

Research Article

Glycolytic 2-deoxy-d-glucose periocular inhibitors As adjuvant therapy in retinoblastoma

Demara Yedhi Azlia,¹ Laily Annisa Kusumastuti,¹ Daffa Abhista Wicaksana¹

¹Medical Studies Program, Faculty of Medicine, Public Health, and Nursing

Abstract

Background: Retinoblastoma is the most common intraocular tumor in children. Retinoblastoma tumors consist of areas with high angiogenic activity and other areas with low oxygen pressure conditions. Tumor cells that survive in this hypoxic region have been shown to be resistant to chemotherapy and radiation, namely standard retinoblastoma therapy which selectively targets rapidly dividing cell populations, so that therapy is needed that can reach up to the hypoxic cells. 2-deoxy-D-glucose (2-DG) has been shown to be effective in reducing hypoxic areas in tumors, reducing tumor buds, and inhibiting angiogenesis.

Objective: to discuss the glycolytic 2-DG inhibitors as adjuvant therapy in retinoblastoma.

Methods: The authors searched for medical articles in the PubMed and ResearchGate literature databases with the keywords treatment, 2-deoxy-D-glucose, 2-DG, retinoblastoma, and cancer. The words are combined with OR or AND using Boolean logic. Based on the selection according to the inclusion and exclusion criteria, 4 articles were used as the main reference for writing this review literature.

Results: 2-DG will disregulate (inhibit) the process of angiogenesis through upregulation of Estrogen Receptor 1 Nuclear (ESR 1), ubiquitin, jun activation domain binding protein 1 (JAB1), G-protein alpha S, and CAPER in the apical part of the tumor and B3GNT1 upregulation, CEPT1, PABPC1, myotrophin, HAX1 in the postero-lateral part of the tumor. H3, DTX1, RPL12, and bone morphogenic (BMP) histones are also upregulated so that hypoxia can be inhibited. With this mechanism, the tumor burden can be suppressed.

Conclusion: Glycolytic 2-DG inhibitors with anti-angiogenesis and anti-hypoxic abilities can be developed as adjuvant therapy for advanced retinoblastoma patients.

Keywords : 2-deoksi-D-glukosa, inhibitor glikolitik, retinoblastoma, terapi adjuvan

Correspondence should be addressed to Demara Yedhi Azlia;
demarayedhiazlia@gmail.com

Abstrak

Latar Belakang: Retinoblastoma adalah tumor intraokuler yang paling sering terjadi pada anak. Tumor retinoblastoma terdiri dari daerah dengan aktivitas angiogenik tinggi dan daerah lain dengan kondisi tekanan oksigen rendah. Sel tumor yang bertahan hidup di daerah hipoksia ini telah terbukti resisten terhadap kemoterapi dan radiasi, yakni terapi standar retinoblastoma yang secara selektif menargetkan populasi sel yang membelah dengan cepat, sehingga diperlukan terapi yang dapat menjangkau hingga ke sel hipoksia tersebut. 2-deoksi-D-glukosa (2-DG) terbukti efektif mengurangi daerah hipoksia dalam tumor, mengurangi *tumor burden*, dan menghambat angiogenesis.

Tujuan: untuk membahas mengenai inhibitor glikolitik 2-DG sebagai terapi adjuvan pada retinoblastoma.

Metode: Penulis mencari artikel kedokteran pada *database* literatur *PubMed* dan *ResearchGate* dengan kata kunci *treatment*, *2-deoxy-D-glucose*, *2-DG*, *retinoblastoma*, dan *cancer*. Kata-kata tersebut digabungkan dengan *OR* atau *AND* menggunakan logika Boolean. Berdasarkan seleksi menurut kriteria inklusi dan eksklusi didapatkan 4 artikel yang digunakan sebagai referensi utama penulisan *literature review* ini.

Hasil: 2-DG akan mendisregulasi (menghambat) proses angiogenesis melalui upregulasi *Estrogen Receptor 1 Nuclear* (ESR 1), *ubiquitin*, *jun activation domain binding protein 1* (JAB1), *G-protein alpha S*, dan *CAPER* pada bagian apikal tumor serta upregulasi *B3GNT1*, *CEPT1*, *PABPC1*, *myotrophin*, *HAX1* pada bagian postero-lateral tumor. Histon H3, *DTX1*, *RPL12*, dan *bone morphogenic* (BMP) juga mengalami upregulasi sehingga hipoksia dapat dihambat. Dengan adanya mekanisme tersebut maka *tumor burden* dapat ditekan.

