

# Novos moduladores da formação de VASOS SANGUÍNEOS

Fotos e ilustrações cedidas pelos autores

Na regulação de processos de angiogênese, novas abordagens em patologia e terapêutica

## **Paulo Fernando Dias**

Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, CCB  
Professor do Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética - CCB  
Universidade Federal de Santa Catarina.  
paulus@mbbox1.ufsc.br

## **Rosa Maria Ribeiro-do-Valle**

Prof. Dra. do Departamento de Farmacologia - CCB  
Universidade Federal de Santa Catarina.

## **Renata dos Passos Maraschim**

Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, CCA  
Universidade Federal de Santa Catarina.

## **Marcelo Maraschim**

Prof. Dr. do Departamento de Fitotecnia - CCA  
Universidade Federal de Santa Catarina.

No organismo humano, os vasos sanguíneos integram uma rede de 50 km de tubos responsáveis pelo fluxo do sangue e pela perfusão tecidual nos diversos sistemas (**Fig. 1**). Os vasos estão organizados em uma monocamada de células endoteliais, revestidos por moléculas de colágeno, elastina, glicoproteínas e proteoglicanas - matriz extracelular - e células com função de suporte (Koch, 1998).

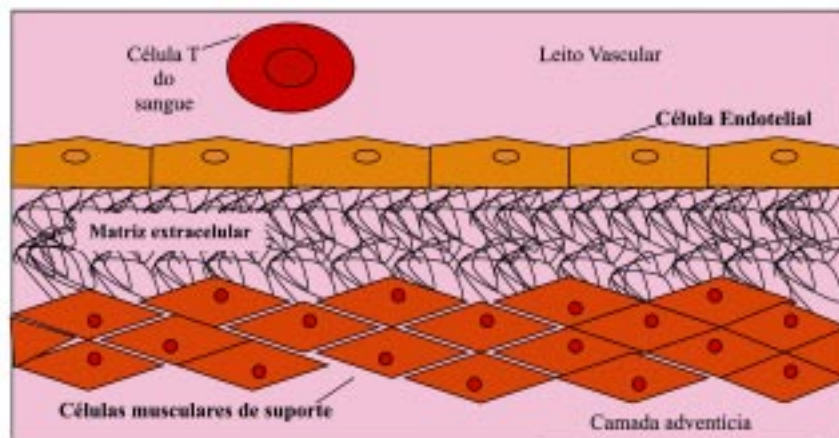
Novos vasos sanguíneos são formados quando as células endoteliais e as células musculares lisas - que formam o revestimento interno e externo dos vasos - crescem em resposta a fatores ou sinais específicos. Esse processo fisiológico, conhecido como angiogênese, pode sofrer alterações e desencadear muitas doenças, como a psoríase, a cegueira na diabetes, a artrite e o câncer.

O entendimento dos mecanismos celulares envolvidos na vascularização lança perspectivas sobre a promoção do crescimento vascular no restabelecimento do tecido isquêmico, e o bloqueio do crescimento de vasos para conter o avanço de patologias, como o câncer (Jain e Carmeliet, 2001).

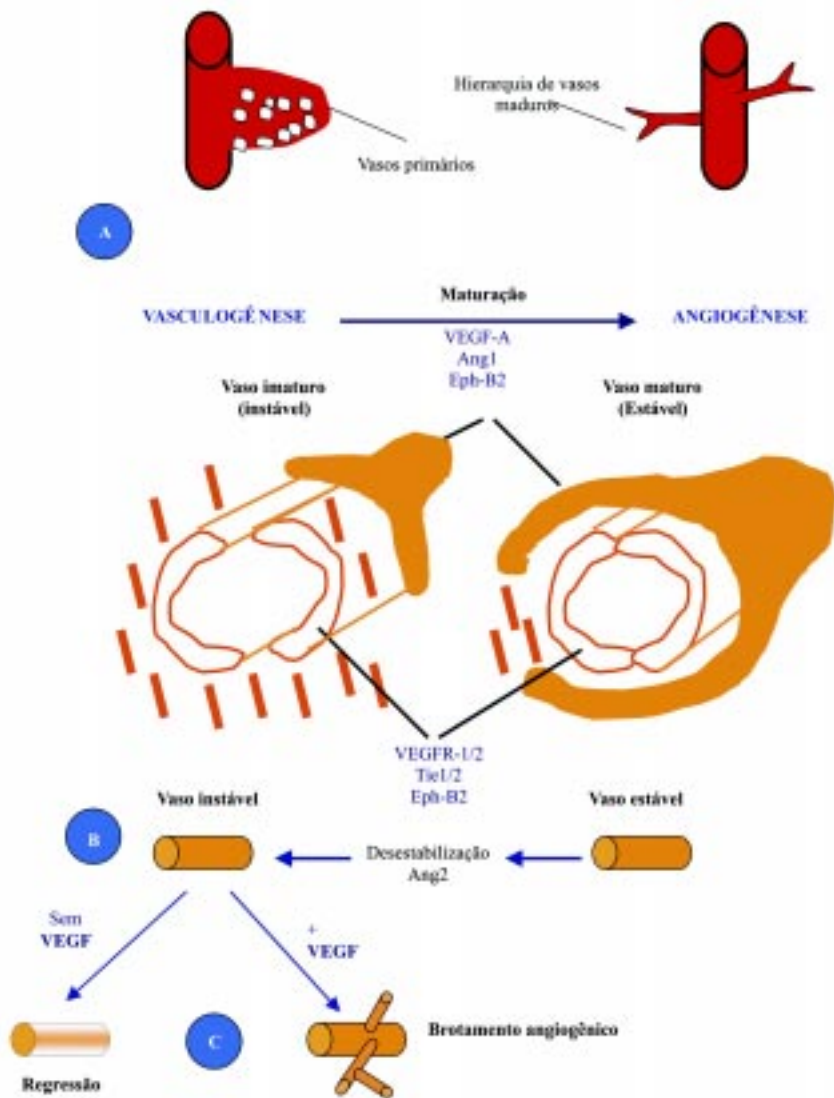
Em condições normais, as células endoteliais proliferam em um ritmo muito lento, apresentando longevidade acentuada. No organismo adulto somente 0,01% das células endoteliais encontram-se normalmente em processo de divisão, um valor bastante diferente daquele observado no epitélio intestinal, onde, apro-

ximadamente, 14% das células encontram-se em processo mitótico (Hanahan e Folkman, 1996).

