

# Angiogeneza w chorobie nowotworowej

Anna Banyś, Lucyna Bułaś, Ewa Długosz, Beata Szulc-Musiał, Andrzej Jankowski

Katedra i Zakład Farmacji Stosowanej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Sosnowcu

Adres do korespondencji: Anna Banyś, Katedra i Zakład Farmacji Stosowanej, ul. Kasztanowa 3, 41-200 Sosnowiec, tel. 032 291 84 23, faks 032 291 73 59, e-mail: anna.skorupa.akademia@wp.pl

Powstawanie sieci naczyń krwionośnych jest podstawowym procesem niezbędnym do życia i rozwoju organizmu, ale również uczestniczy w patogenezie wielu chorób [1]. Proces angiogenezy (waskularyzacja) jest regulowany przez precyzyjny układ czynników pobudzających i hamujących [2]. U zdrowych osób dorosłych równowaga czynników pro- i antyangiogennych jest wyraźnie przechylona na stronę tych ostatnich, prowadząc do angiosupresji (tabela).

Zarówno niedostateczna, jak i nadmierna angiogeneza może niekorzystnie wpływać na organizm. Niski poziom czynników angiogennych jest obserwowany w takich schorzeniach, jak zakrzepica tętnic, wylewy czy opóźnione gojenie się ran [3]. Do nadmiernej angiogenezy dochodzi wtedy, gdy zaburzona jest równowaga między czynnikami hamującymi i pobudzającymi powstawanie nowych naczyń krwionośnych.

Neowaskularyzacja jest częścią obrazu patologicznego przewlekłych zapaleń czy też chorób naczyń, występuje przy otyłości, jest najczęstszą przyczyną ślepoty. Jednak najpoważniejszą chorobą, w której obserwuje się nasilone tworzenie naczyń krwionośnych, jest choroba nowotworowa.

Transformację nowotworową (karcynogenezę) można podzielić na trzy etapy:

- inicjację, która polega na powstawaniu zmian w aparacie genetycznym komórki pod wpływem mutacji,
- promocję – proces prowadzący do nasilenia proliferacji (namnażania),
- progresję – etap zwiększonej inwazyjności i wzrostu nowotworu.

W początkowej fazie progresji guzki nowotworowe to skupiska złożone z około 1 miliona komórek, o objętości nieprzekraczającej 1–2 mm<sup>3</sup> [4]. Na tym etapie stwierdzono równowagę między procesem proliferacji i apoptozy (śmierci komórki), a okres ten może trwać miesiące lub nawet lata [5, 6]. W tej

**Angiogenesis in the neoplastic disease** · Angiogenesis is the process of the formation of new blood-vessels which appears conditioned physiological, but also in the pathogenesis of many diseases. Most sizable from them is cancer. New vessels provide the neoplastic tissue into oxygen, healthful components and make possible the exchange of metabolites. The besides suitable blood supply of the tumour favours to getting itself oncocytes to bloodstream and, consequently, to initiating of the process of the formation of metastases. Angiogenesis indicator is the density of vessels MVD. On the ground research of the computer scanning and the magnetic resonance one ascertained that enlarged number of vessels in the tumour was connected with the quicker progression of the disease and a worse prognosis. Prognosing of the course of the neoplastic disease one can lean also on the ground marks of the expression of genes coding angiogenesis factors. The meaning of these research has a clinical reason and permits to find useful prognostic factors, diagnostic markers and to trace new therapeutic targets across the introduction of medicines of the new generation.  
**Keywords:** angiogenesis, cancer.

© Farm Pol, 2009, 65(4): 247-250

fazie rozwój tkanki nowotworowej jest niezależny od budowy sieci naczyniowej, a tlen oraz substancje odżywcze i czynniki wzrostu docierają do komórek guza głównie w wyniku dyfuzji z naczyń przebiegających w pobliżu [7–9]. W późniejszej fazie rozwoju dochodzi do martwicy w strefach centralnych guza i bez dodatkowego zaopatrzenia w krew niemożliwy byłby jego dalszy wzrost [7]. Dlatego kolejny etap karcynogenezy wiąże się z nabyciem przez komórki nowotworowe – podczas tzw. przejścia angiogenego – fenotypu angiogenego [4, 6] czyli stanu trwałych, genetycznych modyfikacji, prowadzących do niekontrolowanej produkcji czynników proangiogennych [10].

