

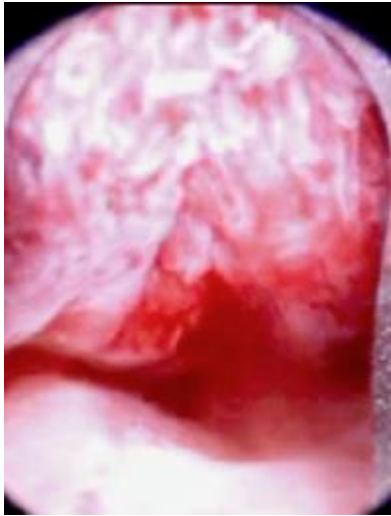
Angiogênese e Metástases

Luiz Fernando Ferraz da Silva

vasculatura

crescimento de vasos em adultos

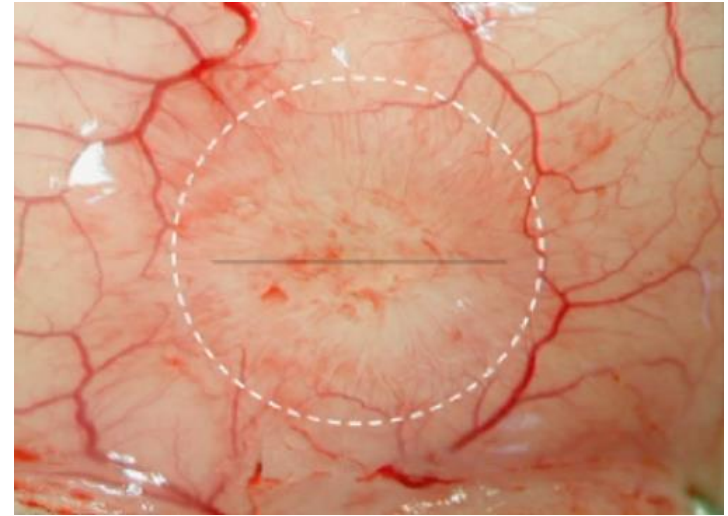
útero



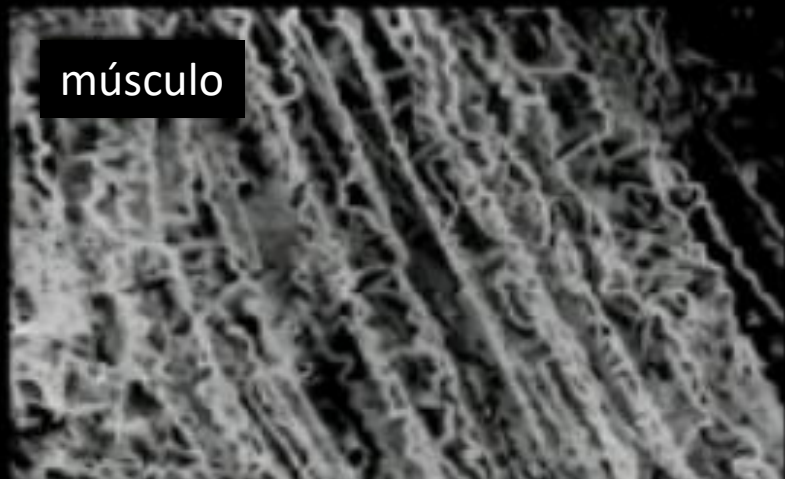
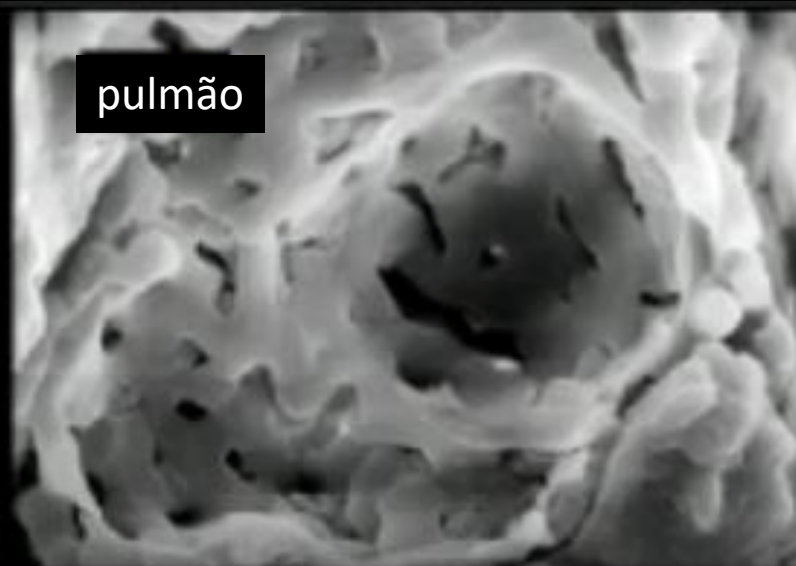
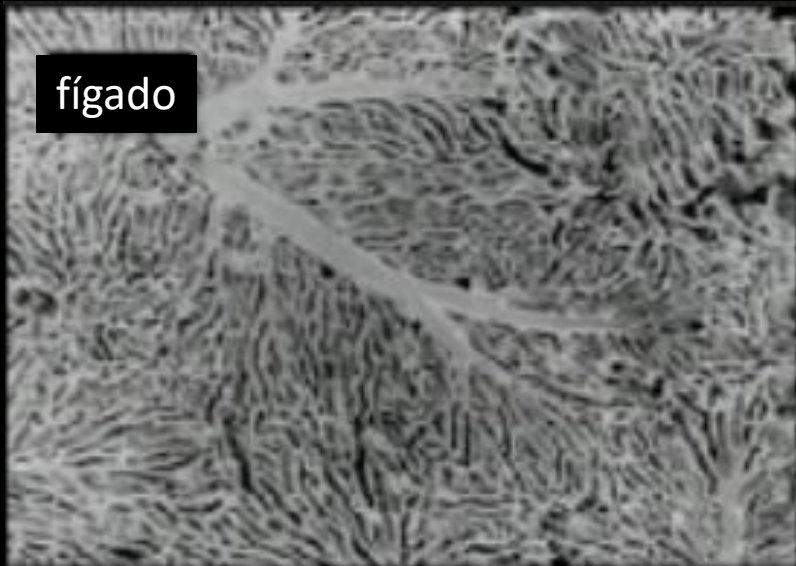
placenta