Nem sempre as células endoteliais mostram um percentual de divisão celular tão reduzido. No decorrer do período embrionário, entre 3,5 e 8 semanas do desenvolvimento humano, o sistema cardiovascular é um dos primeiros sistemas a se estabelecer. Nessa fase, as células são mobilizadas em intensos movimentos morfogênicos integrados no tempo e no espaço para criar progressivamente a forma do corpo. A migração celular nesse período assemelha-se muito mais ao intenso tráfego nas autopistas de uma metrópole, que ao trânsito pacato e organizado de uma cidadezinha de interior. Durante aqueles eventos, que



**Figura 1** - Esquema mostrando a estrutura da parede vascular, onde a monocamada de células endoteliais limita internamente o vaso sanguíneo, separando o leito vascular da estrutura externa de suporte



**Figura 2** - A remodelagem dos vasos sanguíneos possibilita a transição da rede de vasos primordiais típica do período de vasculogênese para a estrutura vascular definitiva resultante do processo de angiogênese; A- Estabilização das células endoteliais; B- Perda da adesão celular e desestabilização do vaso; C- Crescimento ou regressão vascular (Adaptado de Yancopoulos e col., 2000)

envolvem diversos níveis de comunicação célula - célula, incluindo as interações entre diferentes linhagens celulares, o endotélio constitui o arcabouço em torno do qual o coração, as artérias, veias e capilares organizam-se para levar oxigênio e nutrientes a tecidos cada vez mais complexos e menos acessíveis (Carlson, 1996).

O processo de desenvolvimento tissular implica concomitante o aumento na demanda de oxigênio. Em resposta à ocorrência de regiões de hipóxia, os tecidos secretam sinais que estimulam os mecanismos de proliferação, migração e diferenciação de células endoteliais, o que resulta no

surgimento de vasos sanguíneos, ou no rápido crescimento dos vasos pré-existentes, processos denominados de vasculogênese e angiogênese, respectivamente (Tobelem, 1990).

Na *vasculogênese*, precursores das células endoteliais, denominados angioblastos, surgem no mesoderma da vesícula vitelínica. Os angioblastos organizam-se em agregados celulares ou ilhotas sanguíneas, diferenciando-se em uma rede vascular primordial, onde os canais endoteliais apresentam tamanho relativamente uniforme. Posteriormente, durante a *angiogênese*, ocorre uma remodelagem da vascularização primária e novos capilares surgem

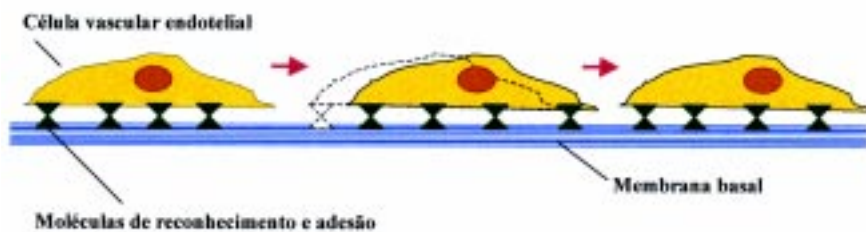
a partir dos vasos primordiais, organizando uma rede vascular estável e complexa, com vasos sanguíneos de tamanhos diferentes. A remodelagem vascular envolve tanto o crescimento como a regressão de vasos, eventos fisiológicos importantes principalmente na infância, durante o crescimento de tecidos e órgãos dos diferentes sistemas orgânicos. A remodelagem seguida do crescimento vascular também está presente no adulto, por exemplo, no crescimento dos cabelos, no reparo do tecido lesionado (cicatrização) e no ciclo reprodutivo feminino - vascularização nos ovários, vias genitais, glândulas mamárias e na organização da placenta (Jones e col., 2001).

No organismo do adulto, a vascularização normalmente estável pode ser reativada por diversos fatores angiogênicos e desencadear a formação de vasos sanguíneos (neovascularização). Perturbações no delicado equilíbrio entre o crescimento e a regressão dos vasos existentes no organismo adulto podem contribuir para o desenvolvimento de diversos processos patológicos. O crescimento de tumores, por exemplo, depende da neovascularização, induzida direta ou indiretamente pelas próprias células tumorais, durante a transição entre os estágios de hiperplasia para neoplasia, a exemplo dos hemangiomas - tumores vasculares comuns e incapacitantes (Carmeliet e Jain, 2000).

A angiogênese prolongada e acentuada também está relacionada com muitas outras patologias, entre as quais, desordens inflamatórias, a endometriose - crescimento do tecido endometrial na cavidade peritoneal, as retinopatias - neovascularização do olho e cegueira em quadros de diabetes, a artrite reumatóide - condição inflamatória na qual capilares sanguíneos invadem e destroem a cartilagem das articulações e a psoríase - doença inflamatória da pele, onde as lesões são caracterizadas pelo aumento do calibre e do comprimento de vasos presentes na derme (Solimene e col., 1999).

