

Dall'ipotesi di Folkman alle terapie anti-VEGF

Angiogenesi, target e nuovi trattamenti



Indice

- 4 Introduzione**
- 7 “Affamare” il tumore**
- 7 L’ipotesi di Folkman**
- 9 Un filone prolifico**
- 10 Il processo angiogenico**
- 11 L’angiogenesi tumorale**
 - Caratteristiche del network vascolare neoplastico
 - Lo “switch”: dalla fase avascolare all’angiogenesi
- 13 I mediatori chiave dell’angiogenesi**
- 14 VEGF**
 - I recettori
- 17 Valore prognostico e predittivo del VEGF**
 - VEGF e crescita tumorale
 - Livelli di VEGF e prognosi
- 21 Le terapie anti-angiogeniche**
 - Differenze tra anti-angiogenici e chemioterapici
 - Una nuova classe di farmaci
 - Il VEGF, bersaglio terapeutico ideale
 - Sinergie con altre terapie

24 Le molecole anti-VEGF

1. Inibizione del ligando

Gli anticorpi monoclonali: il bevacizumab

Recettori solubili del VEGF

2. Azione mirata sui recettori del VEGF

Inibitori dei recettori del VEGF

Anticorpi che agiscono sui recettori del VEGF

VEGF-Trap

Inibitori della tirosina chinasi

Inibitori tirosina chinasi del recettore del VEGF

Semaxinib (SU5416)

SU11248

Valatinib (PTK-787)

ZD6474

Altri agenti che mirano al VEGF

Ribozimi

Antisenso anti-VEGF: il Veglin

Neovastat

Conclusioni sul VEGF

32 Altri target e altre molecole anti-angiogeniche

Antivascolari

PD-ECGF e COX2 inibitori

Tumor Necrosis Factor

Altre

bFGF-2 (basic Fibroblast Growth Factor)

Interleuchina-8

Farmaci con potenziale attività angiosoppressiva già utilizzati per patologie non neoplastiche

Farmaci citotossici con parziale attività di inibizione dell'angiogenesi

Nuovi agenti specificamente sviluppati come inibitori dell'angiogenesi

37 Le principali applicazioni terapeutiche e i trial in corso

Carcinoma coloretale

Carcinoma renale

Carcinoma polmonare

NSCLC metastatico

Carcinoma mammario

Carcinoma del pancreas

42 La valutazione della risposta terapeutica

43 Conclusioni e prospettive

45 Bibliografia essenziale

Introduzione

Negli ultimi anni la terapia medica dei tumori sta percorrendo fondamentalmente due direttrici:

- la **chemioterapia**, che rappresenta tuttora il cardine del trattamento farmacologico delle neoplasie, si basa oggi su agenti nettamente più attivi e marcatamente meno tossici rispetto a quelli disponibili fino a soli pochi anni fa. Oggi abbiamo farmaci somministrabili per via orale, altri che non provocano perdita dei capelli, altri ancora che rispettano la produzione di globuli bianchi e rossi e piastrine da parte del midollo osseo. Disponiamo anche di tutta una serie di “antidoti” che aumentano ulteriormente la tollerabilità della chemioterapia, ad esempio combattendo la nausea e il vomito, debellando la stanchezza che può impadronirsi del paziente, riducendo il rischio di infezioni e permettendo di affrontare meglio il difficile cammino attraverso il tunnel della malattia. In sostanza, possiamo oggi effettuare trattamenti sempre più efficaci (basti pensare ai consistenti progressi che si stanno registrando nella sopravvivenza dei “big killers”, quali i tumori della mammella, del colon-retto e del polmone), che hanno lo scopo fondamentale di “bombardare a tappeto” la massa neoplastica ma nel rispetto fondamentale della qualità di vita del paziente.

- Le **terapie biologiche**, o “**target oriented**”, hanno l’ambizione di essere quanto mai selettive, mirate come sono nei confronti di specifiche alterazioni o mutazioni della cellula tumorale. Con esse si cerca di realizzare l’antico sogno della “pallottola magica”, capace di eliminare il cancro senza alcun danno per i tessuti sani. Le prospettive sono eccitanti e i risultati ottenuti in questi ultimissimi anni sono entusiasmanti, anche se molto resta ancora da fare.