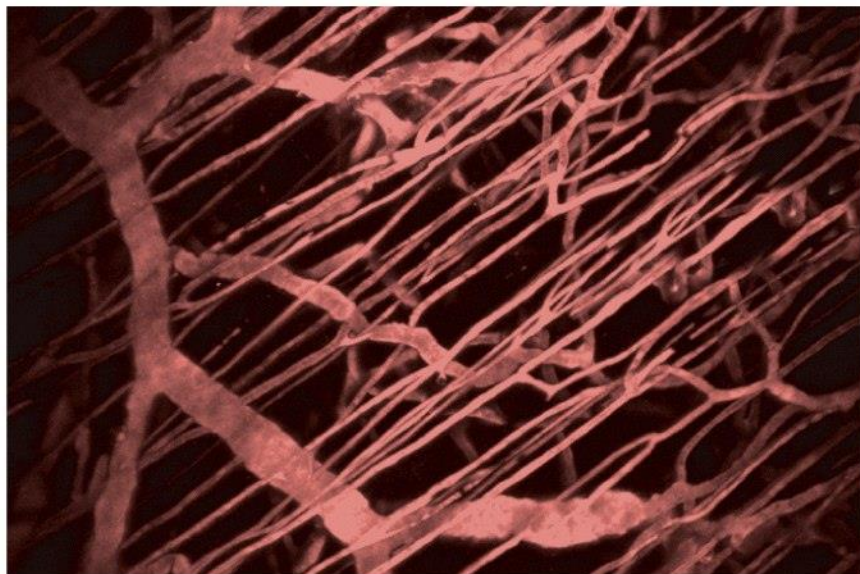
cicatrização tecidual



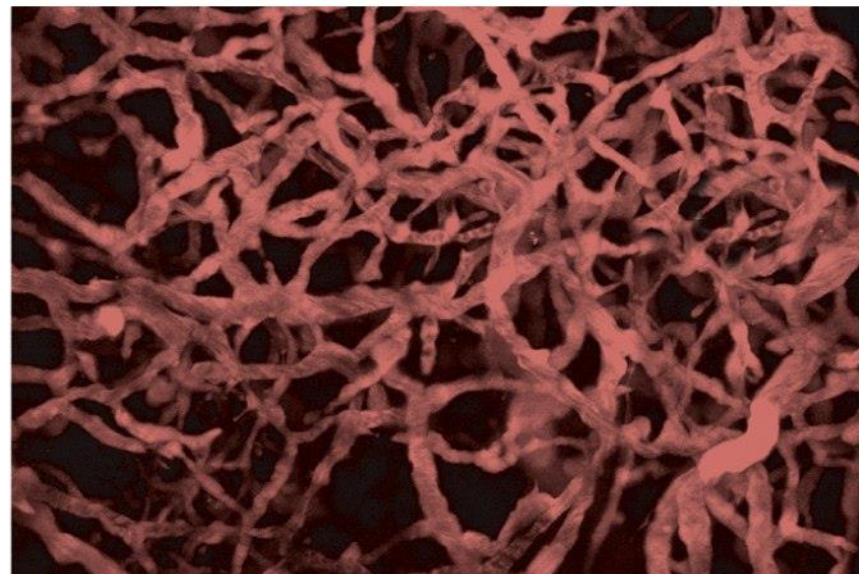




Comparação entre a vasculatura normal e a vasculatura associada a tumores



normal tissue

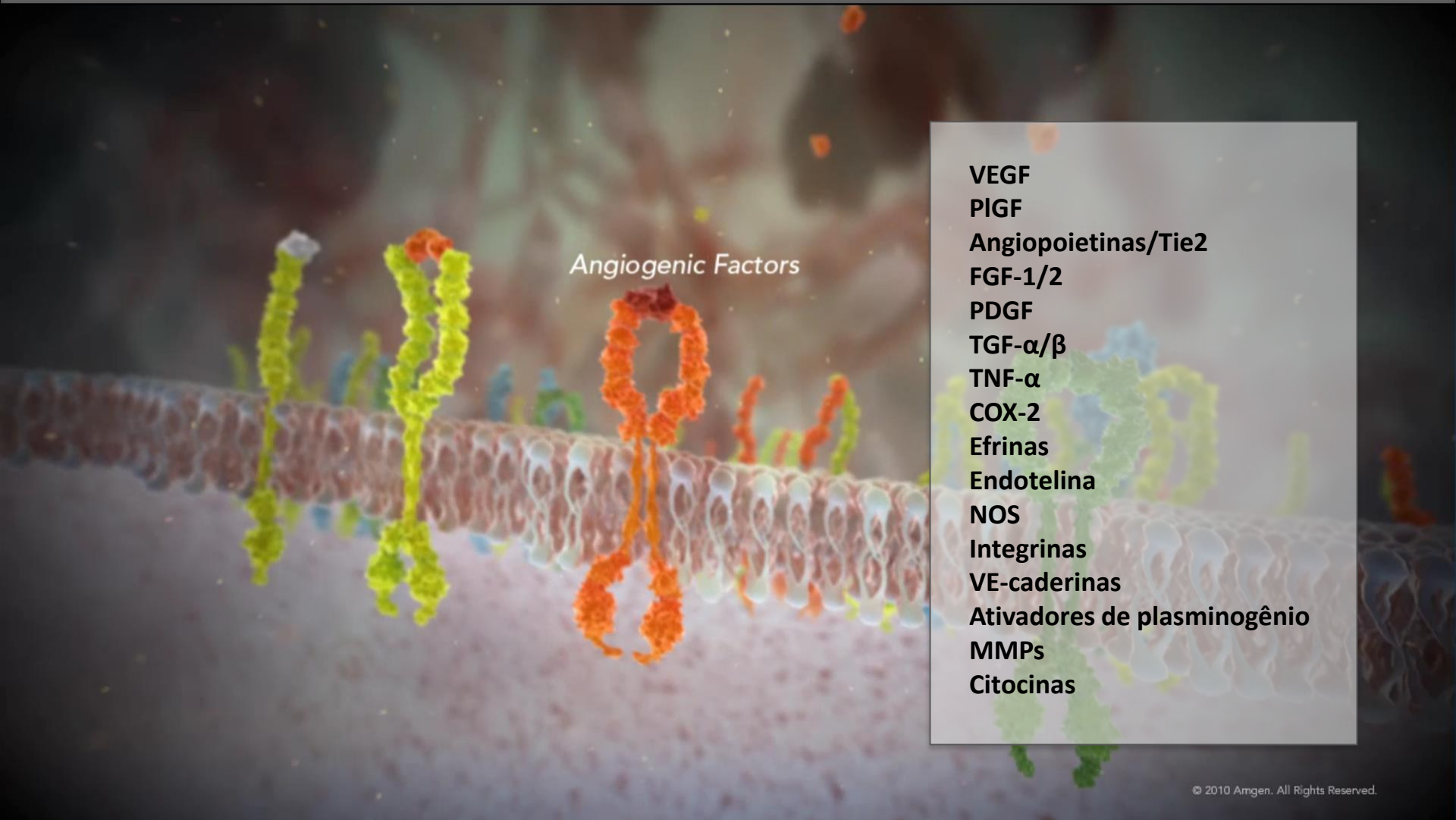


tumor

modulação da angiogênese

agentes pró-angiogênicos

Angiogenic Factors

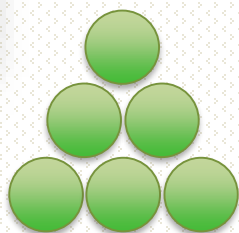
A 3D rendering of a blood vessel wall with various angiogenic factors represented as colorful, ribbon-like structures. The vessel wall is shown in cross-section, revealing the endothelial layer. The factors are shown in shades of green, orange, and blue, extending from the vessel wall into the surrounding space.

VEGF
PlGF
Angiopoietinas/Tie2
FGF-1/2
PDGF
TGF- α/β
TNF- α
COX-2
Efrinas
Endotelina
NOS
Integrinas
VE-caderinas
Ativadores de plasminogênio
MMPs
Citocinas

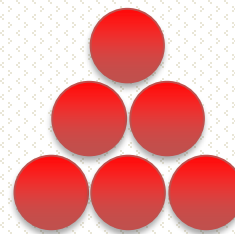
© 2010 Amgen. All Rights Reserved.



anti

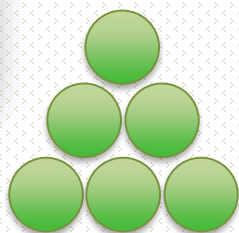


pró

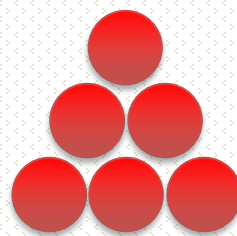




anti



pró

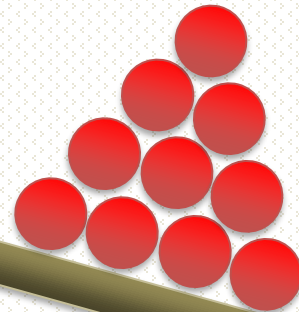


Trombospondina-1
Angiostatina
Endostatina
Canstatina
tumnstatina

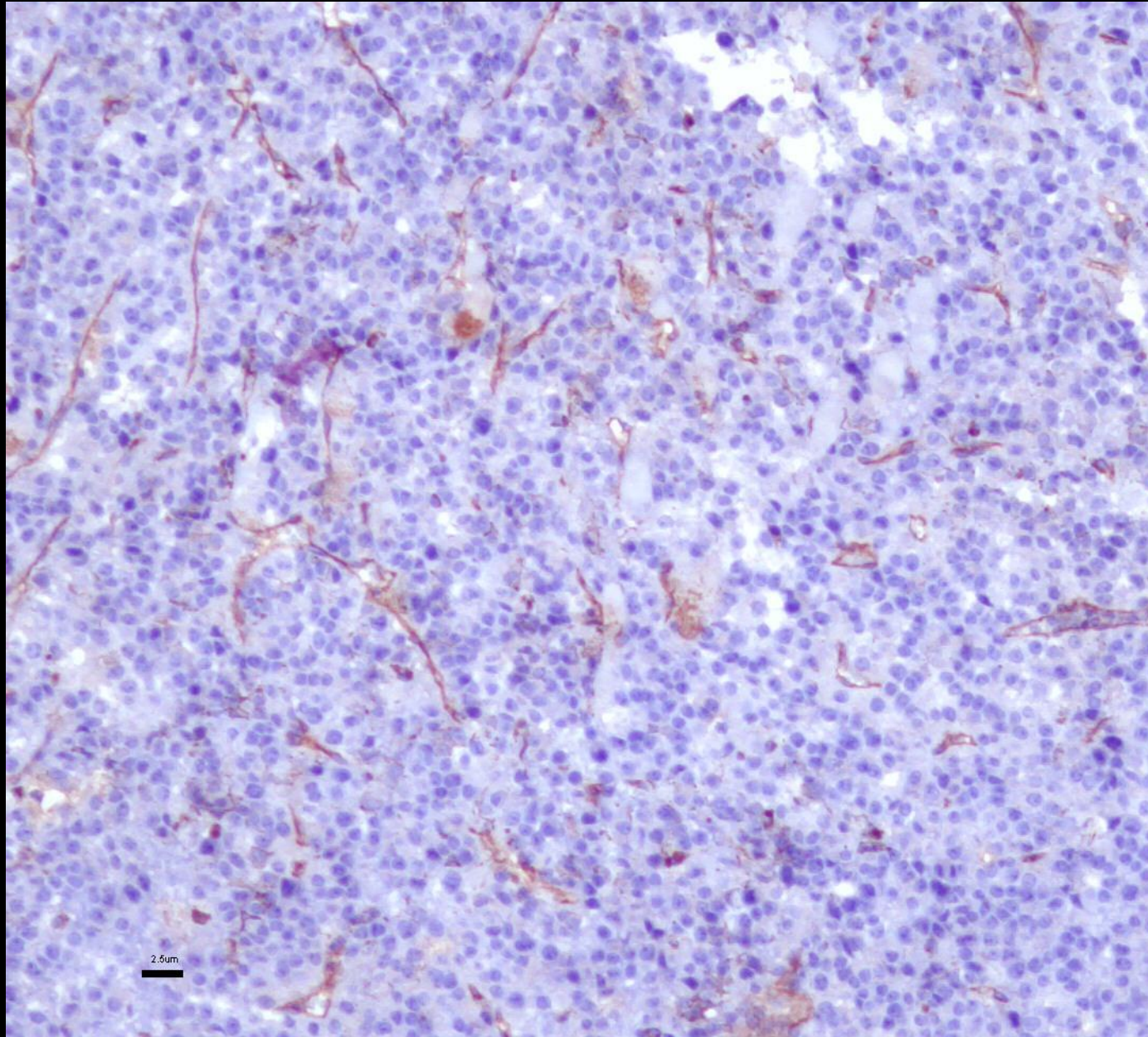
anti



pró

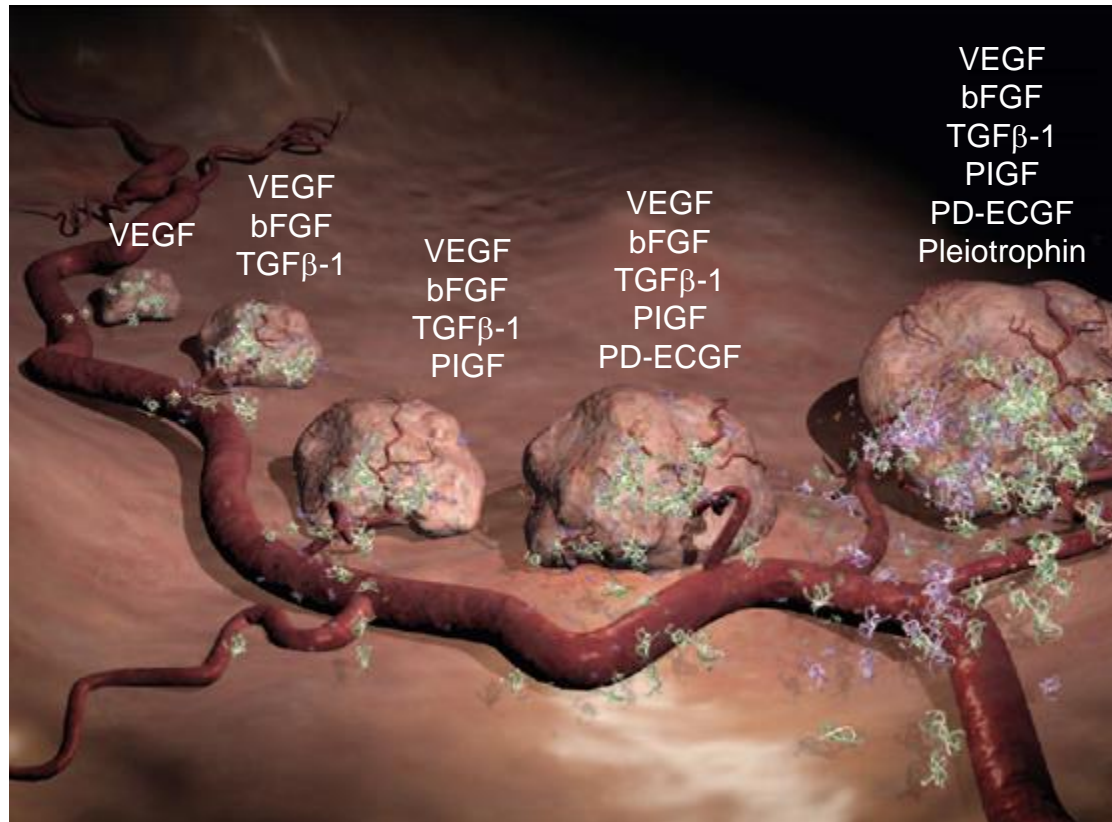


VEGF
FGF
PDGFB
EGF
LPA



IHQ para CD34 em melanoma
subcutâneo B16-F10 induzido
experimentalmente em
C57Bl/6.

