulos MA, Kyvelou S, Kapelakis I, Toutouzas K. Systemic
administration of bevacizumab increases the risk of cardiovascular events in patients
with metastatic cancer. *International journal of cardiology*. 2012;154:341-344

Αναφέρεται σε:

INTERNATIONAL JOURNAL OF CARDIOLOGY, 157(3):448-449, JUN 14 2012

Toutouzas K, **Michelongona A**, Synetos A, Latsios G, Tsioufis C, Stefanadis C.
Atrioventricular block 9 days after transcatheter aortic valve implantation.
International journal of cardiology. 2011;151:112-114

Αναφέρεται σε:

INTERNATIONAL JOURNAL OF CARDIOLOGY, 152(3) :398-400, NOV 3 2011

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αγγειογένεση, δηλαδή η δημιουργία νέων αγγείων από προϋπάρχοντα, έχει εξέχοντα ρόλο σε φυσιολογικές διαδικασίες κατά την ενήλικη ζωή, ενώ έχει αποδειχθεί ο ουσιώδης ρόλος της στην καρκινογένεση. Η διαδικασία της αγγειογένεσης προϋποθέτει την επιστράτευση των προ-αγγειογενετικών διαμεσολαβητών συμπεριλαμβανομένου του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (vascular endothelial growth factor -VEGF). Τα τελευταία χρόνια, παράγοντες που στοχεύουν αποκλειστικά στην αγγειογενετική διαδικασία έχουν κερδίσει σημαντικό ρόλο στην θεραπεία του καρκίνου. Η μπεβασιζουμάμπη (bevacizumab-Avastin), ένα ανασυνδυασμένο ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα που έχει σαν στόχο τον VEGF, είναι ένας αντιαγγειογενετικός παράγοντας που χρησιμοποιείται ευρέως στη θεραπεία του καρκίνου του παχέος εντέρου, του μαστού, των ωθηκών, του νεφρού και του πνεύμονος.

Στην αθηροσκληρωτική νόσο, ο ρόλος της αγγειογένεσης παραμένει ένα επίμαχο ζήτημα, και δεν έχει ακόμα ξεκαθαριστεί από τους ειδικούς εάν η αγγειογένεση είναι ένας σημαντικός μηχανισμός στην παθογένεση της δημιουργίας της αθηρωματικής πλάκας ή ένας τρόπος να θεραπεύσουμε την στεφανιαία νόσο. Περιορισμένος αριθμός μελετών έχει διερευνήσει την επίδραση της συστηματικής χορήγησης μπεβασιζουμάμπης στο καρδιαγγειακό σύστημα. Η πλειοψηφία αυτών είναι υπομελέτες στα πλαίσια μεγάλων αναδρομικών μελετών, ενώ επικεντρώνουν στην αρτηριακή υπέρταση και στα θρομβοεμβολικά επεισόδια. Ελάχιστες από αυτές είναι προοπτικές ή είναι σχεδιασμένες από την αρχή αποκλειστικά για την μελέτη της καρδιαγγειακής πρόγνωσης των ασθενών.

Σκοπό της παρούσας μελέτης αποτελεί καταρχάς η εκτίμηση της επίπτωσης των καρδιαγγειακών συμβαμάτων στους ογκολογικούς ασθενείς που λαμβάνουν

μπεβασιζουμάμπη, καθώς κι η αναγνώριση πιθανών κλινικών, ηλεκτροκαρδιογραφικών κι υπερηχοκαρδιογραφικών παραγόντων κινδύνου για ανάπτυξη αυτών των συμβαμάτων. Πέρα από τα ίδια τα καρδιαγγειακά συμβάματα, σκοπό της μελέτης αποτελεί η εκτίμηση της συστολικής και της διαστολικής λειτουργίας του μυοκαρδίου και κατά πόσον αυτή επηρεάζεται από τη χορήγηση μπεβασιζουμάμπης.

Ένα δείγμα 147 ασθενών από ογκολογικά κέντρα στην Ελλάδα συμπεριλήφθηκε προοδευτικά στη μελέτη. Όλοι οι ασθενείς ήταν άνω των 18 ετών με διεγνωσμένη κακοήθεια ιστολογικά. Οι ασθενείς έπασχαν από μεταστατικό καρκίνο του μαστού ή του παχέος εντέρου και δεν είχαν λάβει συστηματική χημειοθεραπεία πριν την εισαγωγή τους στη μελέτη. Οι ασθενείς διαιρέθηκαν σε 2 ομάδες ανάλογα με τη θεραπεία που θα ελάμβαναν σύμφωνα με τους θεράποντες ογκολόγους. Όλοι οι ασθενείς σταδιοποιήθηκαν και επιλέχθηκε να λάβουν 1ης γραμμής χημειοθεραπεία με συμβατικό σχήμα κι ανάλογα με την εκτίμηση του ογκολόγου προστέθηκε στο σχήμα αυτό μπεβασιζουμάμπη ή όχι.

Πλήρες ατομικό ιστορικό κατεγράφη για όλους τους ασθενείς που περιελάμβανε: δημογραφικά στοιχεία, ογκολογικό ιστορικό, καρδιολογικό, φαρμακευτική αγωγή.

Ο έλεγχος των ασθενών και των δύο ομάδων, τόσο κλινικός όσο κι εργαστηριακός, έγινε σε 3 φάσεις:

1. Την ημέρα πριν την έναρξη της χημειοθεραπείας ή της συνδυασμένης θεραπείας (baseline, BSL)
2. Έξι (6) μήνες μετά το τέλος της θεραπείας (follow up 1, FU1) και
3. Δεκαοχτώ (18) μήνες μετά το τέλος της θεραπείας (follow up 2, FU2)

Ο έλεγχος των ασθενών και στις 3 φάσεις περιελάμβανε:

- Καταγραφή μειζόνων καρδιαγγειακών συμβαμάτων

- Ηλεκτροκαρδιογραφικό έλεγχο
- Υπερηχοκαρδιογραφικό έλεγχο

Όλοι οι ασθενείς είχαν ελάχιστο χρόνο παρακολούθησης τους 18 μήνες. Οι καμπύλες επιβίωσης Kaplan-Meier έδειξαν επιβίωση 18 μηνών για την ομάδα της μπεβασιζουμάμπης $71.11 \pm 5.2\%$ και $66.2 \pm 5.60\%$ για την ομάδα ελέγχου ($p=0.48$). Το ποσοστό ασθενών ελεύθερων καρδιαγγειακών συμβαμάτων στους 18 μήνες ήταν $88.4 \pm 4.1\%$ για την μπεβασιζουμάμπη και $98.6 \pm 1.4\%$ για την ομάδα ελέγχου ($p=0.05$).

Η συνολική θνησιμότητα δεν είχε καμία διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων (28,94% έναντι 33,80%, $p = 0.52$). Όλα τα καρδιαγγειακά συμβάματα αφορούσαν έμφραγμα του μυοκαρδίου (Myocardial Infarction, MI) και ήταν σημαντικά υψηλότερη η επίπτωση στην ομάδα της μπεβασιζουμάμπη σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (7/76 [9,21%] έναντι του 1/71 [1,40%], $p = 0,03$). Σε κανένα ασθενή δεν παρουσιάστηκε αιφνίδιος καρδιακός θάνατος.

Η πολυπαραγοντική ανάλυση με τη χρήση Cox αναλογικών μοντέλων ακολουθούμενων από σταδιακή λογαριθμική ανάλυση παλινδρόμησης, αναγνώρισε το LBBB στο αρχικό ηλεκτροκαρδιογράφημα, καθώς και τη χορήγηση μπεβασιζουμάμπης σαν τους μόνους ανεξάρτητους προδιαθεσικούς παράγοντες για εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων ($p<0.001$ HR: 56.72, 95% CI: 7.38-436.10 για το LBBB και $p=0.03$, HR: 13.18, 95% CI: 1.32-130.84 για την μπεβασιζουμάμπη).

Στην ομάδα της μπεβασιζουμάμπης οι μετρήσεις με το υπερηχογράφημα δύο διαστάσεων δεν είχαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στην αρχική εκτίμηση και στις μετρήσεις στους 6 μήνες και στους 18 μήνες. Όσον αφορά τους δείκτες αξιολόγησης της συστολικής λειτουργίας του μυοκαρδίου, το Sa ήταν σημαντικά χαμηλότερο στους 6 μήνες (10.93 ± 4.64 έναντι 9.90 ± 3.59 cm/s, $p=0.0007$), και παρέμεινε σημαντικά

χαμηλότερο στους 18 μήνες (10.93 ± 4.64 έναντι 9.03 ± 9.56 cm/s, $p=0.003$). Από τους δείκτες εκτίμησης διαστολικής δυσλειτουργίας του μυοκαρδίου, ο δείκτης E/E' αυξήθηκε σε στατιστικά σημαντικό ρυθμό στους 6 μήνες (5.83 ± 2.53 έναντι 7.86 ± 3.45 , $p=0.0005$), και στους 18 μήνες παρακολούθησης (5.83 ± 2.53 έναντι 7.84 ± 3.45 , $p=0.004$).

Η θεραπεία με μπεβασιζουμάμπη συνδέεται με αυξημένη συχνότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων κυρίως λόγω αύξησης της επίπτωσης του εμφράγματος του μυοκαρδίου. Υψηλού κινδύνου ασθενείς για την εμφάνιση μελλοντικών καρδιαγγειακών συμβάντων, φαίνεται να είναι εκείνοι με παρουσία αποκλεισμού αριστερού σκέλους στο ηλεκτροκαρδιογράφημα. Αυτό υποδεικνύει τον πιθανό ρόλο του περιορισμού της ήδη παθολογικής μικροκυκλοφορίας. Η συστηματική χορήγηση bevacizumab εμφανίζει σημαντική επίδραση στην διαστολική αλλά και συστολική λειτουργία του μυοκαρδίου όπως φαίνεται από τους ειδικούς υπερηχογραφικούς δείκτες.

1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1. Εισαγωγή

Η νεοαγγειογένεση (vasculogenesis) αποτελεί την βασική διαδικασία δημιουργίας της καρδιάς και του πρωτογενούς αγγειακού πλέγματος κατά τα αρχικά στάδια της εμβρυογένεσης, ενώ η αγγειογένεση (angiogenesis) είναι υπεύθυνη για την εξάπλωση αυτού του δικτύου και την δημιουργία του δευτερογενούς αγγειακού πλέγματος στη συνέχεια της ανάπτυξης [1].

Η αγγειογένεση, δηλαδή η δημιουργία νέων αγγείων από προϋπάρχοντα, έχει εξέχοντα ρόλο σε φυσιολογικές διαδικασίες κατά την ενήλικο ζωή, ενώ έχει αποδειχθεί ο ουσιώδης ρόλος της στην καρκινογένεση. Η αγγειογένεση επιτρέπει την γρήγορη αύξηση του πρωτογενούς όγκου και προάγει την μεταστατική του ικανότητα διευκολύνοντας την είσοδο των καρκινικών κυττάρων στο κυκλοφορικό σύστημα [2, 3].

Η διαδικασία της αγγειογένεσης προϋποθέτει την επιστράτευση των προαγγειογενετικών διαμεσολαβητών συμπεριλαμβανομένου του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (vascular endothelial growth factor -VEGF) [4]. Ο VEGF επάγει τον πολλαπλασιασμό και την μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων για την δημιουργία νέων αγγείων, αυξάνει την διαπερατότητα των ήδη υπάρχοντων αγγείων μέσω της επαγωγής της σύνθεσης του μονοξειδίου του αζώτου (NO) κι επιτρέπει την διαφυγή πολλών πρωτεϊνών του πλάσματος, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που παίζουν ρόλο στην αγγειογένεση [5, 6].

Τα τελευταία χρόνια, παράγοντες που στοχεύουν αποκλειστικά στην αγγειογενετική διαδικασία έχουν κερδίσει σημαντικό ρόλο στην θεραπεία του καρκίνου. Η μπεβασιζουμάμπη (bevacizumab-Avastin), ένα ανασυνδυασμένο ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα που έχει σαν στόχο τον VEGF, είναι ένας αντιαγγειογενετικός

παράγοντας που χρησιμοποιείται ευρέως στη θεραπεία του καρκίνου του παχέος εντέρου, του μαστού, των ωοθηκών, του νεφρού και του πνεύμονος [7, 8, 9, 10, 11, 12, 13] .

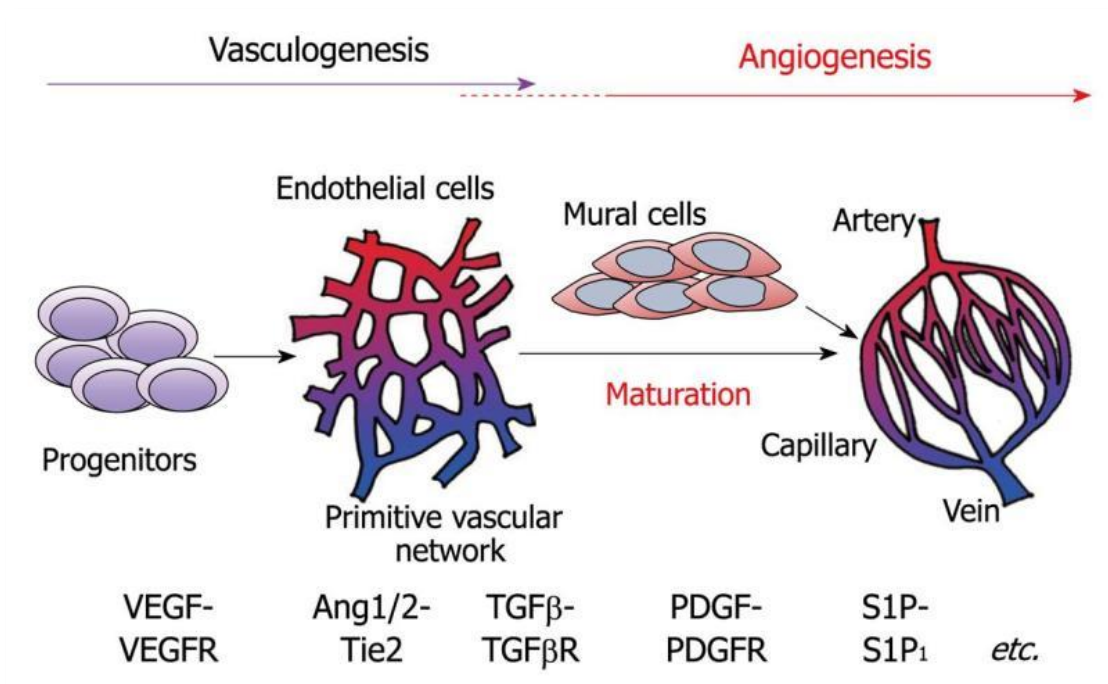
Περιορισμένος αριθμός μελετών έχει διερευνήσει την επίδραση της συστηματικής χορήγησης μεβασιζουμάμπης στο καρδιαγγειακό σύστημα. Η πλειοψηφία αυτών είναι υπομελέτες στα πλαίσια μεγάλων αναδρομικών μελετών, ενώ επικεντρώνουν στην αρτηριακή υπέρταση και στα θρομβοεμβολικά επεισόδια. Ελάχιστες από αυτές είναι προοπτικές ή είναι σχεδιασμένες από την αρχή αποκλειστικά για την μελέτη της καρδιαγγειακής πρόγνωσης των ασθενών [14, 15, 16, 17] .

1.2. Αγγειογένεση

1.2.1. Αγγειογένεση και Νεοαγγειογένεση

Το αγγειακό δίκτυο αποτελείται από δύο μεγάλες κατηγορίες κυτταρικών τύπων: τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων που βρίσκονται σαν μονήρης στιβάδα στο εσωτερικό των αγγείων και τα λεία μυϊκά κύτταρα που ρυθμίζουν την ενδαγγειακή πίεση.

Κατά την τρίτη εβδομάδα της εμβρυογένεσης, ο σχηματισμός του καρδιαγγειακού συστήματος ξεκινά με την διαδικασία της νεοαγγειογένεσης (vasculogenesis) [18]. Οι αγγειοβλάστες, προγονικά ενδοθηλιακά κύτταρα που προέρχονται από το μεσόδερμα, διαφοροποιούνται, πολλαπλασιάζονται και σχηματίζουν ένα πρωταρχικό αγγειακό πλέγμα. Στη συνέχεια, σχηματίζονται νέα τριχοειδή μέσα από την διαδικασία της αγγειογένεσης (angiogenesis), δηλαδή τον πολλαπλασιασμό, την μετανάστευση και την ωρίμανση των ενδοθηλιακών κυττάρων (Εικόνα 1).



Εικόνα 1: Σχηματική αναπαράσταση των διαδικασιών δημιουργίας αγγείων. Κατά την νεοαγγειογένεση (vasculogenesis) και την αγγειογένεση (angiogenesis) πολλοί αυξητικοί

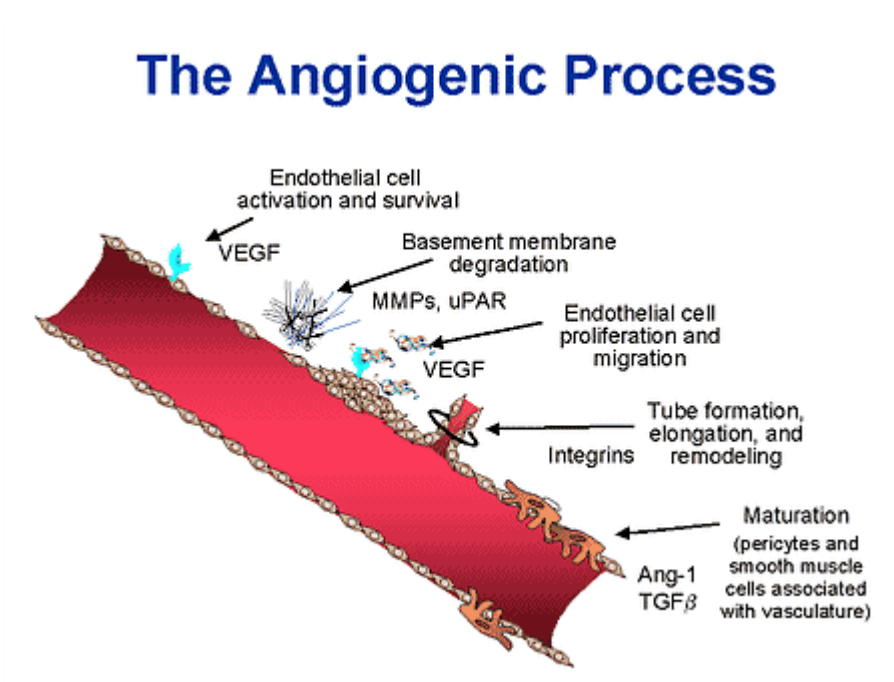
παράγοντες με τους υποδοχείς τους παίζουν συγκεκριμένο, απόλυτα ρυθμισμένο ρόλο. Η ακριβής ισορροπία μεταξύ των διεγερτών και των αναστολέων της αγγειογένεσης είναι απαραίτητη για την διατήρηση του εφησυχάζοντος αγγειακού δικτύου και την φυσιολογική λειτουργία των ιστών. Τα νεοσχηματισμένα αγγεία σταθεροποιούνται με την κινητοποίηση στρωματικών κυττάρων, λείων μυϊκών κυττάρων και περικυττάρων. S1P: Sphingosine-1-phosphate; VEGF: Vascular endothelial growth factor; TGF: Transforming growth factor; PDGF: Platelet-derived growth factor; VEGFR: VEGF receptor; TGFβR: TGFβ receptor; PDGFR: PDGF receptor [19].

Η αγγειογένεση συνεχίζεται και κατά την ανάπτυξη, ενώ κατά την ενήλικη ζωή σχετίζεται, σε συνθήκες αξιοθαύμαστης ισορροπίας με τη διατήρηση του αγγειακού δικτύου, την επούλωση τραυμάτων και την έμμηνο ρύση [20, 21, 22]. Πέρα όμως από τις ανωτέρω φυσιολογικές καταστάσεις, η αγγειογένεση έχει κεντρικό ρόλο και σε παθολογικές καταστάσεις, όπως στην καρκινογένεση, σε ρευματικές και σε οφθαλμολογικές παθήσεις [23, 24, 25]. Οι παθολογικές αυτές καταστάσεις χαρακτηρίζονται από αυξημένη ικανότητα αγγειογένεσης των ιστών, ενώ, αντίθετα, η μειωμένη ικανότητα αγγειογένεσης μπορεί να οδηγήσει σε άλλες παθολογικές καταστάσεις, όπως σε βαρειές μορφές στεφανιαίας νόσου ή καρδιακής ανεπάρκειας και μειωμένη ικανότητα ανάπλασης των ιστών μετά από τραυματισμό [26].

1.2.2. Μηχανισμοί αγγειογένεσης

Τα κύτταρα χρειάζονται την παροχή οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών για την επιβίωσή τους κι έτσι δεν απέχουν περισσότερο από 100 με 200 μm από τον κοντινότερο αγγείο. Αυτό επιτυγχάνεται μέσα από την αγγειογένεση, που αποτελεί συνισταμένη της δράσης των αγγειογενετικών παραγόντων. Η διεργασία αυτή είναι όμοια τόσο στις φυσιολογικές, όσο και στις παθολογικές καταστάσεις αγγειογένεσης και περιλαμβάνει μια προκαθορισμένη σειρά βημάτων μέχρι τη δημιουργία του νέου αγγείου (Εικόνα 2) [27].

1. Ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν καταβολικά ένζυμα, ανάμεσά τους και κολλαγενάσες.
2. Η ακόλουθη αποδόμηση της βασικής μεμβράνης του αγγείου από τα συγκεκριμένα ένζυμα απελευθερώνει τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα στο συνδετικό ιστό.
3. Τα ενδοθηλιακά αυτά κύτταρα μεταναστεύουν και πολλαπλασιάζονται κατά μήκος μιας οδού προς το αγγειογενετικό ερέθισμα.
4. Ο νέος αγγειακός κλάδος που αναπτύσσεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα αποκτά αυλό και μικρότερους κλάδους. Γύρω από τα ενδοθηλιακά κύτταρα του νέου αγγείου επεκτείνεται και η βασική μεμβράνη, ενώ περιβάλλεται από περιαγγειακά κύτταρα, κυρίως περικύτταρα.



Εικόνα 2: Η διαδικασία της αγγειογένεσης. 1) Ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων, 2) αποδόμηση της βασικής μεμβράνης, 3) δημιουργία νεοαυλού, επιμήκυνση και αναδιαμόρφωση αυτού και 4) ωρίμανση του νεοαγγείου με την προσθήκη περικυττάρων και λείων μυϊκών κυττάρων.

Η σταδιακή αυτή διαδικασία οδηγεί στην ανάπτυξη του αρχικού αγγειακού επιπέδου των τριχοειδών, τα οποία αποκτούν ροή στον αυλό τους, κι εξελίσσονται σταδιακά σε αρτηρίδια ή φλεβίδια [28, 29, 30, 31].

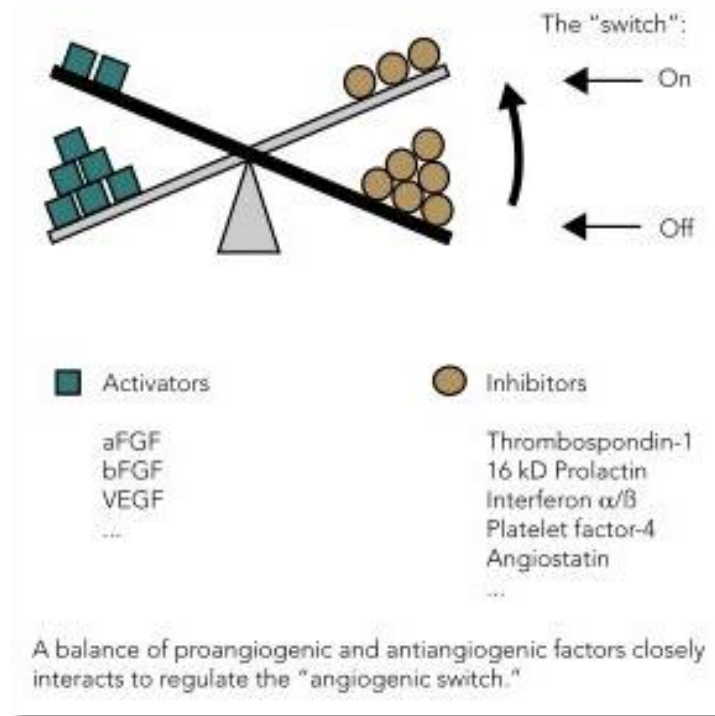
Υπάρχουν 4 μηχανισμοί αγγειογένεσης:

- I. Αγγειογένεση εκ εκβλαστησεως (sprouting angiogenesis)
- II. Αγγειογένεση δια διαμερισματοποίησης ήδη υπάρχοντων αγγείων· είτε μέσω της προσεκβολής στον αυλό τους ήδη υπάρχουσας μεσοκυττάριας ουσίας, είτε μέσω του πολλαπλασιασμού ενδοθηλιακών κυττάρων και δημιουργίας νέων διαφραγματίων και αυλών μέσα στον προϋπάρχοντα αυλό (non-sprouting angiogenesis).
- III. Αγγειογένεση δια ενσωμάτωσης πρόδρομων μορφών ενδοθηλιακών κυττάρων που απελευθερώνονται στην κυκλοφορία του μυελού των οστών.
- IV. Αγγειογένεση δια ενσωμάτωσης ήδη υπάρχοντων αγγείων (co-option). Οι όγκοι επίσης έχουν την ιδιότητα να ενσωματώνουν περιβάλλοντα αγγεία και να σχηματίζουν ένα ομοίωμα αγγειακού δικτύου (vascular mimicry).

1.2.3. Παράγοντες ρύθμισης αγγειογένεσης

Η αγγειογένεση εξαρτάται από την ισορροπία των ενδογενών προ-αγγειογενετικών διεγερτών και των αντι-αγγειογενετικών αναστολέων. Η αύξηση του όγκου δημιουργεί μια ανισορροπία ανάμεσα σε αυτούς τους παράγοντες, κατάσταση που οδηγεί σε απορρύθμιση του μηχανισμού του αγγειογενετικού διακόπτη. Δεν έχει γίνει ακόμα πλήρως κατανοητό γιατί κάποιοι όγκοι παραμένουν σε λήθαργο, ενώ άλλοι προκαλούν εκκίνηση της αγγειογένεσης και την εξαλλαγή του σε κακοήθη τύπο που ενεργοποιείται με διάφορα σήματα και ρυθμίζεται με την ισορροπία ανάμεσα στους διεγέρτες και τους αναστολείς της αγγειογένεσης (Εικόνα 3) [32]. Η φυσιολογική ισορροπία ανάμεσα στους ενδογενείς διεγέρτες και αναστολείς διατηρεί την σταθερή λειτουργία του αγγειογενετικού διακόπτη. Εάν κάποιος έχει περισσότερους διεγέρτες

από αναστολείς, η ισορροπία ευνοεί την αγγειογένεση, ενώ αν κάποιος εκφράζει περισσότερους αναστολείς από διεγέρτες είναι δύσκολο να αποκτήσει αγγειογενετικό φαινότυπο [33].



Εικόνα 3: Η ρύθμιση της αγγειογένεσης είναι αποτέλεσμα του συντονισμού της παραγωγής διεγερτών και αναστολέων της αγγειογένεσης. Ο αγγειογενετικός διακόπτης είναι “κλειστός” όταν οι διεγέρτες της αγγειογένεσης είναι σε ισορροπία με τους αναστολείς και “ανοικτός” όταν η ισορροπία ευνοεί την αγγειογένεση. Σήματα που μπορεί να ανατρέψουν αυτήν την ισορροπία είναι η υποξία, το μεταβολικό stress και οι γενετικές αλλαγές [34].

Οι παράγοντες ρύθμισης της αγγειογένεσης έχουν όμοιο μηχανισμό δράσης και στην φυσιολογική και στην παθολογική αγγειογένεση. Η ακριβής ισορροπία ανάμεσα στους διεγέρτες και τους αναστολείς της αγγειογένεσης είναι απαραίτητη για την εύρυθμη λειτουργία του οργανισμού και τυχόν παρεκτροπή της ευνοεί την καρκινογένεση. Η μείωση των επιπέδων έκφρασης των αναστολέων ή η αύξηση των επιπέδων έκφρασης των διεγερτών έχει σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του αγγειογενετικού διακόπτη (Πίνακας 1).