L'anti-angiogenesi rappresenta una via biologica molto interessante, in quanto si propone – per così dire – di tagliare i rifornimenti al tumore, bloccando l'afflusso di sangue attraverso il quale le cellule neoplastiche si alimentano. Ed è proprio questa la via che oggi appare più densa di risultati: basti pensare che siamo in grado con queste molecole di aumentare la sopravvivenza in pazienti affetti da tumori del colon-retto, della mammella, del polmone e del rene in stadio anche molto avanzato, risultati impensabili con la sola chemioterapia. E questo potrà significare un impiego fruttuoso nelle fasi più precoci di malattia, con la concreta possibilità di guarire più pazienti e di far declinare ulteriormente la mortalità da cancro.

Questo agile e vivace libretto è dedicato proprio alle basi razionali, ai risultati e alle prospettive della terapia antiangiogenetica dei tumori. In modo chiaro e accattivante, con un linguaggio a tutti accessibile, vengono esposti i progressi in questo settore e si fa comprendere al lettore come si tratti di una strada non più futuribile ma già immersa nella realtà clinica di ogni giorno, non più chiusa nei laboratori ma già oggi disponibile al letto del paziente.

Sono convinto che attraverso la piena comprensione dei meccanismi e dei risultati ottenuti i pazienti, i loro familiari e la popolazione tutta potranno dialogare sempre meglio con gli oncologi medici e rinsaldare quell'alleanza terapeutica che sola garantisce di realizzare la migliore qualità di cura.

Buona lettura a tutti.

Roberto Labianca

PRESIDENTE AIOM

“Only when one is wrong are predictions remembered –
when you’re right, generally no one recalls it”.

JUDAS FOLKMAN

“The best way to predict the future is to invent it”.

RICHARD FEYNMAN

Dall'ipotesi di Folkman alle terapie **anti-VEGF**

“Affamare” il tumore

L'angiogenesi, dal greco *angeion*, vaso, è un processo fondamentale nelle fasi dello sviluppo, nel ciclo riproduttivo della donna e nella riparazione tissutale. In queste condizioni la genesi di nuovi capillari è regolata accuratamente. Un'angiogenesi incontrollata, per eccesso o per difetto, può occorrere in alcune patologie quali artrite reumatoide e retinopatia diabetica, nell'infarto e nelle neoplasie. In questi casi le cellule endoteliali possono, liberando proteasi che degradano la parete vasale, migrare dai vasi esistenti alla zona interstiziale priva di sangue dove proliferano e si differenziano in nuove cellule endoteliali, generando così una circolazione collaterale o nuovo network vasale. Perché tale processo avvenga è necessaria l'attivazione di fattori di crescita, citochine, enzimi angiogenici, recettori endoteliali specifici e molecole di adesione (segnali 'on'). Quando la neovascolarizzazione è sufficiente, questi fattori decrescono oppure aumentano localmente alcuni specifici inibitori angiogenetici (segnali 'off'). Ciascuno step dell'angiogenesi rappresenta un possibile target per l'intervento terapeutico, quando, ad esempio, il tumore esprime un eccesso di fattori 'on' per reclutare nuovi vasi necessari al suo nutrimento o per diffondere in metastasi. Bloccare l'angiogenesi neoplastica con molecole a effetto inibitorio equivale quindi a combattere il tumore 'affamandolo'.

L'ipotesi di Folkman

L'ipotesi angiogenetica dei tumori venne formulata nel 1971 in 4 pagine del vol. 285 del *New England Journal of Medicine* dal titolo *Tumor angiogenesis: therapeutic implications*, firmate dal 38enne Moses Judas Folkman. Nato nel 1933 a Cleveland, Ohio, Folkman, oggi al Boston's Children's Hospital, è prima chirurgo al Massachusetts General Hospital poi medico e ricercatore al National Cancer Institute di Bethesda.

La 'vocazione' di Judas

Il padre di Folkman è rabbino. Un sabato lo porta con sé in ospedale a visitare gli ammalati più gravi sotto la tenda ad ossigeno, poi si fermano lì a pregare. Judas da grande vuole fare il rabbino. Più tardi, all'età di 8 anni, dopo essere tornati più volte in quell'ospedale, Judas confida al padre di aver visto i dottori aprire la tenda e fare delle cose, perciò ha cambiato idea: vuole fare il dottore.

