

Angiogenesi e neoplasie maligne

Meccanismi dell'angiogenesi e mediatori coinvolti

La formazione di nuovi vasi sanguigni è un processo biologico complesso che viene stimolato dall'ipossia, condizione che si verifica frequentemente all'interno di un tumore. La mancanza di ossigeno è un potente induttore del fattore di trascrizione HIF (Hypoxia Inducible Factor) che, legandosi a sequenze specifiche di DNA, induce la trascrizione di geni che promuovono la produzione di diversi fattori proangiogenici tra cui VEGF, FGF e PDGF¹. In condizione di normossia il fattore HIF viene prodotto all'interno delle cellule e degradato rapidamente ad opera di proteasomi specifici.

Il complesso fenomeno dell'angiogenesi si basa sull'attività di una serie di mediatori principali. Tra questi il più importante è il VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor). Il VEGF stimola il processo dell'angiogenesi, è un potente induttore della permeabilità vascolare ed è un fattore importante per la sopravvivenza vascolare ed il mantenimento della struttura vascolare funzionante. Inoltre possiede un'attività proinfiammatoria, neuroprotettiva ed immunosoppressiva. Un altro importante fattore proangiogenico è il PDGF (Platelet Derived Growth Factor), che viene rilasciato dalle piastrine e stimola la proliferazione delle cellule muscolari lisce ed endoteliali. Infine, l'FGF (Fibroblast Growth Factor) promuove la proliferazione e la differenziazione delle cellule endoteliali, delle cellule muscolari lisce e dei fibroblasti.

Esistono diversi meccanismi della neoangiogenesi tumorale; il più importante è la *sprouting angiogenesis*, ovvero la formazione di gemme vascolari a partire da vasi sanguigni già esistenti nella massa tumorale, che inviano proprie propaggini all'interno della massa neoplastica e formano un plesso vascolare abnorme tipico del tumore. Questo meccanismo è responsabile della maggior parte dei fenomeni di vasculogenesi ed è mediato dal VEGF attraverso il recettore VEGFR2. Altro fenomeno collegato all'angiogenesi è il reclutamento di cellule endotelia-

li circolanti progenitrici che migrano, colonizzano il tessuto tumorale e formano nuovi vasi. Anche questo meccanismo è mediato dal VEGF attraverso il recettore VEGFR2. Infine si assiste a sviluppo di trama vascolare anche grazie all'angiogenesi per intussuscezione, che consiste nella segmentazione longitudinale di capillari già presenti nel tessuto, che si invaginano creando nuove gemme vascolari e setti; tale fenomeno è principalmente regolato dal fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF). In ogni caso i vasi sanguigni stimolati dai fattori angiogenici rilasciati da tumore si segmentano e creano terminazioni a fondo cieco in cui il flusso di sangue è rallentato ed anomalo, ostacolando la diffusione dei farmaci. Esistono tre diversi recettori di VEGF, ma il recettore di tipo 2 (VEGFR2, Flk-1/KDR o fetal liver kinase) è il più importante. Un'azione importante del VEGFR2 è l'attivazione di e-NOS (ossido nitrico sintetasi endoteliale), che porta alla produzione di nitrossido, potente vasodilatatore e responsabile dell'aumento della permeabilità vascolare. Questo spiega perché il blocco della funzione del VEGF da parte dei farmaci antiangiogenici provoca una minore produzione di NO e l'insorgenza di ipertensione. Il VEGF umano ha una forte affinità di legame con 3 classi di recettori della famiglia delle tirosin-kinasi identificati sulle membrane delle cellule endoteliali, il cui legame condiziona la cascata proangiogenica.

Aspetti funzionali dell'angiogenesi tumorale e farmaci antiangiogenici

Nell'angiogenesi tumorale viene alterata la normale morfologia della vascolarizzazione che mostra numerose anastomosi, plessi vascolari, eterogeneità di dimensione dei vasi e gemme vascolari a fondo chiuso. In questa rete anomala la distribuzione sanguigna è alterata poiché il sangue tende a transitare nelle zone periferiche del tumore e non all'interno di esso. In sostanza, l'ipervascolarizzazione del tumore non corrisponde ad una distribuzione ottimale dei farmaci all'interno del tumore stesso e il ripristino di una vascolarizzazione funzionante attraverso l'inibizione di VEGF migliora considerevolmente la penetrazione dei farmaci nel tes-

suto tumorale, come dimostrato in studi sperimentali². L'obiettivo del trattamento antivascolare è ridurre l'estensione della trama vascolare creando condizioni di ipossia tissutale tumorale e impedendo così proliferazione e metastatizzazione. Inoltre, un altro importante obiettivo della terapia antiangiogenica è di ripristinare la normale vascolarizzazione in modo da permettere un'ideale distribuzione del farmaco chemioterapico a livello della massa tumorale. I farmaci antiangiogenici di prima generazione erano diretti contro le metalloproteasi, gli enzimi prodotti dalle cellule tumorali ed endoteliali che ne favoriscono la migrazione e la diffusione, ma non ottennero il successo clinico sperato. I farmaci antiangiogenici di seconda generazione più studiati sono gli anticorpi monoclonali anti-VEGF, come il bevacizumab, che si lega ed inattiva direttamente il fattore di crescita VEGF circolante e tissutale prima che si leghi al recettore. Gli inibitori della tirosin-kinasi (TKI) associata ai recettori di VEGF, PDGF e, in misura minore, FGF (sunitinib, sorafenib, pazopanib, cediranib) impediscono la fosforilazione del recettore stesso, cioè la sua attivazione funzionale.