<i>Διεγέρτες αγγειογένεσης</i>	<i>Λειτουργία</i>	<i>Αναστολείς αγγειογένεσης</i>	<i>Λειτουργία</i>
VEGFs	Επάγουν την αγγειογένεση, την αγγειακή διαφοροποίηση, την αγγειακή διαπερατότητα και τη λεμφαγγειογένεση	Ang2	Ανταγωνιστής της Ang1
FGFs	Επάγουν την αγγειογένεση και αρτηριογένεση	TSP-1	Αναστολή της μετακίνησης, ανάπτυξης, σύνδεσης και επιβίωσης των ενδοθηλιακών κυττάρων
Ang1	Σταθεροποίηση αγγείων	Αγγειοστατίνη	Αναστολή της μετακίνησης και επιβίωσης των ενδοθηλιακών κυττάρων
PDGF-B και υποδοχείς	Στρατολόγηση λείων μυϊκών	Ενδοστατίνη	Αναστολή της μετακίνησης

	κυττάρων		και επιβίωσης των ενδοθηλιακών κυττάρων
TGF-β και υποδοχείς	Σταθεροποίηση αγγείων και παραγωγή εξωκυττάριας ουσίας	Παράγοντας αιμοπεταλίων 4	Αναστολή της σύνδεσης του bFGF και VEGF
Εφρίνες	Διάκριση αρτηριών και φλεβών	TIMPs	Αναστολή παθολογικής αγγειογένεσης
Ιντεγκρίνες	Υποδοχείς για μόρια της εξωκυττάριας ουσίας	Ιντερφερόνες α,β,γ	Αναστολή της μετακίνησης των ενδοθηλιακών κυττάρων
PA και MMPs	Μετακίνηση κυττάρων και διαμόρφωση εξωκυττάριας ουσίας και απελευθέρωση FGF-2 και VEGF	Προλακτίνη (Mr 16K)	Αναστολή των bFGF/VEGF
PAI-1	Σταθεροποίηση γειτονικών αγγείων	Οστεοποντίνη	Εμπλοκή στην μεταγωγή σήματος από τις ιντεγκρίνες

Συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου (NOS)	Επαγωγή της αγγειογένεσης και της αγγειοδιαστολής		
VE-κατχερίνη	Μόρια σύνδεσης των ενδοθηλιακών κυττάρων		

Πίνακας 1: Διεγέρτες και αναστολείς της αγγειογένεσης. VEGF: Vascular endothelial growth factor, Ang2: Angiopoietin2, FGFs: Fibroblast growth factors, TSP-1: Thrombospondin-1, Ang1: Angiopoietin1, PDGF: Platelet derived growth factor, TGF: Transforming growth factor, TIMPS: Tissue inhibitors of metalloproteinases, PA: Plasminogen Activator, MMPs: Matrix Metalloproteinases, PAI-1: Plasminogen activator inhibitor-1, NOS: Nitric oxide synthase

1.2.4. Ο ρόλος του VEGF στην ενεργοποίηση της αγγειογένεσης

1.2.4.1. Οι διαφορετικές ισομορφές του VEGF

Ο γνωστότερος κι ευρύτερα μελετημένος διεγέρτης της αγγειογένεσης είναι ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (vascular endothelial growth factor, VEGF), αρχικά γνωστός ως παράγον αγγειακής διαπερατότητας (vascular permeability factor, VPF). Η πρώτη περιγραφή του VPF ήταν σαν ένα διμερές 34-42 kD που προκαλούσε την αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας στο δέρμα, ενώ απομονώθηκε από το ασκитικό υγρό και την καλλιέργεια σειράς κυττάρων από το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα πειραματικού μοντέλου χοίρων. Ο VPF αποτελούσε τον πιο ισχυρό από τους γνωστούς παράγοντες ενίσχυσης της διαπερατότητας των αγγείων και ταυτίστηκε με τον παράγοντα αύξησης στα ενδοθηλιακά κύτταρα που απομονώθηκε αργότερα από τους Ferrara και Henzel, οπότε και καθιερώθηκε και ως VEGF [35, 36, 37]. Ο VEGF αποτελεί σημαντικό διεγέρτη τόσο της φυσιολογικής, όσο και της παθολογικής αγγειογένεσης, ενώ ουσιαστικά δεν πρόκειται για ένα μόριο, αλλά για μια οικογένεια αυξητικών παραγόντων που αποτελείται από: τον VEGF-A (από εδώ και στο εξής θα αναφέρεται ως VEGF), τον VEGF-B, τον VEGF-C, τον VEGF-D, τον VEGF-E και τον αυξητικό παράγοντα του πλακούντα (placental growth factor, PLGF) [38]. Από αυτούς, ο VEGF-A ή αλλιώς VEGF είναι αυτός που εμπλέκεται κυρίως στην αγγειογένεση, ενώ οι VEGF-C και VEGF-D σχετίζονται κυρίως με την λεμφαγγειογένεση [39, 40]. Αυτές οι γλυκοπρωτεΐνες ανήκουν σε μια μεγάλη δομική οικογένεια αυξητικών παραγόντων όπου συμπεριλαμβάνεται και ο PDGF.

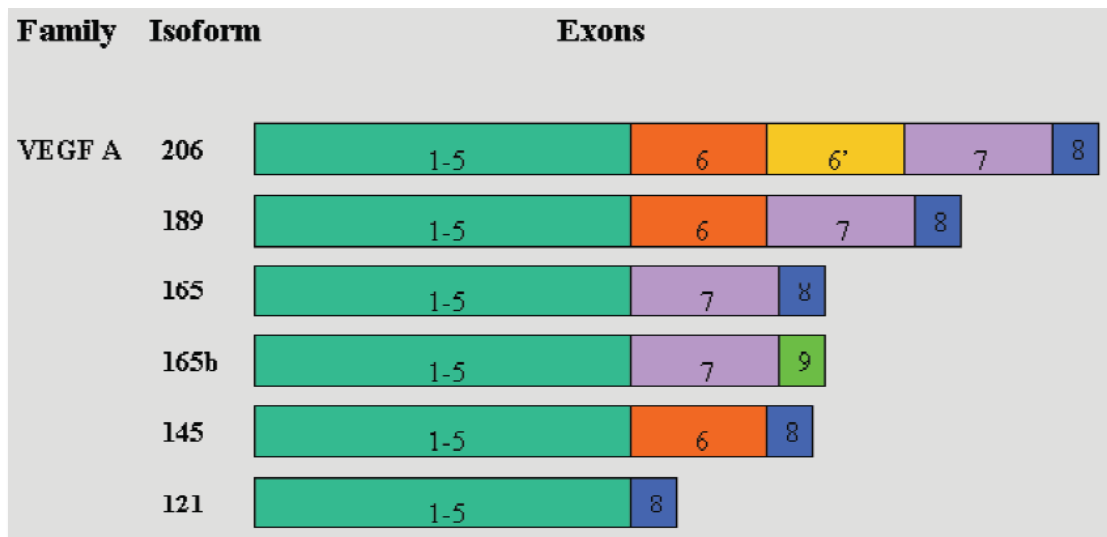
Ο VEGF, που μεταφέρει τα μηνύματά του μέσω υψηλής συγγένειας υποδοχέων τύπου τυροσινικής κινάσης, με την σειρά του, δεν είναι ένας μοναδικός παράγοντας, αλλά μια οικογένεια 6 διαφορετικών πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από το ίδιο γονίδιο στην θέση p21.3 στο 6ο χρωμόσωμα με οχτώ εξόνια και επτά εσώνια, και προκύπτουν από

εναλλακτικό μάτισμα του αγγελιοφόρου RNA: τους VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₃, VEGF₁₈₉ και VEGF₂₀₆, με αντίστοιχο μέγεθος 121, 145, 165, 183, 189 και 206 αμινοξέα. Οι VEGF₁₄₅ και VEGF₂₀₆ παράγονται κυρίως από τον πλακούντα [41, 42]. Τα αμινοξέα που κωδικοποιούνται από τα εξώνια 1-5 διατηρούνται σε όλες τις ισομορφές, αλλά διαφορετικό μάτισμα προκύπτει στα εξώνια 6 και 7.

Το αμινοτελικό άκρο όλων των μορφών είναι κοινό και αποτελεί το σημείο πρόσδεσης τους με τους υποδοχείς τους, ενώ το καρβοξυτελικό άκρο διαφέρει και αποτελεί το σημείο δέσμευσης της ηπαρίνης. Ανάλογα με το μοριακό βάρος και το μάτισμα κάθε τύπου, παρατηρείται διαφορετική βιολογική δραστηριότητα. Τα εξώνια 6 και 7 κωδικοποιούν δύο περιοχές πρόσδεσης της ηπαρίνης, που επηρεάζουν την ικανότητα πρόσδεσης στους υποδοχείς και την διαλυτότητα. Οι ισομορφές που εκφράζουν το εξώνιο 6 έχουν έντονη πρόσδεση στην κυτταρική μεμβράνη (VEGF₁₄₅, VEGF₁₈₉ και VEGF₂₀₆). Αντίθετα, οι ισομορφές που δεν εκφράζουν το εξώνιο 6, έχουν ικανότητα διάχυσης αλλά σε ένα σημαντικό ποσοστό παραμένουν προσδεμένες στην κυτταρική μεμβράνη, όπως ο VEGF₁₆₅, ενώ ο VEGF₁₂₁ που στερείται έκφρασης και του εξωνίου 7 έχουν ακόμα μεγαλύτερη ικανότητα διάχυσης και χαρακτηρίζεται σαν ελεύθερη διαχεόμενη πρωτεΐνη.

Ο VEGF₁₆₅ είναι η πλέον κοινή ισομορφή και η πιο ισχυρή όσον αφορά την ενίσχυση της αγγειογένεσης. Συνδέεται τόσο στην ηπαρίνη όσο και στο εξωκυττάριο στρώμα. Η πρόσφατα ταυτοποιημένη παραλλαγή VEGF_{165b} έχει τον ίδιο αριθμό αμινοξέων αλλά 6 αμινοξέα του καρβοξυτελικού άκρου που συνήθως κωδικοποιούνται από το εξώνιο 8 διαφέρουν. Το καρβοξυτελικό άκρο του VEGF₁₆₅ είναι απαραίτητο στον καθορισμό των σημάτων της μίτωσης, συνεπώς αλλαγές σε αυτήν την περιοχή είναι πιθανό να επηρεάζουν αυτή τη λειτουργία. Η νέα αυτή περιοχή κωδικοποίησης ονομάστηκε εξώνιο 9 (Εικόνα 4) [43]. Σε αντίθεση με τις υπόλοιπες ισομορφές που κινητοποιούν

την αγγειογένεση, ο VEGF_{165b} είναι ισομορφή με ενδογενή ανασταλτική δράση, που μειώνει τον πολλαπλασιασμό και την μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Παρόλο που προσδέεται στον υποδοχέα VEGFR-2, αυτή η πρόσδεση δεν οδηγεί στην φωσφορυλίωση του υποδοχέα ή την ενεργοποίηση του καταρράκτη σηματοδότησης.



Εικόνα 4: Οι ισομορφές του VEGF-A. Υπάρχουν τουλάχιστον 6 διαφορετικές ισομορφές του VEGF-A, που προκύπτουν από το εναλλακτικό μάτισμα εξωνίων. Ο VEGF₁₆₅ είναι ο πλέον κοινός στην ενεργοποίηση της αγγειογένεσης, ενώ ο VEGF_{165b} εμποδίζει την αγγειογένεση. Όλες οι ισομορφές εμπεριέχουν τα εξώνια 1-5 [44].

Ο VEGF-B προσδέεται έντονα με την ηπαρίνη και είναι δομικά παρόμοιος με τον VEGF-A και τον PLGF. Είναι άφθονος σε ιστούς όπως η καρδιά, οι σκελετικοί μύες και το πάγκρεας και μπορεί να έχει και παρακρινή δράση για να ρυθμίσει την ενδοθηλιακή λειτουργία [39]. Η έκφραση του VEGF-B έχει εντοπιστεί στο αστροκύττωμα και στο ακανθοκυτταρικό καρδκίνωμα της στοματικής κοιλότητας. Ο VEGF-C έχει απομονωθεί από καρκινικά κύτταρα του προστάτη και έχει αναγνωριστεί ως ειδικός ενεργοποιητής του υποδοχέα VEGFR-3 και προκαλεί την φωσφορυλίωση του VEGFR-2 και του VEGFR-3. Ο VEGF-D επίσης προσδέεται και στον VEGFR-2 και στον VEGFR-3. Τόσο ο VEGF-C όσο και ο VEGF-D έχουν μιτωτική δράση για λεμφικά ενδοθηλιακά κύτταρα και προάγουν την επιβίωσή τους μέσω του VEGFR-3.

Ο VEGF-C επίσης ενισχύει την υπερπλασία των προυπάρχοντων λεμφαγγείων. Ο VEGF-E είναι το ικόν ομόλογο του VEGF και εκφράζεται στους Orf ιούς. Προσδένεται και ενεργοποιεί τον VEGFR-2 αλλά όχι τον VEGFR-1 και είναι ισχυρός ενεργοποιητής της αγγειογένεσης [45].

Όλα οι τύποι κυττάρων απαιτούν οξυγόνο για την παραγωγή ενέργειας και την λειτουργία των ιστών. Η έλλειψη επαρκούς παροχής αίματος και η αυξημένη απόσταση από τα υπάρχοντα αιμοφόρα αγγεία σημαίνει έλλειψη οξυγόνου για τα κύτταρα του όγκου. Αυτό οδηγεί σε περιοχές υποξίας στον όγκο, με αποτέλεσμα σε κάποιες περιπτώσεις την κακοήθη μετεξέλιξη του όγκου, καθώς τα κύτταρα αυτού μαθαίνουν να μεταλλάσσονται προς προσαρμογή στις νέες αυτές συνθήκες. Αυτή η προσαρμογή περιλαμβάνει αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων, απενεργοποίηση των γονιδίων καταστολής των όγκων, ενεργοποίηση των ογκογονιδίων, αστάθεια γονιδιώματος και φυσική επιλογή σε σειρές κυττάρων. Το σκληρό αυτό περιβάλλον ενισχύει την πιεστική επιλογή του πλέον κακοήθους τύπου κυττάρων σαν έναν αγώνα, όπου τα πιο επιθετικά καρκινικά κύτταρα κερδίζουν, οδηγώντας σε έναν περισσότερο επιθετικό φαινότυπο καρκίνου. Η μειωμένη παραγωγή των μορίων προσκόλλησης σε απάντηση στην υποξία, αυξάνει την αποδέσμευση των καρκινικών κυττάρων και συνεπώς την πιθανότητα μεταστάσεων. Άλλα προβλήματα που σχετίζονται με την υποξία στους όγκους είναι η ανθεκτικότητα στη χημειοθεραπεία. Κάποια χημειοθεραπευτικά φάρμακα όπως οι αλκυλιούντες παράγοντες είναι λιγότερο αποτελεσματικοί σε συνθήκες υποξίας. Σε απάντηση στην υποξία, ο κυτταρικός κύκλος επιβραδύνεται ή σταματάει στην φάση G1. Καθώς κάποια χημειοθεραπευτικά φάρμακα δρουν στη φάση S1 του κυτταρικού κύκλου εμποδίζοντας την σύνθεση του DNA, όταν κάτι τέτοιο συμβαίνει, αυτά δρουν λιγότερο. Η υποξία οδηγεί στην επιλογή των κυττάρων με μετάλλαξη στο ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53 που είναι ανθεκτικά σε βλαβές του DNA που οδηγούν σε

απόπτωση και είναι πιθανότερο να παρουσιάζουν χημειοανθεκτικότητα. Η μετάλλαξη του p53 έχει σαν αποτέλεσμα την απόπτωση λόγω μειωμένης υποξίας και αύξησης παραγωγής VEGF [46].

Σε απάντηση στην υποξία, οι όγκοι εκκρίνουν αυξητικούς παράγοντες αγγειογένεσης για την ενεργοποίηση της αύξησης των αγγείων και της παροχής οξυγόνου. Η έκφραση του VEGF ρυθμίζεται σε πολύ μεγάλο βαθμό από την υποξία, μέσω των μεταγραφικών παραγόντων που επάγονται από την υποξία (hypoxia-inducible transcription factors, HIFs), οι οποίοι αυξάνουν την μεταγραφή των γονιδίων του [47, 48]. Η επαγωγή του VEGF από την τοπική υποξία έχει αποδειχθεί σε πολλές ογκολογικές σειρές, όπως στο πολύμορφο γλοιοβλάστωμα, αλλά και σε μη ογκολογικό πλαίσιο [49]. Για παράδειγμα, η απόφραξη του προσθίου κατιόντα σε μυοκάρδιο χοίρου οδήγησε σε πολύ μεγάλη αύξηση της ποσότητας του μεταγραφικού RNA του VEGF [50]. Πέρα από την υποξία, υπάρχει πλήθος αυξητικών παραγόντων που έχουν μελετηθεί in vitro κι έχει αποδειχθεί ότι παίζουν ρόλο στην ρύθμιση του VEGF, καθώς και ογκογονίδια ή ογκοκατασταλτικά γονίδια η ενεργοποίηση ή η απενεργοποίηση των οποίων αντίστοιχα ενισχύουν την έκφρασή του (Πίνακας 2) [51, 52, 53].

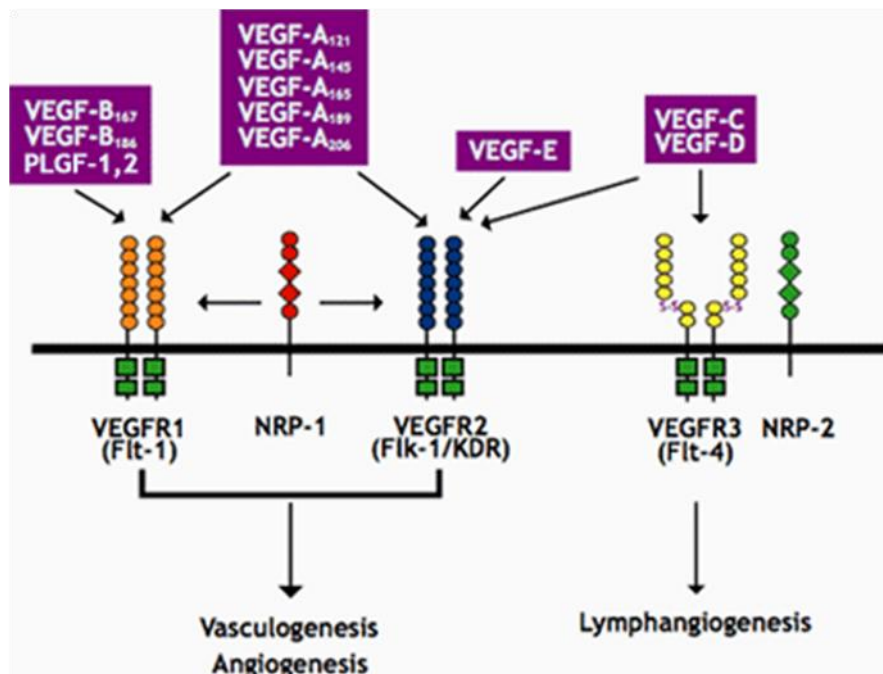
<i>Μεταγραφικοί παράγοντες</i>	<i>Αυξητικοί-περιβαλλοντικοί παράγοντες/κυτταροκίνες</i>	<i>Ογκογονίδια/ογκοκατασταλτικά γονίδια</i>
Src	Υποξία	Ras
β-catenin	Χαμηλό pH	Src
HIF	IGF-IR	PTEN
COX-2	EGFR	p53
AP-1	IL-1B	vHL
SP-1	IL-6	Wnt
NF-Κβ	c-MET	Rb
Akt/PKB	PDGFR	HER-2
Bcl-2		c-jun
		c-fos
		MDM2
		E2a-Pbx1
		PML-RARa
		RhoC
		eIF-4E
		NOX-1

Πίνακας 2: Παράγοντες ρύθμισης έκφρασης VEGF [51].

1.2.4.2. Οι υποδοχείς του VEGF

Τα μόρια του VEGF ασκούν την αγγειογενετική τους δράση με την πρόσδεσή τους σε ειδικούς υποδοχείς (VEGF receptors, VEGFRs) που εκφράζονται σχεδόν αποκλειστικά από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Οι ισομορφές του VEGF συνδέονται με 3 διαφορετικούς

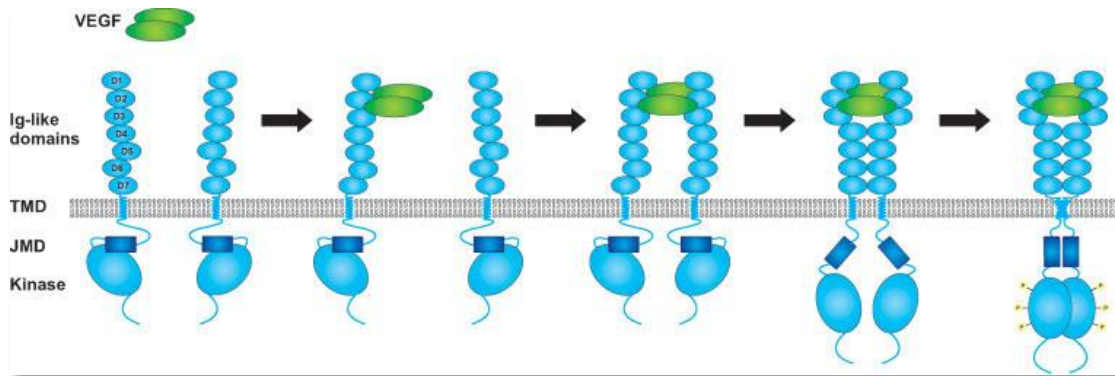
υποδοχείς, που αποτελούν μέλη της υπερικογένειας των υποδοχέων με δράση κινάσης τυροσίνης (type III RTKs). Από τους 3 υποδοχείς, ο VEGFR-1(Flt1) και ο VEGFR-2 (Flk1/KDR) εμπλέκονται κυρίως στην αγγειογένεση, νεοαγγειογένεση, ρύθμιση της αγγειακής διαπερατότητας, τη λειτουργία των μακροφάγων και του πλακούντα, ενώ ο VEGFR-3(Flt4) με την εμβρυονική αγγειογένεση και λεμφαγγειογένεση [51]. Δύο ακόμη συν-υποδοχείς οι νευροφιλίνες 1 και 2 (Neuropilin, NRPs) φαίνονται να συνδέονται με την δράση του VEGF, ειδικότερα με την λειτουργία του VEGFR-2 (Εικόνα 5) [54].



Εικόνα 5: Τα διαφορετικά μέρη της οικογένειας των VEGF συνδέονται ειδικά με τους αντίστοιχους υποδοχείς, οδηγώντας στην ενεργοποίηση της αγγειογένεσης (angiogenesis), της νεοαγγειογένεσης (vasculogenesis) και της λεμφαγγειογένεσης (lymphangiogenesis) [51].

Οι VEGFRs αποτελούνται από ένα εξωτερικό μέρος με επτά συνολικά περιοχές του τύπου των ανοσοσφαιρινών, ένα διαμεμβρανικό κομμάτι και τον ενδοκυττάριο τομέα με δράση κινάσης τυροσίνης [55]. Η ενεργοποίησή τους ξεκινά με την πρόσδεση του

VEGF στο εξωκυττάριο μέρος του και τον επαγόμενο διμερισμό του υποδοχέα. Ακολουθούν δομικές αλλαγές της ενδοκυττάριας περιοχής, φωσφορυλίωση των καταλοίπων τυροσίνης και, τέλος, ενεργοποίηση πλήθους σηματοδοτικών μονοπατιών (Εικόνα 6) [56].



Εικόνα 6: Σχηματική αναπαράσταση του μηχανισμού ενεργοποίησης των VEGFRs. Ένα διμερές VEGF μορίων (πράσινο χρώμα) που συνδέονται με ομοιοπολικό δεσμό προσδένεται στον VEGFR (σκουρό και ανοιχτό μπλε) οδηγώντας σε διμερισμό των δύο μονομερών του υποδοχέα. Επιπλέον αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στους παρόμοιους με Ig τομείς 4 και 7, στον διαμεμβρανικό τομέα και στον τομέα κάτω από την κυτταρική μεμβράνη σταθεροποιούν το σύμπλεγμα VEGF-VEGFR με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της κινάσης και την αυτοφωσφορυλίωση της τυροσίνης, διαδικασία απαραίτητη για την ενεργοποίηση του σηματοδοτικού καταρράκτη [57].

Ο VEGFR-1 είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη 180 kD που προσδένει τους VEGF-A, PLGF και VEGF-B. Αρχικά κλωνοποιήθηκε από πλακουντιακή cDNA βιβλιοθήκη. Εναλλακτικό μάτισμα παράγει μια διαλυτή μορφή του VEGFR-1 (soluble VEGFR-1, sVEGFR-1) που μπορεί να δράσει σαν αναστολέας του VEGF [58]. Η συγγένεια του VEGFR-1 για τον VEGF είναι δεκαπλάσια σε σχέση με τον VEGFR-2 αλλά η δράση του κινάσης της τυροσίνης είναι δέκα φορές πιο αδύναμη από του VEGFR-2. Ο VEGFR-1 μπορεί επίσης να δρα ως υποδοχέας- αντιπερισπασμός, εμποδίζοντας την πρόσδεση του VEGF στον πιο μιτωτικό υποδοχέα VEGFR-2. Πέρα από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ο VEGFR-1 εκφράζεται στα μονοκύτταρα, στους

οστεοβλάστες, στα μακροφάγα, στα περικύτταρα, στα λεία μυϊκά κύτταρα και στα καρκινικά κύτταρα του κολορθικού καρκίνου.

Ο VEGFR-2 εντοπίστηκε αρχικά από cDNA βιβλιοθήκη ανθρώπινων ενδοθηλιακών κυττάρων [59]. Είναι μία γλυκοπρωτεΐνη 230 kD και προσδένει τους VEGF, VEGF-C και VEGF-D, ενώ έχει μικρότερη ικανότητα πρόσδεσης του VEGF σε σχέση με τον VEGFR-1. Παρά ταύτα, ο VEGFR-2 είναι ο πρωταρχικός διαμεσολαβητής της δράσης του VEGF όπως αποδεικνύεται από την επιλεκτική ενεργοποίηση είτε του VEGFR-1 είτε του VEGFR-2. Εκτός από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα, τα μεγακαρυοκύτταρα και τα λεία μυϊκά κύτταρα εκφράζουν τον VEGFR-2. Επίσης, έχει απομονωθεί σε καρκινικές σειρές κυττάρων από μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονος, καρκίνο μαστού, νευροβλάστωμα, και γαστρικό καρκίνο.

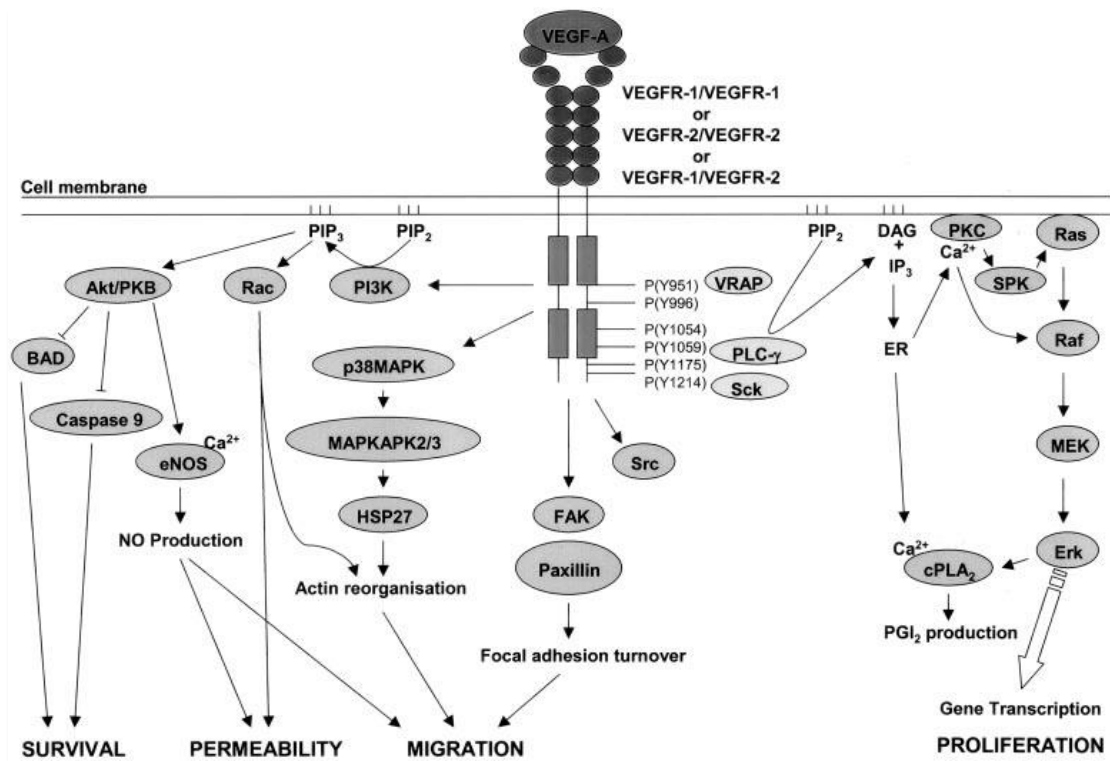
Ο VEGFR-3 είναι μια γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη 170 kD που κλωνοποιήθηκε αρχικά από πλακουντιακές cDNA βιβλιοθήκες. Προσδένει όλες τις ώριμες μορφές του VEGF-C και εκφράζεται στα εμβρυικά ενδοθηλιακά κύτταρα, αλλά κατά την ανάπτυξη η έκφρασή του μειώνεται και περιορίζεται στο ενδοθήλιο των λεμφαγγείων στους ιστούς των ενηλίκων[60].