### Modelo emergente de formação de vasos sanguíneos

A ocorrência de eventuais falhas ou interferências na sinalização responsável pela estabilização das células endoteliais normalmente sujeita-as a uma terceira alternativa: a morte celular



**Figura 3** - Representação da migração celular - evento dependente da atividade do citoesqueleto, do reconhecimento de sinais quimiotáticos e da adesão ao substrato - uma jornada das células no tempo e no espaço de sua própria diferenciação

(apoptose) com a conseqüente regressão dos vasos sanguíneos. As moléculas sinalizadoras, de natureza pró e anti angiogênica, viabilizam um equilíbrio dinâmico necessário à manutenção do sistema biológico. Esse equilíbrio está baseado na coexistência desses sinais angiogênicos e angiostáticos em concentrações estritamente controladas, interagindo por sua vez com mediadores e receptores membranais e intracelulares, através dos quais, as células interagem em seu microcosmo (Mellino, 2001).

### Independência e morte

O processo de remodelagem angiogênica é um evento decisivo na vascularização, pois a interação entre os fatores angiogênicos e angiostáticos presentes pode determinar a estabilização da rede vascular, ou acarretar a regressão de vasos sanguíneos (Jones e col., 2001).

A estabilização dos vasos sanguíneos é uma condição em que células suporte periendoteliais são recrutadas para a parede do vaso e a matriz extracelular endotelial é reconstituída. Na ausência de contato com as células suporte e a matriz extracelular, os vasos sanguíneos tornam-se desprotegidos e sujeitos à regressão (**Fig. 2A**). Para as células endoteliais a regressão implica uma forma de apoptose ou *anoikis* - indução de morte celular programada, ocasionada pelo desligamento das células de seu suporte na matriz extracelular (Lockshin e Zakeri, 2001).

A redução na adesão celular, durante o processo de remodelagem, também é imprescindível na fase de crescimento dos vasos - a ramificação angiogênica -, pois as células se tornam mais acessíveis aos fatores de crescimento vascular (**Fig. 2B**). Paradoxalmente, as

células têm sua susceptibilidade à morte - a regressão dos vasos sanguíneos aumentada.

Durante o crescimento dos vasos, as células endoteliais encontram-se diante de duas opções normalmente incompatíveis - a divisão celular (mitose) ou a migração e diferenciação celular. No transcorrer do processo de migração celular, as reações químicas entre as moléculas presentes na membrana citoplasmática viabilizam contatos pontuais e transitórios das células com moléculas de adesão e de reconhecimento presentes no ambiente (Yamada, 1991). Ao mover-se, a célula endotelial entra em contato com "uma nova vizinhança", onde as moléculas de adesão celular desempenham um papel comparável a um código vital de endereçamento postal, sem o qual a célula estaria literalmente perdida (**Fig.3**). Essa sinalização orienta as células endoteliais de modo que se reúnam para formarem vasos.

### Morfogênese de vasos sanguíneos: Destruir para construir?

Se eventuais falhas na sinalização responsável pela estabilização das células endoteliais podem sujeitá-las à morte (apoptose) e desencadear a regressão dos vasos sanguíneos, esse processo constitui uma alternativa à divisão (mitose) e à especialização celular (diferenciação) (**Fig. 2C**).

Emerge a perspectiva de que a estabilidade dos vasos é mantida às expensas de sinais voltados não só para a sobrevivência, como também para a morte das células endoteliais. Tal fato implica que, para sobreviver, tanto as células, individualmente como os vasos sanguíneos, devem estar aptos a resistir constantemente a inúmer-

ros sinais de morte.

É possível considerar que a morte faça parte da vida desde cedo. Evidência disso é que se as mitoses ocorressem sem a intervenção de processos de apoptose, uma pessoa de 80 anos de idade poderia acumular até duas toneladas de medula óssea e linfonodos, ou desenvolver um intestino com mais de 15 km de comprimento (Mellino, 2001).

O desenvolvimento de vasos sanguíneos, sob o controle de fatores pró e anti angiogênicos em equilíbrio dinâmico, depende essencialmente de adesões focais. Esses processos de adesão celular mediados por integrinas possibilitam uma comunicação bidirecional entre a matriz extracelular e o citoesqueleto, durante os eventos de proliferação, migração, diferenciação e morte celular (Geiger e col., 2001).

### Célula vascular endotelial - "Megalópole" de sinais e receptores

Parte integrante da matriz extracelular, moléculas de proteoglicanas, como o sulfato de heparana, têm participação relevante nos processos de morfogênese e de organogênese. Essas macromoléculas podem atuar como um "reservatório" para fatores de crescimento pró-angiogênicos, como o bFGF (fator de crescimento de fibroblastos básico), os quais, quando "resgatados" da matriz, podem estimular o processo de diferenciação das células endoteliais (Katz e Yamada, 1997).

O fator de crescimento de fibroblastos básico (bFGF ou FGF-2; PM = 18 kDa), embora não possua especificidade para o endotélio, atua efetivamente no crescimento endotelial *in vitro* e é capaz de induzir, em quantidade nanograma, a angiogênese *in vivo* (Tobelem, 1990).

Estudos sugerem que o bFGF estimula mitoses nas células vasculares endoteliais através de um mecanismo que envolve a formação intracelular de ácido araquidônico e a formação de eicosanóides (Fafeur e col.,1991; Friesel e Maciag, 1995).