Teme l'ira del padre che invece gli dice: "ok, sarai un medico-rabbino".

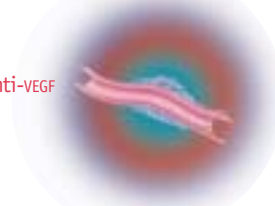
È negli anni '60 a Bethesda che inizia gli esperimenti sulla crescita neoplastica in organi isolati, ipotizzando che la complessa biologia tumorale implichi anche il processo angiogenetico. Folkman propone per la prima volta il rivoluzionario concetto che i tumori non crescono oltre una certa misura senza l'ausilio di uno

specifico sistema di rifornimento di sangue a loro dedicato e che le neoplasie in fase di accrescimento liberano una sostanza ignota (tumor angiogenesis factor) che stimola la formazione di nuovi vasi: **"Tumours unable to induce angiogenesis remain dormant at a microscopic size: 1-2 mm³ in situ"** (NEJM, 1971).

Il processo angiogenico, come comprese Folkman, incoraggia la crescita e la trasformazione di un piccolo gruppo circoscritto di cellule mutate in formazione maligna. Sulla base dell'osservazione che le metasta-

Le tappe fondamentali

1787	1935	1971	1975	1982/3
Il termine 'angiogenesis' è citato per la prima volta dal chirurgo inglese John Hunter per descrivere la crescita dei vasi sanguigni nelle corna di renna.	Il patologo Arthur Tremain Hertig di Boston descrive l'angiogenesi nella placenta delle scimmie incinte.	<i>Judah Folkman</i> ipotizza sul New England che la crescita tumorale dipenda dall'angiogenesi. <i>Gli opinion leader della comunità medica e scientifica bollano di eresia la nuova teoria.</i>	Henry Brem e Judah Folkman isolano nella cartilagine il primo inibitore angiogenico.	Il Vascular Permeability Factor (VPF) viene scoperto da Harold Dvorak e Michael Klagsbrun. Il VPF è responsabile della permeabilità dei vasi collegati al tumore.



si si sviluppano spesso dopo la rimozione del tumore principale, egli dedusse successivamente che le cellule neoplastiche producono fattori sia attivanti che inibenti l'angiogenesi. Dal 1971 Folkman e molti altri ricercatori sono impegnati in tutto il mondo a confermare l'ipotesi angiogenica, isolando e studiando i vari fattori responsabili della neovascolarizzazione.

Un filone prolifico

L'angiogenesi è un settore di ricerca vasto e entusiasmante: giornali, riviste, fondazioni, decine di siti, aziende. Raramente in altri campi così specifici si è vista tale concentrazione di interesse, pubblicazioni e iniziative. Oggi, a 15 anni dall'inizio dei primi trial clinici, speranze e impegno sembrano essere premiati e prevalere su delusioni e insuccessi che hanno costellato 35 anni di prove e aspettative: gli oncologi possono disporre di una categoria terapeutica in più, i composti con azione inibitoria sull'angiogenesi.

1984	1988	1989	1990	1994
Il primo fattore angiogenico, il basic Fibroblast Growth Factor, bFGF, è purificato ad Harvard da Yuen Shing e Michael Klagsbrun.	Si scopre che le proteine angiogeniche sono immagazzinate nella matrice extracellulare.	È l'anno della svolta: <i>il Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)</i> viene isolato e clonato in laboratorio da Napoleone Ferrara e Jean Plouet, ricercatori della Genentech. Le ricerche dimostrano che grazie ad uno switch angiogenico, micromasse tumorali silenziose possono crescere, vascolarizzarsi e diffondere in metastasi. È dello stesso anno il primo trattamento antiangiogenico efficace su un tumore benigno del polmone ('hemangioma'): Carl White, pediatra radiologo di Denver usa interferone alfa2a.	Inizio dei primi trial clinici con terapia anti-angiogenica.	Michael O'Reilly, assistente di Folkman, identifica il primo inibitore angiogenico endogeno, <i>l'angiostatina</i> ; viene costituita l'Angiogenesis Foundation per promuovere gli studi sull'angiogenesi.