Η Νευροφιλίνη-1 αρχικά αναγνωρίστηκε σε νευρώνες, ενώ εκφράζονται και σε ενδοθηλιακά κύτταρα. Η NRP-1 δεν έχει κομμάτι δράσης κινάσης της τυροσίνης και συνεπώς πρέπει να δρασει σε συνδυασμό με άλλους υποδοχείς για να μεσολαβήσει στο σηματοδοτικό μονοπάτι του VEGF. Η Νευροφιλίνη-2 επίσης προσδένει τον VEGF, αλλά όπως η NRP-1 δεν έχει κυτταροπλασματικό κομμάτι μετάδοσης σήματος κι επίσης μπορεί να αλληλεπιδράσει με τον VEGFR-1.

1.2.4.3. Δράση του VEGF κι αγγειογένεση

Οι γνωστότερες και καλύτερα μελετημένες δράσεις του VEGF είναι οι ακόλουθες (Εικόνα 7):

- Προάγει την επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων που προέρχονται από τις αρτηρίες, τις φλέβες και τα λεμφαγγεία [61].
- Ενισχύει την παραπάνω δράση ενεργοποιώντας αντι-αποπτωτικά μονοπάτια κι επάγοντας την έκφραση αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών στα ενδοθηλιακά κύτταρα.
- Προάγει την μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων, προκαλώντας την έκφραση μεταλλοπρωτεϊνών, απαραίτητων για την αποδόμηση της βασικής μεμβράνης, και μονοξειδίου του αζώτου (NO) που εμπλέκεται στη μηχανοτακτική κίνηση των ενδοθηλιακών κυττάρων [62].
- Επηρεάζει την διαπερατότητα του αγγείου σε διαλύτες και νερό, με βασικότερο μηχανισμό την αύξηση της υδραυλικής αγωγιμότητας σε μεμονωμένα μικροαγγεία, μέσω της εισροής ιόντων ασβεστίου [63].
- Επάγει την έκφραση μορίων προσκόλλησης κυττάρων του ανοσοποιητικού κατά την φάση της φλεγμονής [64].
- Κατά την εμβρυογένεση η έλλειψη του ενός αλληλίου του VEGF, προκαλεί σημαντικές ανωμαλίες ανάπτυξης και οδηγεί σε πρόωρη αυτόματη αποβολή.
- Εμποδίζει τη συσσώρευση του β-αμυλοειδούς, σημαντικού συστατικού των γεροντικών πλακών στον εγκέφαλο των ασθενών με νόσο του Alzheimer [65].



Εικόνα 7: Τα πολλαπλά μονοπάτια μέσω των οποίων η πρόσδεση του VEGF στον υποδοχέα του οδηγεί σε αύξηση της επιβίωσης, της μετανάστευσης και της παραγωγής των αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων, καθώς και της διαπερατότητας της βασικής μεμβράνης [66].

1.2.4.4. Ο VEGF στην εμβρυογένεση

Τα επίπεδα του VEGF είναι κρίσιμα στην δημιουργία του αγγειακού δικτύου κατά την εμβρυική ανάπτυξη. Η απώλεια ενός αλληλίου του VEGF οδηγεί σε εμβρυική θνησιμότητα ανάμεσα στην 11^η και την 12^η ημέρα σε πειραματικά μοντέλα μυών, πιθανότατα σαν αποτέλεσμα αγγειακής βλάβης [67]. Οι υποδοχείς του VEGF επίσης παίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόιμη ανάπτυξη, καθώς η σημειακή διαγραφή VEGFR-1 σε μύες προκαλεί τον εμβρυικό θάνατο την ημέρα 8.5 εξαιτίας της έλλειψης λειτουργικών. Ενδιαφέρον προκαλεί ότι σε απώλεια μόνο της περιοχής δράσης τυροσινικής κινάσης, με την διαμεμβρανική και την εξωκυτταρική περιοχή να παραμένουν ακέραιες, τα έμβρυα ανέπτυξαν φυσιολογικό αγγειακό δίκτυο [68]. Ο VEGFR-2 επίσης παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη, καθώς εκφράζεται στους

εμβρυικούς αγγειοβλάστες, στις αιμοποιητικές νησίδες και αιμοφόρα αγγεία της αγγειογένεσης. Οι VEGF-C/VEGF-D δίνουν σήματα μέσω του VEGFR-3 που είναι κρίσιμα για την ανάπτυξη του εμβρυικού αγγειακού δικτύου και την διατήρηση του λεμφικού συστήματος. Η Νευροφιλίνη-1 εμπλέκεται στην ανάπτυξη του νευρικού συστήματος όπου εκφράζεται από νευρώνες, ενώ έχει ουσιώδη ρόλο στον προσανατολισμό των νεοδημιουργηθέντων νευρικών μονοπατιών. Η απενεργοποίηση της Νευροφιλίνης-2 δεν προκαλεί τον εμβρυικό θάνατο, αλλά η διπλή απώλεια των NRP-1 και NRP-2 οδηγεί σε σοβαρότερη βλάβη του αγγειακού δικτύου σε σχέση με την απώλεια μόνο της NRP-1. Συνολικά, οι περισσότεροι από τους υποδοχείς του VEGF είναι απαραίτητοι για την μεσολάβηση προς την φυσιολογική ανάπτυξη του αγγειακού δικτύου.

1.2.4.5. Ο VEGF στη φυσιολογία του ενήλικου

Φυσιολογικά στους υγιείς ενήλικες το μονοπάτι σημάτων του VEGF είναι περιορισμένο στην επούλωση τραυμάτων και στο γυναικείο κύκλο αναπαραγωγής. Στην επούλωση των τραυμάτων ενεργοποιημένα αιμοπετάλια απελευθερώνουν αρκετές κυτταροκίνες, συμπεριλαμβανομένου του VEGF. Αυτός με τη σειρά του προσελκύει κυκλοφορούντα ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα στο σημείο του τραύματος σαν μέρος της φυσιολογικής φλεγμονώδους απάντησης. Επίσης, απελευθερώνεται από τα μονοκύτταρα, τα κερατινοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα στο σημείο της βλάβης όπου μπορεί να δράσει πάνω στα τριχοειδή. Ο VEGF αυξάνει την διαπερατότητα επιδρώντας στις πρωτεΐνες σύζευξης των ενδοθηλιακών κυττάρων, κάτι που μπορεί να ενισχύσει την δημιουργία κοκκιώδους ιστού. Στη συνέχεια, η ενεργοποίηση του υποδοχέα από τον VEGF έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή και την μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων, την ενεργοποίηση της

αγγειογένεσης μέσω εκβλάστησης από ήδη υπάρχοντα αγγεία, την χημειοταξία ενδοθηλιακών προγονικών κυττάρων από τον μυελό των οστών και περικυττάρων για την δημιουργία, την περιβολή και την σταθεροποίηση των νεοαγγείων [66].

Στον γυναικείο κύκλο αναπαραγωγής ο VEGF παίζει σημαντικό ρόλο σαν ένας από τους πρωταρχικούς αγγειογενετικούς παράγοντες που ρυθμίζει την αγγειακή ανάπτυξη στα ωοθυλάκια, ενώ η δράση του διαφέρει πολύ στις διάφορες φάσεις του κύκλου[69].

1.2.4.6. Ο VEGF σε μη ογκολογικές νόσους

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα είναι ένα αυτοάνοσο νόσημα που επηρεάζει τις περιφερικές αρθρώσεις και τις διαρθρώσεις. Η άρθρωση φλεγμαίνει και αυξάνεται σε μέγεθος. Φλεγμονώδη κύτταρα μέσα από τον χόνδρο εισβάλλουν και πέπτουν οστική μάζα με αποτέλεσμα την καταστροφή της άρθρωσης. Η αγγειογένεση φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην πρόοδο της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και ο VEGF αυξάνει την αγγειακή διαπερατότητα και την αγγειογένεση στην άρθρωση. Η συγκέντρωση του VEGF στον ορό είναι μεγαλύτερη στους ασθενείς που πάσχουν από ρευματοειδή αρθρίτιδα, ενώ ακτινολογικές μελέτες δείχνουν ότι τα επίπεδα του VEGF στον ορό είναι ανάλογα με τον βαθμό καταστροφής της άρθρωσης [70].

Όμοια, και στην ψωρίαση που αποτελεί αυτοάνοσο νόσημα, τα κερατινοκύτταρα υπερεκφράζουν τον VEGF και τους υποδοχείς του, οδηγώντας σε αυξημένη αγγειογένεση [71].

Η ανάπτυξη παράπλευρου δικτύου στην χρόνια ισχαιμική καρδιοπάθεια γίνεται στην επιφάνεια ανάμεσα στον φυσιολογικό και τον ισχαιμικό ιστό, σαν αποτέλεσμα σταδιακής ανάπτυξης σημαντικής στένωσης ή απόφραξης των στεφανιαίων αγγείων. Αποδείχθηκε ότι ένα από τα πρώτα γονίδια του οποίου αυξάνεται η έκφραση σαν αποτέλεσμα της υποξίας είναι αυτό του HIF-1. Εντοπίστηκαν υψηλά επίπεδα mRNA

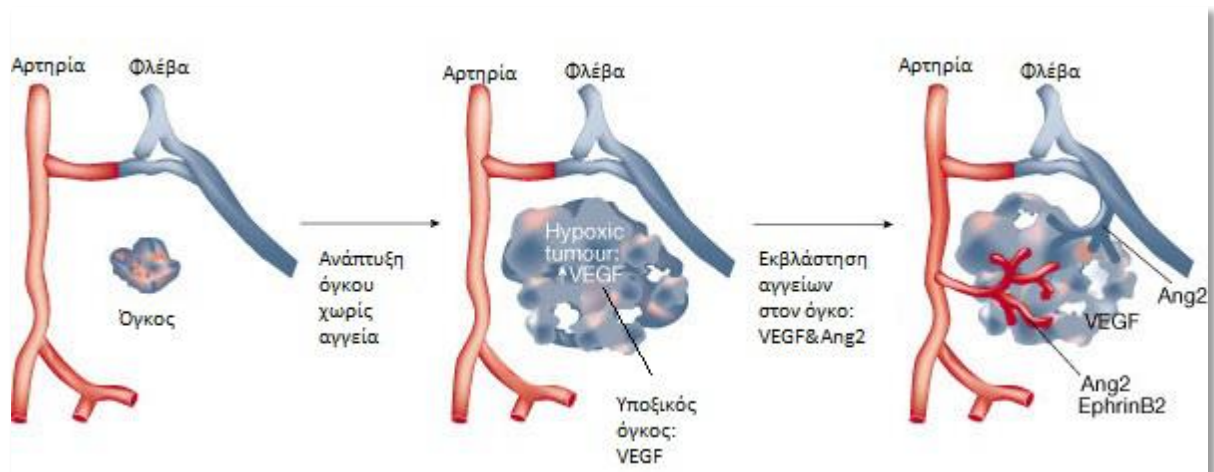
του HIF-1 τις πρώτες 24 ώρες μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου ή κατά την διάρκεια αυτού στην περιοχή της βλάβης του μυοκαρδίου. Καθώς η παραγωγή του VEGF-A αυξάνεται επίσης σε καλλιέργεια μυοκυττάρων σε συνθήκες υποξίας, και καθώς το γονίδιο για αυτόν επηρεάζεται επίσης από την υποξία, αύξηση της πρωτεΐνης HIF-1 στον ισχαιμικό ιστό μπορεί να είναι απαραίτητο, τουλάχιστον εν μέρει, για την αύξηση της έκφρασης του μυοκαρδιακού VEGF-A. Αυτός βρίσκεται μόνο στα μέσα αγγεία που καλύπτονται από ενδοθήλιο και στα αρτηρίδια, σε αντίθεση με τον HIF-1 που εκφράζεται τόσο στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων, όσο και στα μυοκαρδιακά κύτταρα. Μετά την εγκατάσταση του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου ή της ισχαιμίας, η έκφραση του VEGF-A επιμένει για περισσότερο καιρό από του HIF-1. Συγκεκριμένα, η θεωρία αυτή αναφέρει ότι η απάντηση στην ισχαιμία με τον HIF-1 προκύπτει νωρίς και είναι παροδική, ενώ με τον VEGF-A έχει μεγαλύτερη διάρκεια και είναι πιθανότατα απαραίτητη για την διατήρηση του μυοκαρδιακού ιστού και τον περιορισμό της καταστροφής των κυττάρων που οφείλεται στην ισχαιμία [72].

Ο VEGF έχει αυξημένη συγκέντρωση στο αίμα των διαβητικών ασθενών. Τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης έχουν τοξική δράση στο ενδοθήλιο και μπορεί να προκαλέσουν υπεργλυκαιμική ψευδο-υποξία με αποτέλεσμα την αύξηση της παραγωγής του VEGF [73]. Η αυξημένη αυτή έκκριση έχει μελετηθεί ιδιαίτερα στη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια, ενώ ο VEGF αποτελεί ιδανικό μόριο-στόχο στην θεραπεία αυτής.

1.2.4.7. Ο VEGF στον καρκίνο

Για να μεγαλώσει ο όγκος πάνω από 2-3 mm³, απαιτείται αγγειακό δίκτυο που να του παρέχει θρεπτικά συστατικά και οξυγόνο. Οι όγκοι το επιτυγχάνουν αυτό εκκρίνουν παράγοντες αύξησης της αγγειογένεσης, όπως ο VEGF, έτσι ώστε να δημιουργήσουν νεοαγγεία από τα ήδη υπάρχοντα, με την διαδικασία της αγγειογένεσης. Ο VEGF

εκκρίνεται από τα κύτταρα του όγκου και από κύτταρα της άμυνας του οργανισμού, όπως τα μονοκύτταρα. Ο VEGF προσδένεται στους υποδοχείς του στο προϋπάρχον ενδοθήλιο, ενεργοποιώντας την παραγωγή και μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων, με τελικό αποτέλεσμα την εκβλάστηση των νέων αγγείων. Αυτές οι εκβλαστήσεις τελικά σχηματίζουν το αγγειακό δίκτυο του όγκου [74]. Ο VEGF επίσης επιστρατεύει πρόδρομα ενδοθηλιακά κύτταρα από τον μυελό των οστών για τον σχηματισμό του ενδοθηλίου των αγγείων. Το νέο αγγειακό σύστημα παρέχει στον όγκο τον δρόμο εισόδου των καρκινικών κυττάρων στην συστηματική κυκλοφορία και τη δημιουργία απομακρυσμένων μεταστάσεων (Εικόνα 8).



Εικόνα 8: Ο ρόλος του VEGF στην αγγειογένεση στον καρκίνο [75].

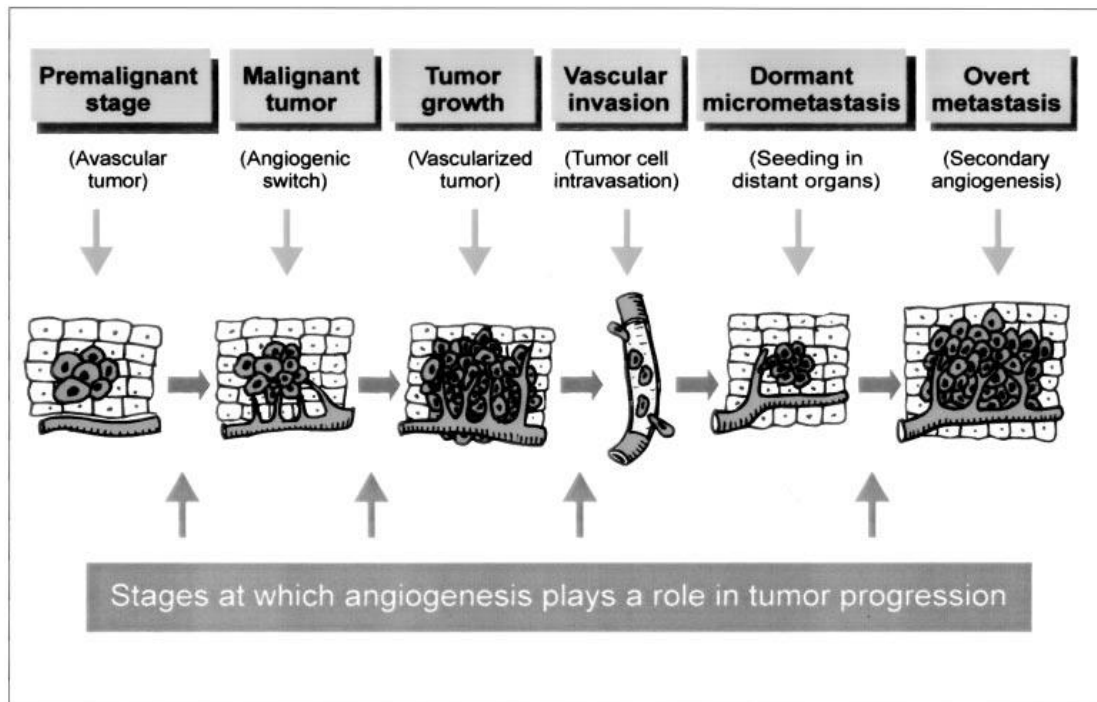
Η αυξημένη παραγωγή VEGF από τους όγκους συσχετίζεται με την αυξημένη αγγείωση του όγκου, την μεταστατική του ικανότητα, την χημειοανθεκτικότητά του και την πτωχή του πρόγνωση σε σχέση με τους όγκους που είναι αρνητικοί για τον VEGF. Ο κυκλοφορούν VEGF είναι αυξημένος σε καρκίνους του μαστού, του πνεύμονος και του γαστρεντερικού καρκίνου. Σε μετεγχειρητικά δείγματα, οι όγκοι του μαστού που υπερεκφράζουν τον VEGF συσχετίστηκαν με πρώιμη υποτροπή σε σχέση με αυτούς με χαμηλά επίπεδα VEGF [76]. Η έκφραση του VEGF συνεπώς μπορεί να έχει ρόλο προγνωστικού παράγοντα, με τα υψηλά επίπεδα του VEGF στην κυκλοφορία ή στον ίδιο τον όγκο να έχουν αρνητική συσχέτιση με την περίοδο χωρίς υποτροπή ή με την συνολική επιβίωση. Είναι άγνωστο προς το παρόν αν αυτό έχει να κάνει μόνο με την δράση του στην αγγειογένεση ή και με άλλες δράσεις στην πρόοδο ενός όγκου. Αρχικά είχε θεωρηθεί ότι τα καρκινικά κύτταρα εκκρίνουν τον VEGF με παρακρινή μηχανισμό για να προσελκύσει και να κινητοποιήσει την παραγωγή ενδοθηλιακών κυττάρων. Έκτοτε έχει αποδειχθεί ότι ο VEGF μπορεί να έχει και αυτοκρινή δράση παρέχοντας υψηλότερη επιβίωση σε διάφορους τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων και των καρκινικών [77]. Τα κύτταρα αυτά παράγουν μεγαλύτερη ποσότητα VEGF κάτω από συνθήκες stress, όπως υποξία, ακτινοβολία ή χημειοθεραπεία. Ακούσια, λοιπόν, η ακτινοθεραπεία και η χημειοθεραπεία μπορεί να συνεισφέρουν στην επιβίωση των καρκινικών κυττάρων εξαιτίας των υψηλών επιπέδων VEGF και να καταστήσουν τον όγκο λιγότερο ευαίσθητο στα συμβατικά σχήματα χημειοθεραπείας και ακτινοθεραπείας [78]. Αυτή η χημειοάντοχη δράση του VEGF προϋποθέτει την σηματοδοτική δράση μέσω του μονοπατιού PI3-Κινάση. Τα λεμφαγγεία σε έναν όγκο επίσης παίζουν ρόλο στην ανάπτυξη του όγκου και στη δημιουργία μεταστάσεων. Γενικώς τα λεμφαγγεία μέσα στον όγκο είναι συμπιεσμένα και μη λειτουργικά, αλλά είναι μεγαλύτερα στην περιφέρεια χάρις στην έκφραση του

VEGF-C. Αυτά τα λεμφαγγεία συλλέγουν διάμεσο υγρό και μεταστατικά καρκινικά κύτταρα, οδηγώντας σε λεμφαγγειακές μεταστάσεις [79].

1.3. Αγγειογένεση και νόσοι

1.3.1. Αγγειογένεση και καρκίνος

Οι κακοήθεις όγκοι έχουν την ικανότητα να επεκτείνονται σε γειτονικά ή απομακρυσμένα όργανα, μία ιδιότητα που τους διακρίνει και τους καθιστά απειλητικούς για την ζωή. Τα καρκινικά κύτταρα έχουν την ικανότητα να εισβάλλουν στα αιμοφόρα αγγεία και στα λεμφαγγεία, να κυκλοφορούν μέσω του αγγειακού δικτύου, και να δημιουργούν δευτεροπαθείς εντοπίσεις, δημιουργώντας μεταστατικές εστίες [2]. Για την μεταστατική αυτή εξάπλωση του καρκινικού ιστού απαραίτητη συνθήκη είναι η ανάπτυξη αγγειακού δικτύου (Εικόνα 9). Οι διαδικασίες της αγγειογένεσης και της λεμφαγγειογένεσης προμηθεύουν τα καρκινικά κύτταρα με θρεπτικά συστατικά, οξυγόνο και φλεγμονώδη στοιχεία, ενώ ταυτόχρονα απομακρύνουν από αυτά προϊόντα του μεταβολισμού τους. Σε έλλειψη αγγειακής υποστήριξης, μια καρκινική εστία μπορεί να εξελιχθεί σε νεκρωτική, όπως αποδείχθηκε από τις πρώτες κιόλας μελέτες χρήσης των αναστολέων αγγειογένεσης σε καρκινικές σειρές κυττάρων και πειραματικά μοντέλα μυών [80, 81].

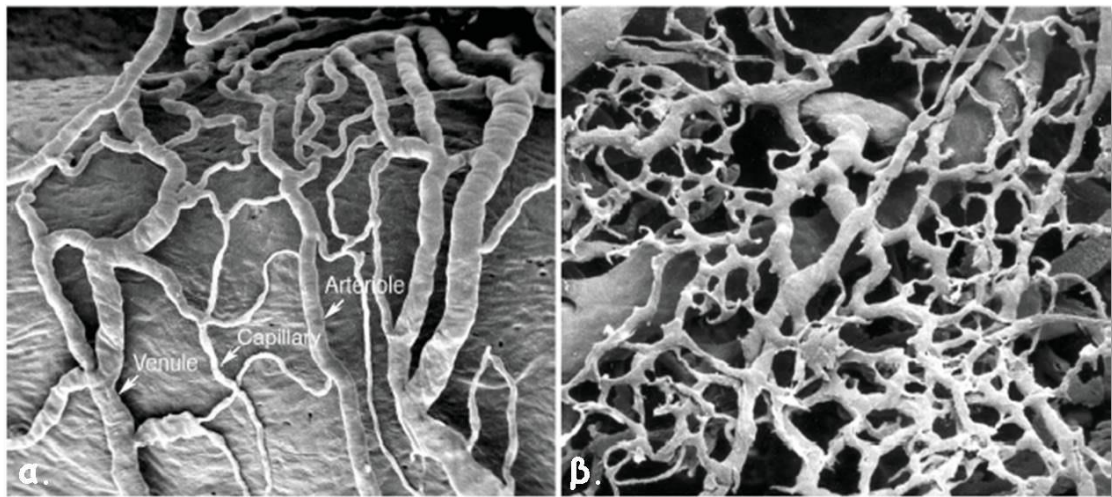


Εικόνα 9: Ο ρόλος της αγγειογένεσης στην καρκινογένεση, στην αύξηση του πρωτογενούς όγκου και στην ανάπτυξη της μεταστατικής του ικανότητας. Η αύξηση σε μέγεθος του πρωτογενούς όγκου περιορίζεται στα αρχικά στάδια που η θρέψη των κυττάρων γίνεται μόνο μέσω διάχυσης και στερείται δικού του αγγειακού δικτύου. Η ενεργοποίηση του αγγειογενετικού του διακόπτη επιτρέπει στον όγκο να χρησιμοποιήσει τα εγγύς σε αυτόν αγγεία και να δημιουργηθούν νέα αγγεία μέσα στον όγκο, στάδιο που είναι απαραίτητο για την περαιτέρω ανάπτυξή του. Το επόμενο βήμα είναι η εισβολή των καρκινικών κυττάρων μέσα στο αγγειακό τοίχωμα και διασπορά αυτών σε απομακρυσμένα όργανα όπου δημιουργούνται σιωπηρές μικρομεταστάσεις. Στο τελικό πια στάδιο ανάπτυξης, δευτεροπαθής αγγειογένεση μπορεί να προκύψει σε αυτές τις μικρομεταστάσεις, επιτρέποντας την εξέλιξή τους σε ενεργείς δευτεροπαθείς εστίες [66].

Όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη ενότητα, ο αγγειογενετικός διακόπτης των κυττάρων, οι ενεργοποιητές και οι αναστολείς της αγγειογένεσης αποτελούν πλέον ένα πολύ σημαντικό πεδίο της ογκολογικής έρευνας, με ιδιαίτερα σημαντική εφαρμογή στην θεραπεία του καρκίνου. Η καρκινική αγγειογένεση αποτελεί ουσιαστικά μια διαδικασία με 4 βήματα:

1) η βασική μεμβράνη των ιστών τραυματίζεται τοπικά με επακόλουθο την υποξία,

- 2) ενδοθηλιακά κύτταρα ενεργοποιούνται από αγγειογενετικούς παράγοντες και μεταναστεύουν,
- 3) τα ενδοθηλιακά κύτταρα πολλαπλασιάζονται και σταθεροποιούνται και
- 4) αγγειογενετικοί παράγοντες συνεχίζουν να ενισχύουν την αγγειογενετική διαδικασία. Τα νέα αγγεία σταθεροποιούνται με τη βοήθεια υποστηρικτικών κυττάρων (λεία μυϊκά κύτταρα και περικύτταρα) και ωριμάζουν με την έναρξη της ροής αίματος (Εικόνα 10) [3].



Εικόνα 10: Συγκριτική απεικόνιση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (α) του φυσιολογικού δικτύου αρτηριολίων- τριχοειδών- φλεβιδίων και (β) του δικτύου της καρκινικής νεοαγγείωσης με την άτακτη αρχιτεκτονική [82].