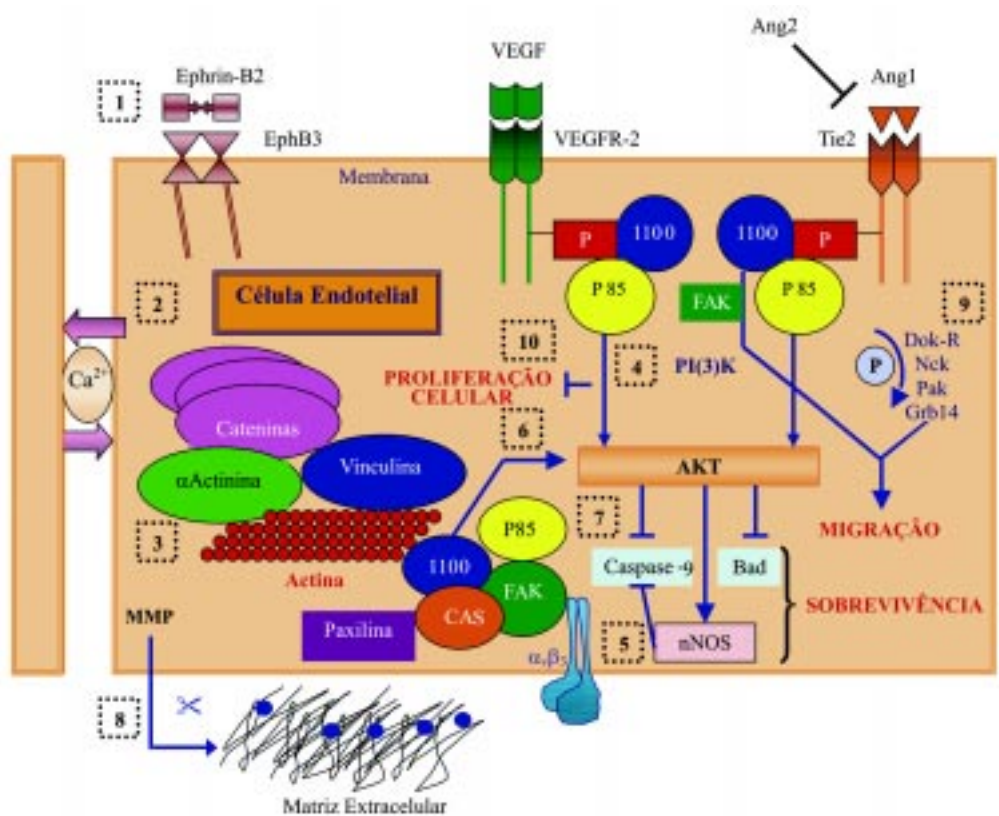
Até recentemente o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) era considerado o único fator específico para a formação de vasos sanguíneos, mas novos fatores de crescimento polipeptídicos vêm sendo identificados. Além de cinco membros da família

VEGF - VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E e PLGF (fator de crescimento placentário), estão incluídos entre os fatores angiogênicos quatro membros da família Ang - angiopoietinas 1, 2, 3 e 4 - e ao menos um membro da família Eph - efrinas A1, B1 e B2. A exemplo da família FGF, outros fatores não específicos para o sistema vascular estão envolvidos nos processos de vascularização, como membros das famílias PDGF - fator de crescimento derivado de plaquetas e de fatores de transcrição (Yancopoulos, 2000).

No complexo jogo de processos celulares que resultam na formação de vasos sanguíneos funcionais, o time de fatores angiogênicos atua de modo integrado, sendo controlado a partir de receptores de membrana. Os receptores dos fatores de crescimento vascular endotelial - VEGF (VEGFR-1, VEGFR-2 e VEGFR-3) e de angiopoietinas - Ang (Tie1, Tie2, Tie3 e Tie4) compreendem uma classe de moléculas relacionadas com a enzima quinase de tirosina, cuja ativação elicitava uma resposta de transdução do sinal angiogênico, através de sucessivas reações de fosforilação. Nesses dois casos, a ligação de um sinal ao seu sítio de ativação faz com que os receptores organizem-se em dímeros (Gale e Yancopoulos, 1999)

Embora existam 4 subtipos de receptores Tie, todas as angiopoietinas ligam-se primariamente ao receptor Tie2, permanecendo sem identificação qualquer ligante para Tie1. Ang1 e Ang4 são agonistas de Tie2, enquanto ang2 e ang3 comportam-se como seus antagonistas competitivos (Fig. 4.1).

O VEGF foi inicialmente chamado de fator de permeabilidade vascular, em face da sua habilidade em promover o aumento da permeabilidade e da proliferação entre as células endoteliais (Jones e col., 2001). Atualmente, o VEGF é considerado um fator preponderante na formação de vasos, tanto no período de vasculogênese como no de angiogênese, quando também são re-



**Figura 4** - Sinalização na célula endotelial - tipos de sinais e receptores; adesão célula - célula mediada por cálcio; adesão focal ao citoesqueleto e à matriz extracelular; bloqueio à proliferação e à apoptose - estímulos para a sobrevivência e a migração celular (Baseado em Jones e col., 2001)

queridos os sinais Ang1 ou Ang4 e Eph-B2, na tarefa de remodelagem e estabilização da vascularização imatura inicial (Fig. 2A).