VEGF, the 'key' to angiogenesis, is expressed throughout tumour development



- VEGF is present throughout the tumour life cycle^{1,2}
- As secondary pathways emerge, VEGF continues to be overexpressed^{3,4}

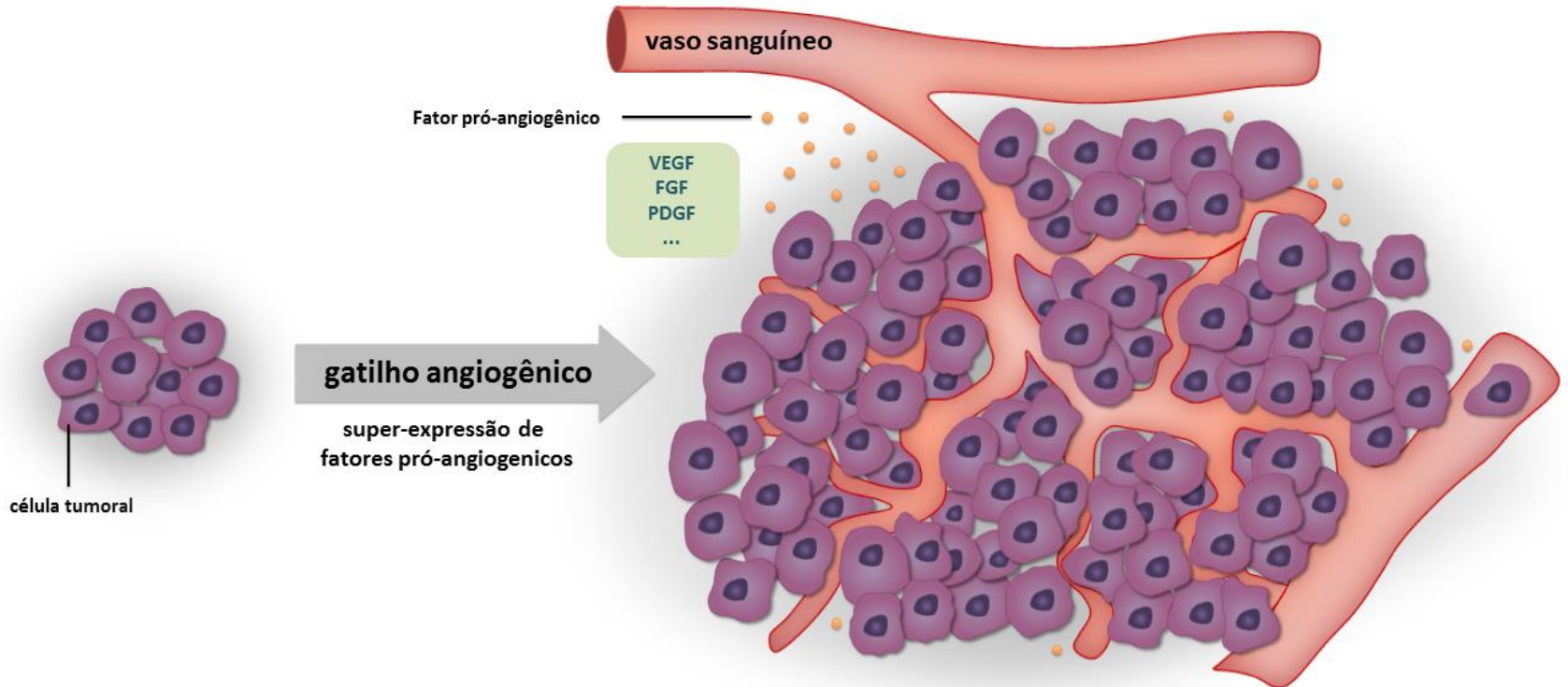


▶ Folkman

- ▶ Crescimento tumoral e metástase: angiogênese-dependente
- ▶ Bloqueio angiogênese – estratégia para reduzir crescimento tumoral

angiogênese

gatilho angiogênico



tumor dormente

Pequeno
Obtenção de nutrientes e oxigênio por difusão
Baixa taxa de crescimento
(balanço entre apoptose e proliferação celular)

tumor vascularizado

Grande
Maior eficiência no fornecimento de oxigênio e nutrientes às células tumorais
Rápido crescimento tumoral

angiogênese

essencial para o desenvolvimento do tumor



Sobrevivência de células neoplásicas

Crescimento de tumores > 2 mm de diâmetro

Vessel maturation
Angiogenesis

Inibidores de angiogênese

Inibidores endógenos

inibidor	alvo angiogênico	função
Endostatina	VEGFR, integrina $\alpha 5 \beta 1$	Atua em diversas vias associadas a sobrevivência e migração de células endoteliais. Induz apoptose em células endoteliais.
Angiostatina	Angiomotina, Integrina $\alpha \beta 3$, ATP sintase	Supressor de angiogênese tumoral, atuando em várias vias de sinalização celular
TSP-1 (Trombospondina 1)	MMP-9, CD36, integrina $\alpha \beta 3$	Inibição de diversas vias intracelulares. Inibe migração, crescimento, adesão e sobrevivência de células endoteliais. Inibe proteases associadas à matriz extracelular.
Fragmento da MMP-2 que contém o domínio hemopexina C-terminal	MMP-2	Supressor de angiogênese
IL-12 (Interleucina 12)	VEGF, MMP-9	Imunomodulatória, antitumoral e antimetastática
Arrestina	Integrina $\alpha 1 \beta 1$	Inibição da migração, proliferação de células endoteliais e induz apoptose em células endoteliais/tumorais.
Tumstatina	Integrina $\alpha \beta 3$ e $\alpha 6 \beta 1$	Inibe síntese proteica. Atenua proliferação de células endoteliais.
Canstatina	Integrina $\alpha \beta 3$ ou $\alpha \nu \beta 1$	Inibe migração e induz de apoptose dependente de CD95 em células endoteliais.
Endorepelina	Integrina $\alpha 2 \beta 1$	Inibe migração celular via desorganização de citoesqueleto de actina e de adesões focais.

+800

**ensaios clínicos envolvendo
agentes antiangiogênicos**

agentes antiangiogênicos

em investigação clínica

nome da droga	tipo	alvo molecular	mecanismo de ação
Vandetanib (ZD6474, Zactima™)	TKI	VEGFR1-2 e EGFR	Exibe atividade em múltiplas vias de crescimento e angiogênese tumoral
Semaxanib (SU5416)	TKI	VEGFR2 e PDGFR	Inibe catalise de tirosina quinases e vascularização tumoral
Vatalanib (PTK787/ZK22258)	TKI	VEGFR1-2, PDGFR β e c-KIT	Inibe proliferação, sobrevivência e migração de células endoteliais.
Imatinib	TKI	PDGFR β e c-KIT	Exibe atividade em múltiplas vias de crescimento e angiogênese tumoral
Axinib (AG-013736)	TKI	VEGFR1-3, PDGFR β e c-KIT	Exibe atividade em múltiplas vias de crescimento e angiogênese tumoral
Ranibizumab (Lucentis®)	Fragmento Fab de Mab	VEGF-A	Bloqueia sinalização mediada por VEGF-A
Pegaptanib (Macugen®)	Aptamero de RNA	VEGF-A	Bloqueia sinalização mediada por VEGF-A
AEE788	TKI	VEGFR e EGFR	Exibe atividade em múltiplas vias de crescimento e angiogênese tumoral
IMC-1C11	MAB	domínio extracelular de Flk-1	Inibe sinalização do receptor tirosina quinase VEGFR2

agentes antiangiogênicos

aprovados pelo FDA

nome da droga	tipo	alvo molecular	mecanismo de ação	tumores alvo
Bevacizumab (Avastin®)	MAb humanizado	VEGF-A	bloqueia sinalização mediada por VEGF-A	tumores de colon, pulmão, glioblastoma e rim
Sorafenib (Nexavar®)	TKI	VEGFR2-3, Raf quinase, PDGFR, c-KIT e RET	Inibe sinalização de diversos receptores da superfamília de tirosina quinases	carcinoma avançado de células renais e hepatocelular
Sunitinib (SUTENT®)	TKI	VEGFR1-3, FGFR1, PDGFR, c-KIT e FLT3	Inibe sinalização de diversos receptores da superfamília de tirosina quinases	tumores renais e do estroma gastrointestinal (GIST)

agentes antiangiogênicos

bevacizumabe

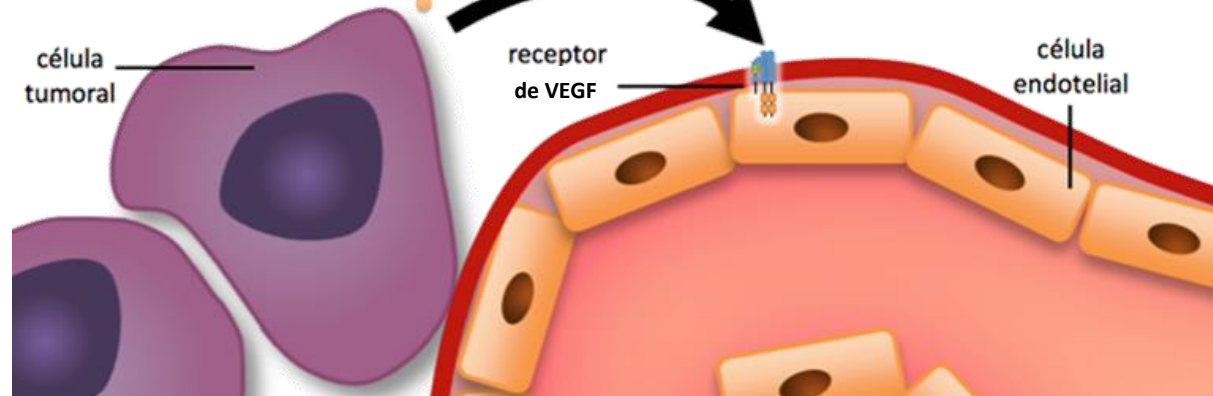
Drogas anti-angiogênicas aprovadas pelo FDA

nome da droga	tipo	alvo molecular	mecanismo de ação	tumores alvo
Bevacizumab (Avastin®)	MAb humanizado	VEGF-A	bloqueia sinalização mediada por VEGF-A	tumores de colon, pulmão, glioblastoma e rim
Sorafenib (Nexavar®)	TKI	VEGFR2-3, Raf quinase, PDGFR, c-KIT e RET	Inibe sinalização de diversos receptores da superfamília de tirosina quinases	carcinoma avançado de células renais e hepatocelular
Sunitinib (SUTENT®)	TKI	VEGFR1-3, FGFR1, PDGFR, c-KIT e FLT3	Inibe sinalização de diversos receptores da superfamília de tirosina quinases	tumores renais e do estroma gastrointestinal (GIST)

← **bevacizumab**

neutralização de VEGF

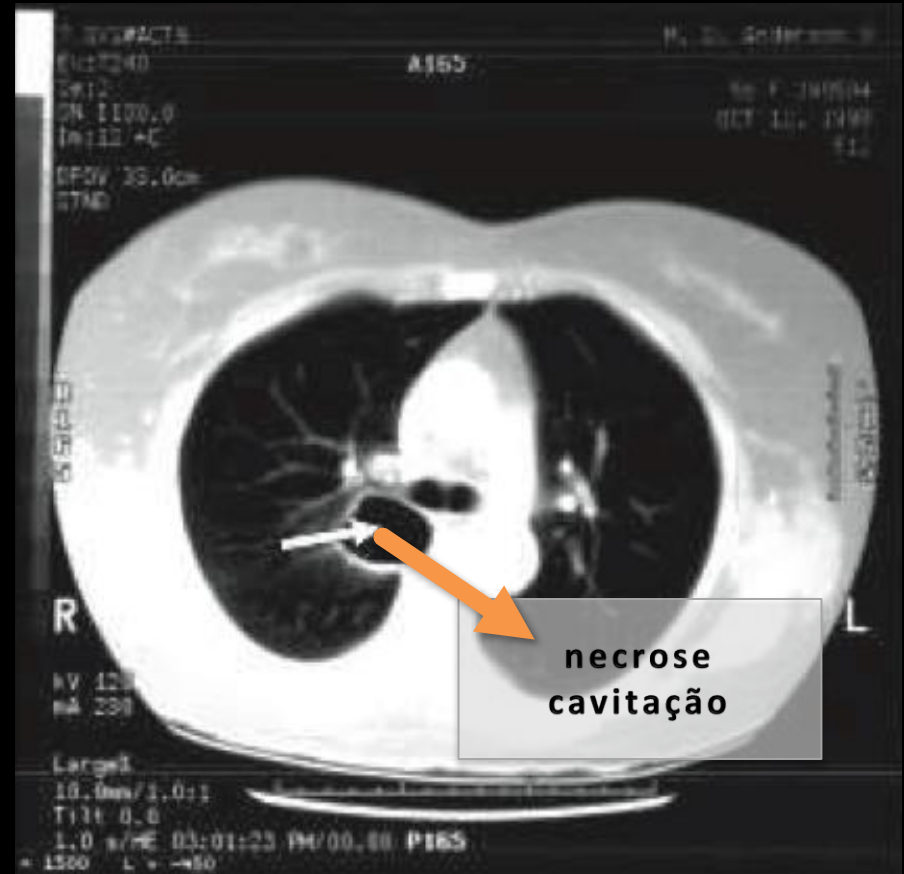
VEGF



pré-tratamento



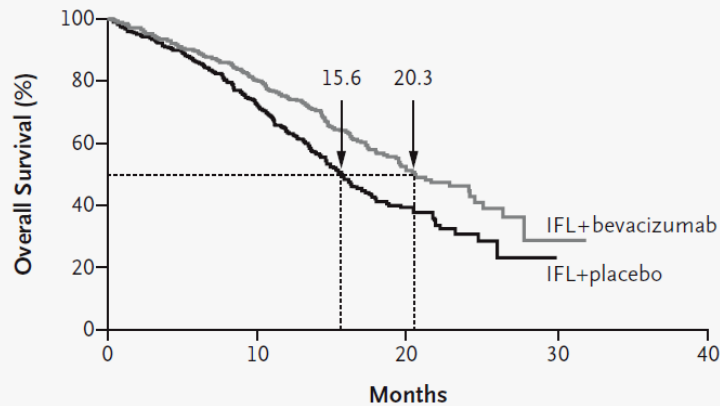
pós-tratamento*



* 3 ciclos (9 semanas) de bevacizumabe + carboplatina e taxol.

