

## Reminiscencje z konferencji „Biologiczne podstawy terapii antyangiogennej”

W listopadzie 1999 r. w Mediolanie odbyła się konferencja poświęcona najnowszym osiągnięciom terapii antyangiogennej, na której poruszane były różne tematy związane z zagadnieniem tworzenia naczyń krwionośnych, zarówno z jego teoretycznymi podstawami, jak też problemy dotyczące zastosowania związków o działaniu antyangiogennym w leczeniu nowotworów. Obecne krótkie sprawozdanie ma na celu zaznajomienie Czytelników z tymi problemami i ich odniesieniami do kliniki, natomiast nie ma charakteru pracy poglądowej na temat angiogenezy nowotworowej (czyli powstawania naczyń krwionośnych w guzie nowotworowym z naczyń wcześniej już istniejących). Jest to obecnie bardzo szeroka dziedzina biologii nowotworów i zainteresowanych Czytelników odsyłam do stosownych publikacji.

Ojcem wiedzy o roli tworzenia naczyń krwionośnych w rozwoju nowotworów jest Judah Folkman. Jego pierwsze prace ukazały się na początku lat siedemdziesiątych, ale gwałtowny rozwój tej dziedziny wiedzy przypada na lata dziewięćdziesiąte. Folkman pierwszy wysunął tezę, że nowotwór początkowo rozwija się jako nieunaczyniony guz, do momentu osiągnięcia rozmiaru ok. 1-2 mm<sup>3</sup>. Istnieje w nim stan równowagi między ilością komórek dzielących się, a ilością komórek ulegających apoptozie. Podobny stan równowagi zachodzi między wydzielanymi przez komórki guza czynnikami pro- i antyangiogennymi. Taki nowotwór posiada fenotyp nieinwazyjny. Po osiągnięciu krytycznych rozmiarów, pod wpływem niedotlenienia, dochodzi do nagromadzenia się w komórkach mutacji i następuje tak zwany „*angiogenic switch*” – zmiana fenotypu na nowotwór złośliwy, inwazyjny, w którym przeważają wytwarzane czynniki proangiogenne – dochodzi do powstawania naczyń krwionośnych i do szybkiego wzrostu nowotworu. Analogiczna sytuacja ma miejsce w mechanizmie powstawania przerzutów nowotworowych. Czynniki regulujące angiogenezę są wydzielane zarówno przez komórki nowotworowe, jak i przez komórki śródbłonna oraz macierzy międzykomórkowej. Znanych jest również wiele syntetycznych związków, hamujących tworzenie naczyń krwionośnych na różnych jego etapach. Coraz lepsze zrozumienie skomplikowanego procesu angiogenezy prowadzi do nowych prób terapii antyangiogennej. Strategie hamowania rozwoju naczyń mogą być wymierzone zarówno bezpośrednio przeciw komórkom śródbłonna, hamując ich proliferację i migrację lub przeciwko różnym czynnikom angiogennym. Obecnie w Stanach Zjednoczonych w badaniach klinicznych znajduje się ponad

27 związków antyangiogennych, a ponad 40 firm farmaceutycznych pracuje nad nowymi. Nadzieje, jakie z nimi się wiąże, wynikają z ich mechanizmu działania. Udowodniono, że eliminacja jednej komórki śródbłonna prowadzi do śmierci około stu komórek nowotworowych. Komórki śródbłonna, w przeciwieństwie do komórek nowotworowych, są populacją genetycznie stabilną, homogeną i nie podlegają częstym mutacjom. Dlatego powinny one stanowić idealny cel terapii – częste mutacje komórek nowotworowych stanowią przyczynę szybko powstającej oporności na stosowane cytostatyki. W istocie, doświadczenia na modelach zwierzęcych, z naturalnie występującym inhibitorem angiogenezy – endostatyną (fragment cząsteczki kolagenu XVIII, indukowany przez komórki nowotworowe, wywołuje apoptozę komórek śródbłonna) wykazały, że cykliczne jej podawanie prowadzi do regresji guzów nowotworowych. Po zaprzestaniu terapii guzy odrastały, ale ponowne podjęcie leczenia indukowało trwałą regresję zmian. Zastosowanie na tym samym modelu cyklofosfamidu związane było z nabyciem oporności i gwałtowną progresją nowotworu. Podobną skutecznością cechują się niskocząsteczkowe związki, hamujące przekazywanie sygnału przez receptory dla czynników wzrostu, stymulujących angiogenezę (inhibitory kinazy tyrozynowej, związanej z receptorami dla VEGF, FGF, EGF – SU 5416, SU 6668). Ich stosowanie prowadzi do regresji nawet dużych guzów i nie indukuje oporności. Kolejną ważną cechą, jaka charakteryzuje terapię antyangiogenną, jest to, że nie powinna ona być toksyczna w tak dużym stopniu, jak konwencjonalne cytostatyki – nie działa bezpośrednio toksycznie na komórki dzielące się, jak ma to miejsce w przypadku konwencjonalnych cytostatyków. Związki antyangiogenne nie wywierają ujemnego wpływu na funkcje komórek śródbłonna w naczyniach krwionośnych w różnych narządach. Uważa się, że w zdrowych tkankach w fazie podziału znajduje się zaledwie 0,01% wszystkich komórek śródbłonna. W tkankach nowotworowych może być to ilość dwa, trzy rzędy wielkości wyższa. W organizmie zdrowego, dorosłego człowieka proces powstawania naczyń krwionośnych ma znaczenie tylko w gojeniu się ran i cyklu rozrodczym kobiety, więc działanie wymierzone przeciw niemu nie powinno wywierać ubocznych skutków na działanie ludzkiego organizmu.