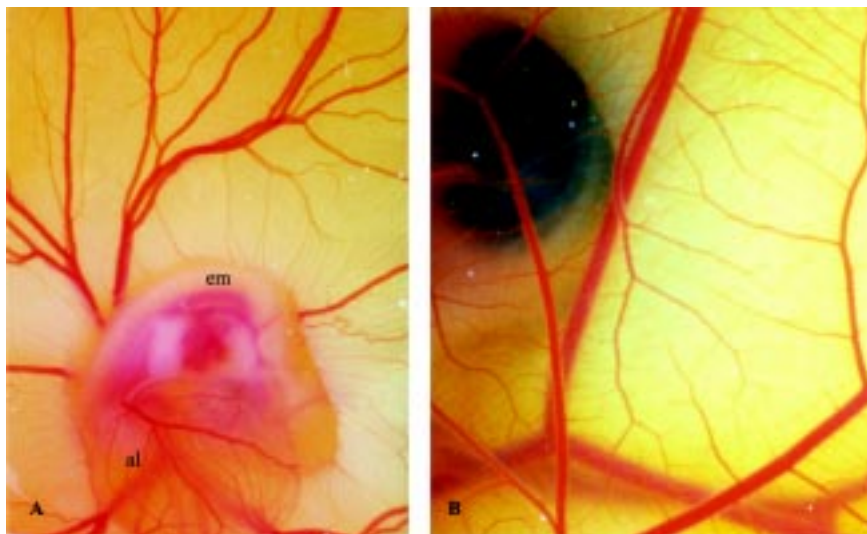
O receptor VEGFR-2 parece mediar a maior parte das respostas angiogênicas - inicialização, alongamento e permeabilidade de vasos sanguíneos - do VEGF-A, enquanto o VEGFR-1 exerceria apenas uma função moduladora no processo, principalmente seqüestrando o sinal ligante (VEGF) sem, efetivar uma resposta positiva na vascularização.

Na remodelagem vascular, as ligações entre Ang1 e o receptor Tie2 maximizam as interações entre células endoteliais, matriz extracelular e células suporte sendo fundamentais para o redimensionamento do tamanho dos vasos e a manutenção de sua estabilidade. A discriminação no desenvolvimento de artérias e veias é mediada pela sinalização de efrina-B2, que está diretamente relacionada com a diferenciação de vasos arteriais primordiais, e de efrina-B4, que sinaliza para a formação de vasos venosos (Witzenbichler e col., 1998; Thurston e Yanco-

poulos, 2001).

Estudos utilizando embriões de ratos demonstram a crítica relação existente entre a sinalização mediada pelos receptores VEGFR-2 e Tie2. Mutação envolvendo um único alelo do gene VEGF é suficiente para causar mortalidade embrionária, devido a severas anormalidades vasculares (Yancopoulos, e col., 2000). Na ausência da ligação entre Ang1 e o receptor Tie2, as células endoteliais falham em associar-se com as células suporte, sendo que embriões destituídos da via de sinalização do receptor Tie2, por exemplo, morrem entre o 9º e 13º dias do período embrionário como consequência da falta, tanto de expansão como de estabilidade do plexo vascular primário. Esses embriões mutantes também apresentam graves anomalias cardíacas (Miquerol e col., 2000).

No adulto, falhas na sinalização exercida por Ang1, devido à ação de antagonistas competitivos de Ang1, tal como a Ang 2, coincidem com o reinício da remodelagem vascular periódica verificada no ciclo reprodutivo feminino e também em processos de vasculariza-



**Figura 5** - Aspecto geral dos vasos sanguíneos na vasculogênese (A) e na angiogênese (B), característicos das membranas vitelínica e corioalantóica (corioalantoic membrane - CAM) de embriões de galinha (em). Enquanto a membrana vitelínica organiza-se já no primeiro dia de incubação do ovo, a CAM, formada na fusão de dois outros anexos - cório e alantóide (al), sofre intensa vascularização entre o 4º e o 8º dia do desenvolvimento embrionário da espécie

ção anormal (neovascularização).

Durante o processo de remodelagem vascular, o destino dos vasos depende fundamentalmente da disponibilidade de VEGF. Na presença desse fator, os vasos iniciam processo de crescimento, recapitulando a atividade angiogênica em taxa similar à do desenvolvimento embrionário, enquanto na ausência de VEGF, as células, destituídas de adesão, entram em apoptose e os vasos conseqüentemente regredem - **Fig. 2C** (Bergers e col., 1998).

#### **Promovendo a formação de vasos: Estímulo contínuo para a sobrevivência**

A adesão celular envolve a participação de moléculas, tais como as caderinas, integrinas e selectinas (Wagener e Ergün, 2000).

Caderinas vasculares endoteliais, localizadas em junções aderentes, constituem uma barreira entre células endoteliais vizinhas, que é mediada por interações dependentes do cálcio (**Fig. 4.2**). As caderinas estão conectadas a um complexo de proteínas ligadas ao citoesqueleto e também comunicam-se com o receptor VEGFR-2 (**Fig. 4.3**). A sinalização, a partir do VEGFR-2, é uma das principais responsáveis pela sobrevivência da célula endotelial, atra-

vés das reações de fosforilação envolvendo a proteína quinase B - PKB ou Akt - e a quinase lipídica fosfatidilinositol-3-hidroxi quinase - PI-3-K (**Fig. 4.4**).

As integrinas são proteínas diméricas que atravessam a membrana e emergem na superfície celular, onde atuam em contatos célula-célula, através de interações com a matriz extracelular ou com a lâmina basal - malha de colágeno tipo IV, glicoproteínas e proteoglicanas. A ligação entre integrinas e matriz extracelular ou lâmina basal, leva à ativação de moléculas localizadas no meio intracelular denominadas quinases de adesão focal - FAK (**Fig. 4.5**). Essas proteínas quinases, situadas nas proximidades da membrana, compõem a estrutura interna da adesão ao substrato (Koch e col., 1995).

#### **Sobrevivência dependente da adesão**

Uma vez ativadas, as FAK reagem recrutando outras proteínas quinases citoplasmáticas, como as tirosinas quinases citoplasmáticas, referidas como "SRC" - que sinergisticamente reagem fosforilando outros sítios de FAK. Esse tipo de ativação e reação recíproca entre FAK e SRC leva ao recrutamento de outras moléculas acopladoras. Algumas das moléculas recrutadas nesse

processo são a Sos, a PI-3-K, a CAS e as paxilinas. O acoplamento dessas moléculas incrementa a adesão focal à medida em que se reflete em ativação ainda mais efetiva das FAK, otimizando o estímulo de sobrevivência da célula por meio da fosforilação e ativação de Akt (**Fig. 4.6**).