angiogênese

bevacizumabe



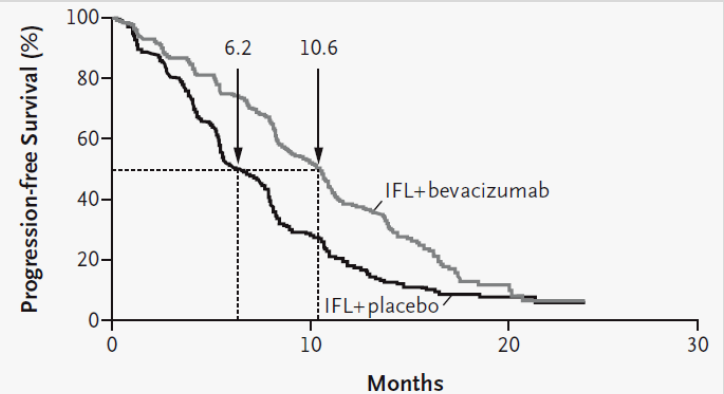
No. at Risk

IFL+bevacizumab	402	362	320	178	73	20	1	0
IFL+placebo	411	363	292	139	51	12	0	0

Figure 1. Kaplan–Meier Estimates of Survival.

The median duration of survival (indicated by the dotted lines) was 20.3 months in the group given irinotecan, fluorouracil, and leucovorin (IFL) plus bevacizumab, as compared with 15.6 months in the group given IFL plus placebo, corresponding to a hazard ratio for death of 0.66 ($P < 0.001$).

Hurwitz H et al. *N Eng J Med*, 2004;350:23



No. at Risk

IFL+bevacizumab	402	269	143	36	6	0
IFL+placebo	411	225	73	17	8	0

Figure 2. Kaplan–Meier Estimates of Progression-free Survival.

The median duration of progression-free survival (indicated by the dotted lines) was 10.6 months in the group given irinotecan, fluorouracil, and leucovorin (IFL) plus bevacizumab, as compared with 6.2 months in the group given IFL plus placebo, corresponding to a hazard ratio for progression of 0.54 ($P < 0.001$).

Hurwitz H et al. *N Eng J Med*, 2004;350:23

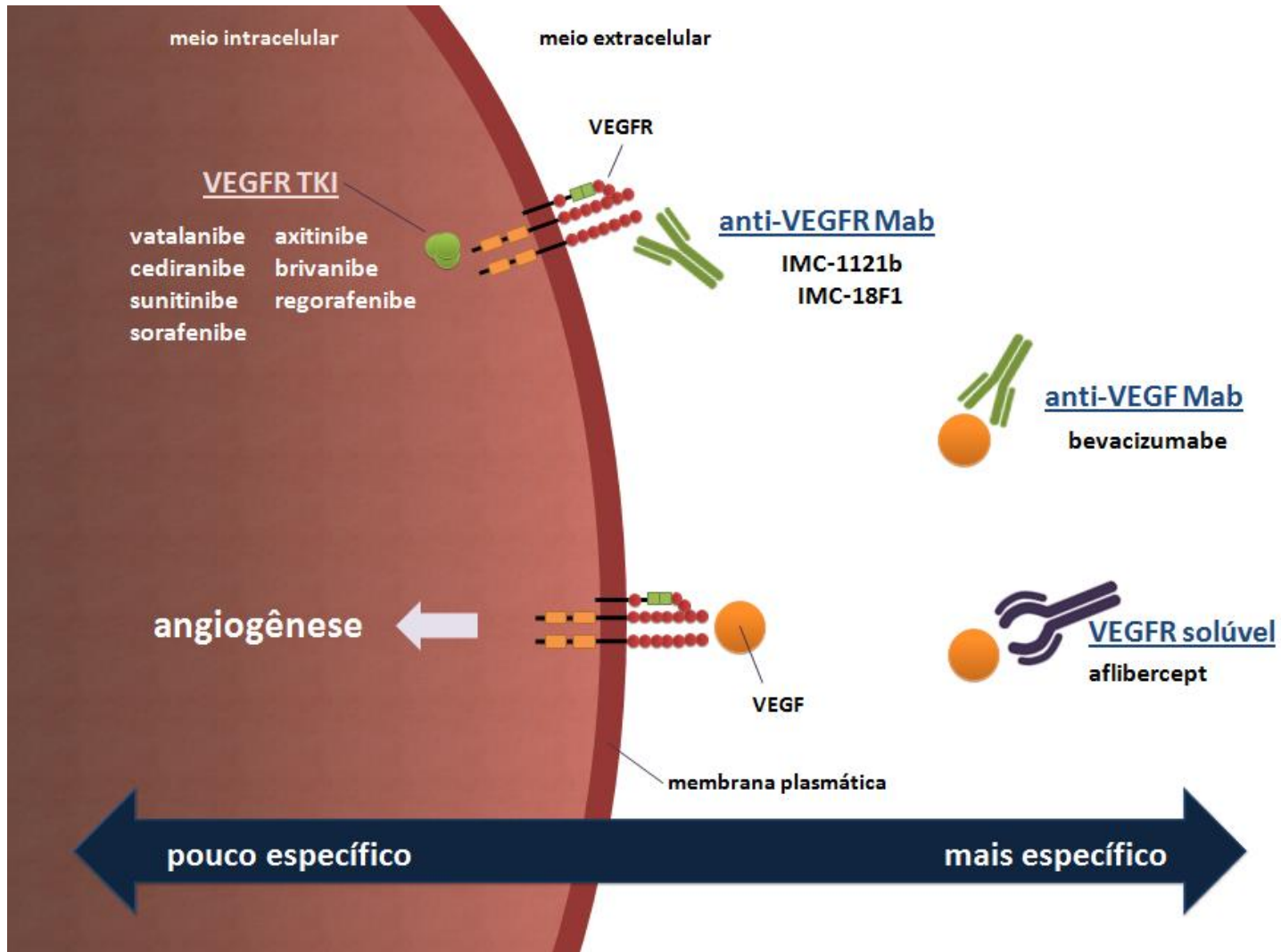
agentes antiangiogênicos

aprovados pelo FDA

nome da droga	tipo	alvo molecular	mecanismo de ação	tumores alvo
Bevacizumab (Avastin®)	MAb humanizado	VEGF-A	bloqueia sinalização mediada por VEGF-A	tumores de colon, pulmão, mama, glioblastoma e rim
Sorafenib (Nexavar®)	TKI	VEGFR2-3, Raf quinase, PDGFR, c-KIT e RET	Inibe sinalização de diversos receptores da superfamília de tirosina quinases	carcinoma avançado de células renais e hepatocelular
Sunitinib (SUTENT®)	TKI	VEGFR1-3, FGFR1, PDGFR, c-KIT e FLT3	Inibe sinalização de diversos receptores da superfamília de tirosina quinases	tumores renais e do estroma gastrointestinal (GIST)

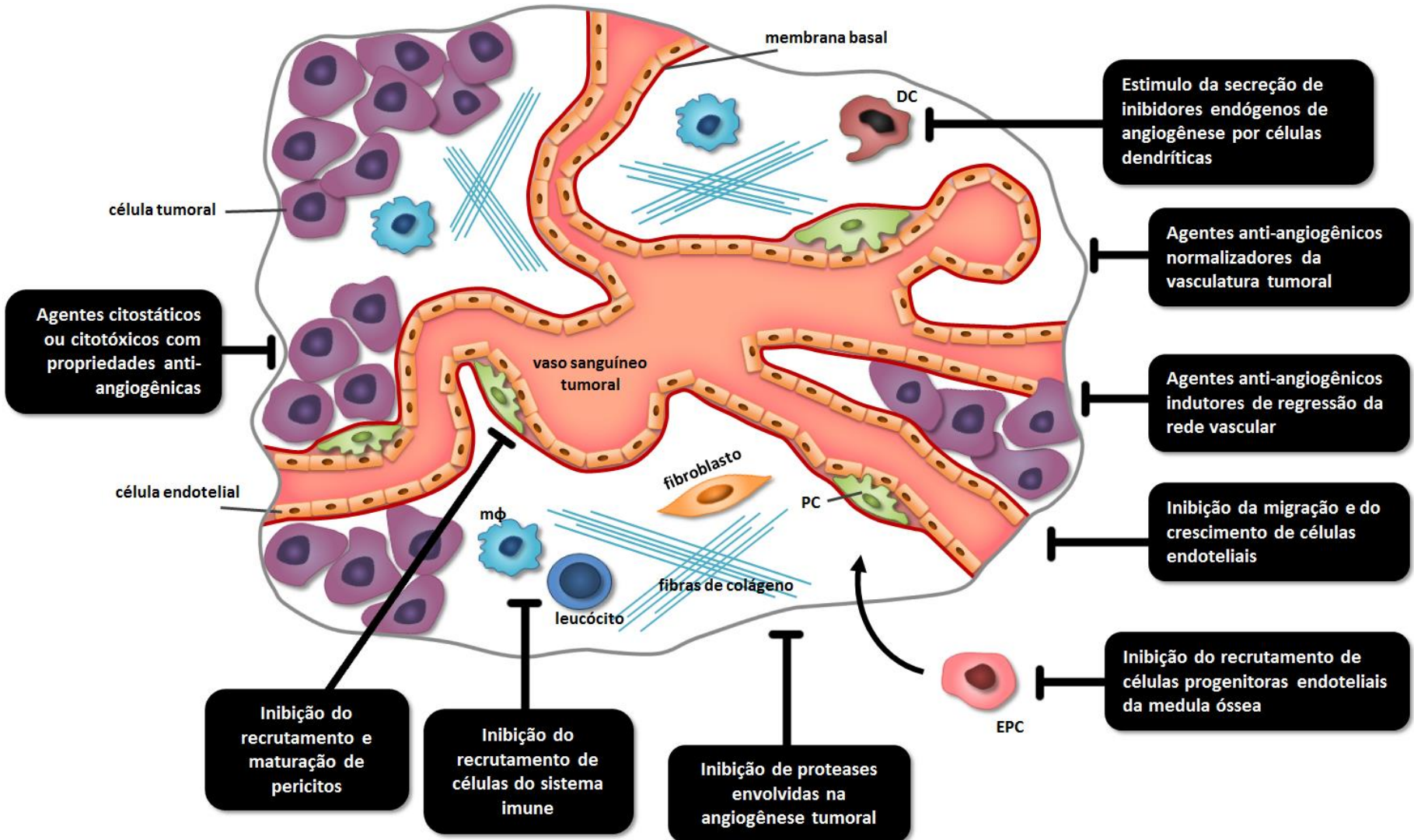
Estratégias para inibir sinalização de VEGF

