

Angiogénesis en cáncer

Hoy se acepta que un tumor avascular raramente sobrepasa los 2-3 mm² y que su crecimiento se acelera posteriormente a la vascularización. Ese cambio hacia el fenotipo angiogénico involucra múltiples factores y complejos procesos, tales como la regulación positiva de moléculas pro-angiogénicas y la regulación de inhibidores generados tanto por el tumor como por el huésped. El cambio puede ser gatillado por diversas señales, entre ellas el estrés metabólico o mecánico, la respuesta inflamatoria y la alteración génica.

En cuanto a los factores de crecimiento endoteliales, los de crecimiento vascular (VEGF) y las angiopoyetinas son considerados tanto *in vivo* como *in vitro* los más relevantes en el desarrollo y diferenciación del sistema vascular, posibilitando el reclutamiento y proliferación de las células endoteliales por parte del tumor, y por tanto estimulando la angiogénesis intratumoral¹. Aunque numerosos estudios han establecido la asociación entre angiogénesis tumoral y metástasis², fueron Weiner et al³ quienes en 1991 propusieron que la vascularización de un tumor podía ser utilizada como criterio para predecir su agresividad.

Durante mucho tiempo se supuso que las leucemias y otras enfermedades hematológicas se diferenciaban de las neoplasias sólidas por no estimular ni requerir angiogénesis. Sin embargo, ese concepto ha cambiado radicalmente en los últimos años. Así, en 1993, Folkman planteó que las leucemias podían ser angiogénesis-dependientes. Esa hipótesis se basó en sus propios hallazgos de niveles anormalmente elevados del *basic fibroblast growth factor* (bFGF) en orina de pacientes leucémicos⁴, y también en los trabajos de Brunner et al⁵, quienes habían demostrado que las células de la médula ósea humana expresaban bFGF. Posteriormente, se describió aumento de angiogénesis medular en el mieloma múltiple, en la leucemia de células B y en la leucemia linfoblástica aguda. También se observó intensa neovascularización en enfermedades proliferativas, entre ellas policitemia vera, leucemia mielocítica crónica y mielofibrosis⁶. Hoy se asume que en esas enfermedades, las células malignas podrían generar nueva microvasculatura mediante señales moleculares similares a las que ocurren en tumores sólidos. Sin embargo, la inducción de angiogénesis por sí misma no es prueba de angiogénesis-dependencia.

Si bien la hipótesis propuesta por Folkman en 1971 de que los tumores sólidos eran angiogénesis-dependientes ha sido posteriormente confirmada por métodos moleculares y genéticos, la posibilidad de que una enfermedad hematológica también sea angiogénesis-dependiente recién fue demostrada el pasado año, basándose en la inhibición de la leucemia experimental en ratones mediante terapia génica con inhibidores de la angiogénesis como angiostastina y endostatina⁷.

Las células tumorales tienen una alta frecuencia de mutaciones, las que a su vez motivan la generación de resistencia a la terapia. Por el contrario, la célula endotelial presenta una baja frecuencia de mutagénesis, y ello la hace mejor blanco terapéutico. Como el bloqueo del crecimiento tumoral requiere una inhibición crónica del reclutamiento vascular, proceso conocido como angiostasis, la identificación y caracterización de moléculas angiostáticas con baja o nula toxicidad podría llegar a implicar un cambio radical en la terapia contra el cáncer.

La inhibición de la neoangiogénesis es una estrategia común utilizada para bloquear y revertir la progresión de un tumor ya diagnosticado, o para causar la regresión de la enfermedad en pacientes

con cáncer. Sin embargo, hay suficientes evidencias de que el cambio angiogénico, definido como el punto en el que el tumor induce angiogénesis, ocurre en los primeros pasos de la formación del tumor; por lo tanto una intervención temprana sería más eficaz para limitar la expansión de focos hiperplásicos y el subsiguiente desarrollo tumoral. Es por ello que el uso de la terapia antiangiogénica se propone como una efectiva prevención primaria.

