

Pooperacyjny stan zapalny jako czynnik angiogeny?

Postoperative inflammation as an angiogenic factor?

Szanowny Panie Redaktorze,

W przeglądowej pracy dotyczącej zagadnienia angiogenezy [1], opublikowanej w *Nowotworach*, autorzy przytaczają hipotezę według której u myszy „usunięcie guza pierwotnego, prowadzące do obniżenia stężenia angiostatyny, wiązało się z pojawieniem się w płucach masowych, bardzo dobrze unaczynionych przerzutów” [2]. Hipoteza ta, mimo swej popularności, zawiera logiczną sprzeczność. Wprawdzie wykazano, że surowice od chorych z rakiem płuca hamują aktywność angiogenną [3]. Nie wyjaśnia to jednak, czy angiostatynę wydziela guz, czy organizm pod wpływem choroby nowotworowej. Ponieważ guz pierwotny rozwija się, tworząc własną chaotyczną sieć naczyń krwionośnych, to z tego wynika, że czynniki proangiogenne są wydzielane i dominują nad angiostatyną. Wraz z usunięciem guza ustaje wydzielanie do organizmu nie tylko angiostatyny, lecz również czynników proangiogennych, jak VEGF, niezależnie od tego czy guz wydziela te czynniki, czy tylko stymuluje ich wydzielanie. Dlatego mikroprzerzuty powinny nadal rozrastać się w takim tempie, jak przed usunięciem guza pierwotnego. Skoro następuje ich ekspansja, związana z rozwojem angiogenezy, to musi występować niezależne od usuniętego guza wydzielanie aktywatorów angiogenezy. Wiele wskazuje na to, że wydzielanie aktywatorów angiogenezy następuje pod wpływem stanu zapalnego, spowodowanego operacją. Interesujące byłoby ustalenie, jakie właściwości w odniesieniu do angiogenezy ma surowica pobrana np. w 24 h po usunięciu guza pierwotnego.

Na zapalenie, jako przyczynę angiogenezy po usunięciu guza pierwotnego, wskazuje między innymi to, że długotrwałe utrzymujące się zapalenie jelita grubego podnosi ryzyko wystąpienia raka okrężnicy, między innymi wskutek stymulacji angiogenezy [4]. Chemokiny kontrolują angiogenezę podczas zapalenia i onkogenezy [5]. Reumatoidalne zapalenie stawów, będące przewlekłą chorobą zapalną, rozwija angiogenezę [6, 7]. Wykazano, że ludzkie neutrofile biorą udział w procesach zapalnych i angiogenezie [8].

Niektóre roślinne polifenole, występujące w płatkach herbaty i nasionach winogron, hamują proces zapalny i angiogenezę [9]. Inhibitory COX-1 i COX-2 znacznie redukują rozmiary i wzrost guza u badanych myszy [10]. Niesterydowe leki przeciwzapalne hamują angiogenezę guza [11]. Talidomid wykazuje przeciwzapalne i prze-

ciwangiogenne działanie [12]. Angiostatyna hamuje migrację neutrofilów i zależną od neutrofilów angiogenezę, z czego wynika, że może hamować stan zapalny [13].

W tym kontekście należy zwrócić uwagę, że pojawiające się głosy o zwalczaniu bólu pooperacyjnego, który jest jednym z objawów zapalenia, należałoby wiązać ze zwalczaniem pooperacyjnego stanu zapalnego w ogóle. Może to wpłynąć na ograniczenie rozwoju przerzutów i w konsekwencji przedłużenie przeżycia.

Założenie, że do gwałtownego rozwoju mikroprzerzutów po usunięciu guza pierwotnego przyczynia się rozległy stan zapalny, a nie brak angiostatyny, nie jest sprzeczne z obserwacjami, że po podaniu angiostatyny następuje hamowanie angiogenezy i rozwoju guza. Dodać trzeba, że blokowanie angiogenezy przez hamowanie VEGF-A przeszło badanie kliniczne 3 fazy [14].