Simpulan: Inhibitor glikolitik 2-DG dengan kemampuan anti angiogenesis dan anti hipoksia dapat dikembangkan sebagai terapi adjuvan bagi pasien retinoblastoma stadium lanjut.

Kata kunci : 2-deoksi-D-glukosa, inhibitor glikolitik, retinoblastoma, terapi adjuvan

PENDAHULUAN

Retinoblastoma adalah tumor intraokuler yang paling sering terjadi pada anak dengan persentase 3% dari seluruh keganasan pada anak. Terdapat 7000-8000 kasus baru per tahun di seluruh dunia. Rerata angka kejadian retinoblastoma di Amerika Serikat dan Eropa adalah 2-5/10⁶ anak (sekitar 1 dari 14.000-18.000 kelahiran hidup). Namun, kejadian retinoblastoma tidak terdistribusi secara merata di seluruh dunia. Angka kejadian retinoblastoma lebih tinggi (6-10/10⁶ anak) di Afrika, India, dan di antara anak-anak keturunan asli Amerika di benua Amerika Utara.¹ Masih belum diketahui apakah variasi geografis ini disebabkan oleh faktor etnis dan sosial-ekonomi.² Namun, telah diketahui bahwa 80% dari seluruh keganasan pada anak terjadi di negara berkembang, dimana pengobatan masih terbatas dan tingkat kelangsungan hidup jangka panjangnya tergolong rendah.³

Tingkat kelangsungan hidup penderita retinoblastoma di Amerika Serikat hampir mencapai angka 100%, sedangkan di negara berkembang angkanya jauh lebih rendah. Tingkat kelangsungan hidup berkisar antara 80-89% di negara Amerika Latin yang lebih maju hingga serendah 20-46% di negara Afrika tertentu. Lebih dari 90% anak dengan retinoblastoma tinggal di negara berpenghasilan rendah dan menengah, dan negara-negara tersebut memiliki 90% kasus dengan stadium lanjut. Sebagai hasil dari tingkat kelangsungan hidup yang lebih rendah,

diperkirakan ada 3000 hingga 4000 kematian setiap tahun karena retinoblastoma.¹ Oleh karena itu, penting untuk menemukan terapi retinoblastoma yang efisien dan efektif terutama pada stadium lanjut.

Retinoblastoma adalah tumor ganas intarokular yang tersusun atas sel tumor embrionik dari retinoblast. Tanda retinoblastoma yang paling umum adalah leukokoria (50-62%) dan beberapa pasien mungkin juga mengalami strabismus (20%). Tanda dan gejala yang muncul tergantung pada luas dan lokasi tumor pada saat terdiagnosis.^{1,4}

Retinoblastoma dihasilkan oleh mutasi yang menyebabkan hilangnya fungsi pada kedua alel gen supresor tumor RB1 yang terletak pada kromosom 13q. Anti-onkogen ini diketahui memiliki fungsi yang terlibat dalam penghambatan kontak sel, diferensiasi, transkripsi, regulasi siklus sel, proliferasi, dan apoptosis.^{5,6}

Tumor retinoblastoma terdiri dari daerah dengan aktivitas angiogenik tinggi dan daerah lain dengan kondisi tekanan oksigen rendah yang terlihat lebih jelas pada stadium lanjut.^{3,7} Sel tumor yang bertahan hidup di daerah hipoksia ini telah terbukti resisten terhadap kemoterapi dan radiasi, yakni terapi standar retinoblastoma yang secara selektif menargetkan populasi sel yang membelah dengan cepat, sehingga diperlukan terapi yang dapat menjangkau hingga ke sel hipoksia tersebut.³

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa sel hipoksia dalam tumor retina LH_{BETA}T_{AG} dapat dibunuh menggunakan inhibitor glikolitik 2-deoksi-D-glukosa (2-DG). *Tumor buden* terbukti berkurang secara signifikan dan efektif mengurangi daerah hipoksia dalam tumor. 2-DG juga terbukti menghambat angiogenesis.^{3,6-9} Hal ini sangat berdampak positif pada terapi retinoblastoma dan penting untuk digali lebih dalam lagi. Oleh karena itu, *literature review* ini bertujuan untuk membahas mengenai inhibitor glikolitik 2-DG sebagai terapi adjuvan pada retinoblastoma.