1997	1998	1999/2000	2001
<p>O'Reilly identifica e isola anche il secondo inibitore endogeno dell'angiogenesi, l'endostatina (successivamente anche il terzo, l'antitrombina; negli anni successivi Raghu Kalluri di Harvard a Boston, troverà altri 7 inibitori endogeni: oggi se ne conoscono una quindicina e una trentina sono i composti testati nei trial). Il ricercatore pubblica su Nature uno studio in cui illustra la regressione completa del tumore usando cicli ripetuti di angiostatina ed endostatina. Nello stesso anno: si scopre che la leucemia è angiogenico-dipendente e può quindi essere trattata con terapia antiangiogenica; prima registrazione di un farmaco angiogenico per uso non tumorale indicato per il trattamento delle ulcere diabetiche del piede.</p>	<p>Il primo laser che stimola l'angiogenesi è approvato dall'FDA per il trattamento della coronaropatia grave.</p>	<p>I farmaci basati sull'angiogenesi diventano protagonisti dei trials: 46 molecole inibitorie per i tumori, 5 per la degenerazione maculare, 4 per la psoriasi e una per la retinopatia diabetica. E nuove molecole angiogeniche: 5 trial per la coronaropatia, 5 per la vasculopatia periferica, 10 per la riparazione tissutale e uno per l'ictus. Nello stesso anno un gruppo guidato da Robert Kerbel e Judah Folkman scopre che alcuni chemioterapici tradizionali a bassi dosaggi, somministrati in modo frequente o continuato (metronomico), possono inibire l'angiogenesi tumorale; Richard Klausner, direttore del National Cancer Institute (NCI), indica lo sviluppo delle terapie antiangiogeniche per la cura dei tumori come una delle priorità della ricerca biomedica americana.</p>	<p>I risultati dei trial condotti dimostrano che le terapie antiangiogeniche sono più efficaci impiegando dosi continue e non intermittenti.</p>

Il processo angiogenico

Nello sviluppo embrionale le diverse cellule endoteliali si formano a partire da quelle staminali che vanno incontro a differenziazione in cellule ematopoietiche (precursori delle ematiche) ed angioblasti (processo di *vasculogenesi* cioè *formazione di vasi sanguigni in spazi tissutali precedentemente privi di struttura vascolare*).

Negli individui adulti, invece, stimoli fisiologici (in particolare condizioni ipossiche o ischemiche) in seguito a cicatrizzazione di ferite e nel ciclo mestruale portano all'*angiogenesi*, cioè *formazione di nuovi vasi sanguigni a partire da quelli preesistenti*.

Inizio della risposta

La partecipazione e l'attivazione delle cellule endoteliali al processo di angiogenesi, sia fisiologico che patologico, avvengono a seguito di ipossia o ischemia. Dalle cellule tumorali ipossiche, dai macrofagi e dalle altre cellule del sistema immunitario, viene prodotto il fattore di crescita endoteliale (VEGF) che provoca vasodilatazione, aumento della permeabilità vascolare e rilascio di proteasi, importanti per l'invasione

2003

Al meeting annuale dell'ASCO viene annunciato che aggiungendo l'anticorpo monoclonale anti-VEGF (*bevacizumab*) alla chemio standard nel tumore del colon retto in stadio avanzato, si è ottenuto un aumento della mediana di sopravvivenza da 15.6 a 20.3. Inoltre, nel tumore del rene metastatico il solo bevacizumab rallenta la progressione della malattia. Ricercatori della Cornell University riportano che il *celecoxib*, un farmaco anti-infiammatorio con effetti anti-angiogenici, aumenta la risposta alla chemioterapia standard nei primi stadi del carcinoma polmonare non a piccole cellule.

2004

La Food and Drug Administration approva il trattamento di combinazione con bevacizumab e chemio standard nel carcinoma coloretta metastatico: a 15 anni dalla scoperta del suo target, il VEGF, il bevacizumab è così il primo farmaco antiangiogenico con indicazione antineoplastica. All'ASCO vengono anche presentati i risultati (80% vs. 53% di risposta terapeutica) del primo trial di fase III con la *thalidomide* in combinazione con chemio standard (desametasone) per le nuove diagnosi di mieloma multiplo.

2005

Studi clinici conclusi tra la fine del 2004 e gli inizi del 2005 dimostrano che il bevacizumab potenzia qualunque regime terapeutico utilizzato nei tumori del colon, dai soli fluorouracile e folato, alla loro combinazione con irinotecano o oxaliplatino. Emergono infine evidenze cliniche di un potenziamento dell'attività dei regimi terapeutici standard in altre patologie, diverse dal colon-retto.

cellulare e il rimodellamento dei tessuti. In aggiunta, il VEGF può prevenire l'apoptosi delle cellule endoteliali.