Mgr Bogdan Cichy
ul. Kolejowa 12/16
62-600 Koto

Piśmiennictwo

1. Sierko E, Sierko P, Wojtukiewicz MZ. Angiostatyna – ukryty w układzie hemostazy naturalny inhibitor angiogenezy: perspektywy zastosowania w terapii przeciwnowotworowej. *Nowotwory J Oncol* 2002; 52: 144-9.
2. O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y i wsp. Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by Lewis lung carcinoma. *Cell* 1994; 79: 315-28.
3. Skopińska-Różewska E, Rogala E, Sommer E i wsp. Aktywność angiogenna i poziom enzymu konwertującego angiotensynę (ACE) w surowicach chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca. *I Kongres Onkologii Polskiej*. Katowice. *Nowotwory J Oncol* 2002; 53 suppl. 4: 122.
4. Shacter E, Weitzman SA. Chronic inflammation and cancer. *Oncology (Huntingt)* 2002; 16: 217-226, 229; discussion 230-2.
5. Dhawan P, Richmond A. Role of CXCL 1 in tumorigenesis of melanoma. *J Leukoc Biol* 2002; 72: 9-18.
6. Nie D, Honn KV. Cyclooxygenase, lipoxigenase and tumor angiogenesis. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 799-807.
7. Woods JM, Amin MA, Katschke KJ Jr. Interleukin-13 gene therapy reduces inflammation, vascularization, and bony destruction in rat adjuvant-induced arthritis. *Hum Gene Ther* 2002; 13: 381-393.
8. Scapini P, Nesi L, Morini M i wsp. Generation of biologically active angiostatin kringle 1-3 by activated human neutrophils. *J Immunol* 2002; 168: 5798-804.
9. Sartor L, Pezzato E, Dell'Aica I i wsp. Inhibition of matrix-proteases by polyphenols: chemical insights for anti-inflammatory and anti-invasion drug design. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 229-37.

10. Kamate C, Baloul S, Grootenboer S i wsp. Inflammation and cancer, the mastocytoma P815 tumor model revisited: triggering of macrophage activation in vivo with pro-tumorigenic consequences. *Int J Cancer* 2002; 100: 571-9.
11. Dermond O, Ruegg C. Inhibition of tumor angiogenesis by non-steroidal anti-inflammatory drugs: emerging mechanisms and therapeutic perspectives. *Drug Resist Updat* 2001; 4: 314-21.
12. Majumdar S, Lamothe B, Aggarwal BB. Thalidomide suppresses NF-kappa B activation induced by TNF and H2O2, but not that activated by ceramide, lipopolysaccharides, or phorbol ester. *J Immunol* 2002; 168: 2644-51.
13. Benelli R, Morini M, Carrozzino F i wsp. Neutrophils as a key cellular target for angiostatin: implications for regulation of angiogenesis and inflammation. *FASEB J* 2002; 16: 267-9.
14. Ferrara N. VEGF: An update on biological and therapeutic aspects. *Curr Opin Biotech* 2000; 11: 617-624.

