

# Gliomas y angiogénesis

Dr. Alfonso Escobar<sup>1</sup>

## RESUMEN

Ontogénicamente la vasculogénesis depende de los angioblastos y su interacción con los pericitos. Por cultivo de tejidos se han identificado factores que participan en la angiogénesis; se han identificado cuando menos una docena de factores, entre ellos el factor de crecimiento BB derivado de plaquetas (FCDP-BB), TGF-beta, fibronectina, colágeno tipo IV, integrinas alfa-beta3 y alfa-beta5. La angiogénesis, factor para reproducción, desarrollo y reparación de tejidos, también participa en el crecimiento de neoplasias que expresan el factor tumoral de angiogénesis. El factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV) se genera por la hipoxia tisular. Factores que facilitan o que inhiben la angiogénesis ya se ensayan en la terapéutica clínica, p.ej: el FCFb en la úlcera péptica y el interferón alfa 2-a en los casos graves de hemangiomas. En el caso de los gliomas, específicamente en el glioblastoma multiforme, los factores de crecimiento plaquetario, FCFb y FCEV, contribuyen al mantenimiento y crecimiento del GM. La angiostatina inhibe la angiogénesis en el glioma humano U87, y la protamina y suramina en el glioma C6 de rata. La terapia génica asociada a factores antiangiogénicos, como la transferencia de IFN-gamma en genes mediados por adenovirus, se ensaya actualmente con resultados, hasta ahora, imprecisos.

Revista Mexicana de Neurociencia 2002; 3(1): 21-24

## ABSTRACT

In ontogenesis the interaction between angioblasts and pericytes leads to vasculogenesis. Tissue culture has led to identification of about a dozen factors promoting angiogenesis, among them platelet derived growth BB factor (BB-PDGF) TGF-beta, Fibronectin, Collagen type IV, integrins alfa-beta3 and alfa-beta5. Angiogenesis, a factor for reproduction, development and tissue repair, also promotes neoplasia growth due to the expression of the angiogenic tumoral factor. The endothelial vascular growth factor (EVGF) is generated in hypoxic tissues. Clinical trials the to assess factors that facilitate or inhibit angiogenesis e.g: FGFb in gastric and duodenal ulcers, and interferon alfa 2-a in severe cases of hemangiomas. In gliomas, specifically in glioblastoma multiformis, PDGF, FGFb and EVGF are factors that facilitate development of GM. Angiostatin inhibits angiogenesis in human glioma U87, and protamine and suramine inhibit rat glioma C6. Genic therapy associated to factors inhibitig angiogenesis, such as tranference of FIN-gamma in genes using adenovirus as vector, is experimentally being tried, though so far good results are not yet consistent.

Revista Mexicana de Neurociencia 2002; 3(1): 21-24

## INTRODUCCIÓN

La formación de vasos sanguíneos: vasculogénesis, proviene de células endoteliales pre-existentes denominadas angioblastos, los que distribuidos por los tejidos se asocian para formar vasos embrionarios. A este hecho reportado desde 1870 se añadió el conocimiento de los pericitos, células perivasculares que recubren los capilares y demás vasos sanguíneos; en los vasos mayores las células perivasculares forman músculo liso. Faltó, en ese entonces, aclarar los mecanismos y naturaleza de la interacción entre las células endoteliales y los pericitos. El estudio por medio de cultivo de tejidos condujo a identificar varios factores involucrados en la formación de vasos sanguíneos: Factores solubles, moléculas de adhesión y moléculas de matriz extracelular, uno de los primeros fue la identificación del factor de crecimiento BB derivado de

las plaquetas (FCDP-BB), así como el TGF-beta, este último capaz de suprimir la proliferación de células endoteliales y promover la diferenciación de las células musculares lisas y de los pericitos en los vasos en formación. Igualmente se considera que la fibronectina, el colágeno tipo IV, integrinas del tipo alfa-beta3 y alfa-beta5, componentes de la matriz extracelular, también contribuyen a la interacción entre los dos tipos celulares<sup>1</sup>.

La angiogénesis consiste en la formación de nuevos vasos que se ramifican de los ya existentes, usualmente de una vénula, lo cual puede ser el evento primario en la mayoría de las condiciones patológicas, tal y como ocurre en la retinopatía diabética proliferativa y en la vascularización de los tumores. La angiogénesis es factor fundamental para la reproducción, el desarrollo y la reparación tisular; todo ello depende del crecimiento regulado de los vasos sanguíneos ya que si no se controla conduce a la situación patológica que mantiene el progreso de enfermedades neoplásicas y no neoplásicas<sup>2</sup>. Es conveniente recordar que la mayoría de los tumores se desarrollan de una lesión primaria *in situ*, no mayor de 2 a 3 mm, asin-

<sup>1</sup> Neuropatólogo, Profesor Emérito de la UNAM.