bevacizumabe



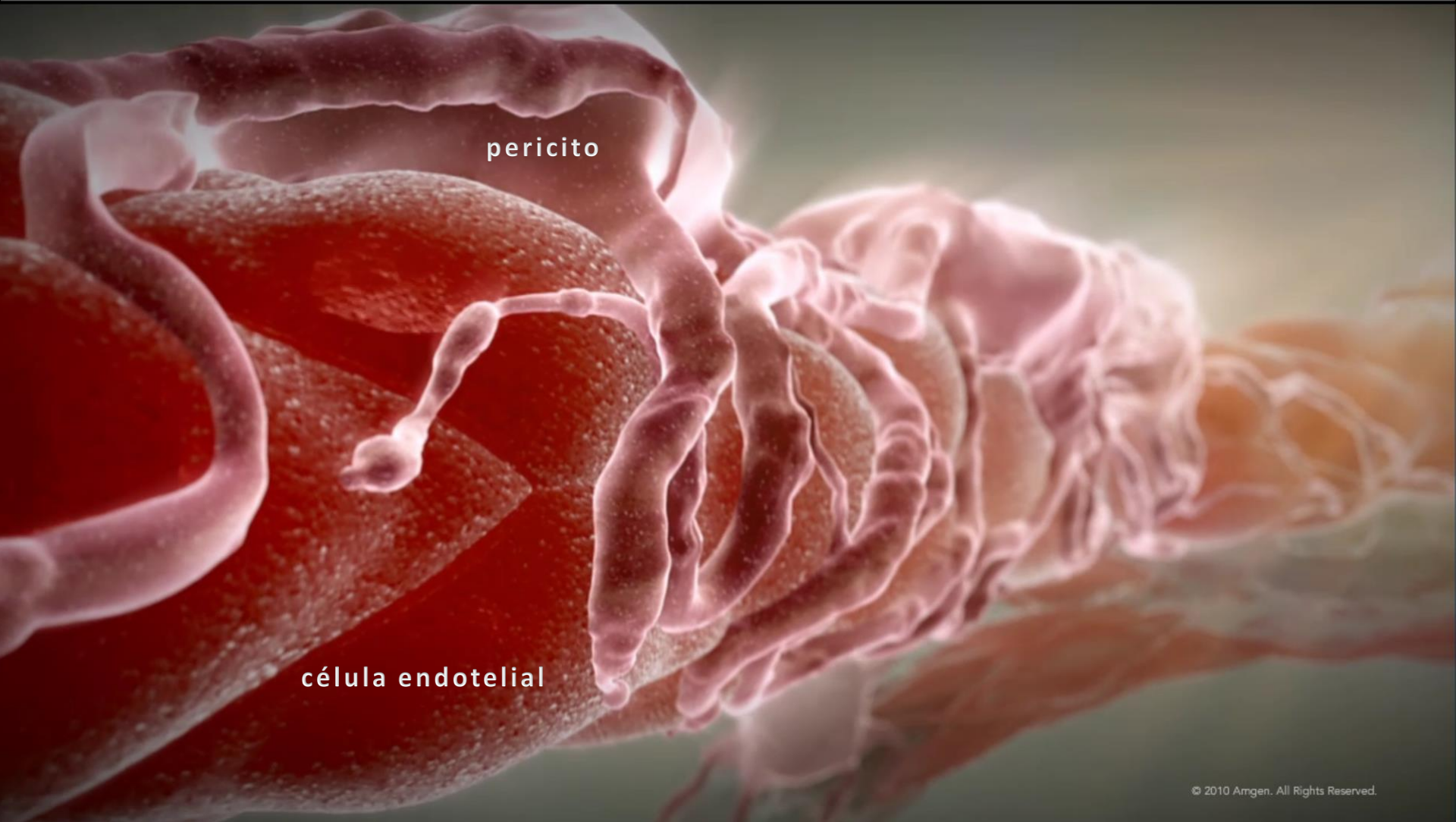
angiogênese

Alvos de terapia antiangiogênica



arquitetura vascular

vasos sanguíneos normais



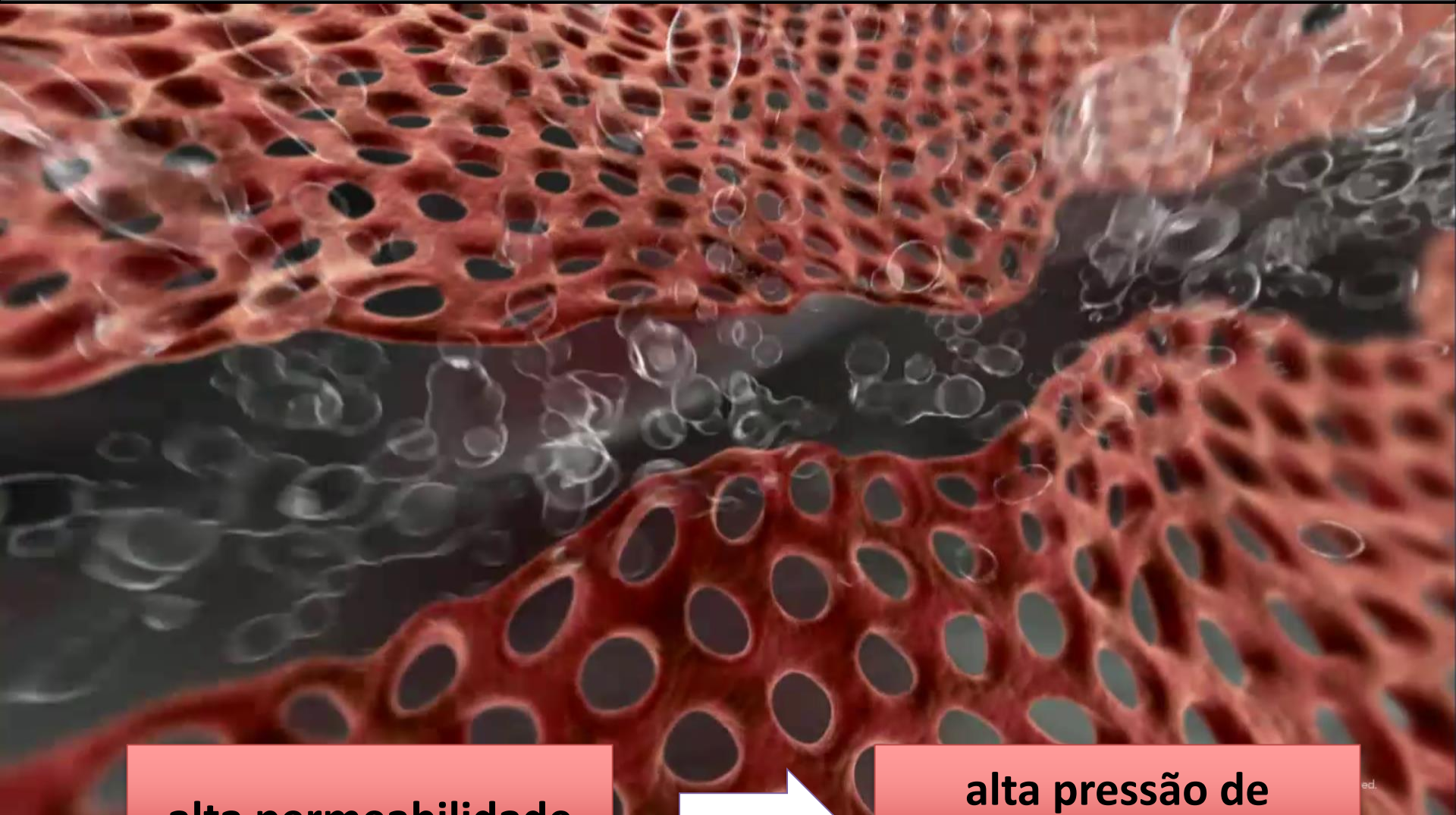
pericito

célula endotelial

© 2010 Amgen. All Rights Reserved.

arquitetura vascular

vasos sanguíneos normais



alta permeabilidade

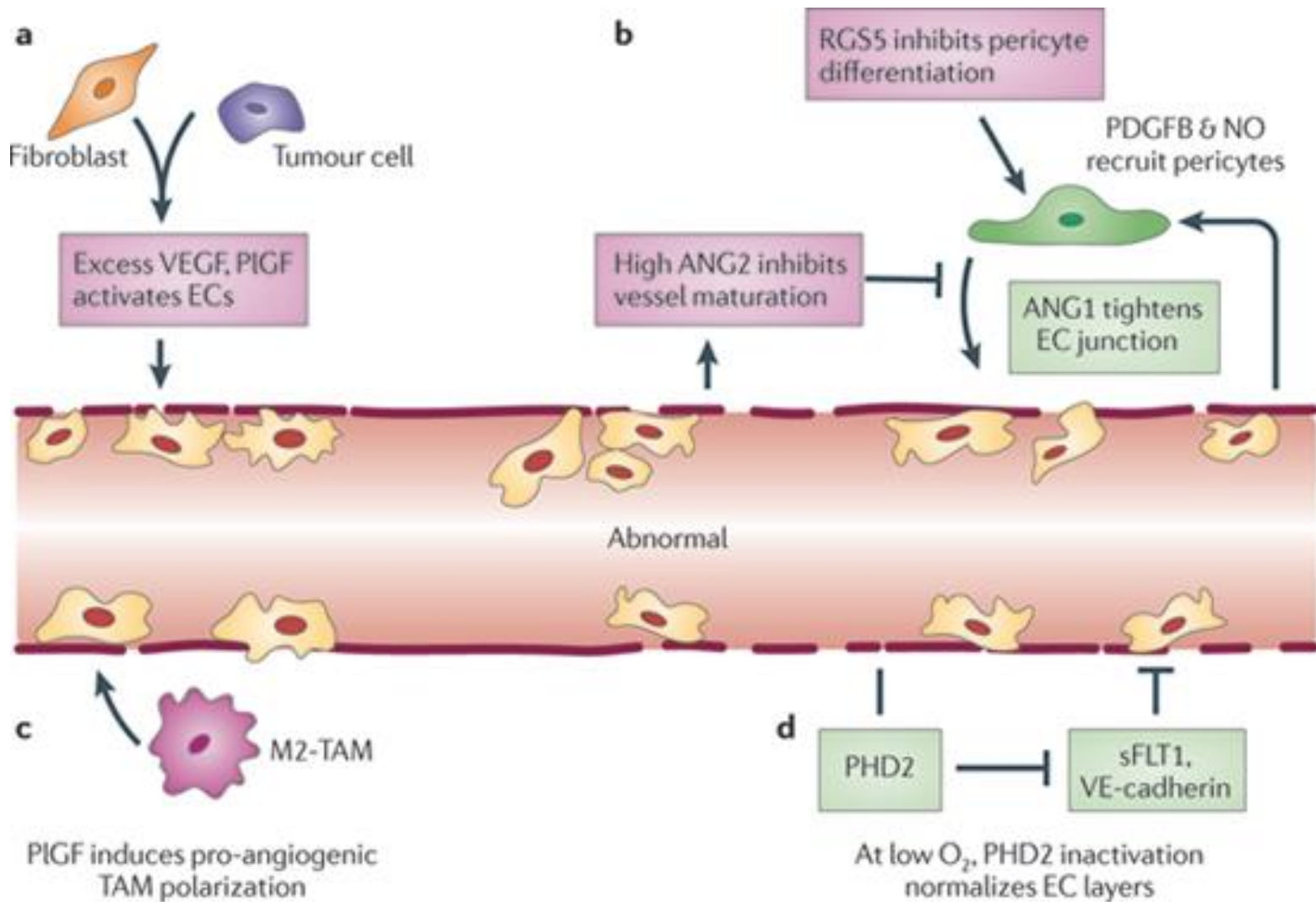


**alta pressão de
fluido intersticial**

ed.