1.3.2. Αγγειογένεση κι αθηροσκληρωτική νόσος

Στην αθηροσκληρωτική νόσο, ο ρόλος της αγγειογένεσης παραμένει ένα επίμαχο ζήτημα, και δεν έχει ακόμα ξεκαθαριστεί από τους ειδικούς εάν η αγγειογένεση είναι ένας σημαντικός μηχανισμός στην παθογένεση της δημιουργίας της αθηρωματικής πλάκας ή ένας τρόπος να θεραπεύσουμε την στεφανιαία νόσο. Η αντιπαράθεση γύρω από τον ρόλο της αγγειογένεσης στην χρόνια ισχαιμική καρδιοπάθεια αντικατοπτρίζει, εν μέρει, την περιπλοκότητα του υποκείμενου μηχανισμού δημιουργίας της νόσου. Ένας όγκος δεδομένων που αυξάνεται συνεχώς υποστηρίζει την σχέση ανάμεσα στην αγγειογένεση μέσα στην πλάκα και τα οξέα στεφανιαία σύνδρομα [83]. Αυτές οι ευάλωτες αθηρωματικές πλάκες είναι περισσότερο πιθανό να ραγούν και να προκαλέσουν ενδοαρτηριακή απόφραξη. Στην περίπτωση των στεφανιαίων αρτηριών, αυτός ο ξαφνικός και καταστροφικός περιορισμός της παροχής αίματος στον καρδιακό μυ προκαλεί ένα οξύ στεφανιαίο επεισόδιο, που μπορεί να καταλήξει σε θανατηφόρο επιδείνωση της καρδιακής λειτουργίας [84]. Το οξύ πρόβλημα στην περίπτωση της στεφανιαίας νόσου είναι συνεπώς η αγγειακή ανεπάρκεια, αλλά αυτό είναι το αποτέλεσμα μιας πολύπλοκης παθοφυσιολογικής διεργασίας στην οποία η αγγειογένεση παίζει ζωτικό ρόλο, χωρίς αυτός να έχει ξεκαθαριστεί πλήρως.

Οι διαφωνίες όσον αφορά τον παθογενετικό ρόλο της αγγειογένεσης στην αθηροσκλήρωση είναι ιδιαίτερα ενεργή τα τελευταία χρόνια γιατί μια θεραπευτική πρόταση είναι η χρήση αγγειογενετικών κυτοκίνων όπως ο VEGF ή μέλη της οικογένειας του FGF για την κινητοποίηση του παράπλευρου αγγειακού δικτύου στην χρόνια ισχαιμική καρδιοπάθεια όπως και στην χρόνια ισχαιμία των άκρων, προσέγγιση που καλείται θεραπευτική αγγειογένεση [85]. Παρόλο που αυτή η στρατηγική

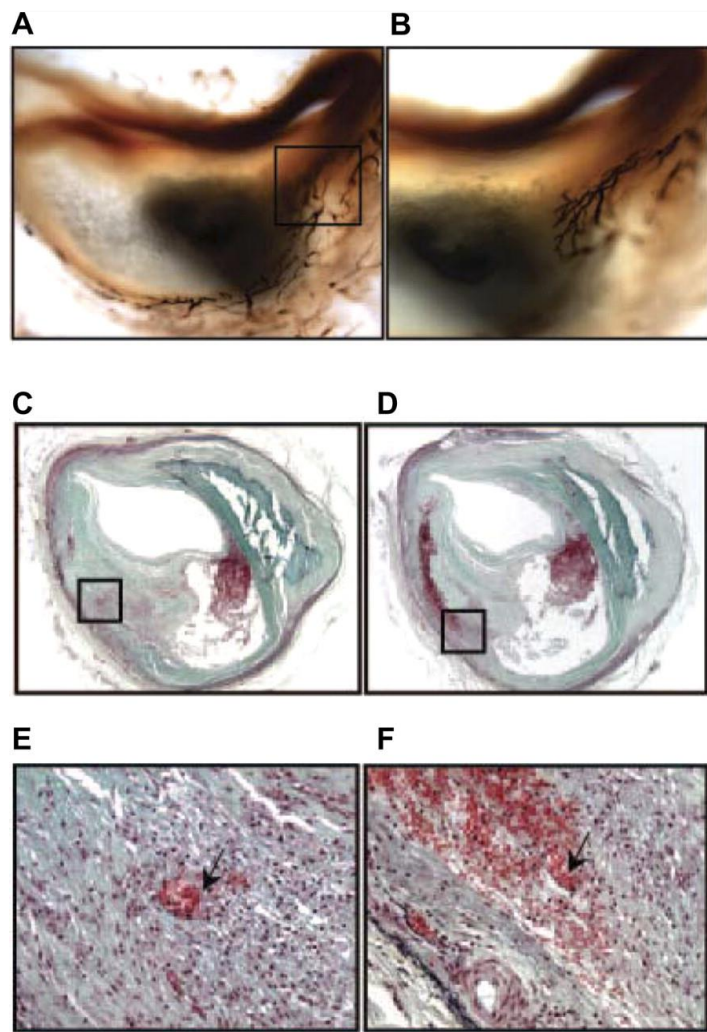
υποστηρίζεται από εντυπωσιακά προκλινικά δεδομένα μελετών που δείχνουν ότι ο VEGF, ο FGF-2 και άλλες κυτοκίνες της αγγειογένεσης μπορούν να προάγουν την επαναγγείωση σε διαφορετικά πειραματικά μοντέλα ισχαιμικής καρδιοπάθειας, τα δεδομένα από τις κλινικές μελέτες μέχρι στιγμής δεν έχουν καταλήξει σε συγκεκριμένα συμπεράσματα. Ακόμα περισσότεροι προβληματισμοί για τους υποστηρικτές της θεραπευτικής αγγειογένεσης δημιουργήθηκαν από πρόσφατες μελέτες που δείχνουν ότι οι αγγειογενετικοί παράγοντες μπορούν να προάγουν την αθηρωμάτωση σε ορισμένα πειραματικά μοντέλα και δυνητικά να προκαλέσουν αποσταθεροποίηση της αθηρωματικής πλάκας με την ενίσχυση ενεργοποιώντας την ενδοπλακική αγγειογένεση [86, 87, 88].

Η προέλευση των νεοσχηματισμένων αγγείων και ο παθογενετικός ρόλος της αγγειογένεσης είναι σημαντικά ανεπίλυτα ζητήματα στην κατανόηση των μηχανισμών της δημιουργίας της πλάκας. Επιπλέον, η έλλειψη συναίνεσης ειδικών (consensus) σχετικά με την συμβολή της αγγειογένεσης έχει σημαντικές πρακτικές εφαρμογές γιατί συνεχίζουν να υπάρχουν τα ερωτηματικά για την χρήση του VEGF και άλλων αγγειογενετικών παραγόντων στη θεραπεία της χρόνιας ισχαιμικής καρδιαγγειακής νόσου.

Πολλές μεγάλες ανθρώπινες αρτηρίες έχουν μικροαγγείωση μέσα στον έξω χιτώνα τους που καλούνται vasa vasorum [89]. Τα φυσιολογικά vasa vasorum προέρχονται από κλάδους των στεφανιαίων αρτηριών σε κανονικά διαστήματα και πορεύονται κατά μήκος του αγγειακού τοιχώματος. Αυτά τα αγγεία μετά χωρίζονται για να σχηματίσουν κυκλοτερείς αψίδες γύρω από τον κύριο στεφανιαίο αυλό. Επειδή η διάχυση των θρεπτικών στοιχείων από τον αυλό περιορίζεται σε μια απόσταση περίπου 100μm, μια πρωταρχική λειτουργία αυτών των αγγείων θεωρείται η μεταφορά θρεπτικών στοιχείων στο αγγειακό τοίχωμα, αν και άλλοι ρόλοι δεν αποκλείονται.

Η αυξημένη αγγειογένεση θεωρείται θεμελιώδες στοιχείο της ευάλωτης αθηρωματικής πλάκας και του παθοφυσιολογικού μηχανισμού ανάπτυξης των οξέων στεφανιαίων συνδρόμων [90, 91, 92]. Η πρώτη συσχέτιση της αγγειογένεσης του ενδοθηλίου και της αθηρωμάτωσης παρατηρήθηκε το 1876 από τον Koester, που επιβεβαιώθηκε από τον Wintemitz το 1938. Ο Paterson πρώτος το 1938 πρότεινε την ρήξη των τριχοειδών αγγείων της πλάκας σαν μηχανισμό που μπορεί να οδηγήσει στην ενδοπλακκική αιμορραγία και την θρόμβωση των στεφανιαίων. Αργότερα βρέθηκε ότι το ενδοθήλιο των αρτηριών των ενηλίκων δεν έχει αγγειακό δίκτυο μέχρι να ξεπεράσει ένα συγκεκριμένο πάχος. Πλέον έχει αποδειχθεί ότι η αγγειογένεση σχετίζεται άμεσα με την αθηροσκληρωτική νόσο, μέσω του δικτύου των vasa vasorum που αιματώνουν το τοίχωμα των αγγείων [89]. Η λειτουργία τους φαίνεται να παίζει μεγάλο ρόλο στην αύξηση της αθηρωματικής πλάκας μέσα από πολυάριθμες μελέτες, όπως αυτή των Barger και συνεργατών που έδειξε ότι η αύξηση των vasa vasorum στον έξω χιτώνα των αγγείων, επιτρέπουν την ανάπτυξη αυτών πέρα από ένα κρίσιμο σημείο, αφού παρέχουν οξυγόνο και συστατικά στον πυρήνα της πλάκας [93]. Επιπλέον η ανάπτυξη τους συμβάλει στην αστάθεια της πλάκας, καθώς σε βλάβη του τοιχώματος του αγγείου, εκείνα πολλαπλασιάζονται κατά 50-60 φορές για να ικανοποιήσουν τις αυξημένες ανάγκες αιμάτωσης και γίνονται εύθραυστα. Αυτό μπορεί να προκαλέσει είτε μικρότερης έκτασης αιμορραγία εντός της αθηρωματικής πλάκας κι αύξηση του μεγέθους της, είτε μεγαλύτερης έκτασης αιμορραγία με ρήξη της πλάκας, έκθεση του περιεχομένου της στην κυκλοφορία, δημιουργία θρόμβου κι απόφραξη του αυλού, όπως έχει φανεί και μέσα από νεκροτομικές μελέτες (Εικόνα 11) [94, 95, 96, 97, 98, 99]. Η αθηροσκλήρωση υπερχοληστερολαιμικών πιθήκων αυξάνει την αιματική ροή μέσω των vasa vasorum, ενώ η υποστροφή της πλάκας επιφέρεται από την παύση της υπερχοληστερολικής διατροφής, σχετίζεται με την απώλεια των vasa vasorum και με

σημαντική μείωση της αιματικής ροής μέσα από αυτά στον έσω και μέσο χιτώνα των στεφανιαίων αρτηριών [100].



Εικόνα 11: Η ανάδειξη του ρόλου της αγγειογένεσης και των vasa vasorum στην ευάλωτη αθηρωματική πλάκα από τους Virmani και συν. Τα νεοαγγεία εκτείνονται από τον έξω, στον μέσο και έσω χιτώνα (Α) και κλάδοι τους εισβάλλουν στο όριο του νεκρωτικού πυρήνα (Β). Τα αγγεία αυτά είναι εύθραυστα και δεν υποστηρίζονται από στρωματικά κύτταρα, κάτι που τα καθιστά ευάλωτα σε διαρροές. Στις παθολογοανατομικές τομές C-E από στεφανιαίες ανθρώπινες αρτηρίες, απεικονίζονται πρόσφατες αιμορραγίες σε ευάλωτες αθηρωματικές πλάκες με λεπτή ινώδη κάψα, καθώς και τα vasa vasorum που περικλείονται από εξαγγειωμένα ερυθροκύτταρα (βέλη) [95, 101].

Μεταγενέστερες μελέτες έχουν αποκαλύψει μια περισσότερο σύνθετη εικόνα της σχέσης ανάμεσα στην αγγειογένεση στην πλάκα και την παθολογία της αθηροσκλήρωσης, με την αγγειογένεση να είναι περισσότερο συχνή σε σημεία διείσδυσης χρόνιων φλεγμονωδών κυττάρων όπως μακροφάγων και λεμφοκυττάρων, αλλά λιγότερο συχνή σε πλάκες με μεγαλύτερη ασβέστωση και ίνωση [102]. Επιπλέον, παρόλο που η ελάχιστη αιμορραγία ήταν συχνή γύρω από τα νεοσχηματισθέντα αγγεία, η παρουσία της ήταν μικρότερη στα σημεία με την μεγαλύτερη πυκνότητα αγγείων [103]. Τα vasa vasorum του έσω χιτώνα ήταν συχνό αλλά όχι απαραίτητο στοιχείο της παθολογίας της πλάκας. Σε μία μελέτη, μικροαγγεία στον έσω χιτώνα ανιχνεύθηκαν στο 42% των πρωτοπαθών και στο 64% των επαναστενωμένων αγγείων παθολογοανατομικής μελέτης [99]. Η σχέση ανάμεσα στην αγγειογένεση και την σοβαρότητα της νόσου είναι λιγότερο βέβαιη, αλλά η απεικόνιση με micro αξονική τομογραφία έδειξε υψηλή συσχέτιση ($r=0,71$) ανάμεσα στα vasa vasorum και την επιφάνεια του τοιχώματος των στεφανιαίων αρτηριών υπερχοληστερολαιμικών χοίρων [104]. Ο ρόλος της αγγειογένεσης και της αστάθειας της πλάκας έχει προταθεί ευρέως, αλλά λείπει ακόμα η άμεση απόδειξη αυτής, εν μέρει επειδή ένα μεγάλο μέρος των παραγόντων που οδηγούν στη ρήξη της πλάκας παραμένει άγνωστο κι επειδή δεν έχουν αναπτυχθεί ακόμα αξιόπιστα μοντέλα ζώων ανάλογα του ανθρώπου όσον αφορά την ρήξη της πλάκας.

Όσες μελέτες έχουν γίνει σε βλάβες ανθρώπινων αρτηριών προτείνουν χωροχρονική σχέση ανάμεσα στα μικροαγγεία και τις περιοχές με τις πλάκες που είναι πλέον επικίνδυνες για ρήξη. Τα μικροαγγεία φαίνεται να έχουν την τάση να συγκεντρώνονται στις περιοχές του ώμου της πλάκας, ενώ μια μελέτη 269 ανθρώπινων αθηρωματικών πλακών έδειξε ότι οι σχηματισμοί νεοαγγείων έχουν ισχυρή συσχέτιση τόσο με την ρήξη της πλάκας όσο και με την παρουσία των υπόλοιπων στοιχείων που αποτελούν

κομμάτι της ευάλωτης αθηρωματικής πλάκας. Έτσι, αύξηση της πυκνότητας των μικροαγγείων παρατηρήθηκε στις περιοχές με ρηχθείσες πλάκες και στις περιοχές του όμου της πλάκας, ενώ συσχετίστηκε με αυξημένη διείσδυση μακροφάγων, ενδοπλακική αιμορραγία και λεπτή κάψα της πλάκας [105]. Πρόσθετα στην συσχέτιση των μικροαγγείων και της ευάλωτης αθηρωματικής πλάκας, αρκετές προαγγειογενετικές κυτοκίνες εκφράζονται στις ανθρώπινες βλάβες, δίνοντας μεγαλύτερο βάρος στον ισχυρισμό ότι η αγγειογένεση είναι μια ενεργός διαδικασία στο αθηρωματικό περιβάλλον. Η νεοαγγειογένεση είναι αναμφισβήτητα κοινό, αν και μεταβλητό, στοιχείο της παθολογίας των ανθρώπινων αθηρωματικών πλακών και συχνά βρίσκεται σε πειραματικά μοντέλα μεγάλων ζώων (χοίροι, κύνες) με αθηροσκλήρωση και πάχυνση του έσω χιτώνα. Καμία από αυτές τις μελέτες όμως δεν απέδειξαν ότι τα *vasa vasorum* συμμετέχουν σε σημαντικό βαθμό στην εξέλιξη της νόσου.

Ωστόσο παραμένει η αίσθηση ότι η αγγειογένεση είναι ένας σημαντικός παράγοντας που συνεισφέρει στην αστάθεια και ρήξη της πλάκας. Η ερμηνεία των δεδομένων που υποστηρίζουν τον ρόλο της αγγειογένεσης στην αθηροσκλήρωση αποτελεί επίσης θέμα στην ανάπτυξη της κατανόησης των μηχανισμών που οδηγούν στην αγγειογένεση. Η $\alpha_v\beta_3$ ιντεγκρίνη έχει προταθεί πως παίζει ρόλο-κλειδί στην αγγειογένεση, λειτουργώντας ως διεγέρτης στον αγγειογενετικό διακόπτη των ενδοθηλιακών κυττάρων [106]. Συνεπώς, η αυξημένη έκφραση στον έξω χιτώνα και στα μικροαγγεία της πλάκας της ιντεγκρίνης προσμετρήθηκε ως στοιχείο του ρόλου της αγγειογένεσης στην ανάπτυξη της πλάκας [107]. Νέα δεδομένα αμφισβητούν την αρχική άποψη ότι η ιντεγκρίνη παίζει μεγάλο ρόλο στην παθοφυσιολογία της αγγειογένεσης και προτείνουν στην πραγματικότητα ότι περιορίζει την αγγειογένεση [108]. Τα ισχυρότερα πειραματικά στοιχεία για τον γενεσιουργό ρόλο της αγγειογένεσης στην

αθηρωμάτωση, έρχονται από μελέτες υπερχοληστερολαιμικών μοντέλων μυών με έλλειψη της απολιποπρωτεΐνης E (Apo E $_/_$) [88]. Η ενδοστατίνη και ο TNP-470, δύο συγκεκριμένοι αναστολείς της αγγειογένεσης, μειώνουν την περιοχή της πλάκας στους (ApoE $_/_$) μύες κατά 85% και 70% αντίστοιχα. Αυτή η μελέτη είχε τεράστια επίδραση, καθώς παρείχε τις πρώτες άμεσες αποδείξεις ότι η αγγειογένεση εμπλέκεται στην διαδικασία του σχηματισμού της πλάκας. Το ίδιο εργαστήριο επέκτεινε τα αρχικά του ευρήματα δείχνοντας ότι ένας άλλος αναστολέας της αγγειογένεσης, η αγγειοστατίνη, μειώνει την αθηροσκλήρωση στο ίδιο μοντέλο μυών [109]. Από μια άλλη όψη όμως, οι μελέτες των Moulton et al. προκάλεσαν τόσα ερωτήματα όσα αυτά που απάντησαν. Όπως υπέδειξαν οι σχολιαστές της μελέτης, οι ερευνητές δεν έλεγξαν αν αυτοί καθαυτοί οι αγγειογενετικοί παράγοντες προήγαγαν την αθηροσκλήρωση. Οι αντιαγγειογενετικοί παράγοντες θα μπορούσαν να έχουν αόριστη δράση που να μην οφείλεται μόνο στην αναστολή της δημιουργίας αγγείων. Ένα άλλο σημαντικό ζήτημα ήταν κατά πόσο το μοντέλο των μυών ήταν κατάλληλο για την μελέτη της αγγειογένεσης στην πλάκα. Η συχνότητα των πλακών με παρουσία αγγείων που παρουσιάστηκε ήταν σχετικά χαμηλή. Δεν αναφέρθηκε καμία βλάβη με λιπώδη πυρήνα, ενώ ενδοπλακικά αγγεία υπήρχαν μόλις στις 15 από τις 114 προχωρημένες αορτικές βλάβες (13%). Ακόμα και στις μεγαλύτερου μεγέθους πλάκες (πάχος >250 μ m), μόνο οι 13 από τις 46 πλάκες περιείχαν αγγεία. Καθώς οι αορτές των μυών είναι σχετικά μικρές και έχουν λεπτό μέσο χιτώνα, αυτά τα ευρήματα συμφωνούν με την υπόθεση ότι η αγγειογένεση που προκαλείται σαν μηχανισμός προσαρμογής στην υποξία, προκύπτει μόνο όταν οι ιστοί απέχουν >100 μ m από ένα τριχοειδές [110]. Συνεπώς μοιάζει απίθανο όλες αυτές οι επιδράσεις των αντιαγγειογενετικών παραγόντων στην αθηροσκλήρωση στο μοντέλο αυτό των μυών να οφείλονται στην

αναστολή της αγγειογένεσης της πλάκας, απλώς γιατί οι περισσότερες πλάκες των αγγείων των μυών φαίνεται να στερούνται αγγείων μέσα στο τοίχωμα.

Μια άλλη μελέτη που έχει προκαλέσει μεγάλη συζήτηση με τα αποτελέσματά της, έδειξε ότι η ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση ανασυνδυασμένης ανθρώπινης VEGF πρωτεΐνης προήγαγε την αγγειογένεση σε μύες με διπλή έλλειψη των Apo-E και ApoB100. Οι δράσεις του VEGF ήταν η αύξηση των πρόδρομων ενδοθηλιακών κυττάρων που προέρχονται από τον μυελό των οστών και των μακροφάγων /μονοκυττάρων, της πυκνότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων της πλάκας και της διείσδυση των μακροφάγων σε αυτήν [86]. Η μακροχρόνια αυτή δράση της VEGF πρωτεΐνης αναφέρεται ότι προήλθε μετά από μία και μοναδική bolus έγχυση. Καθώς όμως η φαρμακοκινητική σε ζώα και στον άνθρωπο δείχνει ότι η πρωτεΐνη αυτή καθαρίζεται από την κυκλοφορία μέσα σε λίγες ώρες από την ενδοφλέβια χορήγηση, η βιολογική δράση μίας και μοναδικής δόσης αμφισβητείται [111].

Ένα γενικότερο πρόβλημα με τις μελέτες της δράσης του VEGF στην αγγειογένεση είναι ότι αυτός έχει μεγάλο εύρος άλλων βιολογικών δράσεων, συμπεριλαμβανομένων των: αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα, χημειοταξία των μονοκυττάρων, αγγειοδιαστολή, υπόταση [6]. Είναι δύσκολο να αποδώσουμε όλες αυτές τις δράσεις του VEGF αποκλειστικά στην αγγειογένεση, ενώ οι προκλινικές και οι κλινικές μελέτες μέχρι στιγμής δεν έχουν καταλήξει σε ασφαλή συμπεράσματα όσον αφορά την πιθανή προαθηρωσκληρωτική δράση του. Σε αρκετές μελέτες που εκτίμησαν την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα της γονιδιακής και πρωτεϊνικής θεραπείας με VEGF για την ισχαιμική στεφανιαία και περιφερική αρτηριοπάθεια, αυτές αποδείχθηκε ότι έχουν εξαιρετικό προφίλ ασφαλείας χωρίς να προκύψουν στοιχεία που να δείχνουν ότι ενισχύουν την αθηροσκλήρωση ή ότι αυξάνουν τα συμπτώματα της νόσου [112, 113]. Στην μελέτη VIVA (VEGF in Ischemia for Vascular Angiogenesis),

μία διπλή τυφλή μελέτη με 178 ασθενείς, η ενδοστεφανιαία και η ενδοφλέβια χορήγηση ανασυνδυσμένου ανθρώπινου VEGF ήταν ασφαλής και καλώς ανεκτή. Όμως πρέπει να τονιστεί ότι η χορήγηση αυτή δεν φάνηκε να έχει κάποια σημαντικό κλινικό αποτέλεσμα [113].

1.4. Αναστολείς της αγγειογένεσης

1.4.1. Αναστολείς της αγγειογένεσης στη θεραπεία του καρκίνου

Όπως περιγράφηκε στην προηγούμενη ενότητα, η αγγειογένεση παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του καρκίνου και στην μεταστατική του ικανότητα, με τον μηχανισμό του αγγειογενετικού διακόπτη να ενεργοποιείται μέσω της μείωσης των επιπέδων έκφρασης των αναστολέων ή αύξησης των διεγερτών. Η ανάπτυξη νεοαγγείων στους όγκους αποτελεί έναν νέο στόχο στην ανάπτυξη θεραπειών, που συγκεντρώνει όλο και περισσότερο το επιστημονικό ενδιαφέρον, τόσο σε ερευνητικό όσο και σε κλινικό πλέον επίπεδο [2, 63, 114]. Οι θεραπείες αυτές ποικίλουν από μικρά μόρια έως μονοκλωνικά αντισώματα και κυτταροκίνες, ενώ με την δράση τους μειώνουν την παραγωγή των αγγειογενετικών παραγόντων, την δέσμευση τους στους υποδοχείς ή την τελική μεταγωγή σήματος από αυτούς. Οι περισσότερες από αυτές τις θεραπείες στοχεύουν στον VEGF λόγω της σπουδαιότητάς του στην διαδικασία της αγγειογένεσης. Οι τρεις γενικοί μηχανισμοί δράσης των αναστολέων της αγγειογένεσης μέσω του VEGF που έχουν ήδη εγκριθεί από τον FDA και χρησιμοποιούνται στην καθ' ημέρα κλινική πράξη είναι:

- α) η αναστολή παραγωγής του VEGF, όπως από τη Γεφτινίμη- Iressa που χρησιμοποιείται στην θεραπεία του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονος με μεταλλάξεις του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα με δράση κινάσης τυροσίνης [EGFR-TK] [115, 116]
- β) η απενεργοποίηση μέσω πρόσδεσης στον ίδιο τον VEGF, όπως από την Μπεβασιζουμάμη- Avastin στη θεραπεία πολλών μορφών καρκίνου, όπως του μαστού, του παχέος εντέρου και των ωοθηκών [117].

γ) η αδρανοποίηση των υποδοχέων του VEGF, όπως του VEGFR-2 από τη Σουντινίμπη- Sutent στη θεραπεία του μεταστατικού νεφροκυτταρικού καρκινώματος, των νευροενδοκρινικών όγκων του παγκρέατος και των στρωματικών όγκων του γαστρεντερικού [118].

Όλες αυτές οι αντιαγγειογενετικές θεραπείες χρησιμοποιούνται πλέον σε πολύ μεγάλο εύρος ιστολογικών τύπων όγκων, μόνες τους ή σε συνδυασμό με συμβατική χημειοθεραπεία.

Εκτός από τις αντιαγγειογενετικές θεραπείες που στοχεύουν στον VEGF, υπάρχουν άλλες στρατηγικές που έχουν σαν στόχο την αύξηση αναστολέων, όπως είναι η Θρομβοσπονδίνη-1, η αγγειοστατίνη και η ενδοστατίνη [119, 120, 121].

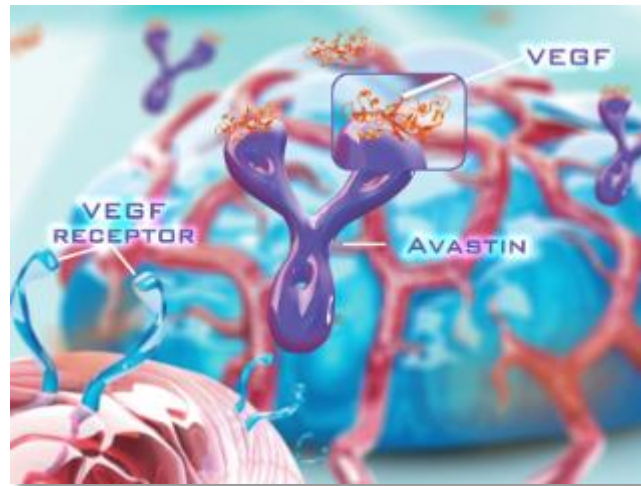
Πέρα από την κλασσική ενδοφλέβια ή από του στόματος (για τα μικρότερα μόρια) χορήγηση, μελετώνται συνεχώς στρατηγικές γονιδιακής θεραπείας με την χρήση ανασυνδυασμένων αδενοϊών, με ενθαρρυντικά σε κάποιες περιπτώσεις αποτελέσματα [122, 123]. Επιπλέον, νέοι στόχοι για την αναστολή της αγγειογένεσης ανακαλύπτονται συνεχώς, όπως τα πρόδρομα ενδοθηλιακά κύτταρα που συμμετέχουν στον σχηματισμό νέων αγγείων, τα λεμφαγγεία και τα μωσαϊκά αγγεία, δηλαδή τα αγγεία που έχουν και καρκινικά κύτταρα στο τοίχωμά τους και αποτελούν το 15% των αγγείων ενός όγκου [124].

1.4.2. Η μπεβασιζουμάμπη στη θεραπεία του καρκίνου

Η μπεβασιζουμάμπη (Avastin) είναι ένα ανασυνδυασμένο εξανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα μοριακού βάρους 149 kDalton που αποτελείται από 214 αμινοξέα και παράγεται με τεχνολογία DNA σε κύτταρα ωοθήκης από Chinese

Hamster. Η μπεβασιζουμάμπη αποτελεί τον πρώτο αναστολέα του VEGF που εγκρίθηκε και χρησιμοποιείται στη θεραπεία του καρκίνου (Εικόνα 12) [125].

Πλεονέκτημα σε σύγκριση με τους μικρού μοριακού βάρους αναστολείς του VEGF αποτελεί ο μεγάλος χρόνος ημίσειας ζωής μετά την ενδοφλέβια έγχυση του φαρμάκου (17-21 ημέρες).