Ze względu na wyżej wymienione właściwości związków antyangiogenne mogą znaleźć swoje miejsce w klinice. Aby to nastąpiło, trzeba przeprowadzić próby klinicz-

ne, a co jest równie ważne, należy zastanowić się nad zaprojektowaniem nowego schematu takich badań, co związane jest właśnie ze specyfiką działania terapii antyangiogennej. Najważniejsze wydaje się być dokładne zbadanie mechanizmów działania tych związków – czy jest ono ukierunkowane specyficznym przeciwko określonym receptorom na powierzchni komórek śródbłonna, czy też toksyczność dla komórek śródbłonna ma charakter niespecyficznego (jak ma to miejsce w przypadku działania substancji o nazwie Combretastatin) – pozwoli to lepiej ułożyć schemat badań. Dużym problemem w przypadku związków antyangiogennych jest stworzenie odpowiednich modeli eksperymentalnych nowotworów, jak najbardziej zbliżonych do istniejących u ludzi. Należy tu też wziąć pod uwagę fakt, że na szybkość wzrostu nowotworu, tworzenie naczyń krwionośnych i później powstawanie przerzutów, wpływają w ogromnym stopniu oddziaływania między komórkami guza, a otaczającymi tkankami (co przekłada się na rodzaj wydzielanych czynników wzrostu). Tak więc przykładowo, w modelu raka nerki u myszy, komórki wszczepione podskórnie w miejsce takie, jak poduszka łapy, rozwijają się jako guzy nie tworzące przerzutów, natomiast implantowane do nerki – jako guzy o wysokim potencjale metastatycznym. Badając działanie czynników antyangiogennych trzeba bardzo wnikliwie przeanalizować oddziaływania między komórkami nowotworu, komórkami śródbłonna a macierzy międzykomórkowej, bo od tych interakcji zależy skuteczność (lub jej brak) testowanego związku. Nie wdając się w szczegółowe rozważania na temat doświadczalnych modeli nowotworów, pragnę wspomnieć o poruszanych wielokrotnie przez różnych wykładawców – problemach wprowadzania terapii antyangiogennej do kliniki. Pierwszoplanową sprawą wydaje się być dobór pacjentów, którzy mogliby odnieść jak największe korzyści z takiej terapii. To z kolei związane jest ściśle z ustaleniem, w których nowotworach zastosowanie czynników wymierzonych w naczynia krwionośne przyniesie zamierzony efekt terapeutyczny. Kolejnym zagadnieniem jest dobór markerów monitorujących skuteczność leczenia. Tu należy wspomnieć, że ze względu na specyfikę związków antyangiogennych, w większości przypadków efekty leczenia są widoczne po dłuższym czasie – substancje te nie działają bezpośrednio cytotoksycznie na komórki nowotworowe i zazwyczaj nie obserwuje się spektakularnej redukcji masy nowotworu. Niezbędne będzie więc określenie markerów – być może specyficznych dla poszczególnych guzów nowotworowych – których monitorowanie pomogłoby określić skuteczność terapii. Wydaje się, że konieczne będzie odmienne zaprojektowanie badań klinicznych dla testowania związków antyangiogennych. Przykładowo w badaniach fazy II nie powinni uczestniczyć pacjenci z dużą masą nowotworu, w stadium znacznego zaawansowania choroby, bo efekt terapeutyczny jest znikomy. Postulowano, aby związki antyangiogenne były wprowadzane do badań klinicznych jako leki podtrzymujące remisję (w porównaniu z placebo), u pacjentów po leczeniu standardowym (na przykład w przypadkach raka drobnokomórkowego płuca po standardowym leczeniu cytostatykami) lub też jako leczenie

uzupełniające po zabiegu operacyjnym, chemio- czy radioterapii. Odmienne zaprojektowanie badań klinicznych wiąże się z postawieniem odpowiedzi na pytanie: co miałyby zostać celem badań III fazy – długotrwała stabilizacja choroby? zapobieganie tworzeniu przerzutów? jakość przeżycia? Udzielenie odpowiedzi na te pytania pozwoliłoby ustalić dla testowanych antyangiogennych związków optymalną dawkę biologiczną, która – w przeciwieństwie do większości cytostatyków różni się znacznie od maksymalnej dawki tolerowanej. Należy tu wspomnieć, że w niektórych przypadkach efekt antyangiogeny i przeciwnowotworowy można osiągnąć stosując dawki niższe od uznanych za dawki cytostatyczne czy cytotoksyczne. Dlatego jednym z wielokrotnie powtarzanych haseł konferencji było: „mało nie znaczy źle”.

Czas pokaże, czy kiedyś związki antyangiogenne znajdą trwałe miejsce w leczeniu nowotworów, ale ogromny postęp wiedzy na temat mechanizmów angiogenezy i wczesnych etapów rozwoju nowotworu oraz szybkie wprowadzanie badanych związków do prób klinicznych pozwalają nam mieć na to nadzieję.

**Dr Anna Dąbrowska**

asystent naukowy

Klinika Nowotworów Układu Chłonnego

Centrum Onkologii–Instytut w Warszawie