Correspondencia: Dpto. de Biología Celular y Fisiología Inst. Investig. Biomédicas, UNAM Ciudad Universitaria 04510, México, D.F.  
Tel & Fax: 52 55 5622 3850  
Email: alesiz@servidor.unam.mx

tomática, que puede permanecer totalmente avascular por meses o años; de repente un pequeño grupo de las células tumorales cambia a un fenotipo angiogénico y se inicia una rápida vascularización. Las células tumorales pueden expresar uno o varios de los factores reguladores positivos de la angiogénesis<sup>3</sup>.

El crecimiento tumoral va siempre asociado a proliferación vascular sin la cual no es posible la multiplicación de las células neoplásicas. La neovascularización inducida por el tumor se desencadena cuando las células tumorales liberan una sustancia que se denomina factor tumoral de angiogénesis (FTA), el cual posee la capacidad de estimular el crecimiento de vasos sanguíneos en el tejido sano adyacente, para generar nuevos capilares que crecen hacia la incipiente y hasta entonces neoplasia avascular para proveerla de nutrientes, que incluyen oxígeno, y remover los desechos celulares. Aunque este fenómeno se conoció desde los años 40 no fue sino hasta fines de los 60 que se pudo comprobar experimentalmente que la vascularización tumoral era inducida por una sustancia capaz de difundirse a través de un filtro.

El tema vuelve a ser de actualidad gracias a los conocimientos aportados por estudios recientes de biología molecular que han permitido conocer factores angiogénicos y factores antiangiogénicos, que pueden ser utilizados en la práctica clínica. Entre los doce factores endógenos ya identificados como angiogénicos<sup>2</sup> se hallan los factores de crecimiento de transformación alfa y beta, estimulante de granulocitos, fibroblástico básico (FCFb) y fibroblástico ácido (FCFa), de crecimiento del hepatocito, de necrosis tumoral alfa, proliferina, angiogenina, derivado de plaquetas, interleucina-8, y el factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV). Este último es considerado hasta ahora el más importante en el control de la angiogénesis normal y patológica, ya que es capaz de inducir una cascada de respuestas por las células endoteliales, tales como proliferación y migración, permeabilidad vascular y expresión de genes pro-inflamatorios; para ejercer estos efectos el FCEV debe actuar unido a un receptor celular de superficie. Dado que el FCEV se halla implicado en la angiogénesis en varias enfermedades, las investigaciones se han enfocado principalmente a identificar los mecanismos que regulan su expresión, el más efectivo es la hipoxia que genera en el citoplasma un factor de transcripción inducible que se transloca en el núcleo para activar el elemento de respuesta a la hipoxia, útil en la isquemia tisular y en el desarrollo de la vascularización embrionaria. Igualmente este mecanismo molecular es el que induce angiogénesis en los tumores y en la retinopatía proliferativa. Con el

propósito de bloquear al FCEV se han creado anticuerpos monoclonales, receptores solubles, inhibidores peptídicos y bloqueo de la adhesividad de las células endoteliales que las lleva a la apoptosis.

Así como hay factores angiogénicos, se han identificado también factores endógenos que regulan en forma negativa la proliferación de las células endoteliales; son factores anti-angiogénicos: factor plaquetario<sup>4</sup>, trombospondina<sup>1</sup>, inhibidores tisulares de metaloproteasas (ITMP)<sup>1,2,3</sup>, la prolactina (fragmento de 16 kd), angiostatina (fragmento 38 kd del plasminógeno), receptor soluble del FCFb, factor beta de transformador de crecimiento, de interferón alfa-2a, la proteína asociada a la proliferina placentaria.

Las aplicaciones médicas de estos conocimientos incluyen la administración de factores estimulantes de la angiogénesis; por ejemplo, se ha usado el FCFb para el tratamiento de pacientes con úlceras duodenales o gástricas que tendieron a cicatrizar rápidamente, ya que el FCFb es aproximadamente un millón de veces más potente que la cimetidina y no reduce la secreción de jugo gástrico.