Se han desarrollado muchos inhibidores sintéticos de angiogénesis pero la angiostatina y la endostatina son los que suscitaron mayor interés. Descubierta en 1994, la angiostatina es un fragmento del plasminógeno generado por la acción de la metaloproteasa 2 de matriz y por metaloelastasas⁸. La endostatina fue descubierta en 1996 y caracterizada como un fragmento del colágeno XVII generado por la elastasa⁹. Se observó que *in vitro* inhibe la migración y proliferación de células endoteliales, pero no la de tumorales. La administración repetida y subcutánea de endostatina recombinante a ratones hace que tumores ya establecidos regresen para permanecer en un estado microscópico de "tumor dormido". Sin embargo, ese efecto no ha podido ser confirmado por dos grupos independientes de investigadores^{10, 11} quienes a pesar de haber logrado inducir, por transferencia génica, niveles sostenidos de endostatina circulante en el ratón, no pudieron detectar inhibición de la angiogénesis ni del crecimiento tumoral. Esas fallas resultarían de lo que Folkman denomina una paradoja al sostener que, cuando la endostatina es transferida al organismo por terapia génica, la proteína es menos efectiva que si es inyectada directamente. En este último caso, la endostatina recombinante utilizada es producida en bacterias y es una forma no soluble. Aun así, Folkman reconoció que según experimentos realizados por Feldman et al¹², los tumores trasplantados que expresaron mayor cantidad de endostatina eran los más inhibidos. Se hace entonces evidente que se requiere mayor información y más experimentos para develar la incógnita implícita en estas controversias.

La angiostatina y la endostatina son consideradas moléculas antiangiogénicas que actúan mediante inhibición directa, ya que bloquean la locomoción o proliferación de las células endoteliales inducida por el VEGF o el bFGF. Por otra parte, inducen escasa o ninguna resistencia a drogas, lo que posibilita su administración por períodos prolongados y continuados. Un inhibidor directo se caracteriza tanto por disminuir la producción de factores angiogénicos por parte de la célula tumoral, como por neutralizar el factor en sí mismo o bloquear su receptor en las células endoteliales. Dado que suprime un producto generado por la célula tumoral, la aparición de una célula tumoral mutante que produzca una proteína angiogénica con propiedades diferentes, puede llegar a anular la efectividad del inhibidor de angiogénesis.

Entre los inhibidores directos de la angiogénesis aprobados por la FDA se cuenta el interferón- α , que ha sido efectivo en el tratamiento de hemangiomas en niños y también en otros tumores¹³. El efecto antiangiogénico del interferón- α difiere de sus efectos antiproliferativos e inmunomoduladores, los que podrían ser secundarios a la regulación negativa del bFGF.

Existen otros agentes que, además de actividad quimiopreventiva, también presentan actividad antiangiogénica directa, tales como herceptina, N-acetil-L-cisteína, epigallocatequina-3-galato, flavonoides, antiinflamatorios no esteroideos y retinoides que incluyen al 4-HPR. Otros, y sería el caso del tamoxifeno o la finasterida, actúan interfiriendo indirectamente en el mecanismo de angiogenesis¹⁴. Más aún, la inhibición de las metaloproteasas de matriz requeridas para la invasión endotelial, es un blanco común para los agentes quimiopreventivos y en la actualidad, tres de esos inhibidores están siendo empleados¹⁵ en fase clínica III.