METODE

Penulis mencari artikel kedokteran pada *database* literatur *PubMed* dan *ResearchGate*. Kata kunci yang digunakan adalah *treatment*, *2-deoxy-D-glucose*, *2-DG*, *retinoblastoma*, dan *cancer* pada *title* dan *title/abstract*. Kata-kata tersebut digabungkan dengan *OR* atau *AND* menggunakan logika Boolean untuk mendapatkan artikel yang spesifik. Berdasarkan hasil pencarian didapatkan 33 artikel kemudian diseleksi menggunakan kriteria inklusi dan eksklusi.

Kriteria inklusi yang digunakan antara lain:

1. Artikel internasional berbahasa inggris.
2. Artikel internasional yang terbit tahun 2009-2019 (10 tahun terakhir).
3. Artikel yang membahas mengenai inhibitor glikolitik 2-DG sebagai terapi adjuvan pada retinoblastoma.

Adapun kriteria eksklusinya sebagai berikut:

1. Arikel berupa *systematic review*.
2. Terdapat konflik kepentingan pada artikel.

Berdasarkan seleksi menurut kriteria inklusi dan eksklusi tersebut didapatkan 4 artikel yang digunakan sebagai referensi utama penulisan *literature review* ini.

PEMBAHASAN

Patogenesis retinoblastoma

Retinoblastoma terjadi karena ketidakstabilan genom dan mitosis cepat dari retinoblas akibat kerusakan protein pRB dari gen RB1 yang mengalami mutasi atau delesi.¹⁰ Gen RB1 yang merupakan gen supresor tumor ini terletak pada 13q14.2, artinya ditemukan pada lengan q (panjang) kromosom 13, pita nomor 14, dan sub pita 2.¹¹

Gen RB1 ini mengkode protein pRB. Protein pRB sendiri merupakan protein nuclear yang berperan dalam pengaturan pertumbuhan sel.¹² Protein pRB normalnya berikatan dengan kompleks faktor transkripsi E2F untuk membuatnya tidak aktif sehingga mencegah pergerakan mitosis sel dari fase G1 ke fase S.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pRB memiliki peran dalam mengendalikan diferensiasi seluler, mengatur apoptosis, mempertahankan penghentian siklus sel, dan *remodeling* kromatin.¹⁰ Gen RB1 yang tidak teraktivasi juga dapat terlihat pada beberapa bentuk lain dari kanker

sekunder. Pada retinoblastoma terjadi delesi atau hilangnya fungsi dari kedua alel RB1 yang menyebabkan ketidakstabilan genom.¹²

Terdapat teori mekanisme *two hit* pada pembentukan retinoblastoma yang dikemukakan oleh Knudson. Kedua kopi gen retinoblastoma pada sel manusia harus mengalami mutasi untuk berkembang menjadi retinoblastoma. Mutasi pertama terjadi pada sel somatik atau germinal, sedangkan mutasi kedua terjadi pada sel somatik. Mutasi pertama yang terjadi pada sel germinal menghasilkan retinoblastoma tipe hereditas/familial yang biasanya terjadi bilateral. Mutasi pertama yang terjadi pada sel somatik menghasilkan retinoblastoma tipe non-hereditas/sporadik yang biasanya terjadi unilateral.¹³

Studi juga menunjukkan bahwa diperlukan minimal 3 mutasi pada gen yang terpisah, di luar mutasi kedua alel gen RB1 untuk membentuk retinoblastoma. Ketiga mutasi ini dapat terjadi pada gen supresor tumor atau onkogen lain, seperti MYCN (2p24.3), E2F3 dan DEK (6p22), CDH11 (16q21), atau p75NTR (17q21). Hal ini memungkinkan transformasi retinoma menjadi tumor ganas retinoblastoma.¹²

Ketidakstabilan genom dari mutasi RB1 juga dapat menyebabkan masalah pada gen lain, seperti pada gen-gen yang telah disebutkan sebelumnya. Hal ini memungkinkan pertumbuhan tumor di mata dan jaringan lain di seluruh tubuh.¹⁰

Terapi standar retinoblastoma

Modalitas terapi untuk retinoblastoma saat ini adalah kemoterapi, laser, brakhiterapi, dan enukleasi.⁷ Untuk tumor yang kecil kesuksesannya mencapai 100% tetapi untuk tumor yang besar dan meluas, keberhasilan terapinya hanya 47-83%.^{14,15}