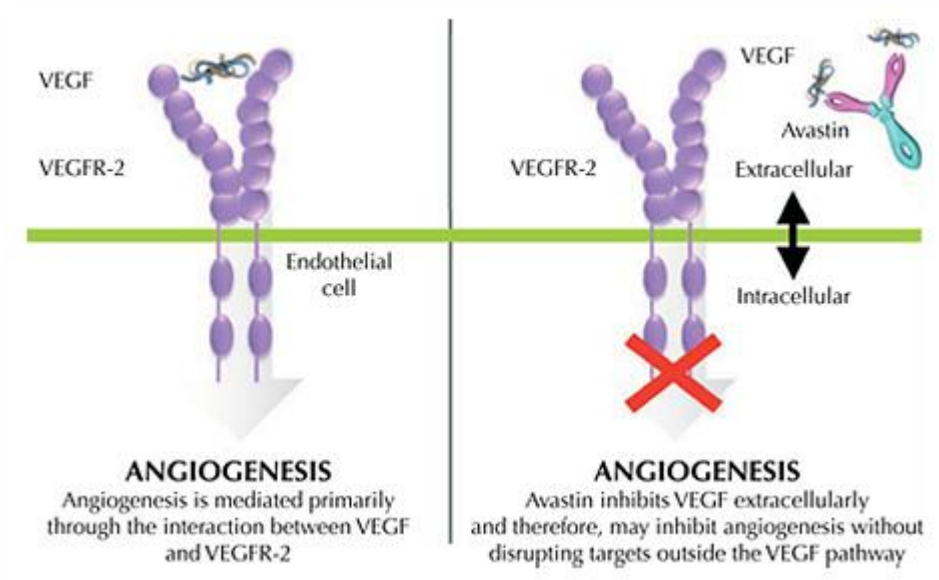


Εικόνα 12: Το ανασυνδυασμένο εξανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα της μπεβασιζουμάμπης.

Η μπεβασιζουμάμπη έχει ένδειξη στην θεραπεία πρώτης και δεύτερης γραμμής του μεταστατικού καρκίνου του παχέος εντέρου και του ορθού σε συνδυασμό με 5-φθοριουρακίλη/ φολινικό οξύ ή 5-φθοριουρακίλη/ φολινικό οξύ/ ιρινοτεκάνη ή οξαλιπλατίνη/ καπεσιταμίνη, στο μεταστατικό HER2 αρνητικό καρκίνο του μαστού σε συνδυασμό με πακλιταξέλη, στο μεταστατικό καρκίνο του νεφρού, στο μεταστατικό μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα, στο γλοιοβλάστωμα, ενώ χρησιμοποιείται και στον καρκίνο των ωοθηκών σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία ή μόνη της σαν θεραπεία συντήρησης [9, 10, 24, 126, 127, 128, 129, 130, 131].

1.4.3. Μηχανισμός δράσης της μπεβασιζουμάμπης

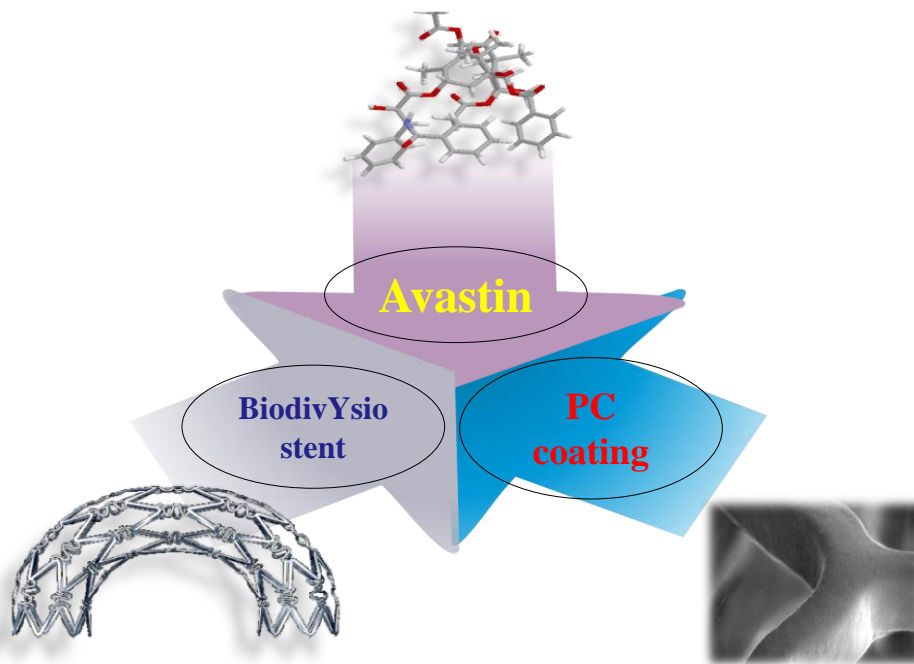
Η αγγειογένεση, όπως περιεγράφη, αποτελεί μια σύνθετη διαδικασία, ειδικά όσον αφορά τον ρόλο της στην ανάπτυξη και εξέλιξη των όγκων. Το αγγειακό δίκτυο των όγκων έχει εξ αρχής παθολογική δομή με αποτέλεσμα υψηλές πιέσεις μέσα σε αυτό και άτακτη διάχυση των θρεπτικών στοιχείων και του οξυγόνου στα διάφορα σημεία του. Αυτό οδηγεί σε υποξία, συνθήκη που με την σειρά της αυξάνει την έκφραση του VEGF, που φαίνεται να συνδέεται ανάλογα με την έκταση του αγγειακού δικτύου του όγκου και με την κλινική πρόγνωση. Το αντίσωμα της μπεβασιζουμάμπης συνδέεται άμεσα με τον αυξητικό παράγοντα VEGF εμποδίζοντάς τον έτσι να συνδεθεί με τους υποδοχείς του VEGFR-1 και VEGFR-2, που βρίσκονται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων (Εικόνα 13). Η αναστολή της σύνδεσης του VEGF με τους υποδοχείς του και κυρίως με τον VEGFR-2, εμποδίζει την αγγειογένεση και προκαλεί την υποστροφή των ήδη δημιουργηθέντων νεοααγείων.



Εικόνα 13: Η μπεβασιζουμάμπη συνδέεται άμεσα με τον VEGF και αναστέλλει την πρόσδεσή του στους υποδοχείς του.

1.4.4. Μπεβασιζουμάμη και αθηρωματική πλάκα

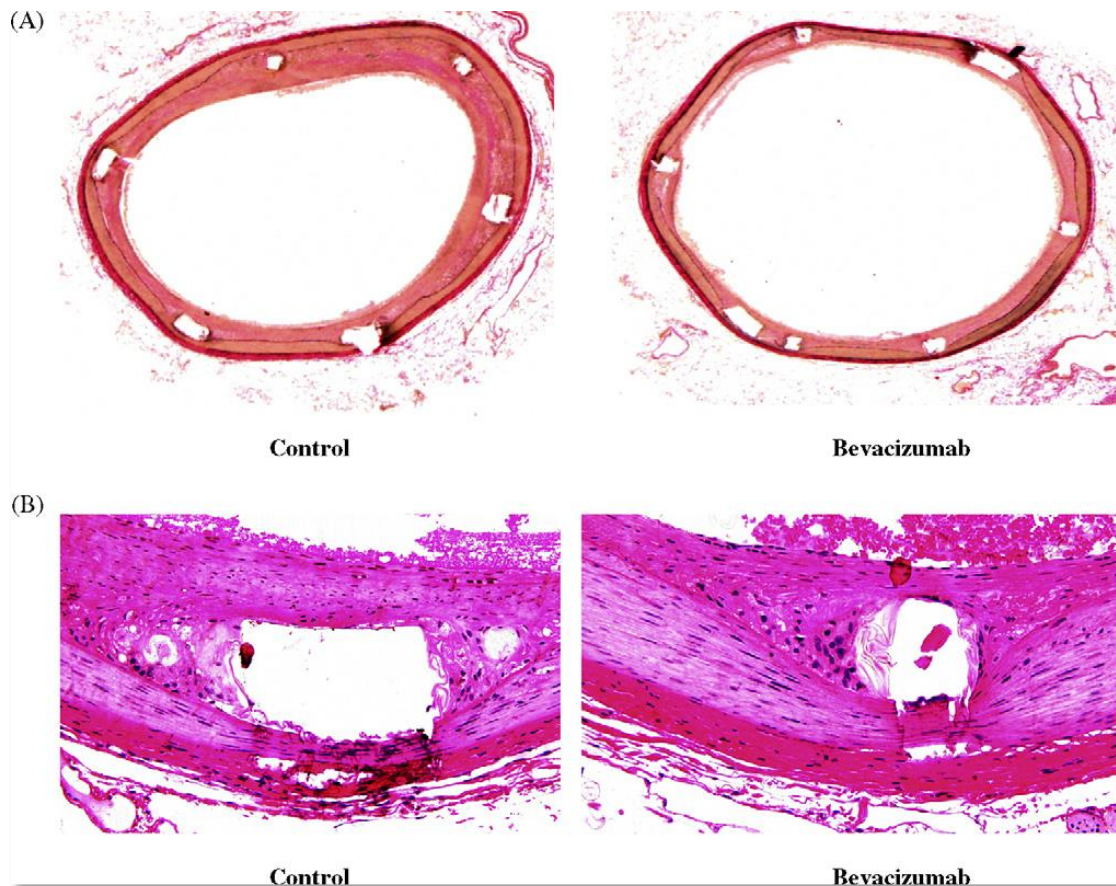
Στην Α΄ Καρδιολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών δημιουργήθηκε ένας τύπος ενδοπρόθεσης (stent) που αποτελείται από ένα Biodiv Ysio σκελετό κατασκευασμένο από ανοξείδωτο ατσάλι και φωσφορυλοχολίνη, και επενδύεται με τη φαρμακευτική ουσία μπεβασιζουμάμη (Εικόνα 14).



Εικόνα 14: Το Avastin stent αποτελείται από ένα Biodiv Ysio σκελετό που επενδύεται με φωσφορυλοχολίνη κι εμβαπτίζεται στη φαρμακευτική ουσία μπεβασιζουμάμη.

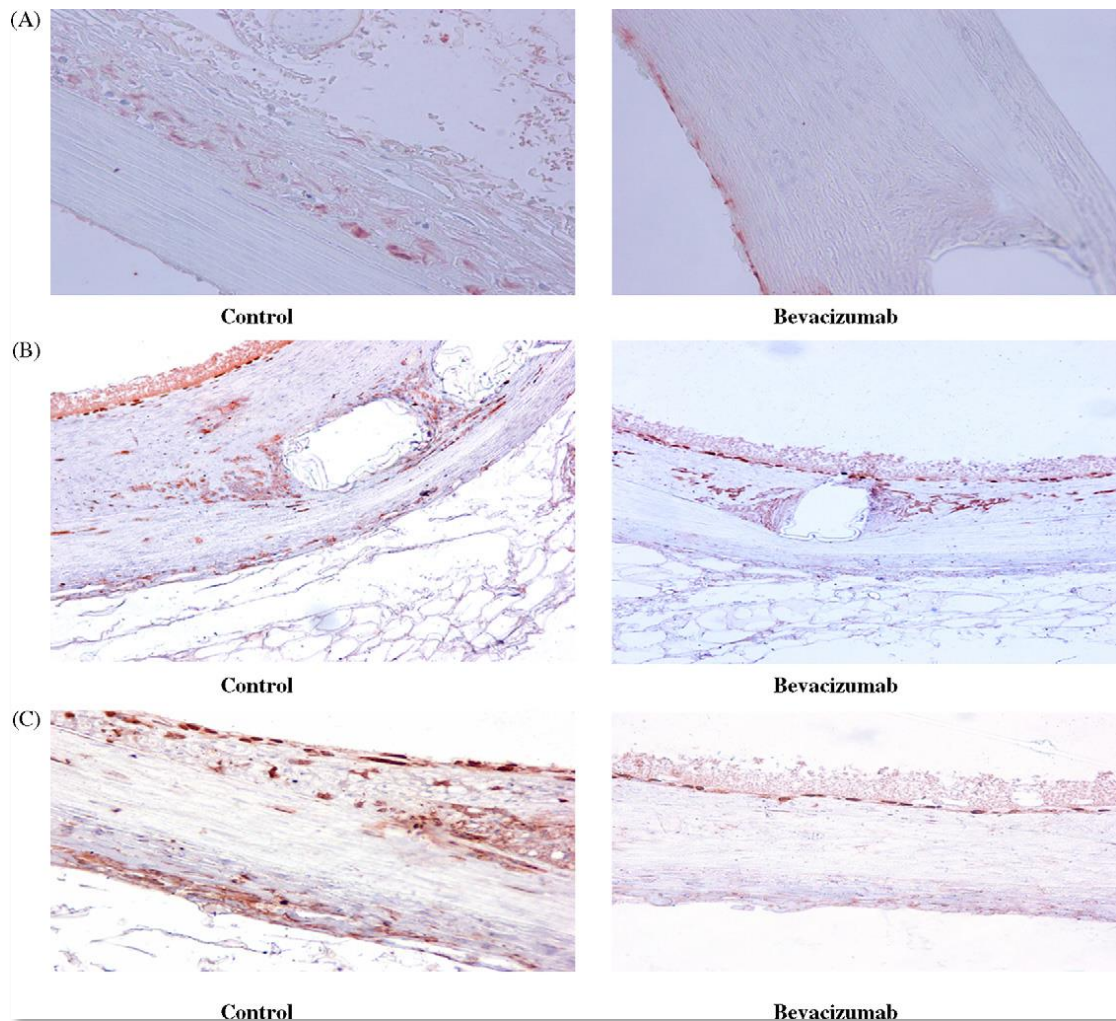
Η πρώτη μελέτη του bevacizumab stent έγινε σε πειραματικό αθηρωματικό μοντέλο με κουνέλια, όπου κι έγινε εμφύτευση αυτού στον μεσαίο τομέα της λαγονίου αρτηρίας, ενώ στην αντίθετη λαγόνιο έγινε εμφύτευση BiodivYsio stent μη επενδεδυμένου με bevacizumab. Τα δύο stent είχαν ίδια διάμετρο (2 mm), ενώ το μήκος αυτών κυμαινόταν από 7 έως 18 mm, σύμφωνα με την εκτίμηση του επεμβατικού όσον αφορά την έκφυση των πλάγιων κλάδων. Μετά την διάταση του

μπαλονιού και την εμφύτευση του stent ακολούθησε αγγειογραφία που επιβεβαίωσε την σωστή τοποθέτηση των stent. Μετά την τοποθέτηση των stent τα κουνέλια συνέχισαν να ακολουθούν αθηρωματική δίαιτα ενώ τους χορηγείτο ασπιρίνη και κλοπιδογρέλη. Ακολούθησε αγγειογραφική επανεκτίμηση μετά από 28 ημέρες. Σε όλα τα ζώα η τοποθέτηση των stent ήταν επιτυχής και χωρίς επιπλοκές. Τόσο τα αγγεία με bevacizumab stent όσο και αυτά με control stent ήταν αγγειογραφικά βατά χωρίς οξεία ή υποξεία θρόμβωση. Η διάμετρος της αρτηρίας και η ελάχιστη διάμετρος του αυλού δεν είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά. Το μέσο πάχος του νεοενδοθηλίου ανάμεσα στα struts των stent και η μέση περιοχή εξάπλωσης του νεοενδοθηλίου ήταν μικρότερης έκτασης στα αγγεία bevacizumab σε σχέση με τα control. Η διάμετρος του αυλού, η μέση στένωση του αυλού και ο μέσος χιτώνας δεν είχαν διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες. Τα score της ενδοθηλιοποίησης και του τραυματισμού ήταν παρόμοια ανάμεσα στις δύο ομάδες (Εικόνα 15).



Εικόνα 15: (A) Χρώση van Giesson σε διατομή των τμημάτων με stent. Η υπερπλασία του ενδοθηλίου με το bevacizumab stent είναι περιορισμένη σε σχέση με αυτήν του control stent. **(B)** Αντιπροσωπευτική φωτομικρογραφία με χρώση αιματοξυλίνης- ηωσίνης όπου διαφαίνεται η διαφορά της υπερπλασίας του ενδοθηλίου ανάμεσα στις δύο ομάδες.

Στα αγγεία με bevacizumab stent υπήρξε σημαντικά χαμηλότερη πυκνότητα μικροαγγείων σε σχέση με τα control αγγεία στις περιοχές των stent (1.69 ± 0.06 αγγεία ανά mm^2 έναντι 15.68 ± 0.56 αγγεία ανά mm^2 ; $p < 0.001$). Αντίθετα, δεν υπήρχε διαφορά στην πυκνότητα των νεοαγγείων στις περιοχές άπω και εγγύς των stent ανάμεσα στις δύο ομάδες. Η ανοσοαντίδραση με την χρήση αντι-VEGF αντισωμάτων ήταν σημαντικά εντονότερη στα control αγγεία στις περιοχές των stent, από τις αντίστοιχες περιοχές των bevacizumab αγγείων (Εικόνα 16).



Εικόνα 16: (A) Στην ανοσοαντίδραση με τον παράγοντα VIII, η συγκέντρωση στις περιοχές με τα bevacizumab stent ήταν πολύ χαμηλή, σε αντίθεση με την υψηλή συγκέντρωση στα αγγεία με τα control stent. (B, C) Χαρακτηριστική μικροφωτογραφία της ανοσοαντίδρασης του VEGF στις λαγόνιες αρτηρίες των κουνελιών, με σαφώς υψηλότερη έκφραση στους τομείς με control stent.

Συνεπώς, η τοπική χορήγηση bevacizumab με stent ήταν ασφαλής και παρεμπόδιζε την νεοαγγείωση στο τοίχωμα των αγγείων, χωρίς να επηρεάζει την διαδικασία ενδοθηλιοποίησης [132, 133]. Ομοίως σε ασθενείς με Στεφανιαία Νόσο, η τοποθέτηση stent κεκαλυμμένου με bevacizumab απέδειξε την αντιαγγειογενετική της δράση τοπικά, συσχετίστηκε με μειωμένη υπερπλασία του έσω χιτώνα κι εξαιρετικά μακροχρόνια κλινικά αποτελέσματα [134, 135, 136]. Αποδεικνύεται λοιπόν ότι η ανάπτυξη παραγόντων που ρυθμίζουν την αγγειογένεση, μπορεί να έχουν ουσιώδη

ρόλο στην θεραπευτική αντιμετώπιση της χρόνιας εξέλιξης, αλλά και των οξέων εκδηλώσεων της αθηρωμάτωσης [137].

1.4.5. Μπεβασιζουμάμπη και καρδιαγγειακές επιπλοκές

Η καρδιοτοξικότητα και οι καρδιαγγειακές επιπλοκές αποτελούν γνωστές παρενέργειες των συμβατικών χημειοθεραπευτικών σχημάτων και πολλές φορές είναι εκείνες που περιορίζουν την δόση ή την διάρκεια της θεραπείας, άρα και την ανταπόκριση της νόσου [138]. Επιπλέον, η καρδιοτοξικότητα μπορεί να προκαλέσει σημαντικά μακροχρόνια προβλήματα σε ασθενείς που έχουν λάβει στο παρελθόν χημειοθεραπεία και έχουν ξεπεράσει την πενταετή επιβίωση, όπως στις περιπτώσεις ογκολογικών παιδιατρικών ασθενών [139].

Μετά την εισαγωγή των αναστολέων της αγγειογένεσης στην κάθ' ημέρα κλινική πράξη σε συνδυασμό ή όχι με συμβατική χημειοθεραπεία, οι τυχόν καρδιαγγειακές επιπλοκές των νέων αυτών παραγόντων μελετήθηκαν, κυρίως μέσα από μετααναλύσεις τυχαιοποιημένων μελετών, χωρίς βέβαια να έχουμε ακόμα τα μακροχρόνια αποτελέσματα που έχουμε για τα κλασικά χημειοθεραπευτικά φάρμακα, όπως π.χ. για τις ανθρακυκλίνες. Οι καρδιαγγειακές επιπλοκές της μπεβασιζουμάμπης που έχουν αναγνωριστεί και μελετηθεί εκτενέστερα είναι η αρτηριακή υπέρταση, τα θρομβοεμβολικά συμβάματα και οι αιμορραγίες.

Από τις πρώτες μελέτες με την προσθήκη της μπεβασιζουμάμπης υπήρχαν στοιχεία ότι η χορήγησή της οδηγεί σε αύξηση της αρτηριακής πίεσης. Η αυξημένη αυτή επίπτωση μοιάζει να σχετίζεται με την μειωμένη παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου (NO) από το ενδοθήλιο, που όπως αναφέραμε έχει αγγειοδιασταλτική δράση, και με την

αυξημένη αντίσταση στο αγγειακό δίκτυο που προκαλεί η αναστολή της δημιουργίας νέων αγγείων [113, 140]. Αυτό δεν αποτελεί επιπλοκή μόνο της μπεβασιζουμάμπης, αλλά και άλλων αναστολέων του VEGF, όπως τα aflibercept, sorafenib, sunitinib και pazopanib. Σε μια μετανάλυση 12.949 ασθενών με μεταστατική νόσο από συμπαγείς όγκους που υπεβλήθησαν σε θεραπεία με ή χωρίς μπεβασιζουμάμπη, ο σχετικός κίνδυνος (relative risk, RR) σημαντικής αύξησης της αρτηριακής πίεσης ήταν για τους ασθενείς της ομάδας της μπεβασιζουμάμπης 5.38 (95% CI 3.63-7.97). Στην ομάδα της μπεβασιζουμάμπης, η συνολική επίπτωση των καταγραφών αυξημένης αρτηριακής πίεσης ήταν 24% (95% CI 20–29%), ενώ αυτή της σημαντικά αυξημένης αρτηριακής πίεσης ήταν 8% (95% CI 6-10%). Ο κίνδυνος εμφάνισης ήταν δοσοεξαρτώμενος. Σαν σημαντική αύξηση της αρτηριακής πίεσης ορίστηκε η ανάγκη για παραπάνω από ένα αντιυπερτασικά φάρμακα, ή για περισσότερο εντατική θεραπεία σε ήδη υπερτασικούς ασθενείς ή η εμφάνιση ενός επεισοδίου υπερτασικής κρίσης τάξης 3 ή 4 [141].

Μεγάλη αύξηση της αρτηριακής πίεσης μπορεί να παρατηρηθεί ακόμα και από την πρώτη εβδομάδα θεραπείας. Φαίνεται ότι δεν υπάρχει τρόπος να προβλεφθεί ποιοί ασθενείς θα παρουσιάσουν την συγκεκριμένη επιπλοκή, γι' αυτό κρίνεται απαραίτητη η στενή παρακολούθηση της αρτηριακής πίεσης κατά την διάρκεια της θεραπείας, ιδίως τις πρώτες εβδομάδες. Υπάρχουν μελέτες που επισημαίνουν συσχέτιση της συστολικής ή διαστολικής αρτηριακής πίεσης που παρουσιάζεται, με το αντιαγγειογενετικό αποτέλεσμα της μπεβασιζουμάμπης, χωρίς αυτό να επαληθεύεται σε όλες τις μελέτες [142]. Η παρατήρηση ότι οι ασθενείς που λαμβάνουν μπεβασιζουμάμπη και παρουσιάζουν αρτηριακή υπέρταση, έχουν την ίδια κλινική εικόνα και κοινά βιολογικά χαρακτηριστικά, οδήγησε στην θεωρία του κοινού μηχανισμού της προέλευσης αυτής της επιπλοκής. Η μελέτη συμπεριέλαβε 22 συνεχείς ασθενείς με νεφροκυτταρικό ή κολοορθικό καρκίνο. Από αυτούς οι 3 (13,5%)

ανέπτυξαν αρτηριακή υπέρταση τάξης 1 ή 2, ενώ δεν παρουσίασαν πρωτεϊνουρία και η αρτηριακή τους πίεση ρυθμίστηκε με μονοθεραπεία. Και οι 3 ασθενείς είχαν τα ακόλουθα κοινά χαρακτηριστικά: παράγοντες κινδύνου αθηροσκλήρωσης, υψηλή καρδιακή συχνότητα κατά τα επεισόδια αρτηριακής υπέρτασης και ηωσινοφιλία ($>500/\text{mm}^3$). Η ηωσινοφιλία σε συνδυασμό με την υπέρταση απαρτίζουν το εμβολικό σύνδρομο χοληστερόλης, που συνήθως παρουσιάζεται σε ασθενείς που υποβάλλονται σε αρτηριακή επεμβατική διαδικασία και σπανιότερα σε ασθενείς με σοβαρού βαθμού αθηρωμάτωση. Μετά τις ανωτέρω παρατηρήσεις προτάθηκε η θεωρία η υπέρταση στους ασθενείς υπό θεραπεία με μπεβασιζουμάμπη μπορεί να αποτελεί έκφραση εμβολικού συνδρόμου χοληστερόλης, το οποίο με την σειρά του οφείλεται στην αναστολή του VEGF [143].

Αυξημένο κίνδυνο για θρομβοεμβολικά συμβάματα φαίνεται να έχουν οι ασθενείς που λαμβάνουν μπεβασιζουμάμπη, ιδιαίτερα εκείνοι με ιστορικό καρδιαγγειακών νόσων ή εκείνοι με παράγοντες κινδύνου εμφάνισης αθηροσκλήρωσης [9, 10, 11, 12, 13, 15, 144]. Η χορήγηση χημειοθεραπευτικού σχήματος που συμπεριλαμβάνει μπεβασιζουμάμπη για μεταστατικό κολοορθικό καρκίνο φαίνεται να αυξάνει τα δυνητικά θανατηφόρα αρτηριακά θρομβοεμβολικά συμβάματα, όπως τον αιφνίδιο καρδιακό θάνατο, το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, την στηθάγχη και το έμφραγμα του μυοκαρδίου [145]. Σε τυχαίοποιημένες μελέτες, το 4-5% παρουσιάζει σοβαρά αρτηριακά θρομβοεμβολικά συμβάματα όσον αφορά τους ασθενείς που λαμβάνουν μπεβασιζουμάμπη σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία βραχείας έγχυσης 5-φλοριουρακίλης, ποσοστό που είναι 2 έως 3 φορές μεγαλύτερο από το αντίστοιχο ποσοστό της ομάδας ελέγχου που έλαβε το ίδιο χημειοθεραπευτικό σχήμα χωρίς την προσθήκη μπεβασιζουμάμπης [146]. Ο κίνδυνος φαίνεται να είναι υψηλότερος (17%) σε ασθενείς με ατομικό ιστορικό αρτηριακού θρομβοεμβολικού συμβάματος και σε

ασθενείς άνω των 65 ετών [15]. Σε αυτούς τους ασθενείς έντυπη συγκατάθεση όπου αναφέρονται οι πιθανοί κίνδυνοι από τη λήψη μπεβασιζουμάμπης θα πρέπει να υπογράφεται από τον ασθενή, ενώ η θεραπεία θα πρέπει να διακόπτεται σε περίπτωση αρτηριακού θρομβοεμβολικού συμβάματος τάξης 3 ή νέου συμβάματος τάξης 2 ή επιδεινούμενου συμβάματος [147]. Ο μηχανισμός αυτής της προθρομβωτικής δράσης είναι πιθανώς πολυπαραγοντικός και παραμένει να διευκρινιστεί περαιτέρω. Η απενεργοποίηση του VEGF έχει σαν αποτέλεσμα την βλάβη του ενδοθηλίου και την έκθεση του υπενδοθηλιακού κολλαγόνου με επακόλουθη ενεργοποίηση του ιστικού παράγοντα και αυξημένη έκφραση των προφλεγμονωδών γονιδίων, συμπεριλαμβανομένων των γονιδίων της κυκλοοξυγενάσης-2 και της E-σελεκτίνης [140]. Τα μειωμένα επίπεδα NO σχετίζονται με αυξημένη συγκολλητικότητα των αιμοπεταλίων και προσκόλληση στο ενδοθήλιο [140, 148]. Όλα αυτά επιδρούν στο σύστημα της πήξης και οδηγούν σε σχηματισμό θρόμβου in situ. Τέλος, εξαιτίας του ουσιώδους ρόλου του VEGF στην αγγειογένεση μπορεί να υποτεθεί ότι η μπεβασιζουμάμπη εξασθενεί την ανάπτυξη του παράπλευρου δικτύου, που αποτελεί σημαντικό μηχανισμό αντιστάθμισης της αποφρακτικής στεφανιαίας νόσου. Αυτός ο μηχανισμός σε συνδυασμό με την υπερπηκτικότητα που παρατηρείται στους ογκολογικούς ασθενείς, αυξάνει τον κίνδυνο για καρδιαγγειακή νόσο. Ο ακριβής παθοφυσιολογικός μηχανισμός μέσω του οποίου η bevacizumab προκαλεί αυτά τα θρομβοεμβολικά επεισόδια δεν έχει διερευνηθεί επαρκώς, αλλά πολλοί πιθανοί μηχανισμοί έχουν προταθεί [133, 136, 149].