Odpowiedź

Reply

Szanowny Panie Redaktorze,

Zapoznaliśmy się z listem odnoszącym się do naszego artykułu „Angiostatyna – ukryty w układzie hemostazy naturalny inhibitor angiogenezy: perspektywy zastosowania w terapii przeciwnowotworowej”, opublikowanego na łamach czasopisma *Nowotwory Journal of Oncology* [1]. Wydaje się, że autor listu opacznie zrozumiał przesłanie pracy. Nie ulega wątpliwości, że angiogeneza jest procesem niezwykle złożonym, wieloetapowym, w którym istotną rolę odgrywają nie tylko czynniki *sensu stricto* pro- i anty-angiogenne, ale też inne związki (choćby enzymy zlokalizowane w przestrzeni międzykomórkowej i ich inhibitory [2], cytokiny [3], składowe układu hemostazy [4, 5] itp.), jak również całościowy kształt wielokierunkowych interakcji pomiędzy komórkami nowotworowymi, prawidłowymi i strukturami macierzy pozakomórkowej, które w sposób bezpośredni lub pośredni regulują proces tworzenia nowych naczyń krwionośnych. Niedorzecznością byłoby zatem sądzić, że do pobudzenia, bądź hamowania angiogenezy prowadzi aktywność wyłącznie jednego czynnika. W rzeczywistości hipoteza sformułowana przez grupę Folkmana przyczyniła się do odkrycia jednego z inhibitorów angiogenezy – angiostatyny, będącego fragmentem związku naturalnie występującego w ustroju człowieka – plazminogenu [6]. Odkrycie to zwróciło uwagę na możliwość występowania inhibitorów angiogenezy, ukrytych w cząsteczkach innych białek, co zaowocowało odkryciem kolejnych inhibitorów tego procesu, m.in. endostatyny, fragmentu prolaktyny, antyangiogennej antytrombiny, itd. [przegląd piśmiennictwa w 5]. Z uwagi na możliwość zastosowania w przyszłości angiostatyny w terapii antyangiogennej w leczeniu chorych na nowotwory [7-11], wydało się nam celowe zaznajomienie czytelników czasopisma *Nowotwory* z przeglądem literatury dotyczącej tego inhibitora angiogenezy.

Rzecz jasna, aktywność angiostatyny, lub jej brak, nie wyjaśnia wszystkich przypadków pojawiania się przerzutów odległych u pacjentów chorych na nowotwory. Cytowana przez nas i przez autora listu hipoteza O'Reilly'ego i Folkmana została pozytywnie zweryfikowana na specjalnie do tego celu skonstruowanym modelu zwierzęcym [6]. Oczywiście jest, że żaden model nie odzwierciedla

dla w pełni warunków, w jakich rozwija się nowotwór w organizmie człowieka. Brak angiostatyny w krwiobiegu, po usunięciu guza pierwotnego i jednoczesny masywny rozwój odległych ognisk nowotworowych, obserwowany w badaniach eksperymentalnych, może być jednak propozycją wytłumaczenia zjawiska ujawniania się przerzutów odległych wkrótce (tj. w kilka miesięcy) po operacji [12]. Z pewnością hipoteza ta nie tłumaczy ujawniania się przerzutów w wiele lat po radykalnym zabiegu operacyjnym. Warto też zaznaczyć, że wzrost ognisk pierwotnych niektórych nowotworów nie wiąże się z obecnością angiostatyny we krwi [12]. Z kolei sugerowana przez autora listu koncepcja, że po operacji do pobudzenia angiogenezy w ogniskach przerzutowych dochodzi wskutek przewlekłego stanu zapalnego, wywołanego zabiegiem operacyjnym, nasuwa szereg wątpliwości. Niewątpliwie komórki i cytokiny związane z procesem zapalnym biorą udział w pobudzaniu angiogenezy [3, 13]. Jednakże, gdyby była to jedyna przyczyna aktywowania angiogenezy w okresie pooperacyjnym, to wszystkie przerzuty odległe u pacjentów poddanych zabiegowi operacyjnemu ujawniałyby się w przeciągu kilku miesięcy po operacji, a nie, jak to obserwujemy często w praktyce klinicznej – po kilku czy kilkunastu latach. Ponadto u chorych na nowotwory, nie poddawanych jakiegokolwiek terapii, obserwuje się aktywację krzepnięcia krwi, która ulega dalszemu pogłębieniu wskutek wykonania zabiegu operacyjnego [14, 15]. Jest to o tyle ważne, a było już przedmiotem wcześniejszych doniesień [4, 5], że czynniki układu hemostazy pełnią istotną rolę w pobudzaniu procesu angiogenezy, zarówno w ognisku pierwotnym, jak i w zmianach przerzutowych. Dodatkowo, po zabiegu operacyjnym dochodzi do przejściowych zaburzeń w funkcjonowaniu układu immunologicznego organizmu, co również nie pozostaje bez wpływu na rozwój przerzutów odległych. Stąd przypisywanie roli patogenezy jedynie procesowi zapalnemu w stymulowaniu angiogenezy w obrębie mikroprzerzutów, po operacyjnym usunięciu guza pierwotnego, jest podejściem zbyt uproszczonym i niemal mechanistycznym w odniesieniu do tak rozległego i złożonego procesu.