Il pegaptanib è un aptamero, frammento di RNA sintetico, che si lega all'isoforma 165 del VEGF, inibendone gli effetti sulla neovascola-

rizzazione e sulla permeabilità vasale. Infine il VEGF-Trap è una proteina di fusione che contiene i domini recettoriali extracellulari del VEGF e che lega tutte le forme di VEGF-A; pegaptanib e il VEGF-Trap sono utilizzati nella terapia delle forme patologiche di neovascolarizzazione retinica e non sono stati sviluppati nella terapia oncologica.

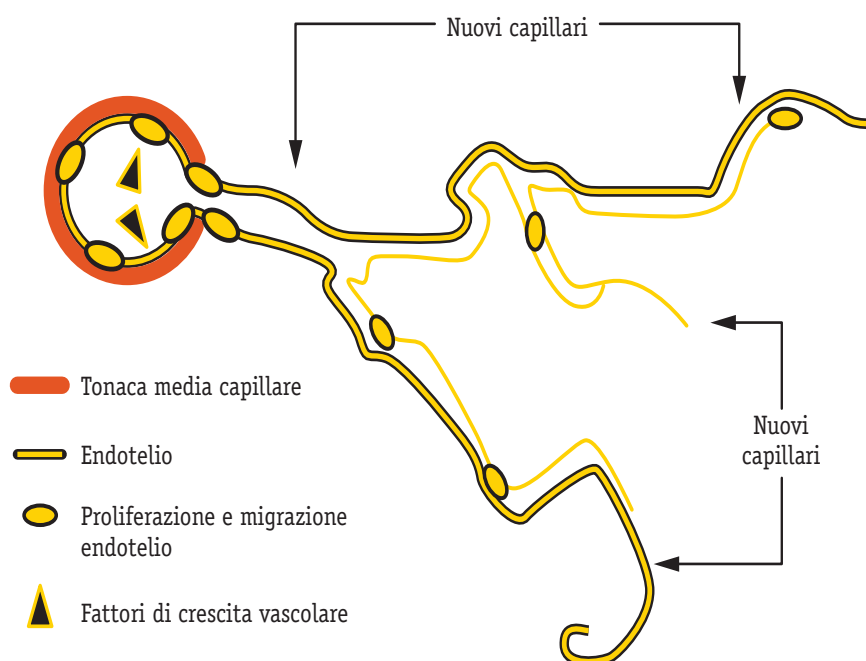
Tra i farmaci citotossici, i taxani possiedono un'attività antiangiogenica; infatti docetaxel e paclitaxel hanno un effetto inibitorio sulla proliferazione di cellule progenitrici endoteliali a basse dosi e a concentrazioni maggiori sulla migrazione delle cellule endoteliali³⁻⁴. Anche se docetaxel è un farmaco citotossico più potente del paclitaxel, nell'organismo possiede un minor effetto antiangiogenico rispetto a paclitaxel in quanto raggiunge concentrazioni inferiori. Comunque i taxani, ed in modo particolare il paclitaxel, sono farmaci utilmente combinabili con antiangiogenici specifici, tra cui il bevacizumab.

Un'altra associazione possibile è quella tra bevacizumab e capecitabina. Un metabolita della capecitabina, la 5'-deossi-fluouridina (5'-DFUR), viene metabolizzato a livello cellulare a 5-fluorouracile (5-FU) dall'enzima timidina fosforilasi. In condizioni normali, questo enzima trasforma la timidina in 2-desossiribosio, mediatore intracellulare che induce la produzione di metalloproteasi, VEGF e IL-8, esplicando un effetto proangiogenico. La capecitabina, attraverso il suo metabolita 5'-DFUR, compete a livello della timidina fosforilasi con la timidina, riducendo la quantità di 2-desossiribosio prodotto e di conseguenza la sua attività proangiogenica. Anche in questo caso esiste quindi il razionale farmacologico per l'associazione tra bevacizumab e capecitabina.

La stessa osservazione può essere fatta con le combinazioni di bevacizumab e irinotecan; in questo caso si osserva che la somministrazione di irinotecan è associata ad una riduzione della produzione di HIF-1 alfa dalle cellule tumorali e questo rappresenta il razionale farmacologico della combinazione.