La inhibición terapéutica de la angiogénesis tiene igualmente muchas posibilidades; como ejemplo se debe hacer mención del uso del interferón alfa-2a en los casos graves de hemangiomas. Estas malformaciones vasculares pueden ser de fatales consecuencias o de efectos antiestéticos. Los hemangiomas son frecuentes (1 en 5) en niños prematuros con peso menor de 1000 gramos o en 1 de cada 100 recién nacidos.

Aunque en la mayoría de esos casos la evolución es benigna y tienden a desaparecer espontáneamente, el 10 por ciento requiere tratamiento; el 30 por ciento de esos responde en forma dramática al tratamiento con corticosteroides, en el 40 por ciento es errática y el 30 por ciento restante no responde del todo y tiende a agravarse, lo que hace necesario recurrir a otros medios terapéuticos como la irradiación, la ciclofosfamida o la embolización. En esos casos el interferón alfa-2a, que suprime la producción de la FCFb proteína en altos niveles en los hemangiomas, ha dado resultados alentadores; sin embargo, por efectos colaterales indeseables en el uso de este factor inhibidor de la angiogénesis, se requiere de una valoración previa cuidadosa en cada caso. La talidomida y el interferón alfa-2a se utilizan ya en el tratamiento de la degeneración macular; la minociclina y el TNP-470, un análogo sintético de la fumagilina, son inhibidores potenciales en la terapéutica de la artritis.

En los casos de cáncer de pulmón, colon, mama, próstata, sarcoma de Kaposi, también se han utilizado los inhibidores de la angiogénesis, tales como

el TNP-470, factor plaquetario<sup>4</sup>, carboxiaminotriazol, BB-94 y BB-2516, talidomida, interleucina-12, el polisacárido sulfatado tecogalán (DS-4152), inhibidores de las metaloproteinasas y la linomida<sup>2</sup>.

Observaciones clínicas y experimentales en tumores malignos<sup>4</sup> llevaron a descubrir que la extirpación del tumor primario, p.ej. carcinoma mamario, de colon, sarcomas osteogénicos, con frecuencia es seguida de la aparición y rápido crecimiento de metástasis numerosas. Se observó, además, que un tumor primario puede suprimir a un tumor secundario, p.ej. la inhibición de metástasis de melanoma por la aparición de un tumor maligno mamario que la extirpación parcial de un tumor primario conduce al rápido crecimiento del tumor residual. Experimentalmente se pudo precisar que efectivamente un tumor primario puede suprimir el crecimiento de un *inoculum* tumoral secundario y que la resistencia del tumor primario es directamente proporcional a su tamaño e inversamente proporcional al tamaño del *inoculum*. Varias hipótesis han sido postuladas para explicar este fenómeno.

“Inmunidad concomitante” en la que el tumor primario induce respuesta inmunológica contra el otro tumor, restricción de nutrientes al tumor secundario, producción de factores antimetástáticos que inhiben directamente la proliferación celular; estas ideas no han sido comprobadas, hasta ahora, con base en mecanismos moleculares.

Una hipótesis más reciente implica que el tumor primario puede generar su propia angiogénesis con los factores estimulantes que sobrepasan a los factores inhibidores. Estos últimos, con mayor vida media en la circulación, pueden alcanzar niveles superiores al factor o factores estimulantes de angiogénesis en el tumor secundario y, al llegar a éste, inhiben su crecimiento. El factor inhibidor ha sido identificado en el plasminógeno como un fragmento de 38-kd y se le denominó angiostatina. Este nuevo elemento inhibidor de la angiogénesis tiene efecto sobre las células endoteliales las cuales cesan de reproducirse y el tumor tiende a desaparecer por falta de vascularización; una ventaja sobre la quimioterapia es que la angiostatina no tiene efecto sobre las células tumorales y, por lo tanto, no genera resistencia de las células tumorales como ocurre con la quimioterapia convencional.