Terapi standar tersebut memiliki mortalitas dan/atau morbiditas yang signifikan.¹⁶ Kemoterapi dan terapi lokal yang ada saat ini memiliki banyak efek samping termasuk efek samping sistemik.¹⁷ Terapi dengan kemoterapi dapat menyebabkan berbagai gangguan seperti supresi sumsum tulang hingga *treatment-associated secondary leukemia*.¹⁸

Tumor retinoblastoma dapat hidup pada area dengan aktivitas angiogenik yang tinggi dan area rendah oksigen yang terutama terlihat lebih jelas pada stadium lanjut.^{3,7} Sel tumor yang hidup pada kondisi hipoksia ini terbukti resisten terhadap kemoterapi sehingga pada tumor stadium lanjut respon terhadap terapi standar masih buruk.³ Tumor stadium lanjut dengan *subretinal* dan *vitreous seeds* juga terbukti resisten terhadap kemoterapi.¹⁸ Oleh karena itu, kini mulai dicari terapi alternatif maupun terapi adjuvan lain yang dapat membunuh sel hipoksia tersebut, yaitu dengan inhibitor glikolitik 2-DG.^{3,6-8}

Mekanisme kerja 2-DG

2-DG menghambat glikolisis melalui inhibisi enzim *phosphoglucose isomerase* (PGI) dan *hexokinase*. Karena sel tumor harus

mempertahankan kebutuhan tinggi ATP untuk pertumbuhannya, sel tumor lebih banyak melepaskan *hexokinase* daripada PGI.⁹ Apabila *hexokinase* terinhibisi, maka level *glucose-6-phosphate* yang dibutuhkan untuk mengaktifkan *pentose phosphate shunt* akan sangat rendah. Jika *pentose shunt* terblokir, efeknya terhadap sintesis asam lemak dan fungsi *glutathione* akan merusak sel tumor tersebut.¹⁹

Selain itu, 2-DG juga memiliki efek antiangiogenik. 2-DG memiliki efek inhibisi terhadap pertumbuhan sel endotel dan pertumbuhan kapiler dengan cara menghambat *N-linked glycosylation* yang mengaktifkan *unfolded protein response*, yang berakibat pada induksi GADD153/CHOP dan apoptosis sel endotel.⁹

Pada retinoblastoma, ketika fase tumorigenesis, sel tumor dengan metabolisme tinggi membutuhkan pasokan oksigen yang cukup dan nutrisi untuk berproliferasi. Keadaan ini juga berhubungan dengan angiogenesis dan *regulatory growth factors*. Ketika fase lanjut dari pertumbuhan tumor, perbedaan metabolisme oksigen menyebabkan terjadinya area yang terkonsentrasi dengan tekanan parsial oksigen rendah dan pertumbuhan *microvasculature* yang tidak beraturan. Keadaan ini akan membentuk lingkungan kurang oksigen dan aliran darah.²⁰ Dalam kondisi tersebut, sel tumor yang mengalami perubahan metabolisme tersebut dapat bertahan hidup dengan mengandalkan konsumsi glukosa dan glikolisis anaerob, sebuah metode yang kurang efisien untuk

memproduksi ATP dibandingkan dengan fosforilasi oksidatif.²¹ Untuk menghemat energi, sel hipoksia tersebut berproliferasi dengan kecepatan yang rendah dibandingkan dengan sel tumor lainnya, sehingga menjadi resisten terhadap antiangiogenik, kemoterapeutik, dan terapi radiasi yang menarget sel yang berproliferasi cepat. Karena sel tersebut menjadi sangat bergantung pada konsumsi glukosa dalam kondisi anaerob, maka dibutuhkan agen terapeutik yang dapat menghalangi glikolisis. Oleh karena itu, inhibitor glikolitik 2-DG banyak diteliti pada kasus retinoblastoma untuk membunuh sel tumor hipoksia yang memiliki kecepatan proliferasi rendah.¹⁹

2-DG juga memiliki peranan dalam menghambat angiogenesis dan hipoksia yang umumnya terdapat pada retinoblastoma. Hipoksia perlu mendapatkan perhatian khusus dalam perkembangan sel kanker karena berperan dalam pertumbuhan tumor, metastasis, dan resistensi.²² Suatu bagian tumor solid cenderung mengalami banyak hipoksia, sehingga sel-sel di sekelilingnya juga kekurangan nutrisi sehingga di sinilah 2-DG bekerja, dengan meningkatkan G1cNac sehingga glikolisis yang terjadi menghasilkan banyak energi terutama pada retinoblastoma stadium lanjut. Angiogenesis juga penting untuk dihambat karena vasa yang terbentuk akan memberi makan pada sel-sel tumor, dan semakin lanjut stadium retinoblastoma, maka vasa yang terbentuk juga semakin kompleks dan matur.⁸ 2-DG juga menghambat pertumbuhan sel endotel sehingga

menghambat proses terjadinya angiogenesis serta mengurangi densitas vasa darah itu sendiri.^{8,17}