Modalità ottimali di somministrazione dei farmaci antiangiogenici

Uno studio sperimentale su modello preclinico ha valutato l'effetto della sospensione di beva-



cizumab sulla crescita tumorale rispetto ad una terapia continuativa. I risultati hanno mostrato che la terapia continuativa con bevacizumab era in grado di mantenere l'effetto soppressivo sulla crescita tumorale, mentre la sospensione del farmaco era seguita da una ripresa della crescita. Un altro studio preclinico ha valutato l'effetto e la durata di un trattamento citotossico (paclitaxel), di un trattamento anti-VEGF e della loro associazione sulla crescita tumorale, sulla sopravvivenza e sulla densità vascolare in un modello animale. La terapia anti-VEGF ha permesso di potenziare l'attività della chemioterapia citotossica e di prolungare in maniera significativa la sopravvivenza degli animali. In questi modelli preclinici, la soppressione continuativa di VEGF garantisce il massimo beneficio clinico sia in monoterapia sia in associazione alla chemioterapia⁵.

La terapia antiangiogenica efficace genera ipossia a livello tumorale, importante stimolo di ripresa dell'angiogenesi. Uno studio recente nell'animale ha mostrato che l'interruzione brusca di tirosin-kinasi inibitori può causare un rebound di vascolarizzazione. Questo è probabilmente dovuto al meccanismo d'azione di questi farmaci. L'inibitore della tirosin-kinasi blocca il recettore del VEGF: se viene sospeso il farmaco, che ha un'emivita dell'ordine di pochi giorni, l'elevata produzione di VEGF determinata dall'ipossia determina potenzialmente un effetto rebound. Nel caso dell'anticorpo, che ha una lunga emivita (circa 20 giorni), questo fenomeno di rebound non si manifesta e il recupero dell'angiogenesi è un fenomeno che si realizza lentamente dopo la sospensione. Questa osservazione è stata confermata anche sul piano clinico. La recente pubblicazione di Miles et al, che ha analizzato retrospettivamente i dati di studi di fase III su pazienti con tumori della mammella, colon-retto, rene e pancreas, ha valutato se la sospensione della terapia con bevacizumab fosse associata ad un'accelerazione della progressione della malattia o ad un aumento della mortalità⁶. I risultati dell'analisi congiunta non hanno evidenziato alcun effetto 'rebound' nei pazienti trattati con bevacizumab. Infatti, le percentuali di mortalità dopo l'interruzione del trattamento ed il tempo intercorso tra l'interruzione ed il decesso erano simili nel gruppo trattato con bevacizumab ed

in quello trattato con il placebo. Inoltre, è stata osservata una situazione simile anche per quanto riguarda la progressione di malattia⁶.

Conclusioni

L'interazione tumore-stroma vascolare rappresenta una caratteristica biologica di grande importanza e per questo motivo si può affermare che i tumori solidi hanno una crescita che dipende, in parte, dalla produzione di fattori proangiogenici. Per questa ragione, la terapia antiangiogenica rappresenta una risorsa importante anche se la stratificazione dei pazienti in base al grado di suscettibilità a tale terapia rappresenta ancora un'attesa non concretizzata nella pratica clinica.

Romano Danesi

UOC Farmacologia Clinica Universitaria

Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana

Dipartimento di Medicina Interna, Università di Pisa

BIBLIOGRAFIA

1. Appelmann I, Liersch R, Kessler T, Mesters RM, Berdel WE. Angiogenesis inhibition in cancer therapy: platelet-derived growth factor (PDGF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) and their receptors: biological functions and role in malignancy. *Recent Results Cancer Res* 2010; 180: 51-81.
2. Dickson PV, Hamner JB, Sims TL, Fraga CH, Ng CY, Rajasekaran S, Hagedorn NL, McCarville MB, Stewart CF, Davidoff AM. Bevacizumab-induced transient remodeling of the vasculature in neuroblastoma xenografts results in improved delivery and efficacy of systemically administered chemotherapy. *Clin Cancer Res*, 2007; 13: 3942-3950.
3. Muta M, Yanagawa T, Sai Y, Saji S, Suzuki E, Aruga T, Kuroi K, Matsumoto G, Toi M, Nakashima E. Effect of low-dose paclitaxel and docetaxel on endothelial progenitor cells. *Oncology*, 2009; 77: 182-191.
4. Grant DS, Williams TL, Zahaczewsky M, Dicker AP. Comparison of antiangiogenic activities using paclitaxel (taxol) and docetaxel (taxotere). *Int J Cancer*, 2003; 104: 121-129.
5. Bagri A, Berry L, Gunter B, Singh M, Kasman I, Damico LA, Xiang H, Schmidt M, Fuh G, Hollister B, Rosen O, Plowman GD. Effects of anti-VEGF treatment duration on tumor growth, tumor regrowth, and treatment efficacy. *Clin Cancer Res*, 2010; 16: 3887-3900.
6. Miles D, Harbeck N, Escudier B, Hurwitz H, Saltz L, Van Cutsem E, Cassidy J, Mueller B, Sirzén F. Disease course patterns after discontinuation of bevacizumab: pooled analysis of randomized phase III trials. *J Clin Oncol*, 2011; 29: 83-88.