Angiogeneza nowotworowa odbywa się przez tzw. „kietkowanie” nowych odgałęzień lub drogą

**Tabela.** Endogenne czynniki regulujące angiogenezę

Endogenne czynniki proangiogenne	Endogenne czynniki antyangiogenne
<b>VEGF</b> – naczyniowo–śródbłonkowy czynnik wzrostu	<b>Trombospondyna-1</b>
<b>aFGF</b> – kwaśny czynnik wzrostu fibroblastów	<b>Angiostatyna</b> – N-końcowy fragment plazminogenu
<b>bFGF</b> – zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów	<b>Endostatyna</b> – C-końcowy fragment kolagenu XVII
<b>Ang-1</b> – Angiopoetyna 1	<b>Troponina 1</b>
<b>Ang-2</b> – Angiopoetyny 2	<b>Czynnik płytkowy 4</b>
<b>TGF-β</b> – transformujący czynnik wzrostu β	<b>IL-12</b> – interleukina 12
<b>PDGF</b> – płytkowo-pochodny czynnik wzrostu komórek śródbłonka	<b>INF-α</b> – interferon α
<b>TNF-α</b> – czynnik martwicy guza α	<b>INF-β</b> – interferon β
<b>HGF</b> – wątrobowy czynnik wzrostu	<b>INF-γ</b> – interferon γ
<b>PIGF</b> – łożyskowy czynnik wzrostu	<b>TIMPs 1</b> – tkankowy inhibitor metaloproteazy 1
<b>IL-8</b> – interleukina 8	<b>TIMPs 2</b> – tkankowy inhibitor metaloproteazy 2
<b>IL-6</b> – interleukina 6	<b>TIMPs 3</b> – tkankowy inhibitor metaloproteazy 3
<b>G-CSF</b> – czynnik pobudzający kolonizację granulocytów	<b>α-2-makroglobulina</b>
<b>GM-CSF</b> – czynnik pobudzający kolonizację granulocytów i makrofagów	<b>2,4 kDa fragment heparyny</b>
<b>Angiogenina</b>	<b>N-terminalny fragment prolaktyny</b>
<b>PLF</b> - proliferyna	
<b>PTN</b> - pleotropina	
<b>PGE1</b> – prostaglandyna E1	
<b>PGE2</b> – prostaglandyna E2	
<b>Fragment α 15-42 fibryny</b>	
<b>NO</b> – tlenek azotu	
<b>Eph A</b> – efrity A	
<b>Eph B</b> – efrity B	
<b>Chemokina SDF-1</b> – czynnik zrębu	

powiększenia średnicy, wydłużania i podziału już istniejących naczyń za pośrednictwem komórek śródbłonka [11]. Nowo powstające naczynia różnią się zdecydowanie od naczyń prawidłowych, są niewłaściwego kształtu, rozmiaru, są nieregularne, niedojrzałe, kręte i rozdęte [6]. Mają też liczne wypustki, które wchodzą do światła naczyń. Wykazują niepełne zróżnicowanie tętniczo-żylnie i niecałkowite zróżnicowanie przestrzeni okołonaczyniowej. Przepływy krwi w takich naczyniach jest spowolniony. Połączenia między komórkami są szerokie, pojawiają się liczne pory, dlatego też są one także bardziej przepuszczalne. Wpływa to na wzrost ciśnienia śródmiąższowego w guzach nowotworowych [4, 5]. Ponadto zaobserwowano,

że naczynia wewnątrz guza różnią się od tych, które są na zewnątrz, gdyż te ostatnie bardziej przypominają naczynia prawidłowe. Naczynia w guzach podlegają ciągłej reorganizacji – powstają i cofają się. Ich przebieg i położenie w guzach zmienia się w czasie. Powoduje to rozległe przekształcenia w obrębie guza oraz zmiany w lokalizacji obszaru martwicy. Wiele danych wskazuje, że naczynia nowotworowe nie spełniają także swoich podstawowych funkcji fizjologicznych i nie dostarczają komórkom nowotworowym wystarczającej ilości tlenu [4].