Penerapan terapi 2-DG pada retinoblastoma

2-DG mengubah ekspresi gen LH_{BETA}T_{AG} sehingga menghambat pertumbuhan tumor dengan menarget angiogenesis dan hipoksia (efek pada glikosilasi dan glikolisis) melalui upregulasi pada beberapa gen. Pada penelitian yang dilakukan oleh Pina *et al.*⁶, 500mg/kg 2-DG disuntikkan subkonjungtiva pada tikus sebanyak 2 kali tiap minggu selama 1 atau 3 minggu. Satu hari setelah suntikan yang terakhir, mata tikus dilakukan enukleasi kemudian dilakukan pemeriksaan ekspresi gen. 2-DG akan mendisregulasi (menghambat) proses angiogenesis melalui upregulasi *Estrogen Receptor 1 Nuclear* (ESR 1), *ubiquitin*, *jun activation domain binding protein 1* (JAB1), *G-protein alpha S*, dan *CAPER* pada bagian apikal tumor serta upregulasi *B3GNT1*, *CEPT1*, *PABPC1*, *myotrophin*, *HAX1* pada bagian postero-lateral tumor. Histon H3, *DTX1*, *RPL12*, dan *bone morphogenic* (BMP) juga mengalami upregulasi sehingga hipoksia dapat dihambat. Dengan adanya mekanisme tersebut maka *tumor burden* dapat ditekan.

Selanjutnya adalah penelitian Houston *et al.*⁸ yang menyuntikkan 2-DG secara intraperitoneal sebanyak 3 kali selama 5 minggu kemudian dilakukan enukleasi dan diperiksa *tumor burden*, angiogenesis, dan hipoksia. Hasil dari penelitian ini sama dengan

yang dilakukan oleh Pina *et al.*, apalagi bila dikombinasikan dengan *anecortave acetate* (AA) yang merupakan inhibitor angiogenesis dapat lebih menurunkan *tumor burden*.

Pada penelitian yang dilakukan Pina *et al.*, LH_{BETA}T_{AG} tikus transgenic yang berumur 17 minggu diberi injeksi saline, *carboplatin*, dan 2-DG melalui rute periokular. Total volume 20 uL disuntikkan pada tiap mata. Injeksi periokuler diberikan 2 kali seminggu selama 3 minggu. Setelah tikus berumur 20 minggu, mata dienukleasi, kemudian regio hipoksia dan *tumor burden* dianalisis. Penurunan *tumor burden* dan *tumor hypoxia* tertinggi terlihat pada kelompok tikus yang diberi kombinasi terapi *carboplatin* dan 2-DG, dengan dosis yang lebih tinggi (250 dan 500 mg/kg), menunjukkan hasil yang lebih besar (p<0.001). Hasil ini mendukung teori yang menyatakan bahwa inhibitor glikolitik 2-DG dapat digunakan sebagai terapi adjuvant terhadap kemoterapi untuk menarget sel tumor yang kemoresisten dan hipoksia. Namun apabila terapi tersebut diberikan melalui injeksi intraperitoneal akan meningkatkan komplikasi sistemik. Pada penelitian ini, terbukti 2-DG akan sangat efektif bila diberikan melalui injeksi periocular.⁷

SIMPULAN

Inhibitor glikolitik 2-DG periokuler dengan kemampuan anti angiogenesis dan anti hipoksia dapat dikembangkan sebagai terapi adjuvan bagi pasien retinoblastoma stadium lanjut.