Angiogeneza nie pojawia się wyłącznie w guzach nowotworowych. Proces ten obserwowany jest również w przebiegu niektórych chorób zapalnych, np. reumatolo-

idealnego zapalenia stawów, chorób z autoagresji, łuszczycy, jak też towarzyszy różnym stanom fizjologicznym, np. cyklowi menstruacyjnemu. Pobudzenie angiogenezy nie jest cechą charakterystyczną reakcji zapalnej i w większości przypadków procesowi zapalnemu nie towarzyszy tworzenie nowych naczyń krwionośnych. Istnieją wszakże doniesienia, że w przebiegu zapalenia, nie związanego z chorobą nowotworową, dochodzi do powstawania angiostatyny [16]. Jednak z drugiej strony wykazano, że angiostatyna hamuje angiogenezę w procesie zapalnym [17, 18].

Nie jest również zrozumiałe dla nas sformułowanie użyte przez autora listu: „czy angiostatynę wydziela guz czy organizm pod wpływem choroby nowotworowej?”. Zarówno „guz”, jak i „organizm” nie wydzielają angiostatyny, ponieważ jest ona fragmentem już wcześniej zsyntetyzowanej cząsteczki białka – plazminogenu [6]. Synteza plazminogenu odbywa się w komórkach wątroby. Jak dotąd, nie stwierdzono, aby plazminogen był syntetyzowany przez komórki nowotworowe. Również, co podkreślaliśmy w naszej pracy, komórki nowotworowe nie syntetyzują angiostatyny [1]. Gwoli przypomnienia – zanych jest jak dotąd kilka dróg powstawania tego inhibitora (m.in. w wyniku działania MMP-3, MMP-7, MMP-9, MMP-12, MMP-2, czy też plazminy lub reduktazy plazminy). Komórki nowotworowe wpływają na powstawanie angiostatyny pośrednio, bądź przez wydzielanie metaloproteinaz, prowadzących do odszczepienia angiostatyny od cząsteczki plazminogenu, jak też poprzez wydzielanie substancji wpływających na makrofagi, będące źródłem enzymów biorących udział w tworzeniu angiostatyny [przegląd piśmiennictwa w 1, 19]. W przypadkach nowotworów, w przebiegu których dochodzi do powstawania angiostatyny w obecności guza pierwotnego, inhibitor ten kumuluje się w krążeniu [7]. Po radykalnym zabiegu operacyjnym znika on z krwiobiegu po ok. 5 dniach [7]. Chcielibyśmy podkreślić również fakt, iż najważniejszy czynnik proangiogeny – VEGF jest syntetyzowany bezpośrednio przez komórki nowotworowe [13], a synteza jego jest ciągle stymulowana, m.in. przez niedotlenienie guza [13]. Stąd można przypuszczać, że stężenie tego czynnika w obrębie guza nowotworowego jest duże. Jednakże czas połowicznego rozpadu VEGF w krążeniu jest bardzo krótki (ok. 3 min) [7], w przeciwieństwie do analogicznego czasu dla angiostatyny, który wynosi ok. 2,5 dnia [7]. Warto dodać, że ilość kumulowanej angiostatyny wzrasta w surowicy krwi wraz ze wzrostem wielkości guza pierwotnego [7]. Powyższe dane wskazują na możliwość zaburzenia równowagi pomiędzy inhibitorami a aktywatorami angiogenezy, z tendencją do pobudzania angiogenezy w obrębie pierwotnego guza nowotworowego i jednoczesnego jej hamowania w ogniskach odległych. Nieme klinicznie mikroogniska przerzutowe mogą nie posiadać tzw. fenotypu angiogenego, bądź też tworzące je komórki nowotworowe, z uwagi na niewielką wielkość zmiany nowotworowej, mogą nie wytwarzać dostatecznie dużej ilości czynników proangiogeny, np. VEGF, by skutecznie przeciwważyć hamujące działanie angiostatyny. Ostatnio w badaniach eksperymentalnych wykazano, że angiostatyna nasila działanie cyklofosfamid w stosunku do zmian przerzuto-