Neowaskularyzacja nowotworowa zapewnia możliwość rozwoju guza przez rozwiązanie problemu

zaopatrzenia tkanki nowotworowej w tlen, składniki odżywcze i wymianę metabolitów, ale również dlatego, że komórki śródbłonka naczyń krwionośnych przyczyniają się do wzrostu objętości guza [12]. Odpowiednie ukrwienie guza sprzyja przedostaniu się komórek nowotworowych do krwiobiegu i w konsekwencji zainicjowania procesu powstawania przerzutów. Dlatego też można stwierdzić, że określenie liczby włosowatych naczyń krwionośnych w preparatach histopatologicznych z materiału nowotworowego ma istotne znaczenie diagnostyczne i prognostyczne, gdyż pozwala określić ryzyko powstawania przerzutów [12].

Wskaźnikiem angiogenezy jest gęstość naczyń MVD [10]. Do określania tego parametru wykorzystuje się perfuzyjne badanie TK (tomografia komputerowa) z zastosowaniem jodowych środków kontrastowych. Technika ta polega na ocenie dynamiki zmian gęstości tkankowej, zależnej od przepływu środka kontrastowego przez łożysko naczyniowe badanej tkanki. Stwierdzenie zwiększonego przepływu świadczy o nasileniu procesu neowaskularyzacji, a zatem również o zaawansowaniu choroby [6]. TK jest alternatywą dla czynnościowego badania rezonansu magnetycznego (MRI), które także jest metodą oceny krążenia, pozwalającą ocenić te same parametry przepływu [6, 13]. Za pomocą metody TK lub innych technik obrazowania angiogenezy wykazano dodatnią korelację między wzrostem gęstości mikronaczyń (MVD) a zwiększoną liczbą przerzutów do węzłów chłonnych [10]. Miejsca w tkance nowotworowej o największej gęstości naczyniowej określane są mianem tzw. gorących pól (*hot spots*) angiogenezy [12]. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że zwiększona liczba naczyń w guzie jest związana z szybszą progresją choroby i gorszym rokowaniem. Wynika to z faktu, że guzy ze zwiększoną liczbą naczyń krwionośnych częściej tworzą odległe przerzuty [10].

Na tej podstawie możemy postawić hipotezę, że jeśli została zahamowana angiogeneza, zahamowaniu uległoby także przerzutowanie. Niestety, obniżyłyby to także dotlenienie tkanki nowotworowej, a indukcja angiogenezy nowotworowej może mieć miejsce nie tylko w wyniku mutacji genów, ale także pod wpływem niedotlenienia guza. W warunkach hipoksji (niedotlenienia) dochodzi do wydzielania białek aktywujących angiogenezę [14]. Ponadto niektóre badania udowodniły, że obniżony poziom tlenu w guzie litym ogranicza skuteczność radioterapii oraz chemioterapii i tym samym przyspiesza złośliwą progresję choroby oraz zwiększa zdolność guza do tworzenia przerzutów. Jednak hipoksja może także prowadzić do apoptozy, zatem równowaga między śmiercią komórki a aktywacją angiogenezy przez niedotlenienie, jest krytycznym czynnikiem warunkującym dalszy rozwój nowotworu [14].

Prognozowanie przebiegu choroby nowotworowej można opierać również na podstawie oceny ekspresji genów kodujących czynniki angiogenne. Takie badania mają kliniczne uzasadnienie i pozwalają odnaleźć przydatne czynniki prognostyczne, markery diagnostyczne oraz wytyczyć nowe cele terapeutyczne poprzez wprowadzenie leków nowej generacji.

Prognozowanie przebiegu choroby nowotworowej można opierać również na podstawie oceny ekspresji genów kodujących czynniki angiogenne. Analiza tych genów, jak i tysięcy innych jednocześnie w jednym nowotworze jest obecnie możliwa dzięki technologii mikromacierzy DNA [15, 16]. W jednym z badań przy użyciu tej nowoczesnej techniki uznano czynnikowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu VEGF, który wpływa na pobudzenie angiogenezy, za kluczowy czynnik zaangażowany w proces rozwoju raka szyjki macicy [17].