77
AURU

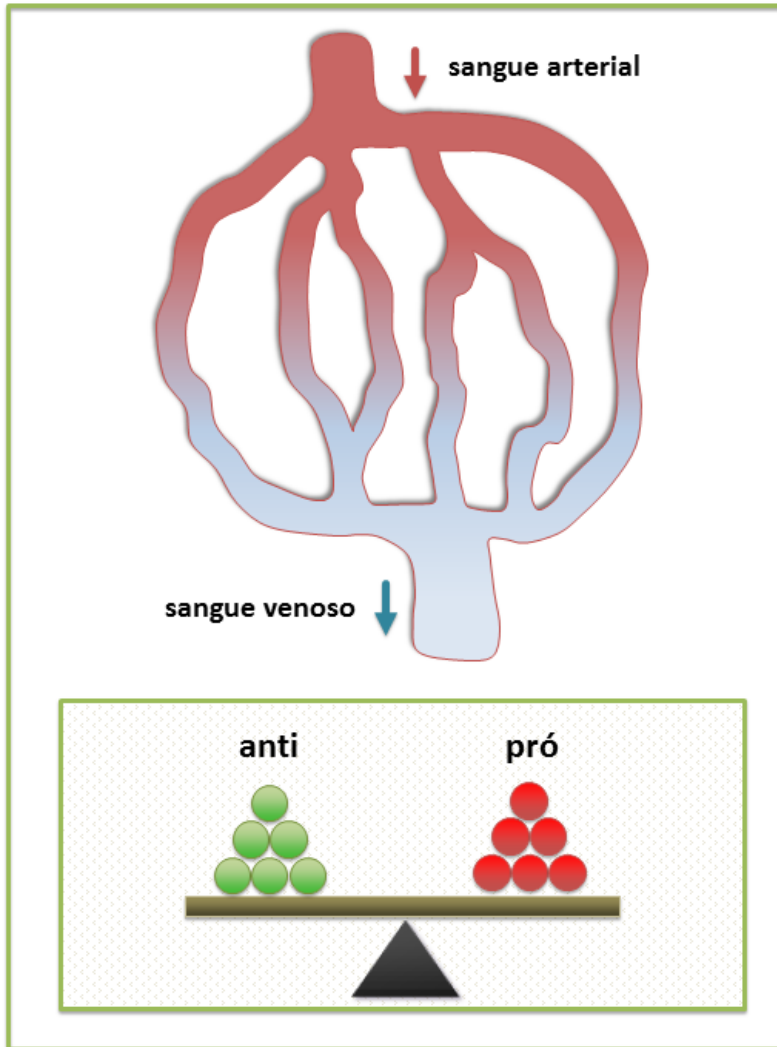
Construindo um vaso anormal em um contexto tumoral



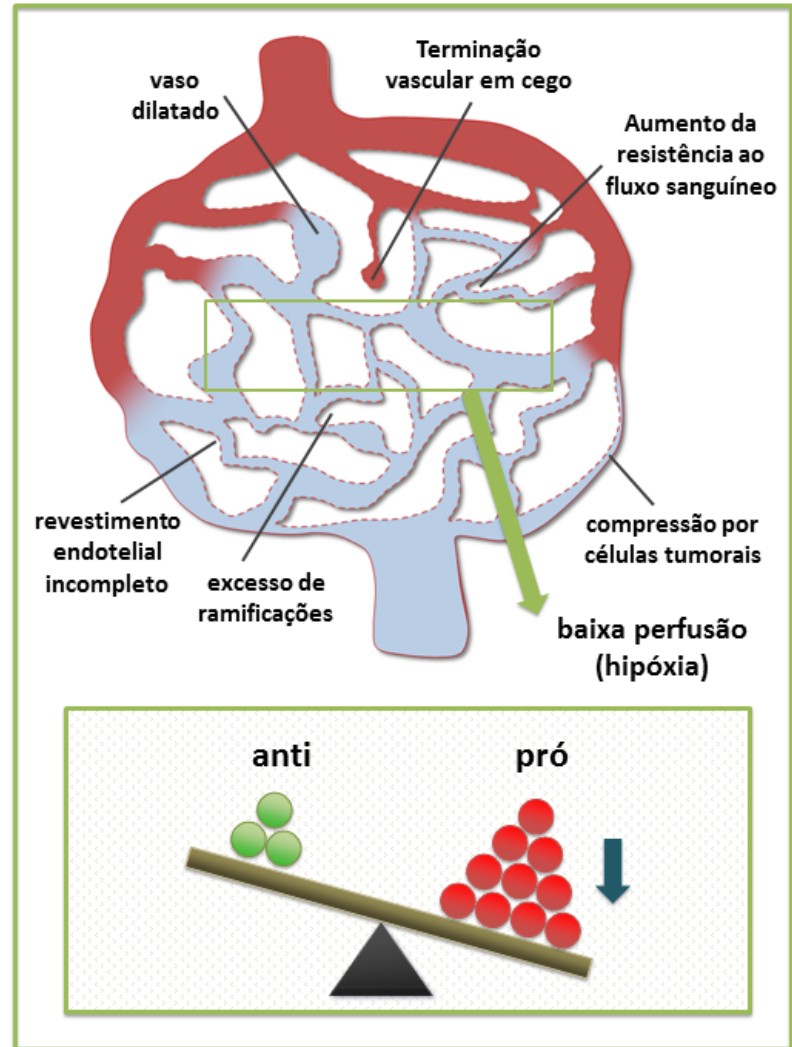
angiogênese

normalização da vasculatura tumoral

(a) vasculatura normal

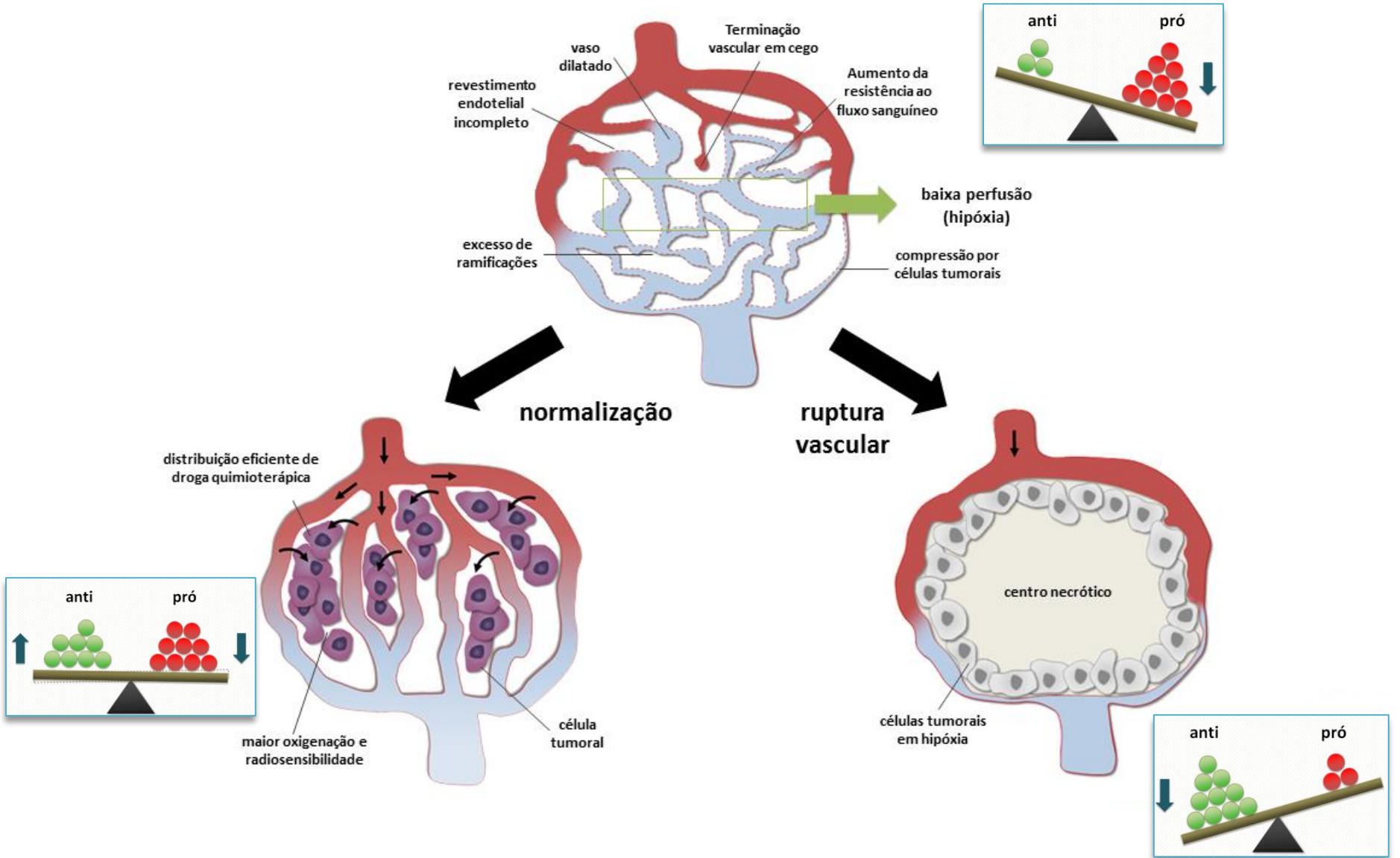


(b) vasculatura tumoral



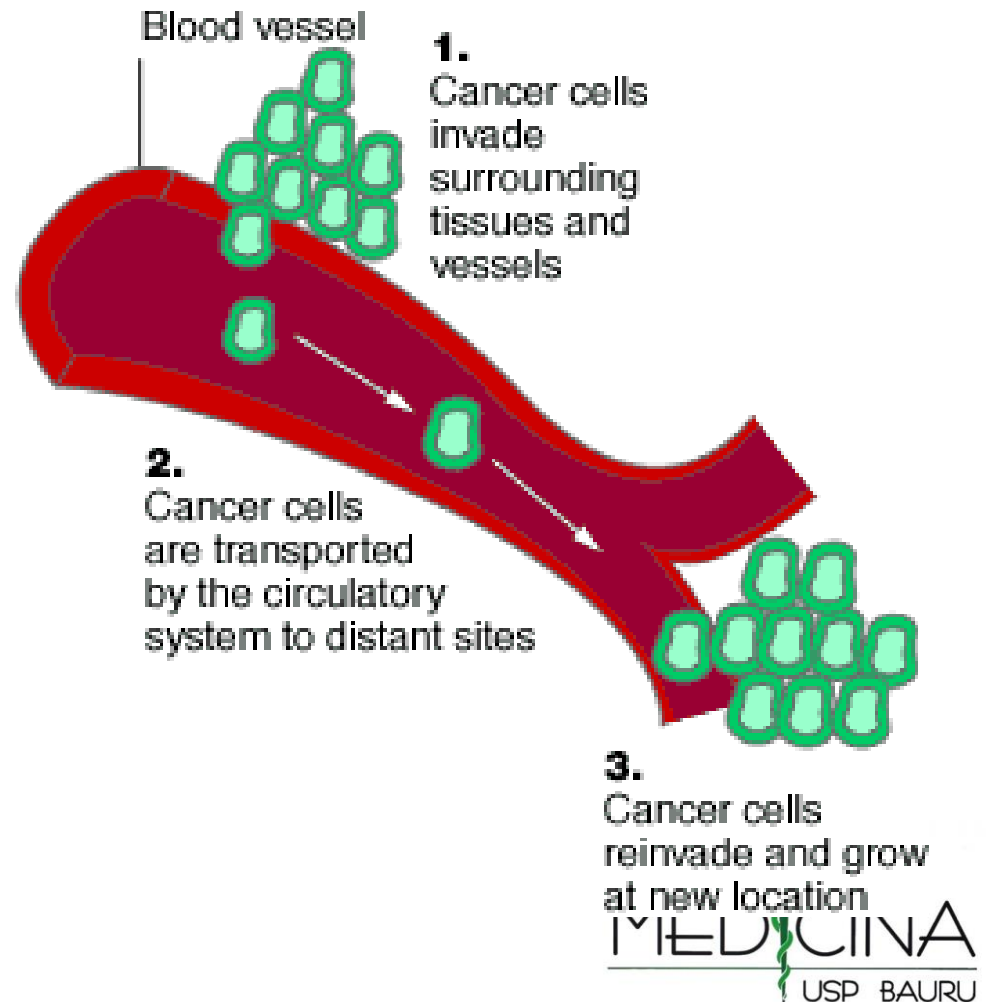
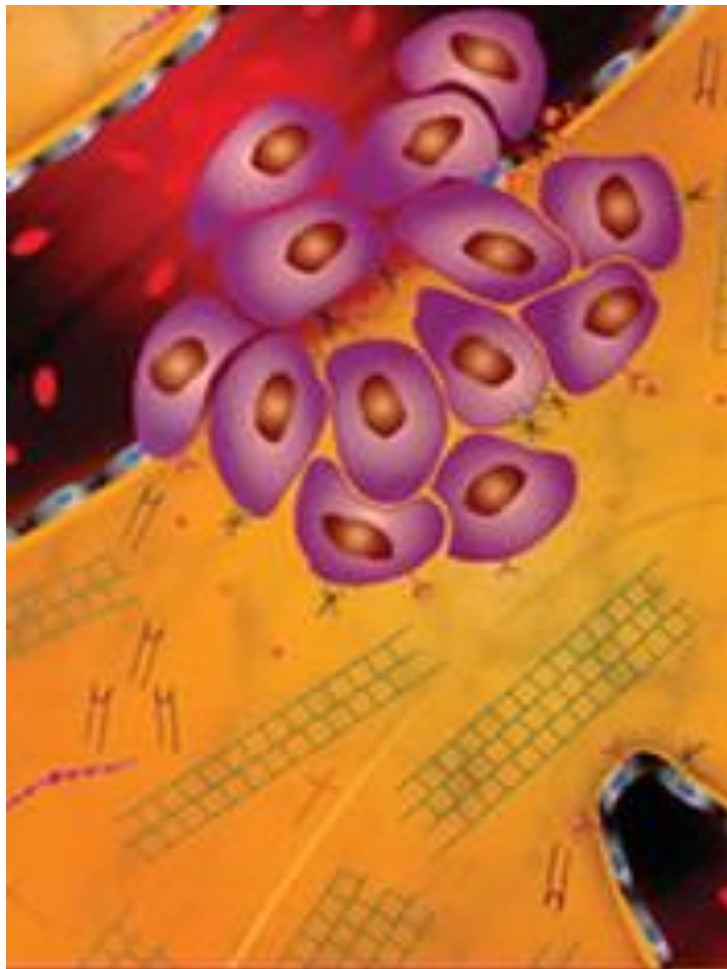
angiogênese