A subunidade regulatória p85 da PI-3-K associa-se com os receptores fosforilados Tie2 e VEGFR-2, provavelmente através de um resíduo da proteína tirosina quinase 1100, resultando também em ativação de Akt. Por sua vez, a ativação de Akt leva à fosforilação da NO sintase endotelial. Como um antídoto para a morte celular, o óxido nítrico (NO) inativa proteínas pró-apoptóticas como Bad e Caspase-9 e pode ativar, nas células endoteliais, proteínas que inibem a apoptose, como a survivina - **Fig. 4.7** (Blume-Jensen e Hunter, 2001).

#### **A migração das células endoteliais**

Durante a ramificação angiogênica, o estímulo à migração desencadeado pelos fatores angiogênicos implica alterações marcantes na arquitetura da células endoteliais. O citoesqueleto é mobilizado e ocorre secreção de enzimas proteolíticas, metaloproteínases que degradam a matriz extracelular permitindo assim, mobilidade celular para efetivação do processo morfológico de tubulogênese (**Fig. 4.8**) (Brentani, 1992).

Na migração celular, além dos receptores Tie2 e das proteínas FAK, um número significativo de moléculas acopladoras, tais como Nck e Dok-R, são implicadas na transdução de sinais para as proteínas contráteis do citoesqueleto (**Fig. 4.9**). Atuando de modo integrado, essas moléculas são responsáveis por uma economia de energia. O recrutamento de proteínas Dok-R para o receptor Tie2, dessensibiliza proteínas quinases - mitógeno ativadas, bloqueando as mitoses durante o processo de migração celular (**Fig. 4.10**). Para as células endoteliais, reproduzir-se e, concomitantemente, viajar parecem ser atividades incompatíveis (Jones e Dumont, 1999).

#### **Bloqueando a formação de vasos: Regulação de receptores por fosfatases**

As enzimas fosfatases anulam o trabalho de proteínas quinases e podem assim modular a atividade de receptores angiogênicos como VEGFR-2 e Tie2. Uma

classe de receptores com atividade fosfatase específica de célula endotelial, denominada fosfatase de proteína tirosina vascular endotelial (VE-PTP) associada à Tie2, e exibe igual nível de afinidade por Ang1. Desse modo, angiopoietinas poderiam ligar-se simultaneamente à Tie2 e VE-PTP, promovendo a formação de heterodímeros - compostos pelos dois receptores atípicos - na superfície da célula endotelial. Conseqüentemente, VE-PTP bloquearia a formação dos dímeros de Tie2 e a sua subsequente fosforilação, tornando-os funcionalmente inativos (Fachinger e col., 1999).

O texto bíblico provê uma interessante metáfora sobre a realidade da regulação de receptores vasculares endoteliais. Dalila ao cortar os cabelos de Sansão, destituiu-o da fonte de sua força sobre-humana. Então, traído pela ação da amante, Sansão é subjugado e preso pelos inimigos. Tal como ocorreu com Sansão, o receptor Tie1 é proteoliticamente clivado, em resposta à "ação de Dalila" por parte do VEGF sobre o seu receptor. Os "longos cabelos" em questão - um domínio protéico extracelular Tie1 - são removidos e o fragmento Tie1 remanescente - composto dos domínios transmembranais e intracelulares - permanece assim por várias horas, sendo quimicamente seqüestrado na associação com outras proteínas, a exemplo de outra fosfatase denominada Shp2 (Marron e col., 2000).

### Fronteiras entre a formação e a regressão de vasos sanguíneos

O fator de crescimento vascular endotelial estimula o crescimento de vasos sanguíneos em diversos tecidos e órgãos, como a retina, ovários, articulações e os neurônios motores na medula espinhal. Assim, a inibição terapêutica de VEGF poderia bloquear o crescimento de tumores no ovário, mas também elevaria o risco de doenças cardíacas e de degeneração de neurônios motores no sistema nervoso central. Por outro lado, a liberação de um fator angiogênico inespecífico quanto ao tecido, como o VEGF, com o objetivo de estimular a formação de novos vasos no coração isquêmico, incrementaria o risco de ocorrência de câncer e de cegueira (Carmeliet, 2001).

As células dependem basicamente de oxigênio e nutrientes, entretanto, existem outras necessidades, consideradas tecido-específicas. No sistema vas-

cular, além dos sinais inespecíficos que modulam a formação de vasos nos tecidos de um modo geral, moléculas angiogênicas tecido-específicas começam a ser identificadas e isoladas, a exemplo do fator de crescimento vascular endotelial derivado de glândula endócrina (Endocrine gland-vascular endothelial growth factor - EG-VEGF). Enquanto nas glândulas endócrinas os vasos sanguíneos possuem paredes finas e poros - fenestrações - através das quais os hormônios produzidos podem entrar na corrente sanguínea, uma condição oposta tem lugar no cérebro, onde as células endoteliais diferem por não apresentarem fenestrações, sendo revestidas por uma camada espessa de células de suporte, que impede a entrada de moléculas potencialmente tóxicas no sistema nervoso central (LeCouter e col., 2001).

Tal como o FGF e o VEGF, inúmeros fatores de crescimento podem regular fisiologicamente os processos de formação de vasos sanguíneos. Numerosas substâncias antiangiogênicas endógenas e exógenas têm sido reportadas na literatura, entre as quais, corticosteróides, fatores derivados de cartilagem, fator plaquetário 4 (PF-4), angiostatina - um fragmento de plasminogênio, inibidores de metaloproteínases, talidomida - analgésico e inibidor de fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e antagonistas de hormônios estrogênicos, tais como tamoxifeno, clomifeno e raloxifeno (Woltering e col., 1991; Gagliardi e col., 1996; Gagliardi e Collins, 1993; Jordan, 1998).