Dzięki badaniom na poziomie molekularnym w leczeniu zaistniał najmłodszy rodzaj terapii przeciwnowotworowej – terapia antyangiogenna. Istnieją dwa kierunki celowanej terapii antyangiogennej nowotworów – bezpośredni, który wykorzystuje inhibitory proliferacji komórek endotelialnych, migracji i formowania nowych rurek endotelialnych przez indukowanie w nich apoptozy, oraz pośredni, w którym stosuje się inhibitory czynników angiogennych oraz ich receptorów bezpośrednio w komórkach nowotworowych guza, a także w śródbłonku nowo powstających naczyń.

Ze względu na punkt uchwytu działania, leki antyangiogenne można podzielić na kilka grup. Grupa I to inhibitory VEGF, wśród których badane są bevacizumab (Avastin), VEGF-Trap, NM-3, oraz AE-941 (Neovastat), grupa II – inhibitory przekazywania sygnału mitogennego przez receptory VEGF – IMC-1C11, SU5416, SU6668, SU11248, PTK787/ZK222584, ZD6474, oraz CP-547632, grupa III – inhibitory tubulin i mikro-tubul komórki śródbłonka naczyniowego – kombretastatyna A4, ZD6126, 2-metoksyestradiol (2-ME), grupa IV – inhibitory metaloproteinaz i integryn – endostatyna, angiostatyna, trombospondyna-1 (ABT-510), witaksyna, EMD121974 (cilengityd), BMS-275291, oraz grupa V – inhibitory o różnych mechanizmach działania – TNP-470, DMXAA, talidomid oraz celekoksyb. Wśród nich bardziej interesujący jest bevacizumab (Avastin), który jest zatwierdzony przez FDA jako lek pierwszej linii leczenia przerzutowego raka jelita grubego w różnych kombinacjach z cytostatykami. Jest rekombinowanym przeciwciałem monoklonalnym przeciwko VEGF. Białko to zbudowane jest w 93% z ludzkiej immunoglobuliny G1 i domeny wiążącej komplementarny region VEGF, która blokuje wiązanie wszystkich izofrom VEGF do receptorów. Aktualnie jest prowadzone jedno badanie kliniczne nad zastosowaniem bevacizumabu w przypadkach progresji raka jajnika u kobiet leczonych pierwotnie według standardów chemioterapii taksoidami (paklitaksel lub docetaksel) i analogami platyny (cisplatyna i karboplatyna) [18].

W zależności od efektu terapeutycznego, jaki wywołują badane leki antyangiogenne, dzieli się je na trzy grupy – leki I generacji, spowalniające wzrost nowotworu (interferony, TNM-470, talidomid MMPI),

II generacji, powodujące regresję nowotworu (przeciwciała antyVEGF i przeciw integrynom) oraz III generacji, przejawiające efekt leczniczy w nowotworach doświadczalnych (angiostatyna, endostatyna, TSP-1) [18].

Obecnie trwają również badania nad naturalnie występującymi związkami obdarzonymi potencjałem antyangiogennym. Należą do nich sangwinaryna, kombretastatyna, ginszenozyny, izolikwirytyna, sinomenina, tryptolid i genisteina [19].

Mimo złożoności angiogenezy, badania nad tym zjawiskiem mają kliniczne uzasadnienie i wytyczają zasadnicze kierunki doświadczeń prowadzących do poznania czynników wpływających na proliferację guza nowotworowego. Poszukiwanie nowych czynników prognostycznych i markerów diagnostycznych budzi nadzieję chorych i określa nowe cele terapeutyczne, a leki antyangiogenne testowane w badaniach przedklinicznych oraz w I, II i III fazie badań klinicznych budzą nadzieję na poprawę wyników leczenia, zwłaszcza wyrażonych 5-letnim przeżyciem [20].

Nowo powstające naczynia różnią się zdecydowanie od naczyń prawidłowych, są niewłaściwego kształtu, rozmiaru, są nieregularne, niedojrzałe, kręte i rozdęte [6]. Mają też liczne wypustki, które wchodzą do światła naczyń. Wykazują niepełne zróżnicowanie tętniczo-żylnie i niecałkowite zróżnicowanie przestrzeni okołonaczyniowej. Przepływ krwi w takich naczyniach jest spowolniony. Połączenia między komórkami są szerokie, pojawiają się liczne pory, dlatego też są one także bardziej przepuszczalne.