Επιπλέον, η μπεβασιζουμάμπη φαίνεται να αυξάνει τον αιμορραγικό κίνδυνο, σαν αποτέλεσμα της νέκρωσης του όγκου και της μειωμένης ικανότητας ανανέωσης των ενδοθηλιακών κυττάρων [144, 150, 151]. Αυτός ο ήδη αυξημένος κίνδυνος, αυξάνεται όταν οι ασθενείς πάσχουν και από καρδιαγγειακή νόσο και λαμβάνουν ασπιρίνη ή

κλοπιδογρέλη. Ο πληθυσμός αυτός χάρις την συνεχή άνοδο της χορήγησης μπεβασιζουμάμπης και στην βελτίωση της πρόγνωσης των ασθενών, αυξάνει αριθμητικά συνεχώς [150]. Ανάμεσα στις διαφορετικές placebo-controlled μελέτες που συνέκριναν την συνδυασμένη με μπεβασιζουμάμπη χημειοθεραπεία με την χημειοθεραπεία μόνη της, αρκετές έδειξαν ότι υπάρχει τάση αυξημένου κινδύνου για αρτηριακές θρομβοεμβολικές επιπλοκές [9, 12]. Όμως, καθώς η συχνότητα των επεισοδίων ήταν χαμηλή, αυτή η τάση δεν έφτασε ποτέ σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας. Οι περισσότερες από αυτές τις μελέτες εξαιρούσαν τους ασθενείς με ιστορικό αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου, εμφράγματος του μυοκαρδίου, ασταθούς στηθάγχης, σοβαρών καρδιακών αρρυθμιών και κλινικά σημαντικής συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας ή περιφερικής αγγειοπάθειας τους τελευταίους 6- 12 μήνες πριν την ένταξη στην μελέτη. Ασθενείς που ελάμβαναν αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα, με εξαίρεση την χαμηλή δόση ασπιρίνης, εξαιρούνταν επίσης. Μια ανάλυση 5 τυχαιοποιημένων μελετών που συμπεριελάμβαναν 1745 ασθενείς με διαφορετικής πρωτογενούς προελεύσεως μεταστατική νόσο έδειξε αυξημένο κίνδυνο αρτηριακών θρομβοεμβολικών επεισοδίων στην συνδυασμένη με μπεβασιζουμάμπη χημειοθεραπεία, παρά με την χημειοθεραπεία σκέτη (HR= 2, 95% CI = 1.05–3.75, P = 0.031) [15]. Η απόλυτη συχνότητα των συμβαμάτων ήταν 5.5 και 3.1 συμβάματα ανά 100 ανθρωπόετη και με μέσο χρόνο μέχρι το πρώτο σύμβαμα 2.1 και 2.6 μήνες στην χημειοθεραπεία με μπεβασιζουμάμπη και στην χημειοθεραπεία μόνη αντίστοιχα. Τα περισσότερα θρομβοεμβολικά επεισόδια ήταν στα στεφανιαία ή στα εγκεφαλικά αγγεία, ενώ ο αριθμός των επεισοδίων που είχαν θανατηφόρο κατάληξη δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στις δύο ομάδες. Ανάμεσα στα διαφορετικά χαρακτηριστικά του ιστορικού, μόνο το προηγηθέν θρομβοεμβολικό επεισόδιο και η ηλικία μεγαλύτερη από τα 65 έτη φαίνεται να παίζουν ρόλο στην ομάδα

της μπεβασιζουμάμπης. Ανάμεσα στους ασθενείς υπό θεραπεία με ασπιρίνη χαμηλής δόσης, η χορήγηση μπεβασιζουμάμπης δεν είχε κάποια επίδραση. Αιμορραγικά συμβάματα τάξης 3 ή 4 ανά 100 ανθρωποέτη παρακολούθησης ήταν 5.3 στην συνδυασμένη θεραπεία έναντι του 3.3 της απλής θεραπείας (HR= 1.6, 95% CI= 0.86–2.97, P= 0.13). Τέλος, στην ομάδα με την μπεβασιζουμάμπη η συνολική επιβίωση ήταν καλύτερη σε όλες τις υποομάδες. Αυτό το πλεονέκτημα επιβίωσης υπήρχε, αλλά σε μικρότερο βαθμό, στους ασθενείς που είχαν και τους δύο παράγοντες κινδύνου για αιμορραγία (ηλικία άνω των 65 και ιστορικό αρτηρικού θρομβοεμβολικού επεισοδίου) [15].

Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε αγγειοπλαστική και πρόκειται να λάβουν θεραπεία με μπεβασιζουμάμπη, προτείνεται η τοποθέτηση μεταλλικού stent που απαιτεί χορήγηση διπλής αντιαιμοπεταλιακής αγωγής για μικρότερο χρονικό διάστημα. Οι κυριότερες αιμορραγικές επιπλοκές που προκύπτουν δεν είναι σημαντικές, με συχνότερη την ρινορραγία. Σοβαρές ή απειλητικές για την ζωή αιμορραγίες που έχουν αναφερθεί είναι η αιμόπτυση, η αιμορραγία γαστρεντερικού, η αιματέμεση, η αιμορραγία του κεντρικού νευρικού συστήματος και η μητρορραγία. Η συχνότητα εμφάνισης αιμορραγιών τάξης μεγαλύτερης του 3 παρουσιάζεται στις διάφορες μελέτες σε ποσοστά που κυμαίνονται από 1,2 έως 4,6%.

Καθώς περιορισμένα αποτελέσματα υπάρχουν σχετικά με την επίπτωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε ασθενείς χωρίς στεφανιαία νόσο που βρίσκονται υπό θεραπεία με μπεβασιζουμάμπη για μεταστατικό καρκίνο, ελέγξαμε την υπόθεση η συστηματική χορήγηση μπεβασιζουμάμπης, μέσω της αντιαγγειογενετικής δράσης αυτής, να επιδεινώνει την μικροκυκλοφορία στο μυοκάρδιο. Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν αρχικά να εκτιμήσει την επίπτωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων (Major Cardiovascular Adverse Events, MACEs) στους ασθενείς με καρκίνο υπό θεραπεία με

bevacizumab, κι ακολούθως να ταυτοποιήσει πιθανούς προγνωστικούς κλινικούς, ηλεκτροκαρδιογραφικούς, υπερηχογραφικούς παράγοντες της επίδρασης αυτής στο καρδιαγγειακό σύστημα.

1.4.6. Μπεβασιζουμάμπη και μη καρδιαγγειακές επιπλοκές

Πέρα από τις καρδιαγγειακές επιπλοκές, η χορήγηση μπεβασιζουμάμπης μπορεί να προκαλέσει και άλλου είδους επιπλοκές. Συχνές παρατηρηθείσες ανεπιθύμητες ενέργειες που παρουσιάζονται σε ποσοστό μεγαλύτερο του 10% είναι η αδιαθεσία, η ανορεξία, η εξασθένιση, η διάρροια, το μη αλλιώς καθοριζόμενο άλγος και η ευκολότερη κόπωση των ασθενών . Η μπεβασιζουμάμπη έχει συσχετισθεί με περιστατικά σημαντικής γαστρεντερικής διάτρησης σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του παχέος εντέρου και του ορθού, σε ποσοστό 1,4-2,0%, με 0,4-1,0% από αυτά να έχουν θανατηφόρο έκβαση.

Διαταραχές επούλωσης τραύματος παρατηρήθηκε σε ασθενείς που υπεβλήθησαν σε χειρουργική επέμβαση κατά την διάρκεια θεραπείας τους με μπεβασιζουμάμπη, ενώ αυτή είναι μηδαμινή, όταν η χειρουργική επέμβαση έχει απόσταση από την τελευταία έγχυση πάνω από 28 ημέρες.

Η πρωτεϊνουρία έχει παρατηρηθεί σε ποσοστό 23% των ασθενών που ελάμβαναν μπεβασιζουμάμπη, που στην μεγάλη πλειοψηφία αφορούσε ασυμπτωματική πρωτεϊνουρία βαθμού I. Δεν αναφέρθηκε πρωτεϊνουρία βαθμού 4. Απλά παθολογικά εργαστηριακά ευρήματα που έχουν αποδοθεί στη θεραπεία με μπεβασιζουμάμπη είναι εκτός από την πρωτεϊνουρία, ο μειωμένος αριθμός ουδετεροφίλων και ο μειωμένος αριθμός λευκοκυττάρων.

Σπανιότερα έχουν αναφερθεί περιστατικά διάτρησης ρινικού διαφράγματος, νεκρωτικής περιτονίτιδας και νευρολογικής συνδρομής.

2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. Σκοπός της μελέτης

Σκοπό της παρούσας μελέτης αποτελεί καταρχάς η εκτίμηση της επίπτωσης των καρδιαγγειακών συμβαμάτων στους ογκολογικούς ασθενείς που λαμβάνουν μπεβασιζουμάμη, καθώς κι η αναγνώριση πιθανών κλινικών, ηλεκτροκαρδιογραφικών κι υπερηχοκαρδιογραφικών παραγόντων κινδύνου για ανάπτυξη αυτών των συμβαμάτων. Πέρα από τα ίδια τα καρδιαγγειακά συμβάματα, σκοπό της μελέτης αποτελεί η εκτίμηση της συστολικής και της διαστολικής λειτουργίας του μυοκαρδίου και κατά πόσον αυτή επηρεάζεται από τη χορήγηση μπεβασιζουμάμης.

2.2. Μεθοδολογία

2.2.1. Πληθυσμός μελέτης.

Ένα δείγμα 147 ασθενών από ογκολογικά κέντρα στην Ελλάδα συμπεριλήφθηκε προοδευτικά στη μελέτη. Όλοι οι ασθενείς ήταν άνω των 18 ετών με διεγνωσμένη κακοήθεια ιστολογικά. Οι ασθενείς έπασχαν από μεταστατικό καρκίνο του μαστού ή του παχέος εντέρου και δεν είχαν λάβει συστηματική χημειοθεραπεία πριν την εισαγωγή τους στη μελέτη. Οι ασθενείς διαιρέθηκαν σε 2 ομάδες ανάλογα με τη θεραπεία που θα ελάμβαναν σύμφωνα με τους θεράποντες ογκολόγους. Όλοι οι ασθενείς σταδιοποιήθηκαν και επιλέχθηκε να λάβουν 1ης γραμμής χημειοθεραπεία με συμβατικό σχήμα κι ανάλογα με την εκτίμηση του ογκολόγου προστέθηκε στο σχήμα αυτό μεβασιζουμάμη ή όχι. Η πλειοψηφία των ασθενών στους οποίους επιλέχθηκε να μη προστεθεί μεβασιζουμάμη στο συμβατικό χημειοθεραπευτικό σχήμα, είχαν αυξημένο κίνδυνο για αιμορραγία, αρρυθμιστη αρτηριακή υπέρταση κι εμφυτεύσεις στην περιτοναϊκή κοιλότητα.

Εβδομήντα έξι διαδοχικοί ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του μαστού ή του παχέος εντέρου μπήκαν σε σχήμα με χημειοθεραπευτικά φάρμακα και την προσθήκη μεβασιζουμάμης (Ομάδα 1) και 71 διαδοχικοί ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του μαστού ή του παχέος εντέρου μπήκαν στο ίδιο σχήμα χωρίς την προσθήκη μεβασιζουμάμης (Ομάδα 2).

Τα σχήματα για τους ασθενείς με καρκίνο μαστού ήταν paclitaxel 175 mg/m² ± bevacizumab 15 mg/kg κάθε 3 εβδομάδες (q3w), ενώ για τους ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου oxaliplatin 130 mg/m² και capecitabine 2000 mg/m²

± bevacizumab 7.5 mg/kg κάθε 3 εβδομάδες (q3w). Ο συνολικός χρόνος της θεραπείας θα ήταν 24 εβδομάδες και για τις 2 ομάδες ασθενών.

2.2.2. Κριτήρια αποκλεισμού.

Όλοι οι ασθενείς που έλαβαν μέρος στην μελέτη ήταν ενήλικες.

- Αποκλείστηκαν όσοι ασθενείς είχαν ταξινόμηση στην κλίμακα Karnofsky $\leq 70\%$. [152]
- Κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη αποτελούσαν επίσης η σημαντική έκπτωση της αιμοποιητικής, ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας (όπως ορίζεται από: κοκκιοκύτταρα $< 1.500 / \mu\text{L}$, αριθμός αιμοπεταλίων $< 100.000 / \mu\text{L}$, AST / ALT $< 2,5 \times \text{ULN}$ (upper limit of normal, ανώτατη φυσιολογική τιμή), αλκαλική φωσφατάση $> 2,5 \times \text{ULN}$, χολερυθρίνη ορού $\geq 1.5 \times \text{ULN}$, 24-ωρη πρωτεΐνη στα ούρα $> 2 \text{ g}$ και κρεατινίνη ορού $> 1,5 \times \text{ULN}$).
- Επίσης, αποκλείστηκαν οι ασθενείς με δευτεροπαθείς εντοπίσεις στο κεντρικό νευρικό σύστημα, καρδιακή ανεπάρκεια κατηγορίας New York Heart Association (NYHA) II έως IV, αιμορραγία (π.χ., αιμόπτυση, αιμορραγία του γαστρεντερικού σωλήνα) τους προηγούμενους 6 μήνες, αρτηριακή πίεση που δεν μπορεί να ρυθμιστεί με φαρμακευτική αγωγή σε τιμές μικρότερες από 160/90 mmHg, ιστορικό φλεβικής θρόμβωσης τον τελευταίο χρόνο, ή αρτηριακής θρόμβωσης τους τελευταίους 6 μήνες (συμπεριλαμβάνεται το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, η ασταθής στηθάγχη, το έμφραγμα του μυοκαρδίου, η αγγειακή χωλότητα σε απόσταση μικρότερη από ένα οικοδομικό τετράγωνο) ή υπό θεραπευτική αντιπηκτική αγωγή.
- Τέλος, αποκλείστηκαν από την μελέτη, οι ασθενείς με βαριά, μη ρυθμισμένη θυρεοειδοπάθεια, καθώς και οι γυναίκες σε εγκυμοσύνη.

2.2.3. Καταγραφή ιστορικού.

Πλήρες ατομικό ιστορικό καταγράφη για όλους τους ασθενείς (Παράρτημα 1). Αυτό περιελάμβανε

- δημογραφικά στοιχεία (νοσοκομείο, αριθμός φακέλου, υπεύθυνος ιατρός, ονοματεπώνυμο ασθενούς, ημερομηνία γέννησης, στοιχεία επικοινωνίας)
- προδιαθεσικοί παράγοντες (υπερχοληστερολαιμία, κάπνισμα, διαβήτης, υπέρταση, κληρονομικότητα, νεφρική ανεπάρκεια)
- ογκολογικό ιστορικό (εντόπιση νόσου, ημερομηνία ιστολογικής επιβεβαίωσης, grade, TNM staging, κλινική εικόνα κατά την διάγνωση- ECOG status)
- καρδιολογικό ιστορικό (παρουσία στεφανιαίας νόσου, αγγειοπλαστική, CABG, άλλο καρδιολογικό νόσημα)
- φάρμακα (ασπιρίνη, κλοπιδογρέλη, κουμαρινικά αντιπηκτικά, υπολιπιδαιμικά, αναστολείς μετατρεπτικού νεζύμου της αγγιοτενσίνης, διγοξίνη, Ανταγωνιστές διαύλων Ασβεστίου, νιτρώδη, β-αναστολείς)

Ο έλεγχος των ασθενών και των δύο ομάδων, τόσο κλινικός όσο κι εργαστηριακός, έγινε σε 3 φάσεις:

4. Την ημέρα πριν την έναρξη της χημειοθεραπείας ή της συνδυασμένης θεραπείας (baseline, BSL)
5. Έξι (6) μήνες μετά το τέλος της θεραπείας (follow up 1, FU1) και
6. Δεκαοχτώ (18) μήνες μετά το τέλος της θεραπείας (follow up 2, FU2)

Ο έλεγχος των ασθενών και στις 3 φάσεις περιελάμβανε:

- Καταγραφή μειζόνων καρδιαγγειακών συμβαμάτων
- Ηλεκτροκαρδιογραφικό έλεγχο
- Υπερηχοκαρδιογραφικό έλεγχο

2.2.4. Καταγραφή μειζόνων καρδιαγγειακών συμβαμάτων.

Ως ανεπιθύμητα αποτελέσματα ορίστηκαν τα ακόλουθα καρδιαγγειακά συμβάματα: καρδιαγγειακός θάνατος, οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, επαναιμάτωση με αγγειοπλαστική, εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση. Το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου ορίστηκε ως η άνοδος και/ή η πτώση των μυοκαρδιακών ενζύμων (κυρίως της τροπονίνης) με τουλάχιστον μία τιμή πάνω από την 99ή εκατοστιαία θέση του ULN σε συνδυασμό με τουλάχιστον μία από τις ακόλουθες ενδείξεις ισχαιμίας:

- 1) συμπτώματα ισχαιμίας του μυοκαρδίου,
- 2) Ηλεκτροκαρδιογραφικές αλλαγές ενδεικτικές νεοεμφανιζόμενης ισχαιμίας του μυοκαρδίου, δηλαδή αλλαγές στο ST τμήμα ή στο κύμα T ή νεοεμφανιζόμενος αποκλεισμός αριστερού σκέλους (left bundle branch block, LBBB),
- 3) ανάπτυξη παθολογικών κυμάτων Q στην καταγραφή του Ηλεκτροκαρδιογραφήματος.

2.2.5. Αιματολογικός έλεγχος.

Γενική αίματος (αιματοκρίτης, λευκά αιμοσφαίρια, αιμοπετάλια), βιοχημικός έλεγχος (γλυκόζη, τρανσαμινάσες, ουρία, κρεατινίνη, ηλεκτρολύτες, χοληστερίνη, τριγλυκερίδια), CPK, CPK-MB, δείκτες φλεγμονής (ICAM-1, VCAM, p-σελεκτίνη, IL-6, IL-18, PLGF, PAPP-A, TNF α , αδιπονεκτίνη, BNP, CRP).

2.2.6. Ηλεκτροκαρδιογραφικός έλεγχος.

Το ηλεκτροκαρδιογράφημα γινόταν σε συνθήκες ηρεμίας. Η καταγραφή περιελάμβανε τις εξής παραμέτρους: καρδιακή συχνότητα, καρδιακός άξονας, σημεία εμφάνισης

ισχαιμίας, παρουσία αρρυθμίας, παρουσία αποκλεισμού, καθώς και μέτρηση του διαστήματος PQ και υπολογισμό του QTc.

2.2.7. Υπερηχογραφικός έλεγχος.

Η υπερηχοκαρδιογραφική μελέτη διεξήχθη από δύο έμπειρους ειδικούς καρδιολόγους στο εργαστήριο των υπερήχων της Ά Καρδιολογικής Πανεπιστημιακής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, ενώ η ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με τυφλή διαδικασία. Στις περιπτώσεις όπου υπήρχε διαφωνία για τα αποτελέσματα ή η ποιότητα των εικόνων δεν ήταν επαρκής, ο ασθενής αποκλειόταν από την μελέτη. Κατά την ανάλυση των αποτελεσμάτων δεν παρατηρήθηκε σημαντική απόκλιση στο τελικό συμπέρασμα μιας εξέτασης μεταξύ ενός και του ίδιου (intraobserver variability) ή διαφορετικών εξεταστών (interobserver variability). Όπως και τα υπόλοιπα κομμάτια του επανελέγχου, έτσι και ο υπερηχοκαρδιογραφικός έλεγχος διεξήχθη πριν την έναρξη της θεραπείας, 6 μήνες μετά το τέλος της θεραπείας και 18 μήνες μετά το τέλος της θεραπείας. Αυτός περιελάμβανε υπερηχογράφημα μιας δέσμης (M-mode), δύο διαστάσεων (2-D echo) και ιστικό Doppler (TDI).

Οι ακόλουθες παράμετροι εκτιμήθηκαν:

- διάμετρος αορτικής ρίζας (AR)
- διαστάσεις αριστερού κόλπου (LA)
- τελοδιαστολική διάμετρος αριστεράς κοιλίας (LVEDD)
- πάχος μεσοκοιλιακού διαφράγματος (IVS)
- πάχος οπισθίου τοιχώματος αριστερής κοιλίας (PWT)
- συστολική πίεση πνευμονικής αρτηρίας (PASP)
- κλάσμα εξώθησης αριστεράς κοιλίας (EF)
- κύμα κατά την ταχεία κοιλιακή πλήρωση (E), κύμα κατά την κολπική συστολή (A) και δείκτης E/A

- κύματα της ταχύτητας του μιτροειδικού δακτυλίου κατά την πρωτοδιαστολή (E'), κατά την κολπική συστολή (A'), κατά τη συστολή (Sa) και ο δείκτης E/E'
- περικάρδιο και περικαρδιακός χώρος.

Ο τελοδιαστολικός κι τελοσυστολικός όγκος της αριστεράς κοιλίας υπολογίστηκαν από τις κορυφαίες θέσεις 4 και 2 κοιλοτήτων σύμφωνα με τον κανόνα του Simpson.

Το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας προέκυψε από αυτούς τους όγκους και θεωρήθηκε παθολογικό σε τιμές χαμηλότερες του 50%.

Με το παλμικό Doppler εκτιμήθηκε η ροή στην αριστερά κοιλία από την τομή 4 κοιλοτήτων και την μελέτη του όγκου μεταξύ των άκρων των γλωχίνων της μιτροειδούς (κύματα E, A). Τέλος, με την τεχνική του παλμικού ιστικού Doppler καταγράφονται οι ταχύτητες του μιτροειδικού δακτυλίου από την κορυφαία τομή 4 κοιλοτήτων (κύματα E, A, S). Υπολογίζεται ο μέσος όρος των ταχυτήτων από 3 συνεχείς καρδιακούς κύκλους κατά το τέλος της εκπνοής

Το πρωτόκολλο εγκρίθηκε από το επιστημονικό συμβούλιο των κέντρων που συμμετείχαν στη μελέτη και όλοι οι ασθενείς υπέγραψαν φόρμα συγκατάθεσης.

2.2.8. Στατιστική ανάλυση.

Οι ποσοτικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση (SD), ενώ οι ποιοτικές παρουσιάζονται με την μορφή της κατανομής συχνοτήτων. Για την σύγκριση των μέσων τιμών συνεχών μεταβλητών με κανονική κατανομή, χρησιμοποιήθηκε το Student's t-test. Αντίστοιχα, η σύγκριση των ποιοτικών μεταβλητών έγινε με τη μέθοδο χ^2 (chi-square test). Οι καμπύλες επιβίωσης χωρίς καρδιαγγειακά συμβάματα προέκυψαν με την μέθοδο Kaplan-Meier. Οι διαφορές μεταξύ των καμπυλών εκτιμήθηκαν με το log-rank test. Η αναγνώριση κλινικών, ηλεκτροκαρδιογραφικών και υπερηχοκαρδιογραφικών μεταβλητών, που αποτελούν ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες για καρδιαγγειακά συμβάματα, έγινε με τη

χρήση cox μοντέλων αναλογικού κινδύνου, ακολουθούμενων από σταδιακή λογαριθμική ανάλυση παλιδρόμησης.

Ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας τέθηκε το $p < 0.05$. Η στατιστική ανάλυση έγινε με το εμπορικά διαθέσιμο λογισμικό SPSS 19 (SPSS Inc., Chicago, Illinois).

2.3. Αποτελέσματα

2.3.1. Δημογραφικά χαρακτηριστικά

Συνολικά 147 συνεχείς ασθενείς, 100 ασθενείς με καρκίνο μαστού και 47 ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου, συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο ομάδες ανάλογα με τη λήψη μπεβασιζουμάμπης ή όχι: εβδομήντα έξι ασθενείς με μέσο όρο ηλικίας 65.21 ± 10.49 έτη ακολούθησαν θεραπεία με συμβατική χημειοθεραπεία σε συνδυασμό με μπεβασιζουμάμπη (Ομάδα 1) και 71 ασθενείς (65.11 ± 11.3 ετών) με συμβατικό σχήμα χημειοθεραπείας χωρίς μπεβασιζουμάμπη (Ομάδα 2). Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά, οι προδιαθεσικοί παράγοντες κινδύνου για Στεφανιαία Νόσο, η προηγούμενη φαρμακευτική αγωγή και τα ηλεκτροκαρδιογραφικά ευρήματα ήταν όμοια για τις δύο ομάδες (Πίνακας 3).

	<i>Bevacizumab</i> (n=76)	<i>Control</i> (n=71)	<i>p- value</i>
<i>Ηλικία (έτη)</i>	65.21±10.49	65.11±11.3	0.95
<i>Φύλλο (άρρεν)</i>	18 (23.68 %)	11 (15.49%)	0.21
<i>Αρτηριακή υπέρταση</i>	30 (39.47%)	31 (43.66%)	0.61
<i>Σακχαρώδης Διαβήτης</i>	16 (21.05%)	10 (14.85%)	0.26
<i>Δυσλιπιδαιμία</i>	30 (39.47%)	33 (46.47%)	0.39
<i>Κάπνισμα</i>	14 (18.42%)	14 (19.71%)	0.84
<i>Οικογενειακό ιστορικό ΣΝ</i>	6 (7.89%)	8 (11.26%)	0.48
<i>Χρήση Ασπιρίνης</i>	4 (5.26%)	2 (2.81%)	0.45
<i>Χρήση αναστολέων ΜΕΑ</i>	19 (25.00%)	19 (26.76%)	0.85
<i>Χρήση ARBs</i>	10 (13.15%)	12 (16.90%)	0.64
<i>Χρήση στατινών</i>	30 (39.67%)	27 (38.02%)	0.85

<i>Χρήση β-αναστολέων</i>	8 (10.52%)	6 (8.45%)	0.66
<i>Χρήση αναστολέων διαύλου ασβεστίου</i>	12 (15.78%)	14 (19.71%)	0.53
<i>Καρκινικοί τύποι</i>			
<i>Ορθοκολικός</i>	24 (31.57%)	23 (32.94%)	0.91
<i>Μαστός</i>	52 (68.42%)	48 (67.60%)	
<i>ΗΚΓ</i>			
<i>Φλεβοκομβικός ρυθμός</i>	76 (100%)	70 (98.59%)	0.29
<i>RBBB</i>	8 (10.52%)	6 (8.51%)	0.66
<i>LBBB</i>	14 (18.42%)	16 (22.53%)	0.53
<i>LAH</i>	4 (5.26%)	4 (5.63%)	0.92
<i>ΣΝ : Στεφανιαία Νόσος</i>			
<i>ΜΕΑ: Μετατρεπτικό ένζυμο αγγειοτενσίνης</i>			
<i>ARB: Angiotensin receptor blockers</i>			
<i>ΗΚΓ : Ηλεκτροκαρδιογράφημα</i>			
<i>LBBB: Left bundle branch block</i>			
<i>RBBB: Right bundle branch block</i>			
<i>LAH: Left anterior hemiblock</i>			

Πίνακας 3: Βασικά χαρακτηριστικά των ασθενών της μελέτης.

2.3.2. Καταγραφή μειζόνων καρδιαγγειακών συμβαμάτων.

Όλοι οι ασθενείς είχαν ελάχιστο χρόνο παρακολούθησης τους 18 μήνες. Οι καμπύλες επιβίωσης Kaplan-Meier έδειξαν επιβίωση 18 μηνών για την ομάδα της μπεβασιζουμάμπης $71.11 \pm 5.2\%$ και $66.2 \pm 5.60\%$ για την ομάδα ελέγχου ($p=0.48$). Το ποσοστό ασθενών ελεύθερων καρδιαγγειακών συμβαμάτων στους 18 μήνες ήταν $88.4 \pm 4.1\%$ για την μπεβασιζουμάμπη και $98.6 \pm 1.4\%$ για την ομάδα ελέγχου ($p=0.05$).