Produtos naturais vêm contribuindo sobremaneira para a descoberta de novas drogas de interesse para a saúde humana (Calixto e col., 1997). Paper e col. (1997) reportaram que um complexo de peptidoglicana-polissacarídeo sulfatado, extraído de bactérias do gênero *Arthrobacter*, denominado teogalan-sódio, inibiu a angiogênese. Igual efeito foi obtido a partir de oligossacarídeos, polipeptídeos e peptidoglicanas extraídos de parede celular de vegetais, como o *Rhodococcus sp* (Nocardaceae), de derivados de fungos (fumagilinas), como o TNP-470, metabólitos secundários de plantas, como o diterpenóide taxol e de compostos presentes em vinhos tintos (Dordunoo e col., 1995; Nicolaou e col., 1996; Jang e col., 1997; Frémont, 2000; Qiu e col., 2000).

Polissacarídeos obtidos de algas ma-

rinhas, como o gênero *Sargassum* (Duarte et col., 2001), estão sendo avaliados quanto à estrutura química e a ação biológica sobre o sistema vascular (Noda, 1989; De Vries e Beant, 1995; König e Wright, 1995; Maraschin e col., 2000; Dias e col., 2001). Resultados preliminares indicam que embriões de galinha expostos a polissacarídeos de alto peso molecular daquela espécie sofreram inibição nos processos de vasculogênese e angiogênese no período de 2 a 8 dias do desenvolvimento (Fig. 5).

O entendimento dos processos de formação de vasos sanguíneos e o reconhecimento de particularidades de sua estrutura nos diversos sistemas do organismo conferem suporte à abordagem das patologias relacionadas com o bloqueio ou com o estímulo da formação de vasos. Os resultados sobre a ação moduladora da angiogênese, obtidos a partir de princípios naturais, ampliam os horizontes dos tratamentos e as perspectivas biotecnológicas sobre a atividade e a estrutura química de novos compostos.

### Referências Bibliográficas

- Calixto, J.B.; Santos, A.R.S.; Paulino, N.; Cechinel Filho, V.; Yunes, R.A. 1997. The plants of the genus *Phyllanthus* as a potential source of new drugs. *Ciência e Cultura*, 49 (5/6): 422 - 432.
- Bergers, G.; Hanahan, D.; Coussens, L.M. 1998. Angiogenesis and apoptosis are cellular parameters of neoplastic progression in transgenic mouse models of tumorigenesis. *International. J Devel Biol*, 42: 995 - 1002.
- Blume-Jensen, P.; Hunter, T. 2001. Oncogenic kinase signalling. *Nature*, 411: 355 - 365.
- Brentani, R.B. 1992. Cell-matrix interaction: An update. *Ciência e Cultura*, 44 (4): 246 - 252.
- Carlson, B.M. 1996. *Embriologia Humana e Biologia do Desenvolvimento*. Guanabara-Koogan, p. 343 - 374, 408 pp.
- Carmeliet, P. 2001. Creating unique blood vessels. *Nature*, 412: 868 - 869.
- Carmeliet, P.; Jain, R. K. 2000. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature*, 407: 249 - 257.
- De Vries, D.J.; Beant, P.M. 1995. Fishing for drugs from the sea: status and