Otrzymano: 2009.01.28 · Zaakceptowano: 2009.02.16

## Piśmiennictwo

- Zielonka M.T.: Angiogeneza. Część II. Czynniki modulujące proces powstawania nowych naczyń krwionośnych. *Alergologia Astma Immunologia* 2004, 9 (1), 25-31.
- Michalak S.: Angiogeneza w układzie nerwowym i jej znaczenie. *Od nowotworów do choroby Alzheimera*. *Neuroskop* 2004, 6, 136-139.
- Rekesh K.J., Carmeliet P.F. (tłum. Józef Dulak): Naczynia życia i śmierci. *Świat Nauki*, marzec 2002, 3, 28-33.
- Szala S., Markowska J.: Naczynia okotonowotworowe jako cele terapii przeciwnowotworowej. [W:] Markowska J., red. *Ginekologia onkologiczna*. Wrocław: Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner 2006, str. 44-57.
- Kwidzińska E., Naumnik W., Chyczewska E.: Angiogeneza i neoangiogeneza – znaczenie w raku płuca i innych nowotworach. *Pneumonol Alergol Pol* 2006, 74, 414-420.
- Łukaszewicz A.: Perfuzyjne badanie TK w ocenie angiogenezy nowotworowej (ECR 2006). *Radiolog.pl* 2006.03.21. URL: <http://www.radiolog.pl/mod/archiwum/6561>
- Jurczyszyn A., Wolska-Smołek T., Skotnicki B.A.: Szpiczak mnogi – rola angiogenezy i zastosowanie talidomidu. *Przegląd Lekarski* 2003, 60, 542-547.
- Najda J., Kozaczka A., Woszczyk D.: Mechanizmy kontroli angiogenezy oraz ich wykorzystanie kliniczne w zaawansowanych przypadkach raka jelita grubego. *Współczesna Onkologia* 2004, 8 (8), 373-378.
- Ferrara N. Vascular endothelial growth factor as a target for anti-cancer therapy. *The Oncologist* 2004, 9 (1), 2-10.
- Jeleń-Krzyszewska J., Kręcicki T., Jeleń M. i wsp.: Badania nad angiogenezą w raku czaszki twarzowej. *Dent Med. Probl* 2004, 41 (4), 625-630.
- Czajka I.: Angiogeneza nowotworowa. *Endokrynologia Polska* 2004, 4 (55), 454-455.
- Wyrobiec G., Rokicki W., Stęplewska K. i wsp.: Komórki tuczne i angiogeneza w niedrobnokomórkowych rakach płuc. *Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska* 2007, 4 (2), 155-161.

12. Miller C J., Pien H H., Wahani D. i wsp.: J. Imaging Angiogenesis: Applications and potential for drug development. JNCI Journal of the National Cancer Institute 2005, 97 (3), 172-187.
13. Grosicki S., Grosicka A., Hołowicki J.: Kliniczne znaczenie angiogenezy i czynników ją modyfikujących w onkohematologii. Wiadomości lekarskie 2007, 60, 1-2, 39-46.
14. Kordek R., Bednarek K.A.: Mikromacierze DNA w badaniach raka piersi. Onkologia w Praktyce Klinicznej 2005, 1 (1), 10-17.
15. Warowna A.: Zastosowanie mikromacierzy w raku płuca. lekarz-onkolog.pl 2006.07.17. URL: <http://www.lekarz-onkolog.pl/mod/archiwum/6735>
16. Zieliński T., Michalski B., Urbański K. i wsp.: Poszukiwanie angiogennych genów różnicujących w raku szyjki macicy z wykorzystaniem techniki mikromacierzy oligonukleotydowych. Ginekologia Onkologiczna 2006, 1, 25-27.
17. Michalski B. Celowana terapia antyangiogenowa. W: Markowska J. Ginekologia onkologiczna. Wyd. 2. Wrocław: Wyd. med. Urban&Partner 2006, s. 304-316.
18. Dobrek Ł., Szcześniak P., Thor P. i wsp.: Aktualne kierunki w poszukiwaniu nowych leków przeciwnowotworowych. Geriatria 2008, 2, 37-46.
19. Michalski B., Skorupa A., Zieliński T. i wsp.: Terapia antyangiogenowa „leczenie na miarę”. Ginekologia Onkologiczna 2006, 1, 15-18.