wych, nie wywierając jednak efektu na wpływ tego leku na guz pierwotny [20]. Faktem jest, że po usunięciu guza pierwotnego komórki nowotworowe o tzw. fenotypie angiogenym w ogniskach przerzutowych wciąż wytwarzają czynniki proangiogenne lub prowadzą do ich aktywacji. Warto natomiast podkreślić, iż wczesnym etapom rozwoju nowotworu (guza pierwotnego czy też ogniska przerzutowego) nie towarzyszy obecność angiostatyny w surowicy krwi [7]. Wykazano, że u myszy angiostatyna jest wykrywalna we krwi dopiero przy rozmiarze guza ok. 0,6-1 cm³ [6].

Autor listu koncentruje też uwagę na granulocytach obojętnochłonnych jako komórkach efektorowych angiostatyny. Jednakże wiadomo, iż inhibitor ten wywiera działanie wielokierunkowe, wpływając na komórki śródbłonna [6, 21], komórki mięśni gładkich ścian naczyń [21] oraz, o czym ostatnio donoszono, działa bezpośrednio na komórki nowotworowe, doprowadzając do zmniejszenia syntezy i ekspresji VEGF [22].

Zupełnie niezrozumiałe jest dla nas kontekst ostatniego zdania w otrzymanym liście, odnoszącego się do badań klinicznych nad wprowadzeniem do leczenia chorych na nowotwory związków hamujących VEGF-A.

Reasumując, chcielibyśmy podkreślić, iż angiogeneza przypisuje się ważną rolę w rozwoju nowotworów, jakkolwiek nie jest to jedyny proces odpowiedzialny za wzrost guza pierwotnego i ognisk przerzutowych. Niezwykle istotne są m.in. właściwości samych komórek nowotworowych, które, jak wiadomo, charakteryzują się znaczną heterogennością (w odniesieniu do tempa proliferacji, apoptozy, migracji, itd.) w obrębie jednego nawet ogniska nowotworowego. Owa heterogenność dotyczy również ich potencjału angiogenego. Wykazano na modelu zwierzęcym, że w obrębie jednego guza nowotworowego tylko 4-10% komórek nowotworowych przybiera tzw. fenotyp angiogeny [7]. Stąd tempo wzrostu i ujawnienie się przerzutów odległych będzie zależeć też od tego, które komórki (te o fenotypie angiogenym, czy te, które go nie nabyły) będą tworzyły potencjalne ognisko przerzutowe. Założenie autora listu, że „do gwałtownego rozwoju mikrop przerzutów, po usunięciu guza pierwotnego, przyczynia się rozległy stan zapalny” nie uwzględnia więc niezwykle ważnego potencjału komórek nowotworowych *per se* ani wpływu mikrośrodowiska, w którym rozwija się przerzutowe ognisko nowotworowe.