SARAN

Perlu dilakukan uji keamanan dengan melihat efek samping dan komplikasi pada hewan coba, dilanjutkan uji klinis untuk mengetahui efektivitas dan keamanan terapi inhibitor glikolitik 2-DG pada manusia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Union for International Cancer Control. Retinoblastoma Review of Cancer Medicines on the WHO List of Essential Medicines [Internet]. WHO. 2014 [cited 19 May 2019]. Available from: https://www.who.int/selection_medicines/committees/expert/20/applications/Retinoblastoma.pdf?ua=1
2. de Camargo B, de Oliveira Ferreira J, de Souza Reis R, Ferman S, de Oliveira Santos M, Pombo-de-Oliveira M. Socioeconomic status and the incidence of non-central nervous system childhood embryonic tumours in Brazil. *BMC Cancer*. 2011;11:160.
3. Pina Y, Decatur C, Murray TG, et al. Retinoblastoma treatment: utilization of the glycolytic inhibitor, 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose (2-FG), to target the chemoresistant hypoxic regions in LH_{BETA}T_{AG} retinal tumors. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53:996-1002.
4. Rares L. Retinoblastoma. *Jurnal e-Clinic*. 2016;4(2):1-8.
5. Liu Y, Dean DC. Tumor initiation via loss of cell contact inhibition versus ras mutation: do all roads lead to EMT? *Cell Cycle*. 2010;9:897-900.
6. Pina Y, Houston SK, Murray TG, et al. Retinoblastoma treatment: impact of the glycolytic inhibitor 2-deoxy-D-glucose on molecular genomics expression in LH_{BETA}T_{AG} retinal tumors. *Clinical Ophthalmology*. 2012;6:817-830.
7. Pina Y, Houston SK, Murray TG, et al. Focal, periocular delivery of 2-deoxy-D-glucose as adjuvant to chemotherapy for treatment of advanced retinoblastoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51:6149-6156.
8. Houston SK, Pina Y, Murray TG, et al. Novel retinoblastoma treatment avoids chemotherapy: the effect of optimally timed combination therapy with angiogenic and glycolytic inhibitors on LH_{BETA}T_{AG} retinoblastoma tumors. *Clinical Ophthalmology*. 2011;5:129-137.
9. Merchan JR, Kova'cs K, Railsback JW, Kurtoglu M, Jing Y, et al. Antiangiogenic Activity of 2-Deoxy-D-Glucose. *PLoS ONE*. 2010;5(10):e13699.
10. Kollodge T, Hinkley S. Retinoblastoma; a scientific and clinical review. *Vision Dev & Rehab*. 2015;1(1):39-45.
11. Augsburger J, Bornfeld N, Giblin N. Retinoblastoma. Yanoff M and Duker J. *Ophthalmology*.

- Edinburgh: Mosby Elsevier; 2009. p. 887-93.
12. Ganguly A, Nichols K, Grant G, Rappaport E, Shields C. Molecular karyotype of sporadic unilateral retinoblastoma tumors. *Retina*. 2009;29(7):1002-1012.
 13. Jorde L, Carey J, Bamshad M. *Medical genetics*. Philadelphia: Mosby Elsevier; 2010.
 14. Shields CL, Mashayekhi A, Au AK, et al. The international classification of retinoblastoma predicts chemoreduction success. *Ophthalmology*. 2006;113(12):2276–2280.
 15. Scheffler AC, Ciciarelli N, Feuer W, Toledano S, Murray TG. Macular retinoblastoma: evaluation of tumor control, local complications, and visual outcomes for eyes treated with chemotherapy and repetitive foveal laser ablation. *Ophthalmology*. 2007;114(1):162–169.
 16. Rouic LL, Aerts I, Levy-Gabriel C, et al. Conservative treatments of intraocular retinoblastoma. *Ophthalmology*. 2009;115:1405–1410.
 17. Ziemssen F, Wegner R, Wegner J, et al. Analysis of neovasculature in uveal melanoma by targeting the TGFbeta-binding receptor endoglin: is there prognostic relevance of proliferating endothelium? *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2006;244:1124–1131.
 18. Chan HS, Gallie BL, Munier FL, Beck Popovic M. Chemotherapy for retinoblastoma. *Ophthalmol Clin N Am*. 2009;18:55–63.
 19. Pedersen PL, Mathupala S, Rempel A, Geschwind JF, Ko YH. Mitochondrial bound type II hexokinase: a key player in the growth and survival of many cancers and an ideal prospect for therapeutic intervention. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1555:14–20.
 20. Jockovich ME, Bajenaru ML, Pina Y, et al. Retinoblastoma tumor vessel maturation impacts efficacy of vessel targeting in the LH_{BETA}T_{AG} mouse model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;48:2476–2482.
 21. Folberg R, Hendrix MJ, Maniotis AJ. Vasculogenic mimicry and tumor angiogenesis. *Am J Pathol*. 2011;156:361–381.
 22. Dewhirst MW, Cao Y, Moeller B. Cycling hypoxia and free radicals regulate angiogenesis and radiotherapy response. *Nat Rev Cancer*. 2008;8(6):425–437.