normalização da vasculatura tumoral



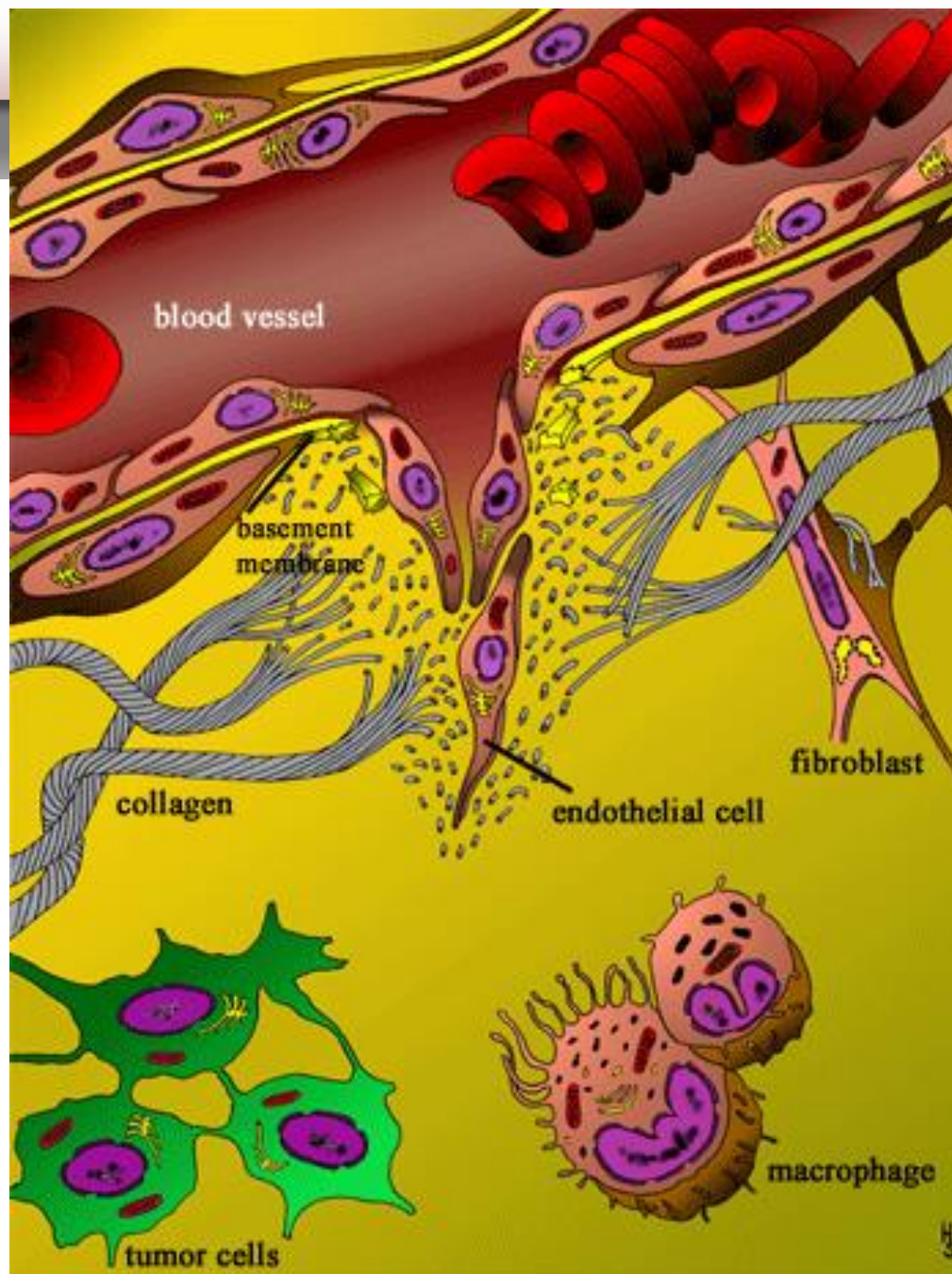
Metástase

Conceitos Gerais



Metástase

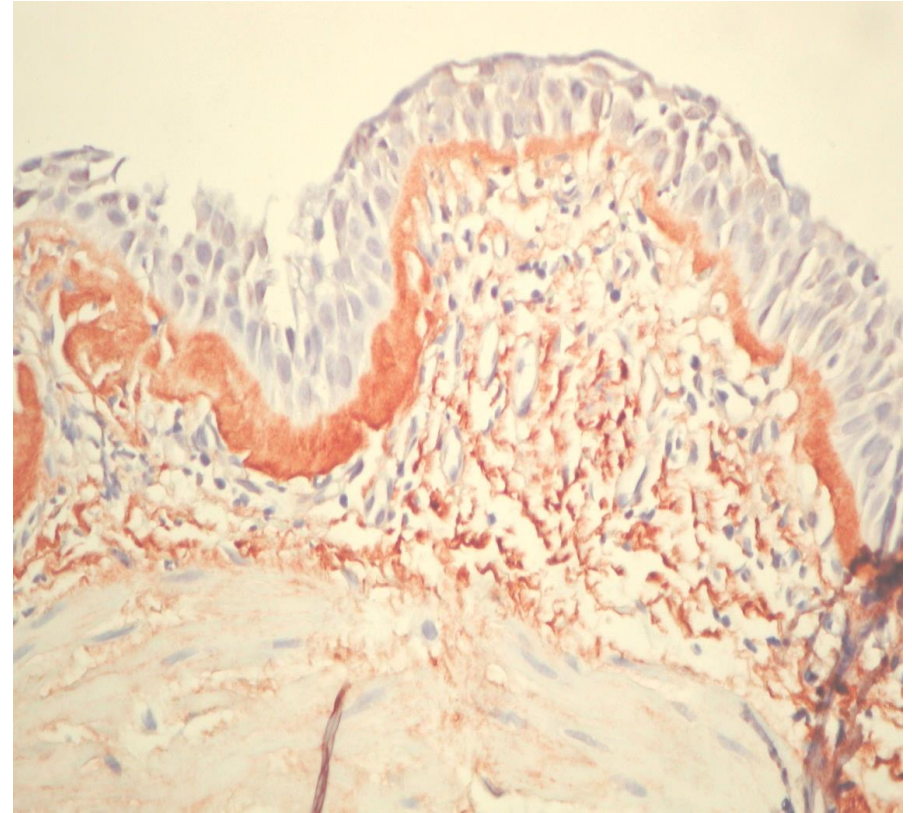
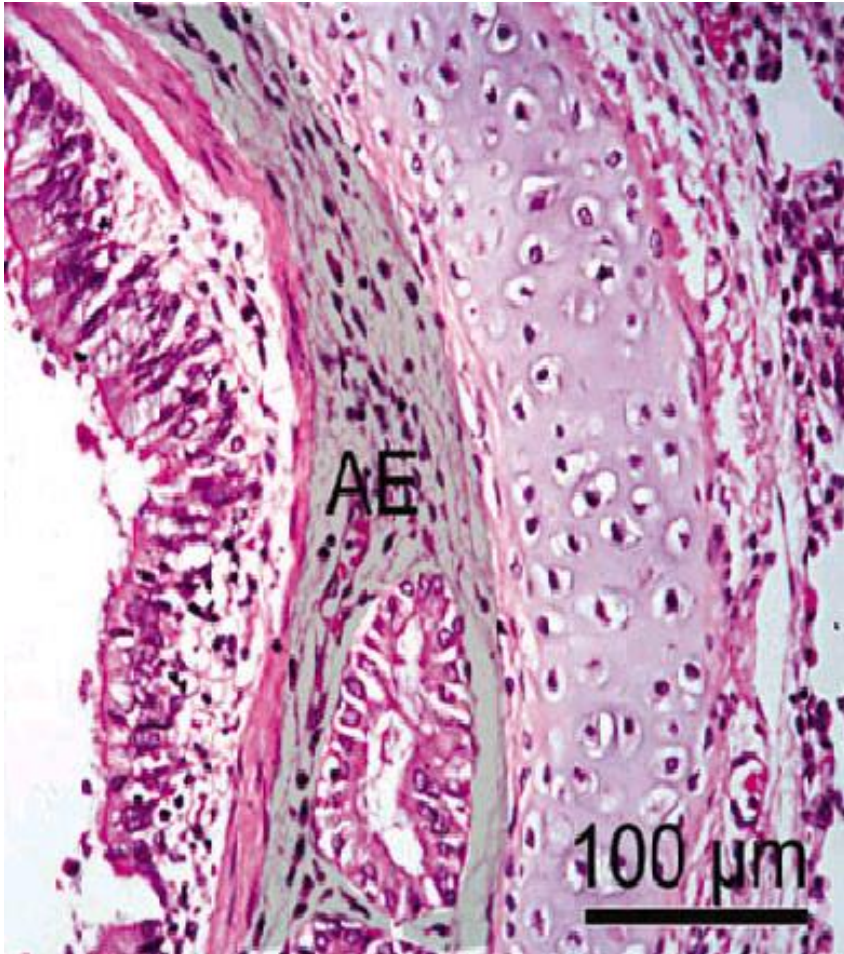
Conceitos Gerais



- Estudos em animais: a cada dia milhares de células tumorais podem cair na circulação, mas só algumas metastatizam....
 - Heterogenicidade das células tumorais
- Passos essenciais para a metástase
 - Quebra e invasão da matrix extracelular : o que é a MEC?
 - Disseminação vascular
 - Homing das células tumorais