Cabe concluir que el abordaje terapéutico de los tumores fundamentado en la inhibición de la angiogénesis está en pleno desarrollo. Es en ese marco que, como ya se expresara en un editorial de Medicina¹⁶, corresponde destacar el papel pionero desempeñado por Folkman en base a los hallazgos de su grupo de trabajo en *Harvard University Children Hospital* los cuales se encuentran detallados en

forma amena en el libro que Cooke titulara *Dr. Folkman's War*¹⁷. A través de su lectura y de las publicaciones científicas aparecidas en los últimos diez años, resulta evidente que la caracterización y el desarrollo de drogas antiangiogénicas para la terapia de tumores o de moléculas angiogénicas para el infarto de miocardio representan una de las áreas más activas de la investigación científica. Sin embargo, los resultados obtenidos en los ensayos clínicos también arrojaron dudas en cuanto a la efectividad del uso de drogas pro y antiangiogénicas y por lo tanto se requieren más estudios para confirmar la utilidad de estas moléculas en las diferentes patologías

Roberto G. Pozner, Soledad Negrotto, Mirta Schattner

Departamento de Hemostasia y Trombosis, Instituto de Investigaciones Hematológicas,
Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires.

e-mail: mschattner@hematologia.anm.edu.ar

- Gale NW, Yancopoulos GD. Growth factors acting via endothelial cell-specific receptor tyrosine kinases: VEGFs, angiopoietins, and ephrins in vascular development. *Genes Dev* 1999; 13: 1055-66.
- Sugimachi K, Tanaka S, Terashi T, Taguchi K, Rikimaru T, Sugimachi K. The mechanisms of angiogenesis in hepatocellular carcinoma: angiogenic switch during tumor progression. *Surgery* 2002; 131: 135-41.
- Weidner N, Sample JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis correlations in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 324: 1-8.
- Nguyen M, Watanabe H, Budson AE, Richie JP, Hayes DF, Folkman J. Elevated levels of an angiogenic peptide, basic fibroblast growth factor, in the urine of patients with a wide spectrum of cancers. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 356-61.
- Brunner G, Nguyen H, Gabrilove J, Rifkin DB, Wilson EL. Basic fibroblast growth factor expressing in human bone marrow and peripheral blood cells. *Blood* 1993; 81: 631-8.
- Lundberg LG, Lerner R, Sindelin P, Rogers R, Folkman J, Palmblad J. Bone marrow in polycythemia vera, chronic myelocytic leukemia and myelofibrosis has an increased vascularity. *Am J Pathol* 2000; 157: 15-9.
- Scappaticci FA, Smith R, Pathak A, et al. Combination angiostatin and endostatin gene transfer induces synergistic activity in vitro and antitumor efficacy in leukemia and solid tumors in mice. *Mol Ther* 2001; 3: 186-96.
- O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, et al. Angiostatin: A novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. *Cell* 1994; 79: 315-28.
- O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, et al. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* 1997; 88: 277-85.
- Eisterer W, Jiang X, Bachelot T, et al. Unfulfilled promise of endostatin in a gene therapy-xenotransplant model of human acute lymphocytic leukemia. *Mol Ther* 2002; 5: 352-359.
- Pawliuk R, Bachelot T, Zurkiya O, Eriksson A, Cao Y, Leboulch P. Continuous intravascular secretion of endostatin in mice from transduced hematopoietic stem cells. *Mol Ther* 2002; 5: 345-351.
- Feldman AL, Alexander HR, Hewitt SM, et al. Effect of retroviral endostatin gene transfer on subcutaneous and intraperitoneal growth of murine tumors. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 1014-20.
- Ezekowitz RA, Mulliken JB, Folkman J. Interferon alfa-2a therapy for life-threatening hemangiomas of infancy. *N Engl J Med* 1992; 326: 1456-63.
- Tossetti F, Ferrari N, De Flora S, Albini A. "Angioprevention": angiogenesis is a common and key target for cancer chemopreventive agents. *FASEB J* 2002; 16: 2-14.
- Folkman J, Browder T, Palmblad J. Angiogenesis research: guidelines for translation to clinical application. *Thromb Haemost* 2001; 86: 23-33.
- Pasqualini CD. El poder de los medios en la divulgación de la información sobre cáncer. *Medicina (Buenos Aires)* 1998; 58: 333-4.
- Cooke R. *Dr. Folkman's war. Angiogenesis and the struggle to defeat cancer.* New York: Random House, 2001.