Dr n. med. Ewa Sierko
Prof. dr hab. med. Marek Z. Wojtukiewicz
 Zakład Onkologii
 Akademia Medyczna
 ul. Ogrodowa 12
 15-027 Białystok
 e-mail: ewa.sierko@iq.pl., e-mail: mwojtuk@polbox.com

Piśmiennictwo

1. Sierko E, Sierko PP, Wojtukiewicz MZ. Angiostatyna – ukryty w układzie hemostazy naturalny inhibitor angiogenezy: perspektywy zastosowania w terapii przeciwnowotworowej. *Nowotwory* 2002; 52: 144-9.
2. Pepper MS. Extracellular proteolysis and angiogenesis. *Thromb Haemost* 2001; 86: 346-355.
3. Koch AE, Polverini Kunkel SL i wsp. Interleukin-8 as a macrophage-derived mediator of angiogenesis. *Science* 1992; 258: 1798-801.
4. Wojtukiewicz MZ, Sierko E, Klement P i wsp. The hemostatic system and angiogenesis in neoplasms. *Neoplasia* 2001; 3: 371-84.
5. Sierko E, Zawadzki RJ, Wojtukiewicz MZ. Czynniki układu hemostazy a angiogeneza w nowotworach. *Nowotwory* 2001; 51: 93-103.
6. O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y i wsp. Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by Lewis lung carcinoma. *Cell* 1994; 79: 315-328.
7. Cao Y. Therapeutic potentials of angiostatin in the treatment of cancer. *Haematologica* 1999; 84: 643-50.
8. Reijnenvelde JC, Taphoorn MJ, Kerckhaert OA i wsp. Angiostatin prolongs the survival of mice with leptomeningeal metastases. *Eur J Invest* 2003; 33: 76-81.
9. Mauceri HJ, Hanna NN, Beckett MA i wsp. Combined effects of angiostatin and ionizing radiation in antitumor therapy. *Nature* 1998; 394: 287-91.
10. Gubish ER, Fogler WE, Sidor CF. Developmental strategies for endogenous angiogenesis inhibitors in cancer intervention. Abstract Book. *6th Biannual International Meeting. Angiogenesis: basic science and clinical developments*. Crete, Greece 2001; str. 48.
11. Sacco MG, Caniatti M, Cato EM i wsp. Liposome-derived angiostatin strongly inhibits tumor growth and metastazation in a transgenic model of spontaneous breast cancer. *Cancer Res* 2000; 60: 2660-5.
12. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other diseases. *Nat Med* 1995; 1: 27-31.
13. Clauss M. Molecular biology of the VEGF and the VEGF receptor family. *Semin Thromb Hemost* 2000; 5: 561-569.
14. Wojtukiewicz MZ, Rucińska M. Aktywacja krzepnięcia krwi u chorych na nowotwory: implikacje kliniczne. *Nowotwory* 1999; 49: 381-91.
15. Wojtukiewicz MZ. Zakrzepy a nowotwory. W: *Zakrzepy i zatory*. Łopaciuk S. (red.). Wyd. II. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL; 2001, 105-124.
16. Falcone D, Khan KMF, Layne T i wsp. Macrophage formation of angiostatin during inflammation. *J Biol Chem* 1998; 273: 31480-5.
17. Benelli R, Morini M, Carrozzino F i wsp. Neutrophils as a key cellular target for angiostatin: implications for regulation of angiogenesis and inflammation. *FASEB J* 2002; 16: 267-9.
18. Benelli R, Morini M, Brigati C i wsp. Angiostatin inhibits extracellular HIV-Tat-induced inflammatory angiogenesis. *Int J Oncol* 2003; 22: 87-91.
19. Moses MA, O'Reilly MS. Regulation of angiostatin mobilization by tumor-derived matrix metalloproteinase-2. *Methods Mol Med* 2003; 74: 375-90.
20. Mauceri HJ, Seetharam S, Beckett MA i wsp. Angiostatin potentiates cyclophosphamide treatment of metastatic disease. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002 50: 412-8.
21. Wajih N, Sane DC. Angiostatin selectively inhibits signaling by hepatocyte growth factor in endothelial and smooth muscle cells. *Blood* 2002; 24: 2003; 101: 1857-63.
22. Hajitou A, Grignet C, Devy L i wsp. The antitumoral effect of endostatin and angiostatin is associated with a down-regulation of vascular endothelial growth factor expression in tumor cells. *FASEB J* 2002; 16: 1803-4.