Η συνολική θνησιμότητα δεν είχε καμία διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων ($28,94\%$ έναντι $33,80\%$, $p = 0.52$). Όλα τα καρδιαγγειακά συμβάματα αφορούσαν έμφραγμα του μυοκαρδίου (Myocardial Infarction, MI) και ήταν σημαντικά υψηλότερη η επίπτωση στην ομάδα της μπεβασιζουμάμπη σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($7/76$ [$9,21\%$] έναντι του $1/71$ [$1,40\%$], $p = 0,03$). Σε κανένα ασθενή δεν παρουσιάστηκε αιφνίδιος καρδιακός θάνατος.

Στην ομάδα της μπεβασιζουμάμπης, από τα 7 επεισόδια εμφράγματος του μυοκαρδίου, τα 6 ήταν χωρίς ανύψωση του τμήματος ST (Non-STEMI) ενώ μόνον ένα παρουσίασε ανύψωση του ST (STEMI). Όλοι οι ασθενείς που υπέστησαν MI αντιμετωπίστηκαν προσωρινά με συντηρητική αγωγή και υπεβλήθησαν σε διαδερμική επαναγγείωση (PCI) ένα μήνα μετά το επεισόδιο. Οι έξι ασθενείς παρουσίασαν το καρδιαγγειακό επεισόδιο μία εβδομάδα μετά την έγχυση και ένας την επόμενη ημέρα της έγχυσης του φαρμάκου. Στην ίδια ομάδα 22 ασθενείς ($28,94\%$) απεβίωσαν λόγω προόδου της πρωταρχικής τους νόσου. Έντεκα απεβίωσαν πριν την πρώτη επανεξέταση των έξι μηνών και έντεκα ασθενείς απεβίωσαν μεταξύ πρώτης και δεύτερης επανεξέτασης.

Στην ομάδα ελέγχου, ένας ασθενής υπέστη καρδιαγγειακό επεισόδιο NSTEMI, δύο μήνες μετά την έναρξη της αντινεοπλασματικής αγωγής. Στην ίδια ομάδα, 12 ασθενείς απεβίωσαν πριν την πρώτη επανεξέταση των 6 μηνών ενώ 12 ασθενείς απεβίωσαν μεταξύ των 6 και 18 μηνών. Οι ασθενείς που έλαβαν μεβασιζουμάμπη παρουσίασαν υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης εν τω βάθει φλεβοθρόμβωσης συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου (5,26% έναντι 2,81%, $p = 0.45$) (Πίνακας 4).

	<i>Bevacizumab</i> (n=76)	<i>Control</i> (n=71)	<i>p-value</i>
Θάνατος	22 (28.94%)	24 (33.80%)	0.52
Καρδιαγγειακά συμβάματα	7 (9.21%)	1 (1.40%)	0.03
Έμφραγμα του μυοκαρδίου	7 (9.21%)	1 (1.40%)	0.03
Εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση	4 (5.26%)	2 (2.81%)	0.45

Πίνακας 4: Αποτελέσματα παρακολούθησης ασθενών μετά από 18 μήνες.

Η πολυπαραγοντική ανάλυση με τη χρήση Cox αναλογικών μοντέλων ακολουθούμενων από σταδιακή λογαριθμική ανάλυση παλινδρόμησης, αναγνώρισε το LBBB στο αρχικό ηλεκτροκαρδιογράφημα, καθώς και τη χορήγηση μεβασιζουμάμπης σαν τους μόνους ανεξάρτητους προδιαθεσικούς παράγοντες για εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων ($p < 0.001$ HR: 56.72, 95% CI: 7.38-436.10 για το LBBB και $p = 0.03$, HR: 13.18, 95% CI: 1.32-130.84 για την μεβασιζουμάμπη) (Πίνακας 5).

	<i>CV event (n=8)</i>	<i>No CV event (n=139)</i>	<i>p-value</i>
<i>Ηλικία</i>	64.87±10.21	65.18±9.82	0.93
<i>Φύλλο</i>	2 (25.02%)	27 (19.42%)	0.70
<i>Αρτηριακή υπέρταση</i>	4 (50.0%)	57 (41.00%)	0.71
<i>Σακχαρώδης Διαβήτης</i>	2 (25.0%)	24 (17.26%)	0.57
<i>Δυσλιπιδαιμία</i>	3 (37.50%)	60 (43.16%)	0.75
<i>Κάπνισμα</i>	1 (12.50%)	27 (19.42%)	0.62
<i>Οικογενειακό ιστορικό ΣΝ</i>	2 (10%)	12 (9.09%)	0.89
<i>Τύποι καρκίνου</i>			
<i>Καρκίνος μαστού</i>	5 (62.5%)	95 (68.34%)	0.73
<i>Ορθοκολικός καρκίνος</i>	3 (37.50%)	44 (31.65%)	
<i>ΗΚΓ</i>			
<i>Φλεβοκομβικός ρυθμός</i>	8 (100%)	138 (99.21%)	0.80
<i>LBBB</i>	6 (75.0%)	24 (17.20%)	0.001
<i>RBBB</i>	1 (12.50%)	13 (9.35%)	0.76
<i>LAH</i>	0(0%)	8 (5.75%)	0.48
<i>ΣΝ : Στεφανιαία Νόσος</i>			
<i>ΗΚΓ : Ηλεκτροκαρδιογράφημα</i>			

LBBB: Left bundle branch block

RBBB: Right bundle branch block

LAH: Left anterior hemiblock

Πίνακας 5: Κλινικοί και ηλεκτροκαρδιογραφικοί προγνωστικοί δείκτες εμφάνισης καρδιαγγειακού συμβάματος.

2.3.3. Υπερηχογραφικά δεδομένα.

Στην ομάδα της μεβασιζουμάμπης οι μετρήσεις με το υπερηχογράφημα δύο διαστάσεων δεν είχαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στην αρχική εκτίμηση και στις μετρήσεις στους 6 μήνες και στους 18 μήνες. Οι διαστάσεις των AR, LA, το πάχος του IVS και του PW δεν διέφεραν ανάμεσα στις τρεις μετρήσεις. Η τελοδιαστολική διάμετρος της αριστερής κοιλίας αυξήθηκε στο FU1, (45.21 ± 3.93 έναντι 45.47 ± 3.72 $p=0.02$) αλλά δεν είχε διαφορά στο FU2 (45.21 ± 3.93 έναντι 45.78 ± 3.72 , $p=0.058$). από τις μετρήσεις επίσης αποδείχθηκε ότι η χορήγηση συμβατικής χημειοθεραπείας και μεβασιζουμάμπης δεν είχε επίδραση στο LVEF των ασθενών (56.97 ± 4.97 έναντι 56.62 ± 5.78 έναντι 56.36 ± 5.96 , $p=NS$ και για τις δύο συγκρίσεις). Όσον αφορά τους δείκτες αξιολόγησης της συστολικής λειτουργίας του μυοκαρδίου, το Sa ήταν σημαντικά χαμηλότερο στους 6 μήνες (10.93 ± 4.64 έναντι 9.90 ± 3.59 cm/s, $p=0.0007$), και παρέμεινε σημαντικά χαμηλότερο στους 18 μήνες (10.93 ± 4.64 έναντι 9.03 ± 9.56 cm/s, $p=0.003$). Από τους δείκτες εκτίμησης διαστολικής δυσλειτουργίας του μυοκαρδίου, ο δείκτης E/E' αυξήθηκε σε στατιστικά σημαντικό ρυθμό στους 6 μήνες (5.83 ± 2.53 έναντι 7.86 ± 3.45 , $p=0.0005$), και στους 18 μήνες παρακολούθησης (5.83 ± 2.53 έναντι 7.84 ± 3.45 , $p=0.004$) (Πίνακας 6).

	<i>Baseline (n=76)</i>	<i>6 months follow up (n=65)</i>	<i>18 months follow up (n=45)</i>	<i>Baseline - 6 months p-value</i>	<i>Baseline - 18 months p-value</i>	<i>6 months - 18 months p-value</i>
<i>Αορτική ρίζα (mm)</i>	31.82±5.26	32.00±5.28	32.10±5.69	0.15	0.10	0.32
<i>Αριστερός κόλπος (mm)</i>	35.63±4.69	35.18±4.12	35.534±3.79	0.68	0.69	0.32
<i>LVEDD (mm)</i>	45.21±3.93	45.47±3.72	45.78±3.72	0.02	0.058	0.006
<i>ΜΚΔ (mm)</i>	9.44±1.05	9.52±1.28	9.30±1.18	0.38	0.15	0.37
<i>ΟΤΑΚ (mm)</i>	9.19±1.01	9.24±1.20	9.19±1.21	0.37	0.84	0.85
<i>LVEF (%)</i>	56.97±4.97	56.62±5.78	56.36±5.96	0.09	0.32	0.32
<i>E (cm/sec)</i>	57.51±17.8 4	63.94±13.8 2	63.34±11.72	<0.001	<0.001	0.04
<i>A (cm/sec)</i>	73.78±19.7 5	75.32±18.7 5	774.01±20.1 3	0.11	0.31	0.32

<i>E</i> <i>(cm/sec)</i>	11.63±6.06	10.16±4.97	9.47±3.46	0.24	0.39	0.22
<i>A(cm/sec)</i>	16.20±9.41	15.44±8.24	113.18±5.25	0.07	0.008	0.01
<i>S (cm/sec)</i>	10.93±4.64	9.90±3.59	9.03±9.56	0.0007	0.003	0.008
<i>E/E</i>	5.83±2.53	7.86±3.45	7.84±3.45	0.0005	0.004	0.28
<i>LVEED : Left ventricular end diastolic diameter</i>						
<i>IVS: Interventricular septum</i>						
<i>PW : Posterior wall</i>						
<i>LVEF : Left ventricular ejection fraction</i>						

Πίνακας 6: Υπερηχογραφικοί δείκτες σε ασθενείς που έλαβαν μπεβασιζουμάμπη.

Οι μετρήσεις με το υπερηχογράφημα δύο διαστάσεων ήταν ίδιες και στην ομάδα ελέγχου. Οι διαστάσεις των AR, LA, LVEDD, IVS, PW δεν διάφεραν, ομοίως και το LVEF (57.32±4.57 έναντι 57.08±4.59 έναντι 56.78±4.84, p=NS και για τις δύο συγκρίσεις). Στην ομάδα ελέγχου, σε αντίθεση με την ομάδα της μπεβασιζουμάμπης, ο δείκτης εκτίμησης της συστολικής λειτουργίας S ήταν παρόμοια στους 6 μήνες (9.02±4.26 έναντι 8.87±3.80 cm/sec, p=0.17) και στους 18 μήνες (9.02±4.26 έναντι 9.10±4.21cm/sec, p=0.06). Ο δείκτης E/E' που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση διαστολικής δυσλειτουργίας δεν παρουσίασε διαφορά στις μετρήσεις (6.79±2.56 έναντι 6.81±2.62, p=0.15) (Πίνακας 7).

	<i>Baseline n=71</i>	<i>6 months follow up n=58</i>	<i>18 months follow up n=46</i>	<i>Baseline- 6 months p-value</i>	<i>Baseline- 18 months p-value</i>	<i>6 months- 18 months p-value</i>
<i>Αορτική ρίζα (mm)</i>	31.70±4.68	31.67±4.36	31.58±4.29	0.41	0.41	0.42
<i>Αριστερός κόλπος (mm)</i>	35.38±4.83	35.41±4.47	35.10±4.53	0.78	0.80	0.80
<i>LVEDD(mm)</i>	43.94±2.09	43.91±2.10	43.71±2.08	0.64	NS	NS
<i>ΜΚΔ (mm)</i>	9.26±0.47	9.66±0.47	9.64±0.53	0.32	0.32	0.48
<i>ΟΤΑΚ (mm)</i>	9.26±0.47	9.66±0.47	9.64±0.53	0.32	0.32	0.48
<i>LVEF (%)</i>	57.32±4.57	57.08±4.59	56.78±4.84	0.70	0.70	0.47
<i>E (cm/sec)</i>	60.87±20.83	61.37±19.53	61.47±19.12	0.43	0.08	0.08
<i>A (cm/sec)</i>	82.29±18.94	82.64±18.60	80.63±19.32	0.65	0.62	0.81
<i>E (cm/sec)</i>	9.42±2.94	9.72±2.94	9.82±3.07	0.64	0.64	0.65
<i>A(cm/sec)</i>	12.82±5.39	12.47±4.54	12.62±5.02	0.28	0.56	0.50
<i>S (cm/sec)</i>	9.02±4.26	8.87±3.80	9.10±4.21	0.17	0.06	0.54
<i>E/E</i>	6.79±2.56	6.74±2.59	6.81±2.80	0.77	0.14	0.15
<i>LVEED : Left ventricular end diastolic diameter</i>						
<i>IVS: Interventricular septum</i>						

PW : Posterior wall

LVEF : Left ventricular ejection fraction

Πίνακας 7: Υπερηχογραφικοί δείκτες στην ομάδα ελέγχου.

2.4. Συζήτηση

Τα μέχρι τώρα στοιχεία των μελετών που αφορούν τις θρομβοεμβολικές επιπλοκές της μπεβασιζουμάμπης έχουν συγκεκριμένους περιορισμούς. Πρώτον, οι πληροφορίες έχουν προέλθει από σχετικά μικρό αριθμό μελετών που αφορούν διαφορετικές κακοήθειες υπό θεραπεία με χημειοθεραπευτικά σχήματα σε συνδυασμό με μπεβασιζουμάμπη. Δεύτερον, αυτές οι μελέτες σχεδιάστηκαν για να εκτιμήσουν την δράση της μπεβασιζουμάμπης στην αντιμετώπιση της κύριας νόσου, ενώ η συχνότητα των θρομβοεμβολικών ή των αιμορραγικών επεισοδίων ήταν δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία. Τρίτον, η αυξημένη επιβίωση και η καθυστερημένη πρόοδος της νόσου που σχετίζονται με την χορήγηση της μπεβασιζουμάμπης, μπορεί να υπερκεράσουν τον κίνδυνο για αρτηριακό θρομβοεμβολικό ή αιμορραγικό επεισόδιο. Τέλος, χάρις στα αυστηρά κριτήρια αποκλείσμου ασθενών σε όλες αυτές τις μελέτες, ασθενείς με σημαντικά ή πρόσφατα καρδιαγγειακά συμβάματα δεν συμπεριλήφθηκαν σε αυτές.

Μέχρι τώρα φαίνεται ότι οι ογκολογικοί ασθενείς ηλικίας μεγαλύτερης των 65 ετών με πολλαπλούς παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο, αλλά χωρίς ιστορικό θρομβοεμβολικού επεισοδίου, μπορούν να λάβουν θεραπεία με μπεβασιζουμάμπη χωρίς να φαίνεται να υπάρχει αυξημένος κίνδυνος για καρδιαγγειακές επιπλοκές. Ο κίνδυνος για καρδιαγγειακές επιπλοκές είναι υψηλότερος σε ασθενείς μεγαλύτερους των 65 ετών με ιστορικό θρομβοεμβολικού επεισοδίου. Ακόμα όμως και σε αυτήν την κατηγορία υψηλότερου κινδύνου, η θεραπεία με μπεβασιζουμάμπη φαίνεται να οδηγεί σε εμφανές πλεονέκτημα στην συνολική επιβίωση. Επιλέον, στοιχεία που έχουν προκύψει δείχνουν ότι η συγχορήγηση χαμηλής δόσης ασπιρίνης μειώνουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών επιπλοκών. Παρόλο που η χορήγηση χαμηλής δόσης ασπιρίνης σε ασθενείς υπό θεραπεία με μπεβασιζουμάμπη φαίνεται να μην αυξάνει τον

κίνδυνο αιμορραγικών επιπλοκών, χωρίς όμως να υπάρχουν ακόμα στοιχεία για την χορήγηση διπλής αντιαιμοπεταλιακής αγωγής με ασπιρίνη και κλοπιδογρέλη.

Τα περιορισμένα στοιχεία ασθενών με ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου που λαμβάνουν θεραπεία με μπεβασιζουμάμπη δείχνουν πως και σε αυτήν την ομάδα ασθενών υπάρχει βελτίωση της συνολικής επιβίωσης. Παρά τα λιγοστά μέχρι τώρα στοιχεία για τα θρομβωτικά και αιμορραγικά συμβάματα που σχετίζονται με την θεραπεία με μπεβασιζουμάμπη, είναι σημαντικός ο σχεδιασμός πολυκεντρικών μελετών με προσεχτικό σχεδιασμό και μεγαλύτερη χρονικά παρακολούθηση των ασθενών. Αυτό θα βοηθήσει στον πλέον ακριβή υπολογισμό του κινδύνου για ανάπτυξη θρομβοεμβολικών και αιμορραγικών επεισοδίων και, συνεπώς, σε ουσιώδη σύγκριση αυτού με την αντικαρκινική δράση της μπεβασιζουμάμπης.

Τα κύρια συμπεράσματα της παρούσας μελέτης ήταν τα ακόλουθα:

- Η προσθήκη του αντισώματος της μπεβασιζουμάμπης σε συμβατικά σχήματα χημειοθεραπείας για την αντιμετώπιση μεταστατικού καρκίνου του μαστού και του παχέος εντέρου, αυξάνει σε στατιστικά σημαντικό βαθμό την πρόκληση καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Η πλειοψηφία των καρδιαγγειακών αυτών συμβαμάτων βάση αυτής της μελέτης είναι οξεία εμφράγματα του μυοκαρδίου.
- Πέρα από την μπεβασιζουμάμπη, η παρουσία αποκλεισμού αριστερού σκέλους στο ηλεκτροκαρδιογράφημα πριν την έναρξη της θεραπείας αποτελεί ανεξάρτητο προδιαθεσικό παράγοντα για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων.
- Η χορήγηση της μπεβασιζουμάμπης φαίνεται να προκαλεί πρόωμη συστολική και διαστολική δυσλειτουργία της αριστεράς κοιλίας, βάση των ευρημάτων στο ιστικό Doppler.

Η μελέτη της επίδρασης των νέων αντιαγγειογενετικών παραγόντων για την καταπολέμηση του καρκίνου στο καρδιαγγειακό σύστημα, έχει μελετηθεί κυρίως με αναδρομικές μελέτες [16, 153]. Ειδικότερα για την μπεβασιζουμάμπη, τον πλέον χρησιμοποιημένο αντιαγγειογενετικό παράγοντα, οι κυριότερες πληροφορίες που έχουν δημοσιευθεί αφορούσαν αρτηριακά θρομβοεμβολικά επεισόδια ή επεισόδια φλεβοθρόμβωσης. Σύμφωνα με αυτές τις μελέτες, η επίπτωση των αρτηριακών θρομβοεμβολικών επεισοδίων κυμαίνεται από 2.2 έως 6.8% [7, 14, 15, 16], ενώ εκείνη της εν τω βάθει φλεβοθρόμβωσης από 3.0 έως 11.9% [17] .

Ο ακριβής δρόμος μέσω του οποίου η μπεβασιζουμάμπη προκαλεί θρομβοεμβολικά επεισόδια δεν έχει καθοριστεί ακόμα πλήρως, αλλά αρκετοί παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί έχουν προταθεί [133, 136, 149]. Ο παράγοντας VEGF είναι απαραίτητος για την διατήρηση των ενδοθηλιακών κυτταρικών συνδέσμων και η απενεργοποίηση του θα μπορούσε να οδηγήσει σε έκθεση του υποενδοθηλιακού παράγοντα von Willebrand, η οποία προάγει την συσσώρευση κι ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων [154, 155]. Επιπλέον, στον ίδιο χρόνο, η έκθεση του ιστικού παράγοντα μπορεί να ενεργοποιήσει τον καταρράκτη της πήξης [154].

Στην προοπτική αυτή μελέτη, η αυξημένη συχνότητα εμφράγματος του μυοκαρδίου στον πληθυσμό της ομάδας που έλαβε μπεβασιζουμάμπη, επιβεβαίωσε τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων στους ασθενείς αυτούς. Η πλειοψηφία των εμφραγμάτων του μυοκαρδίου παρουσιάστηκε μέσα στους τρεις πρώτους μήνες από την έναρξη της θεραπείας [15]. Για να περιορίσουμε όσο γίνεται στα συμπεράσματά μας την επίδραση της λήψης χημειοθεραπείας από τους ασθενείς, συγκρίναμε δύο πληθυσμούς: ασθενείς που έλαβαν χημειοθεραπεία μαζί με μπεβασιζουμάμπη και ασθενείς με ταυτόσημη χημειοθεραπεία χωρίς

μπεβασιζουμάμπη. Αν και δεν πρόκειται για τυχαιοποιημένη μελέτη, οι δύο πληθυσμοί ήταν καλά ισορροπημένοι όσον αφορά τους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου.

Η παρουσία αποκλεισμού αριστερού σκέλους στο αρχικό ΗΚΓ αύξησε σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης εμφράγματος του μυοκαρδίου σε αυτό τον πληθυσμό. Μια πιθανή εξήγηση για το εύρημα αυτό αποτελεί η ήδη επηρεασμένη μικροκυκλοφορία στον συγκεκριμένο πληθυσμό ασθενών, όπως αυτό φαίνεται από την μειωμένη στεφανιαία εφεδρεία. Ίσως λοιπόν η ήδη παθολογική κυκλοφορία να επιδεινώνεται από την αντι-αγγειογενετική δράση της μπεβασιζουμάμπη [156]. Επιπλέον, η αναστολή της νεοαγγείωσης από την συστηματική χορήγηση μπεβασιζουμάμπη θα μπορούσε να εξαλείψει το πιθανό προστατευτικό αποτέλεσμα της ανάπτυξης παράπλευρου δικτύου σε μυοκάρδιο με χρόνια ισχαιμία, λόγω μειωμένης ροής σε στενωμένα αγγεία. Η προοδευτική πλήρης απόφραξη των νοσούντων αγγείων θα οδηγήσει σε έμφραγμα του μυοκαρδίου καθώς η μπεβασιζουμάμπη αναστέλλει την ανάπτυξη νέων αγγείων.

2.5. Περιορισμοί.

Όπως προαναφέρθηκε, στην προοπτική αυτή μελέτη συμπεριλήφθηκαν συνεχείς ασθενείς, όμως δεν αποτελούσε τυχαιοποιημένη μελέτη. Η τοποθέτηση ενός ασθενούς σε μία από τις δύο ομάδες γινόταν από τους θεράποντες ογκολόγους σύμφωνα με συγκεκριμένα κριτήρια και την συνήθη κλινική πράξη. Τα βασικά δημογραφικά, ηλεκτροκαρδιογραφικά και υπερηχογραφικά χαρακτηριστικά ήταν παρόμοια μεταξύ των δύο ομάδων κι επιπλέον δεν υπήρχε διαφορά στα χημειοθεραπευτικά σχήματα.

Όσον αφορά την υπερηχοκαρδιογραφική μελέτη, περιορισμό αποτελούσε η διενέργεια της από δύο διαφορετικούς έμπειρους καρδιολόγους, χωρίς όμως να υπάρχει σημαντική απόκλιση στα αποτελέσματα. Ο αριθμός των ασθενών θα μπορούσε να θεωρηθεί μικρός, τα αποτελέσματα όμως επιβεβαιώθηκαν από την πολυπαραγοντική ανάλυση.

2.6. Κλινικές εφαρμογές.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης επιβεβαιώνουν προηγούμενες αναδρομικές παρατηρήσεις, αυξημένου κινδύνου εμφάνισης θρομβοεμβολικών επεισοδίων σε ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με μπεβασιζουμάμπη. Συνεπώς, ασθενείς με θρομβοεμβολικά επεισόδια στο παρελθόν, συμπεριλαμβανομένου του εμφράγματος του μυοκαρδίου, αποτελούν ομάδα υψηλού κινδύνου για την συστηματική χορήγηση μπεβασιζουμάμπη. Επιπλέον, η παρουσία αποκλεισμού αριστερού σκέλους στο baseline ηλεκτροκαρδιογράφημα φαίνεται να είναι ένας επιπλέον παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακά συμβάντα σε αυτή την ομάδα ασθενών. Η στενή παρακολούθηση των ασθενών για την εμφάνιση καρδιαγγειακού συμβάματος κρίνεται απαραίτητη, ειδικά τους πρώτους 3 μήνες της θεραπείας με μπεβασιζουμάμπη.

Η στοχευμένη χορήγηση μπεβασιζουμάμπης στο όργανο στόχο (π.χ. ήπαρ) θα μπορούσε ίσως να αποτελέσει την λύση για τους ασθενείς αυτούς που η συστηματική χορήγηση έχει αντένδειξη. Προηγούμενες πειραματικές και κλινικές μελέτες έχουν δείξει ευεργετική επίδραση της τοπικής χορήγησης της μπεβασιζουμάμπης για τη σταθεροποίηση των ευάλωτων αθηρωματικών πλακών και αναστολή της νεοαγγείωσης αυτών. Αυτό θα μπορούσε να είναι μια νέα προσέγγιση για τη θεραπεία των ασθενών με μεταστατικό καρκίνο.

Τέλος, τα συμπεράσματα αυτής της μελέτης ενισχύουν την τάση για χορήγηση αντιλιπιδαιμικής ή/και αντιαιμοπεταλιακής αγωγής στους ασθενείς υψηλού κινδύνου που πρόκειται να λάβουν μπεβασιζουμάμπη, προκειμένου να μειωθεί ο κίνδυνος για έμφραγμα του μυοκαρδίου.

Οι πιθανές αυτές λύσεις, έτσι ώστε οι ασθενείς να μπορούν να εκμεταλλευτούν τη θεραπευτική δράση του αντισώματος της μπεβασιζουμάμπη χωρίς να κινδυνεύουν από

MACEs, απομένει να διερευνηθούν περαιτέρω μέσα από εργαστηριακή έρευνα και κλινικές μελέτες.

2.7. Συμπεράσματα.

Η θεραπεία με μπεβασιζουμάμπη συνδέεται με αυξημένη συχνότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων κυρίως λόγω αύξησης της επίπτωσης του εμφράγματος του μυοκαρδίου. Υψηλού κινδύνου ασθενείς για την εμφάνιση μελλοντικών καρδιαγγειακών συμβάντων, φαίνεται να είναι εκείνοι με παρουσία αποκλεισμού αριστερού σκέλους στο ηλεκτροκαρδιογράφημα. Αυτό υποδεικνύει τον πιθανό ρόλο του περιορισμού της ήδη παθολογικής μικροκυκλοφορίας. Η συστηματική χορήγηση bevacizumab εμφανίζει σημαντική επίδραση στην διαστολική αλλά και συστολική λειτουργία του μυοκαρδίου όπως φαίνεται από τους ειδικούς υπερηχογραφικούς δείκτες.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1 Patan S. Vasculogenesis and angiogenesis. *Cancer treatment and research* 2004;**117**:3-32.
- 2 Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;**285**:1182-6.
- 3 Weidner N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. *The American journal of pathology* 1995;**147**:9-19.
- 4 Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997;**386**:671-4.
- 5 Puthillath A, Patel A, Fakih MG. Targeted therapies in the management of colorectal carcinoma: role of bevacizumab. *Onco Targets Ther* 2009;**2**:1-15.
- 6 Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nature medicine* 2003;**9**:669-76.
- 7 Cannistra SA, Matulonis UA, Penson RT, et al. Phase II study of bevacizumab in patients with platinum-resistant ovarian cancer or peritoneal serous cancer. *J Clin Oncol* 2007;**25**:5180-6.
- 8 Eskander RN, Randall LM. Bevacizumab in the treatment of ovarian cancer. *Biologics*;5:1-5.
- 9 Giantonio BJ, Catalano PJ, Meropol NJ, et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic colorectal cancer: results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. *J Clin Oncol* 2007;**25**:1539-44.
- 10 Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *The New England journal of medicine* 2004;**350**:2335-42.

- 11 Johnson DH, Fehrenbacher L, Novotny WF, et al. Randomized phase II trial comparing bevacizumab plus carboplatin and paclitaxel with carboplatin and paclitaxel alone in previously untreated locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2004;**22**:2184-91.
- 12 Kabbinavar F, Hurwitz HI, Fehrenbacher L, et al. Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2003;**21**:60-5.
- 13 Miller K, Wang M, Gralow J, et al. Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer. *The New England journal of medicine* 2007;**357**:2666-76.
- 14 Schutz FA, Je Y, Azzi GR, et al. Bevacizumab increases the risk of arterial ischemia: a large study in cancer patients with a focus on different subgroup outcomes. *Ann Oncol*.
- 15 Scappaticci FA, Skillings JR, Holden SN, et al. Arterial thromboembolic events in patients with metastatic carcinoma treated with chemotherapy and bevacizumab. *Journal of the National Cancer Institute* 2007;**99**:1232-9.
- 16 Vaklavas C, Lenihan D, Kurzrock R, et al. Anti-vascular endothelial growth factor therapies and cardiovascular toxicity: what are the important clinical markers to target? *Oncologist*;**15**:130-41.
- 17 Nalluri SR, Chu D, Keresztes R, et al. Risk of venous thromboembolism with the angiogenesis inhibitor bevacizumab in cancer patients: a meta-analysis. *Jama* 2008;**300**:2277-85.
- 18 Risau W, Flamme I. Vasculogenesis. *Annual review of cell and developmental biology* 1995;**11**:73-91.