Metástase

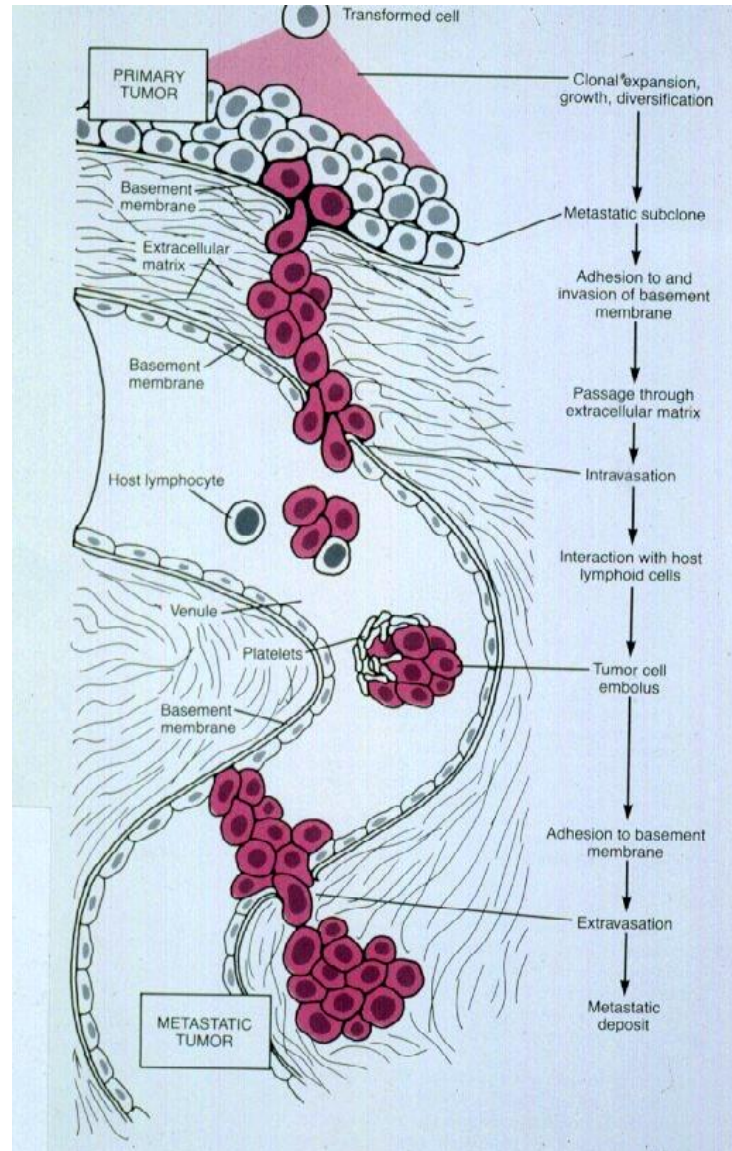
Conceitos Gerais



BM and interstitial matrix

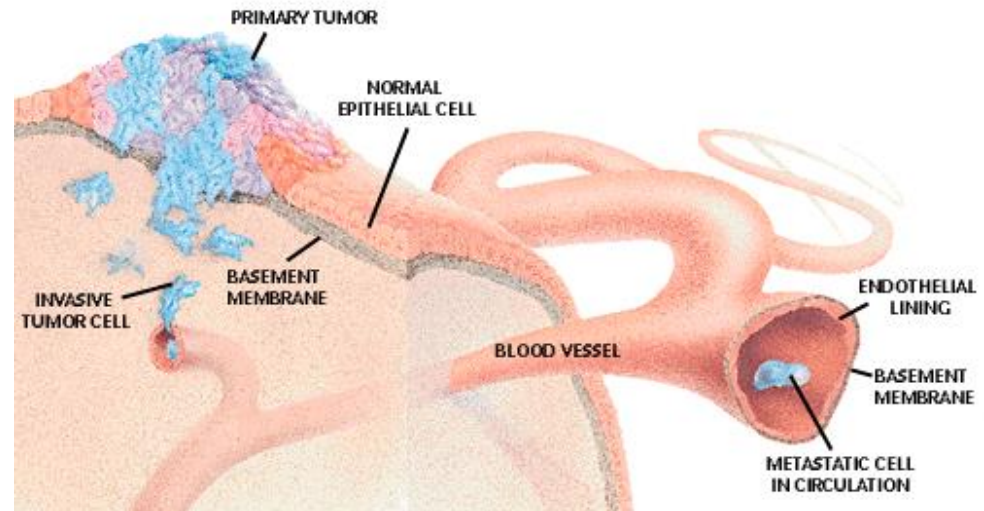
Metástase

Conceitos Gerais

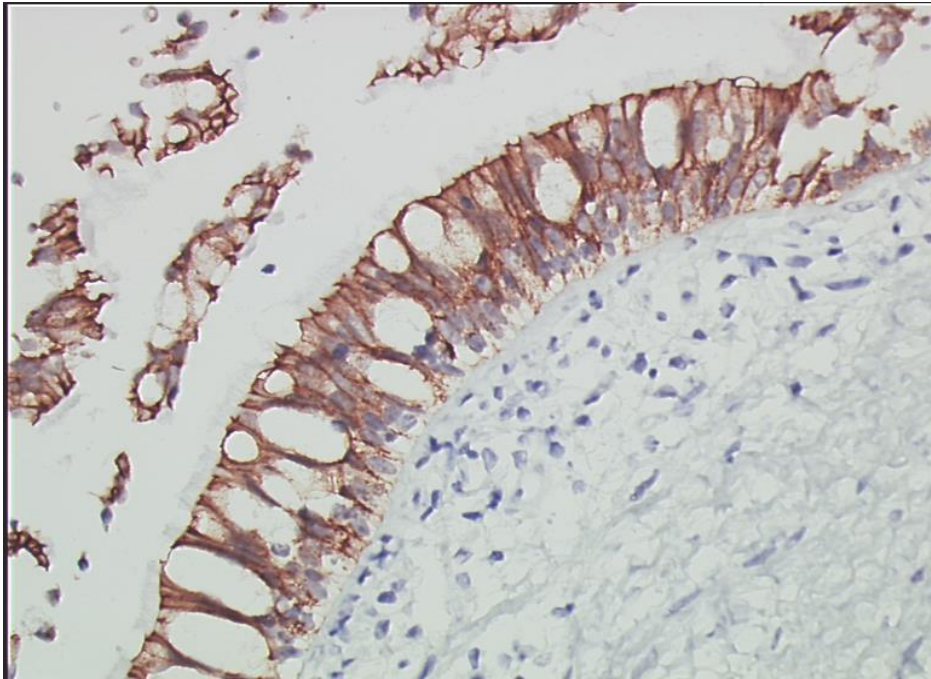


Invasão da Matrix Extracelular

- Etapas
 - Células neoplásicas se soltam uma das outras
 - Se aderem aos componentes da matriz extracelular
 - Degradação da matriz extracelular
 - Migração das células tumorais



Molécula de Adesão: E-caderina



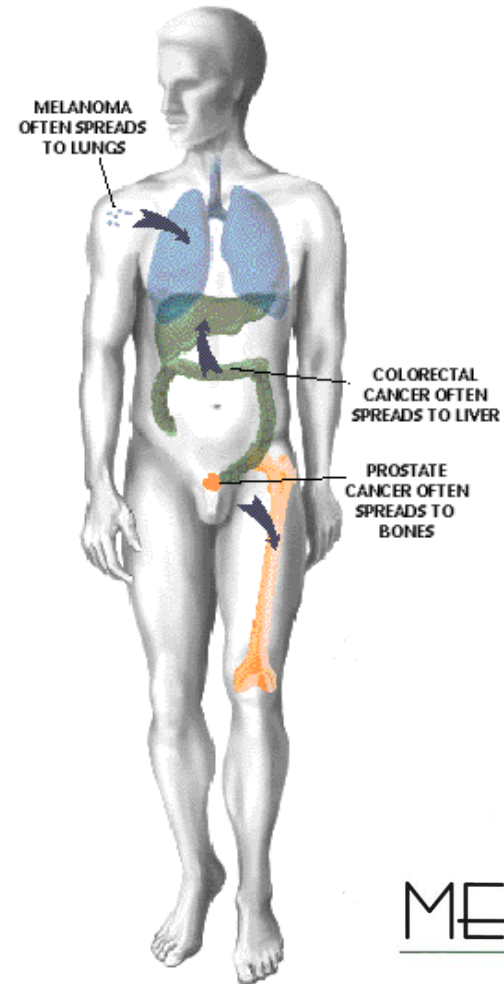
- Complexo E-caderina-catenina
- Crítico para manutenção da adesividade e arquitetura do epitélio
- Bremnes RM, Lung Cancer, 2002
- Envolvido em dediferenciação, invasão, metastase e sobrevida reduzida

Ricciardolo et al, CEA, 2003

- Células tumorais secretam várias proteases que degradam os colágenos e proteoglicanos da Matriz Extracelular:
- Podem também induzir células estromais a secretar mais
 - MMP-2 (collagenase IV)
 - Cathepsina D
 - Níveis das proteases se correlacionam com fatores prognósticos e de invasão tumoral
 - Desenvolvimento de drogas anti metaloproteinases
 - Aumentar a secreção de fatores de dispersão

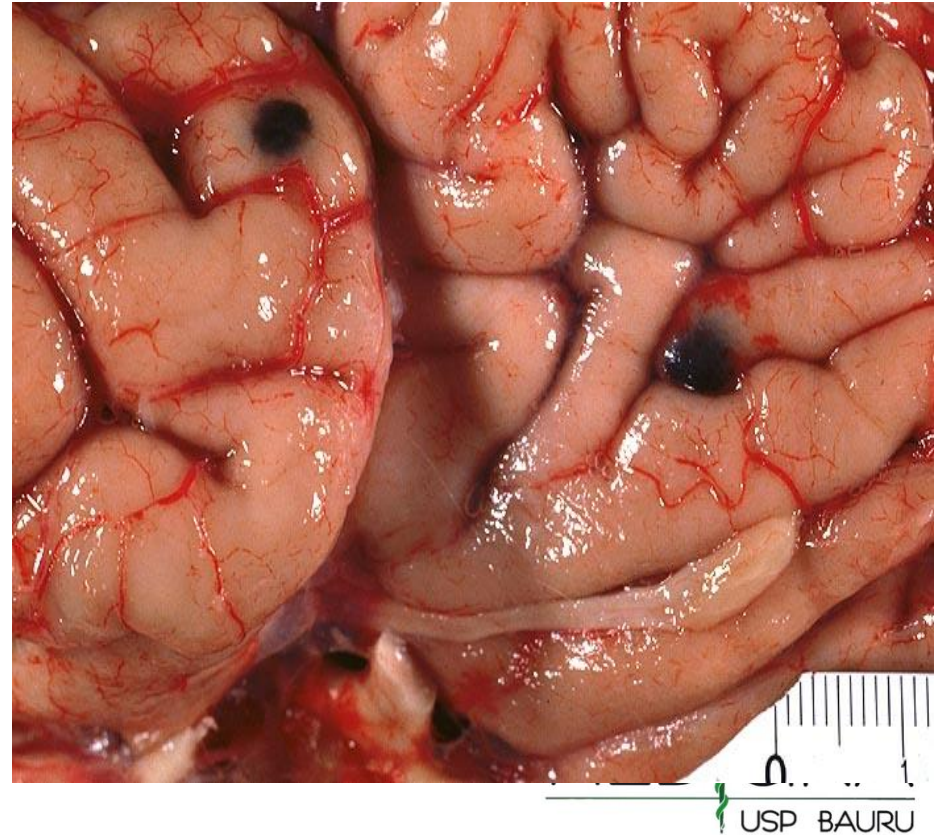
- Migração
 - Existem substâncias que estão envolvidas na migração das células pela matrix

Disseminação vascular e homing



Invasão vascular e homing

- As células tumorais agregam-se entre si e com as plaquetas, o que aumenta a sua sobrevivida
- Adesão ao endotélio: moléculas de adesão tipo integrinas e enzimas proteolíticas
- Homing: expressão aumentada de CD44 (fator de homing dos linfócitos)
- CD44 se liga ao hialuronato nas células endoteliais
- Padrão de metástase não é claro.....



Tropismo das células neoplásicas

- Ligantes específicos de cada tecido contribuem para que as diferentes moléculas de adesão tenham aderências preferenciais
- Quimiocinas parecem ser importante: células tumorais tem diferentes receptores (CCR7, CXCR4) e metastatizam para órgãos onde as quimiocinas específicas são mais expressas
 - Bloqueio de CXCR4 e seu ligante diminuem a metástase de câncer de mama para os pulmões e LN

Tropismo das células neoplásicas

- Alguns tecidos parecem ser hostis à metastatização: por ex músculo esquelético, apesar de ser bem vascularizado
- Não foi identificado o gene da METÁSTASE: exs SNAIL/TWIST (FENÓTIPO PROMIGRATORIO)