- strategies. *TIPS*, 16: 275 - 278.
- Dias, P.F.; Passos, R.; Maraschin, M.; Pessatti, M.L.; Ribeiro-Do-Valle, R.M. 2001. Atividade de polissacarídeos de *Sargassum stenophyllum* e *Fucus vesiculosus* na vascularização e morfogênese embrionária de *Gallus domesticus*. *Resumos da XVI Reunião Anual da FeSBE, Agosto*. Brasil. p.209.
- Dordunoo, S.; Jackson, J.K.; Arsenault, L.A.; Oktaba, A.M.C.; Hunter, W.L.; Burt, H.M. 1995. Taxol encapsulation in poly( $\epsilon$ -caprolactone) microspheres. *Cancer Chemother Pharmacol*, 36: 279 - 282.
- Duarte, M.E.R.; Cardoso, M.A.; Nosedá, M.D.; Cerezo, A.S. 2001. Structural studies on fucoidans from the brown seaweed *Sargassum stenophyllum*. *Carbohydr Res*, 333: 281 - 293.
- Fachinger, G.; Deutsch, U.; Risau, W. 1999. Functional interaction of vascular endothelial-protein-tyrosine phosphatase with the angiopoietin receptor tie-2. *Oncogene*, 18: 5948 - 5963.
- Fafeur, V. Jiang, Z.P.; Bohlen, P. 1991. Signal transduction by bFGF, but not TGFB1, involves arachidonic acid metabolism in endothelial cells. *J. Cell Physiol.*, 149: 277 - 283.
- Frémont, L. 2000. Biological effects of resveratrol. *Life Sci.*, 66 (8): 663 - 673.
- Friesel, R.E.; Maciag, T. 1995. Molecular mechanisms of angiogenesis: fibroblast growth factor signal. *FASEB J.*, 9: 919 - 925.
- Gagliardi, A.R.; Hennig, B.; Collins, D.C. 1996. Antiestrogens inhibit endothelial cell growth stimulation by angiogenic growth factors. *Anticancer Res.*, 16: 1101 - 1106.
- Geiger, B.; Bershadsky, A.; Pankov, R.; Yamada, K.M. 2001. Transmembrane extracellular matrix-cytoskeleton crosstalk. *Nature Rev.*, 2: 793 - 805.
- Hanahan, D.; Folkman, J. 1996. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*, 86: 353 - 364.
- Jain, R.K. e Carmeliet, P.F. 2001. Vessels of death ou life. *Sci. Am.*, Dec: 28 - 33
- Jain, R.K.; Schlenger, K.; Höckel, M.; Yuan, F. 1997. Quantitative angiogenesis assays: progress and problems. *Nature Med.*, 3: 1203 - 1208.
- Jones, N.; Dumont, D.J. 1999. Recruitment of Dock-R to the EGF receptor through its PTB domain is required for attenuation of Erk MAP kinase activation. *Curr. Biol.*, 9: 1057 - 1060.
- Jones, N.; Iljin, K.; Dumont, D.; Alitalo, K. 2001. Tie receptors: new modulators of angiogenic and lymphangiogenic responses. *Nature (Ver.Mol.Cell Biol.)*, 2: 257 - 267.
- Jordan, K. 1998. Designer estrogens. *Sci Am.*, Oct.: 36 - 43.
- Katz, B.Z.; Yamada, K.M. 1997. Integrins in morphogenesis and signaling. *Biochimie*, 79: 467-476.
- Koch, A.E.; Halloran, M.M.; Haskell, C.J.; Shah, M.R. & Polverini, P.J. 1995. Angiogenesis mediated by soluble forms of E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1. *Nature*, 376: 517 - 519.
- Koch, A. E. 1998. Angiogenesis. Implications for reumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 41 (6): 951 - 962.
- König, G.M.; Wright, A.D. 1995. Marine natural products research. Current directions and future potential. *Planta Medica*, 62: 193 - 211.
- Lecouter, J.; Kowalski, J.; Foster, J.; Hass, P.; Zhang, Z.; Dillard-Telm, L.; Frantz, G.; Rangell, L.; Deguzman, L.; Keller, G-A.; Peale, F.; Gurney, A.; Hillan, K.J. & Ferrara, N. 2001. Identification of an angiogenic mitogen selective for endocrine gland endothelium. *Nature*, 412: 877 - 884.
- Lockshin, R.A.; Zakeri, Z. 2001. Programmed cell death and apoptosis: origins of the theory. *Nature Reviews*, 411: 545 - 556.
- Maraschin, M.; Gonçalves, C.; Passos, R.; Dias, P.F.; Ribeiro Do Valle, R.M.; Fontana, J.D.; Pessatti, M.L. 2000. Isolation, Chemical characterization and biological activities of cell wall polysaccharides of *Laurencia microcladia* (Rhodomelaceae, Ceramiales). *Notas Téc.Facimar*, 4: 37 - 41.
- Marron, M.B.; Hughes, D.P.; McCarthy, M.J.; Beaumont, E.R.; Brindle, N.P. 2000. Evidence for heterotypic interaction between the receptor tyrosine kinases tie-1 and tie-2. *J.Biol.Chem.* 275: 39741 - 39746.
- Melino, G. 2001. The siren's song. *Nature*, 412: 23 - 27.
- Miquerol, L.; Langille, B.L.; Nagy, A. 2000. Embryonic development is disrupted by modest increases in vascular endothelial growth factor gene expression. *Development*, 127 (18): 3941 - 3946.
- Nicolaou, K.C.; Guy, R.K.; Potier, P. 1996. Taxoids: new weapons against cancer. *Sci Am.*, June: 84 - 88.
- Noda, H.; Amano, H.; Arashima, K.; Hashimoto, S.; Nisizawa, K. 1989. Studies on the antitumor activity of marine algae. *Nippon Suissan Gakkaishi*, 55 (7): 1259 - 1264.
- Paper, D.H.; Ehrenfeld, U.; Hass, R.; Franz, G. 1997. Antiangiogenic activity of a cell wall extract derived from *Rhodococcus Rhodochrous*. *Abstracts of the International Symposium: Relevance of Tumor Models for Anticancer Drug Development*, Oct. Freiburg.
- Qiu, J.G.; Factor, S.; Chang, T.H.; Knighton, D.; Nadel, H.; Levenson, S.M.. 2000. Wound healing: captopril, an angiogenesis inhibitor, and *Staphylococcus aureus* peptidoglycan. *J.Surg.Res.*, 92: 177 - 185.
- Solimene, A.C.C.; Boscardin, S.B.; Ferraz, M.G.C.; Chammas, R. 1999. Angiogenesis in solid tumors. *SBOC*, 1: 9 - 20.
- Thurston, G.; Yancopoulos, G.D. 2001. Gridlock in the blood. *Nature*, 414: 163 - 164.
- Tobelem, G. 1990. Endothelial cell growth: biology and pharmacology in relation to angiogenesis. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 1: 703 - 705.
- Wagener, C.; Ergün, S. 2000. Angiogenic properties of the carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1. *Exp.Cell Res.*, 261: 19 - 24.
- Witzenbichler, B.; Maisonpierre, P.C.; Jones, P.; Yancopoulos, G.D.; Isner, J.M. 1998. Chemotatic properties of angiopoietin-1 and -2, ligands for the endothelial-specific receptor tyrosine kinase Tie2. *J.Biol.Chem.*, 273: 18514 - 18521.
- Woltering, E.A.; Barrie, R.; O'dorisio, T.M.; Arce, D.; Ure, T.; Cramer, A.; Holmes, D.; Robertson, J. & Fassler, J. 1991. Somatostatin analogues inhibit angiogenesis in the chick chorioallantoic membrane. *J.Surg.Res.*, 50 (3): 245 - 251.
- Yamada, K.M. 1991. Adhesive recognition sequences. *J.Biol.Chem.*, 266: 12809 - 12812.
- Yancopoulos, G.D.; Davis, S.; Gale, N.W.; Rudge, J.S.; Wiegand, S.J.; Holash, J. 2000. Vascular specific growth factors and blood vessel formation. *Nature (Insight Progress)*, 407: 242 - 257. 