## GLIOMAS Y ANGIOGENESIS

Los tumores gliales constituyen el grupo más común de tumores intracraneanos y de éstos el glioblastoma multiforme (GM) sobresale por sus características de malignidad, su rápida evolución y resistencia a las medidas terapéuticas convencionales: irradiación y quimioterapia subsecuentes a

la cirugía. Este tumor se distingue por la heterogeneidad de la población celular glial que lo constituye, con predominio de glía anaplásica que se reproduce rápidamente, imágenes de mitosis muy abundantes y rica neovascularización con hiperplasia endotelial, frecuentemente tan intensa que causa obstrucción vascular y por ende abundantes áreas de necrosis tisular que actúan a su vez como estímulo hipóxico inductor de angiogénesis. La neoformación vascular, que favorece el rápido crecimiento y reproducción del GM, es promovida por los factores de crecimiento plaquetario, FCFb y FCEV<sup>5-9</sup>. El GM representa actualmente el más maligno de los tumores cerebrales primarios, el más resistente a los tratamientos convencionales, y dado que la biología molecular ha aportado estos conocimientos sobre los mecanismos de la angiogénesis intratumoral, imprescindible para el crecimiento y reproducción del GM, hace ahora susceptible al GM del enfoque terapéutico con el fin de bloquear la producción de esos factores y sus receptores y, de esa manera, inhibir la angiogénesis. La angiostatina ha sido usada en el tratamiento de células del glioma humano U-87 implantadas en el ratón “desnudo” con resultados favorables; el crecimiento tumoral se redujo 71.2% y la angiogénesis en 78.9%, además, hubo total supresión de los factores FCFb y FCEV<sup>10</sup>. El uso experimental de protamina y suramina produce efectos similares en el glioma C6 de rata<sup>11</sup>.

Un nuevo método de tratamiento consiste en la terapia génica, la transferencia de genes en los tumores del sistema nervioso central, todavía en fase temprana de investigación y sujeta a evaluación a largo plazo<sup>12,13</sup>. Los vectores que se utilizan para la transferencia de genes incluyen virus diversos, tales como retrovirus, herpes simplex, adenovirus, virus asociados al adenovirus, y reovirus, todos ellos capaces de penetrar las células gliales tumorales, genes anticancerosos que potencialmente pueden activar las drogas anticancerosas, aumentar la inmunogenicidad, la apoptosis e inhibir la angiogénesis; hasta ahora no parece haber signos de eficiencia terapéutica, pero es posible que con modalidades técnicas refinadas se logre obtener resultados que permitan su aplicación en la clínica humana. Un ejemplo de estos intentos se ha hecho con la transferencia de IFN-gamma en genes mediados por adenovirus en un tumor humano implantado experimentalmente<sup>14</sup>. El efecto de la AdIFN prolongó el tiempo de supervivencia en el modelo empleado y se observó rechazo del tumor, ya que el IFN-gamma inhibe la angiogénesis en el tumor implantado. Este estudio indica la posibilidad de nuevas estrategias para el tratamiento de tumores cerebrales humanos.

## REFERENCIAS

1. D'Amore PA et al. *Angiogenesis. Science & Medicine* 1999; 6: 44 – 53
2. Folkman J. *Clinical applications of research on angiogenesis. NEJM* 1995; 333: 1757 – 1763
3. Folkman J. *The vascularization of tumors. Sci Amer* 1976; 234: 58 – 73
4. O'Reilly MS et al. *Angiostatina: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. Cell* 1994; 79: 315 – 328
5. Black PM. *Brain tumors. NEJM* 1991; 342 : 1471 – 1476
6. Plate K, Risau W. *Angiogenesis in malignant gliomas. Glia* 1995; 349 – 347
7. Bikfalvi A. *Role of fibroblast growth factor-2 in tumor angiogenesis. Patho Biol* 1999; 47: 364 – 367
8. Plate KH. *Mechanisms of angiogenesis in the brain. J Neuropath Exper Neurol* 1999; 58: 313 – 320
9. Samoto K et al. *Expression of vascular growth factor and its possible relation with neovascularization in human brain tumors. Cancer Res* 1995; 55: 1189 – 1193
10. Joe YA et al. *Inhibition of human malignant glioma growth in vivo by human recombinant plasminogen kringles 1 – 3. Int J Cancer* 1999; 82: 694 – 699
11. Arrieta O et al. *Protamine inhibits angiogenesis and growth of C6 rat glioma; a synergistic effect when combined with carmustine. Europ J Cancer* 1998; 34: 2101 – 2106
12. Weyerbrook A, Oldfield EH. *Gene transfer technologies for malignant gliomas. Curr Opin Oncol* 1999; 11 : 168 – 173
13. Qureshi NH, Chiocca EA. *A review of gene therapy for the treatment of central nervous system tumors. Crit Rev Oncog* 1999; 10: 261 – 274
14. Fathallah-Shaykh HM et al. *Gene transfer of IFN-gamma into established brain tumors represses growth by antiangiogenesis. J Immunol* 2000; 164 : 217 - 222