- 19 Takuwa Y, Du W, Qi X, et al. Roles of sphingosine-1-phosphate signaling in angiogenesis. *World journal of biological chemistry*;1:298-306.
- 20 Wong VW, Crawford JD. Vasculogenic cytokines in wound healing. *BioMed research international*;2013:190486.
- 21 Kirsner RS, Eaglstein WH. The wound healing process. *Dermatologic clinics* 1993;11:629-40.
- 22 Kapiteijn K, Koolwijk P, Van Der Weiden R, et al. Steroids and cytokines in endometrial angiogenesis. *Anticancer research* 2001;21:4231-42.
- 23 Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nature medicine* 1995;1:27-31.
- 24 Gavalas NG, Lontos M, Trachana SP, et al. Angiogenesis-related pathways in the pathogenesis of ovarian cancer. *International journal of molecular sciences*;14:15885-909.
- 25 Kong X, Zhang Y, Liu C, et al. Anti-angiogenic effect of triptolide in rheumatoid arthritis by targeting angiogenic cascade. *PloS one*;8:e77513.
- 26 Hausenloy DJ, Mocanu MM, Yellon DM. Cross-talk between the survival kinases during early reperfusion: its contribution to ischemic preconditioning. *Cardiovascular research* 2004;63:305-12.
- 27 Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000;407:249-57.
- 28 Ausprunk DH, Boudreau CL, Nelson DA. Proteoglycans in the microvasculature. I. Histochemical localization in microvessels of the rabbit eye. *The American journal of pathology* 1981;103:353-66.
- 29 Sholley MM, Ferguson GP, Seibel HR, et al. Mechanisms of neovascularization. Vascular sprouting can occur without proliferation of endothelial

cells. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 1984;**51**:624-34.

30 Polverini PJ, Leibovich SJ. Induction of neovascularization in vivo and endothelial proliferation in vitro by tumor-associated macrophages. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 1984;**51**:635-42.

31 Folkman J. What is the role of endothelial cells in angiogenesis? *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 1984;**51**:601-4.

32 Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nature reviews* 2003;**3**:401-10.

33 Nyberg P, Xie L, Kalluri R. Endogenous inhibitors of angiogenesis. *Cancer research* 2005;**65**:3967-79.

34 Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996;**86**:353-64.

35 Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, et al. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science (New York, NY)* 1983;**219**:983-5.

36 Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochemical and biophysical research communications* 1989;**161**:851-8.

37 Connolly DT, Heuvelman DM, Nelson R, et al. Tumor vascular permeability factor stimulates endothelial cell growth and angiogenesis. *The Journal of clinical investigation* 1989;**84**:1470-8.

38 Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *Faseb J* 1999;**13**:9-22.

- 39 Olofsson B, Pajusola K, Kaipainen A, et al. Vascular endothelial growth factor B, a novel growth factor for endothelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1996;**93**:2576-81.
- 40 Joukov V, Pajusola K, Kaipainen A, et al. A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases. *The EMBO journal* 1996;**15**:290-98.
- 41 Vincenti V, Cassano C, Rocchi M, et al. Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3. *Circulation* 1996;**93**:1493-5.
- 42 Tischer E, Mitchell R, Hartman T, et al. The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple protein forms are encoded through alternative exon splicing. *The Journal of biological chemistry* 1991;**266**:11947-54.
- 43 Woolard J, Wang WY, Bevan HS, et al. VEGF165b, an inhibitory vascular endothelial growth factor splice variant: mechanism of action, in vivo effect on angiogenesis and endogenous protein expression. *Cancer research* 2004;**64**:7822-35.
- 44 Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH. Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). *Journal of cellular and molecular medicine* 2005;**9**:777-94.
- 45 Meyer M, Clauss M, Lepple-Wienhues A, et al. A novel vascular endothelial growth factor encoded by Orf virus, VEGF-E, mediates angiogenesis via signalling through VEGFR-2 (KDR) but not VEGFR-1 (Flt-1) receptor tyrosine kinases. *The EMBO journal* 1999;**18**:363-74.
- 46 Royds JA, Dower SK, Qwarnstrom EE, et al. Response of tumour cells to hypoxia: role of p53 and NFkB. *Mol Pathol* 1998;**51**:55-61.
- 47 Vaupel P. The role of hypoxia-induced factors in tumor progression. *The oncologist* 2004;**9 Suppl 5**:10-7.

- 48 Forsythe JA, Jiang BH, Iyer NV, et al. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Molecular and cellular biology* 1996;**16**:4604-13.
- 49 Shweiki D, Itin A, Soffer D, et al. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature* 1992;**359**:843-5.
- 50 Banai S, Shweiki D, Pinson A, et al. Upregulation of vascular endothelial growth factor expression induced by myocardial ischaemia: implications for coronary angiogenesis. *Cardiovascular research* 1994;**28**:1176-9.
- 51 Hicklin DJ, Ellis LM. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *J Clin Oncol* 2005;**23**:1011-27.
- 52 Pertovaara L, Kaipainen A, Mustonen T, et al. Vascular endothelial growth factor is induced in response to transforming growth factor-beta in fibroblastic and epithelial cells. *The Journal of biological chemistry* 1994;**269**:6271-4.
- 53 Benckert C, Jonas S, Cramer T, et al. Transforming growth factor beta 1 stimulates vascular endothelial growth factor gene transcription in human cholangiocellular carcinoma cells. *Cancer research* 2003;**63**:1083-92.
- 54 Soker S, Fidler H, Neufeld G, et al. Characterization of novel vascular endothelial growth factor (VEGF) receptors on tumor cells that bind VEGF165 via its exon 7-encoded domain. *The Journal of biological chemistry* 1996;**271**:5761-7.
- 55 Fuh G, Li B, Crowley C, et al. Requirements for binding and signaling of the kinase domain receptor for vascular endothelial growth factor. *The Journal of biological chemistry* 1998;**273**:11197-204.
- 56 Veikkola T, Alitalo K. VEGFs, receptors and angiogenesis. *Seminars in cancer biology* 1999;**9**:211-20.

- 57 Stutfeld E, Ballmer-Hofer K. Structure and function of VEGF receptors. *IUBMB life* 2009;**61**:915-22.
- 58 Tanaka K, Yamaguchi S, Sawano A, et al. Characterization of the extracellular domain in vascular endothelial growth factor receptor-1 (Flt-1 tyrosine kinase). *Jpn J Cancer Res* 1997;**88**:867-76.
- 59 Terman BI, Carrion ME, Kovacs E, et al. Identification of a new endothelial cell growth factor receptor tyrosine kinase. *Oncogene* 1991;**6**:1677-83.
- 60 Kaipainen A, Korhonen J, Mustonen T, et al. Expression of the fms-like tyrosine kinase 4 gene becomes restricted to lymphatic endothelium during development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1995;**92**:3566-70.
- 61 Gerber HP, Ferrara N. The role of VEGF in normal and neoplastic hematopoiesis. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)* 2003;**81**:20-31.
- 62 Zachary I, Gliki G. Signaling transduction mechanisms mediating biological actions of the vascular endothelial growth factor family. *Cardiovascular research* 2001;**49**:568-81.
- 63 Ferrara N, Kerbel RS. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature* 2005;**438**:967-74.
- 64 Krilleke D, Ng YS, Shima DT. The heparin-binding domain confers diverse functions of VEGF-A in development and disease: a structure-function study. *Biochemical Society transactions* 2009;**37**:1201-6.
- 65 Yang SP, Kwon BO, Gho YS, et al. Specific interaction of VEGF165 with beta-amyloid, and its protective effect on beta-amyloid-induced neurotoxicity. *Journal of neurochemistry* 2005;**93**:118-27.

- 66 Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, et al. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Pharmacological reviews* 2004;**56**:549-80.
- 67 Ferrara N, Carver-Moore K, Chen H, et al. Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature* 1996;**380**:439-42.
- 68 Tammela T, Enholm B, Alitalo K, et al. The biology of vascular endothelial growth factors. *Cardiovascular research* 2005;**65**:550-63.
- 69 Otani N, Minami S, Yamoto M, et al. The vascular endothelial growth factor/fms-like tyrosine kinase system in human ovary during the menstrual cycle and early pregnancy. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 1999;**84**:3845-51.
- 70 Paleolog EM. Angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Arthritis research* 2002;**4 Suppl 3**:S81-90.
- 71 Detmar M, Brown LF, Claffey KP, et al. Overexpression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor and its receptors in psoriasis. *The Journal of experimental medicine* 1994;**180**:1141-6.
- 72 Lee SH, Wolf PL, Escudero R, et al. Early expression of angiogenesis factors in acute myocardial ischemia and infarction. *The New England journal of medicine* 2000;**342**:626-33.
- 73 Lim HS, Blann AD, Chong AY, et al. Plasma vascular endothelial growth factor, angiopoietin-1, and angiopoietin-2 in diabetes: implications for cardiovascular risk and effects of multifactorial intervention. *Diabetes care* 2004;**27**:2918-24.
- 74 Dvorak HF, Detmar M, Claffey KP, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: an important mediator of angiogenesis in malignancy and inflammation. *International archives of allergy and immunology* 1995;**107**:233-5.

- 75 Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, et al. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000;**407**:242-8.
- 76 Toi M, Hoshina S, Takayanagi T, et al. Association of vascular endothelial growth factor expression with tumor angiogenesis and with early relapse in primary breast cancer. *Jpn J Cancer Res* 1994;**85**:1045-9.
- 77 Bachelder RE, Crago A, Chung J, et al. Vascular endothelial growth factor is an autocrine survival factor for neuropilin-expressing breast carcinoma cells. *Cancer research* 2001;**61**:5736-40.
- 78 Katoh O, Takahashi T, Oguri T, et al. Vascular endothelial growth factor inhibits apoptotic death in hematopoietic cells after exposure to chemotherapeutic drugs by inducing MCL1 acting as an antiapoptotic factor. *Cancer research* 1998;**58**:5565-9.
- 79 Jeltsch M, Kaipainen A, Joukov V, et al. Hyperplasia of lymphatic vessels in VEGF-C transgenic mice. *Science (New York, NY)* 1997;**276**:1423-5.
- 80 Holmgren L, O'Reilly MS, Folkman J. Dormancy of micrometastases: balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nature medicine* 1995;**1**:149-53.
- 81 Parangi S, O'Reilly M, Christofori G, et al. Antiangiogenic therapy of transgenic mice impairs de novo tumor growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1996;**93**:2002-7.
- 82 McDonald DM, Choyke PL. Imaging of angiogenesis: from microscope to clinic. *Nature medicine* 2003;**9**:713-25.
- 83 Tenaglia AN, Peters KG, Sketch MH, Jr., et al. Neovascularization in atherectomy specimens from patients with unstable angina: implications for pathogenesis of unstable angina. *American heart journal* 1998;**135**:10-4.

- 84 Boersma E, Mercado N, Poldermans D, et al. Acute myocardial infarction. *Lancet* 2003;**361**:847-58.
- 85 Simons M, Ware JA. Therapeutic angiogenesis in cardiovascular disease. *Nature reviews* 2003;**2**:863-71.
- 86 Celletti FL, Waugh JM, Amabile PG, et al. Vascular endothelial growth factor enhances atherosclerotic plaque progression. *Nature medicine* 2001;**7**:425-9.
- 87 Heeschen C, Jang JJ, Weis M, et al. Nicotine stimulates angiogenesis and promotes tumor growth and atherosclerosis. *Nature medicine* 2001;**7**:833-9.
- 88 Moulton KS, Heller E, Konerding MA, et al. Angiogenesis inhibitors endostatin or TNP-470 reduce intimal neovascularization and plaque growth in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 1999;**99**:1726-32.
- 89 Heistad DD, Marcus ML. Role of vasa vasorum in nourishment of the aorta. *Blood vessels* 1979;**16**:225-38.
- 90 Schoenhagen P. Plaque temperature, arterial remodeling, and inflammation: understanding "hot-spots" in the coronary arteries. *Journal of the American College of Cardiology* 2007;**49**:2272-3.
- 91 Sary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1995;**92**:1355-74.
- 92 Stone GW, Maehara A, Lansky AJ, et al. A prospective natural-history study of coronary atherosclerosis. *The New England journal of medicine*;**364**:226-35.
- 93 Barger AC, Beeuwkes R, 3rd, Lainey LL, et al. Hypothesis: vasa vasorum and neovascularization of human coronary arteries. A possible role in the pathophysiology of atherosclerosis. *The New England journal of medicine* 1984;**310**:175-7.

- 94 Schaar JA, Muller JE, Falk E, et al. Terminology for high-risk and vulnerable coronary artery plaques. Report of a meeting on the vulnerable plaque, June 17 and 18, 2003, Santorini, Greece. *European heart journal* 2004;**25**:1077-82.
- 95 Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, et al. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2005;**25**:2054-61.
- 96 Kamat BR, Galli SJ, Barger AC, et al. Neovascularization and coronary atherosclerotic plaque: cinematographic localization and quantitative histologic analysis. *Human pathology* 1987;**18**:1036-42.
- 97 Zamir M, Silver MD. Vasculature in the walls of human coronary arteries. *Archives of pathology & laboratory medicine* 1985;**109**:659-62.
- 98 Zhang Y, Cliff WJ, Schoefl GI, et al. Immunohistochemical study of intimal microvessels in coronary atherosclerosis. *The American journal of pathology* 1993;**143**:164-72.
- 99 Sueishi K, Yonemitsu Y, Nakagawa K, et al. Atherosclerosis and angiogenesis. Its pathophysiological significance in humans as well as in an animal model induced by the gene transfer of vascular endothelial growth factor. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1997;**811**:311-22; 22-4.
- 100 Williams JK, Armstrong ML, Heistad DD. Vasa vasorum in atherosclerotic coronary arteries: responses to vasoactive stimuli and regression of atherosclerosis. *Circulation research* 1988;**62**:515-23.
- 101 Mulligan-Kehoe MJ. The vasa vasorum in diseased and nondiseased arteries. *American journal of physiology*; **298**:H295-305.

- 102 Kumamoto M, Nakashima Y, Sueishi K. Intimal neovascularization in human coronary atherosclerosis: its origin and pathophysiological significance. *Human pathology* 1995;**26**:450-6.
- 103 O'Brien ER, Garvin MR, Dev R, et al. Angiogenesis in human coronary atherosclerotic plaques. *The American journal of pathology* 1994;**145**:883-94.
- 104 Kwon HM, Sangiorgi G, Ritman EL, et al. Adventitial vasa vasorum in balloon-injured coronary arteries: visualization and quantitation by a microscopic three-dimensional computed tomography technique. *Journal of the American College of Cardiology* 1998;**32**:2072-9.
- 105 Moreno PR, Purushothaman KR, Fuster V, et al. Plaque neovascularization is increased in ruptured atherosclerotic lesions of human aorta: implications for plaque vulnerability. *Circulation* 2004;**110**:2032-8.
- 106 Brooks PC, Clark RA, Cheresh DA. Requirement of vascular integrin alpha v beta 3 for angiogenesis. *Science (New York, NY)* 1994;**264**:569-71.
- 107 Hoshiga M, Alpers CE, Smith LL, et al. Alpha-v beta-3 integrin expression in normal and atherosclerotic artery. *Circulation research* 1995;**77**:1129-35.
- 108 Reynolds LE, Wyder L, Lively JC, et al. Enhanced pathological angiogenesis in mice lacking beta3 integrin or beta3 and beta5 integrins. *Nature medicine* 2002;**8**:27-34.
- 109 Moulton KS, Vakili K, Zurakowski D, et al. Inhibition of plaque neovascularization reduces macrophage accumulation and progression of advanced atherosclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2003;**100**:4736-41.
- 110 Torres Filho IP, Leunig M, Yuan F, et al. Noninvasive measurement of microvascular and interstitial oxygen profiles in a human tumor in SCID mice.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1994;**91**:2081-5.

111 Eppler SM, Combs DL, Henry TD, et al. A target-mediated model to describe the pharmacokinetics and hemodynamic effects of recombinant human vascular endothelial growth factor in humans. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2002;**72**:20-32.

112 Hedman M, Hartikainen J, Syvanne M, et al. Safety and feasibility of catheter-based local intracoronary vascular endothelial growth factor gene transfer in the prevention of postangioplasty and in-stent restenosis and in the treatment of chronic myocardial ischemia: phase II results of the Kuopio Angiogenesis Trial (KAT). *Circulation* 2003;**107**:2677-83.

113 Henry TD, Annex BH, McKendall GR, et al. The VIVA trial: Vascular endothelial growth factor in Ischemia for Vascular Angiogenesis. *Circulation* 2003;**107**:1359-65.

114 Bamias A, Dimopoulos MA. Angiogenesis in human cancer: implications in cancer therapy. *European journal of internal medicine* 2003;**14**:459-69.

115 Ciardiello F, Caputo R, Bianco R, et al. Inhibition of growth factor production and angiogenesis in human cancer cells by ZD1839 (Iressa), a selective epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor. *Clin Cancer Res* 2001;**7**:1459-65.

116 Pore N, Jiang Z, Gupta A, et al. EGFR tyrosine kinase inhibitors decrease VEGF expression by both hypoxia-inducible factor (HIF)-1-independent and HIF-1-dependent mechanisms. *Cancer research* 2006;**66**:3197-204.

117 Cao Y. Molecular mechanisms and therapeutic development of angiogenesis inhibitors. *Advances in cancer research* 2008;**100**:113-31.

- 118 Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, et al. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *The New England journal of medicine* 2007;**356**:115-24.
- 119 Streit M, Velasco P, Brown LF, et al. Overexpression of thrombospondin-1 decreases angiogenesis and inhibits the growth of human cutaneous squamous cell carcinomas. *The American journal of pathology* 1999;**155**:441-52.
- 120 O'Reilly MS, Holmgren L, Chen C, et al. Angiostatin induces and sustains dormancy of human primary tumors in mice. *Nature medicine* 1996;**2**:689-92.
- 121 O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, et al. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* 1997;**88**:277-85.
- 122 Kuo CJ, Farnebo F, Yu EY, et al. Comparative evaluation of the antitumor activity of antiangiogenic proteins delivered by gene transfer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2001;**98**:4605-10.
- 123 Sangro B, Melero I, Qian C, et al. Gene therapy of cancer based on interleukin 12. *Current gene therapy* 2005;**5**:573-81.
- 124 di Tomaso E, Capen D, Haskell A, et al. Mosaic tumor vessels: cellular basis and ultrastructure of focal regions lacking endothelial cell markers. *Cancer research* 2005;**65**:5740-9.
- 125 Research USFaDACfDEa. Final Labeling Text. *BL125085* 2008;**Supplement**.
- 126 Bjorndahl M, Cao R, Eriksson A, et al. Blockage of VEGF-induced angiogenesis by preventing VEGF secretion. *Circ Res* 2004;**94**:1443-50.
- 127 Jain RK, Duda DG, Clark JW, et al. Lessons from phase III clinical trials on anti-VEGF therapy for cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2006;**3**:24-40.

- 128 Grothey A, Hedrick EE, Mass RD, et al. Response-independent survival benefit in metastatic colorectal cancer: a comparative analysis of N9741 and AVF2107. *J Clin Oncol* 2008;**26**:183-9.
- 129 Lauro S, Onesti CE, Righini R, et al. The use of bevacizumab in non-small cell lung cancer: an update. *Anticancer research*;34:1537-45.
- 130 Reck M, von Pawel J, Zatloukal P, et al. Phase III trial of cisplatin plus gemcitabine with either placebo or bevacizumab as first-line therapy for nonsquamous non-small-cell lung cancer: AVAil. *J Clin Oncol* 2009;**27**:1227-34.
- 131 Chinot OL, Wick W, Mason W, et al. Bevacizumab plus radiotherapy-temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. *The New England journal of medicine*;370:709-22.
- 132 Stefanadis C, Toutouzas K, Stefanadi E, et al. First experimental application of bevacizumab-eluting PC coated stent for inhibition of vasa vasorum of atherosclerotic plaque: angiographic results in a rabbit atheromatic model. *Hellenic J Cardiol* 2006;**47**:7-10.
- 133 Stefanadis C, Toutouzas K, Stefanadi E, et al. Inhibition of plaque neovascularization and intimal hyperplasia by specific targeting vascular endothelial growth factor with bevacizumab-eluting stent: an experimental study. *Atherosclerosis* 2007;**195**:269-76.
- 134 Stefanadis C, Toutouzas K, Stefanadi E, et al. Avastin-eluting stent: long-term angiographic and clinical follow up. *Hellenic J Cardiol* 2008;**49**:188-90.
- 135 Stefanadis C, Toutouzas K, Tsiamis E, et al. First-in-man study with bevacizumab-eluting stent: a new approach for the inhibition of atheromatic plaque neovascularisation. *EuroIntervention* 2008;**3**:460-4.

- 136 Toutouzas K, Karabelas J, Vaina S, et al. Antivascular endothelial growth factor-a treatment: new perspectives for high-risk plaque stabilization. *J Am Coll Cardiol* 2007;**50**:186.
- 137 Khurana R, Simons M, Martin JF, et al. Role of angiogenesis in cardiovascular disease: a critical appraisal. *Circulation* 2005;**112**:1813-24.
- 138 Meinardi MT, Gietema JA, van Veldhuisen DJ, et al. Long-term chemotherapy-related cardiovascular morbidity. *Cancer treatment reviews* 2000;**26**:429-47.
- 139 Grenier MA, Lipshultz SE. Epidemiology of anthracycline cardiotoxicity in children and adults. *Seminars in oncology* 1998;**25**:72-85.
- 140 Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocrine reviews* 2004;**25**:581-611.
- 141 An MM, Zou Z, Shen H, et al. Incidence and risk of significantly raised blood pressure in cancer patients treated with bevacizumab: an updated meta-analysis. *European journal of clinical pharmacology*; **66**:813-21.
- 142 Mir O, Coriat R, Cabanes L, et al. An observational study of bevacizumab-induced hypertension as a clinical biomarker of antitumor activity. *The oncologist*; **16**:1325-32.
- 143 Mir O, Mouthon L, Alexandre J, et al. Bevacizumab-induced cardiovascular events: a consequence of cholesterol emboli syndrome? *Journal of the National Cancer Institute* 2007;**99**:85-6.
- 144 Miller KD, Chap LI, Holmes FA, et al. Randomized phase III trial of capecitabine compared with bevacizumab plus capecitabine in patients with previously treated metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2005;**23**:792-9.

- 145 Tebbutt NC, Murphy F, Zannino D, et al. Risk of arterial thromboembolic events in patients with advanced colorectal cancer receiving bevacizumab. *Ann Oncol*;22:1834-8.
- 146 FDA. Safety alerts for human medical products. 2004.
- 147 Institute NC. Common Toxicity Criteria.
- 148 de Graaf JC, Banga JD, Moncada S, et al. Nitric oxide functions as an inhibitor of platelet adhesion under flow conditions. *Circulation* 1992;85:2284-90.
- 149 Bamias A, Dimopoulos MA. Inhibition of angiogenesis: common theme for cancer and atheromatosis? *Hellenic J Cardiol* 2006;47:11-2.
- 150 Kilickap S, Abali H, Celik I. Bevacizumab, bleeding, thrombosis, and warfarin. *J Clin Oncol* 2003;21:3542; author reply 3.
- 151 Gordon MS, Cunningham D. Managing patients treated with bevacizumab combination therapy. *Oncology* 2005;69 Suppl 3:25-33.
- 152 Karnofsky DA BJ, ed. *The Clinical Evaluation of Chemotherapeutic Agents in Cancer.*: Columbia Univ Press 1949.
- 153 Lenihan DJ. Tyrosine kinase inhibitors: can promising new therapy associated with cardiac toxicity strengthen the concept of teamwork? *J Clin Oncol* 2008;26:5154-5.
- 154 Elice F, Rodeghiero F, Falanga A, et al. Thrombosis associated with angiogenesis inhibitors. *Best practice & research* 2009;22:115-28.
- 155 Nachman RL, Rafii S. Platelets, petechiae, and preservation of the vascular wall. *The New England journal of medicine* 2008;359:1261-70.
- 156 Skolidis EI, Kochiadakis GE, Koukouraki SI, et al. Myocardial perfusion in patients with permanent ventricular pacing and normal coronary arteries. *Journal of the American College of Cardiology* 2001;37:124-9.

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

VEGF Vascular endothelial growth factor
S1P Sphingosine-1-phosphate
TGF Transforming growth factor
PDGF Plateletderived growth factor
VEGFR VEGF receptor
TGFβR TGFβ receptor
PDGFR PDGF receptor
Ang2 Angiopoietin2
FGFs Fibroblast growth factors
TSP-1 Thrombospondin-1
Ang1 Angiopoietin1
TIMPS Tissue inhibitors of metalloproteinases
PA Plasminogen Activator
MMPs Matrix Metalloproteinases
PAI-1 Plasminogen activator inhibitor-1
NOS Nitric oxide synthase
HIFs Hypoxia-inducible transcription factors
NRPs Neurophilines
MACEs Major Cardiovascular Adverse Events
ULN upper limit of normal
NYHA New York Heart Association
LBBB left bundle branch block
US ultrasound
BSL Baseline

FU1 FollowUp 1

FU2 FollowUp 2

MI Myocardial Infarction,

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

<u>Δημογραφικά Στοιχεία</u>	
Νοσοκομείο/Κλινική	
Αριθμός Φακέλου	
Υπεύθυνος Ιατρός Κέντρου	
Τηλέφωνο Κέντρου	
Όνοματεπώνυμο Ασθενούς	
Όνομα Πατρός	
Ημερομηνία Γέννησης	
Διεύθυνση	
Τηλέφωνο	

<u>Ιστορικό</u>	
Υπερχοληστεριναίμια	Yes No
Κάπνισμα	Ex Cur No
Διαβήτης	Yes No
Υπέρταση	Yes No
Καρδ. Κληρονομικό	Yes No
ΣΝ	Yes No
Ασταθ. Στ	I II III
Σταθ. Στ	I II III IV
EM	Yes No
CASS	1 2 3
Παλαιό PTCA	Yes No
Παλαιό GABG	Yes No
ΚΕ%	
ΗΚΓ-ρυθμός	SR PMR AF
ΗΚΓ-block	LBBB RBBB RBBB-LAH NO
Εντόπιση Νόσου	
Ημερομηνία Διάγνωσης CA	
GRADE	
TNM	
Κλινική εικόνα κατά την διάγνωση	
Ημερομηνία έναρξης χορήγησης AVASTIN	
Τρόπος Χορήγησης	
Δοσολογία	
Αριθμός Συνεδριών	
Άλλα φάρμακα για την νόσο	
Χρόνος χορήγησης άλλων φαρμάκων για τη νόσο	
Προηγούμενη αγωγή	Ασπιρίνη Υπολιπιδαιμικά MEA AT II Νιτρώδη Διγοξίνη Β-Αναστολείς Αντ. Ασβεστίου ΙΙΒ/ΙΙΑ Άλλα

Άλλα νοσήματα	
Νεφρική ανεπάρκεια	Yes No

Εργαστηριακά πριν την έναρξη χορήγησης AVASTIN

Ht		CPK	
WBC		LDH	
PLT		ALP	
Γλυκόζη		γ-GT	
Ουρία		Χοληστερόλη	
Cr		LDL	
Na		HDL	
K		Χοληστερόλη	
Ca		Τριγλυκερίδια	
P		HDL	
Mg		LDL	
SGOT		Δείκτες Ca	
SGPT		CRP	

Follow-up

Χρόνος Διακοπής AVASTIN:

Εργαστηριακά στη διακοπή χορήγησης AVASTIN

Ht		CPK	
WBC		LDH	
PLT		ALP	
Γλυκόζη		γ-GT	
Ουρία		Χοληστερόλη	
Cr		LDL	
Na		HDL	
K		Χοληστερόλη	
Ca		Τριγλυκερίδια	
P		HDL	
Mg		LDL	
SGOT		Δείκτες Ca	
SGPT		CRP	

Date of event

Death	
Cardiac Death	
MI	
Revascularization	