L'angiogenesi procede quindi per 4 tappe principali:

1. Digestione della membrana basale ad opera di proteasi secrete dalle cellule endoteliali
2. Migrazione di cellule endoteliali circolanti nella sede di formazione dei nuovi vasi
3. Proliferazione e differenziazione delle cellule endoteliali per allungare i vasi e formarne il lume
4. Secrezione di fattori di crescita da parte delle cellule endoteliali che richiamano le cellule di supporto, i periciti e le cellule muscolari lisce per costruire la membrana basale. In questo stadio finale i vasi sviluppano anche le caratteristiche specifiche proprie del tessuto organo che devono irrorare.

L'angiogenesi tumorale

Caratteristiche del network vascolare neoplastico

I vasi sanguigni tumorali non hanno la normale organizzazione strutturale in venule, arteriole e capillari, ma:

1. presentano caratteristiche tipiche di tutti i tre tipi di vasi
2. hanno un'alterata espressione di antigeni sulla superficie cellulare
3. mancano della connessione con le cellule di supporto e il numero di quest'ultime può essere più elevato o più basso rispetto ai vasi normali.

Proprio a causa di questa anomala e caotica struttura, il flusso ematico nei vasi tumorali tende ad essere generalmente irregolare, più lento del normale, spesso con disfunzionalità dei capillari. Questa struttura va inoltre incontro ad un continuo *rimodellamento* con una *permeabilità* che tende ad aumentare a seconda della sede e nel corso del tempo e in genere si associa ad un aumento della pressione interstiziale.

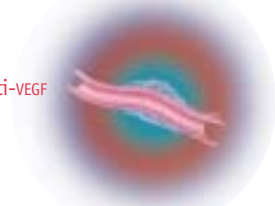
Questo network irregolare non consente un apporto nutritivo ottimale per tutte le cellule: un aumento della distanza delle cellule tumorali in crescita dai vasi capillari o un'inefficienza dei nuovi vasi formati può produrre *ipossia*. L'ipossia gioca un ruolo importante perché – come detto – induce l'espressione del fattore di crescita endoteliale (VEGF), del suo recettore e aumenta l'infiltrazione dei macrofagi, stimolando ulteriormente la formazione di nuovi vasi. L'ipossia nelle aree necrotiche all'interno del tumore rappresenta lo stimolo per una crescita vascolare continua e per la diffusione ed il trasporto delle cellule tumorali nelle sedi di formazione delle metastasi.

La metastasi insorge quando le cellule tumorali superano diverse barriere tra cui il sistema vascolare; successivamente le cellule tumorali devono sopravvivere in circolo per essere trasportate e poter giungere in un letto vascolare distante. Questi processi dipendono dalla capacità di adesione di molecole quali caderine, integrine, selettine. In seguito le cellule devono extravasare e indurre angiogenesi nell'organo bersaglio in modo da formare un nuovo tumore (tumore secondario).

Lo 'switch': dalla fase avascolare all'angiogenesi

Nell'insorgenza di un tumore, si può ipotizzare una *prima fase avascolare*, in cui le neoformazioni rimangono quiescenti, non superano 1-2 millimetri di diametro e la crescita tumorale rimane stabile per il bilanciamento tra proliferazione e apoptosi*.

* Questo non accade sempre perché l'iniziale sviluppo di alcuni tumori non è totalmente avascolare, in particolare quando essi insorgono o metastatizzano in tessuti di per sé riccamente vascolarizzati ove il tumore è in grado di cooptare vasi già esistenti.



In generale si può dire che la vascolatura dell'ospite cooptata dal tumore regredisce esitando in un tumore secondario avascolare e in una massiva perdita di cellule per apoptosi. Alla fine di tale processo la parte residua e terminale della massa tumorale dà inizio al processo angiogenico: si scatena così una crescita esponenziale della vascolarizzazione. Questa transizione, definita *switch angiogenico*, si può manifestare in momenti diversi nell'ambito dei differenti tipi di tumore e vi intervengono cooperativamente il fattore di crescita endoteliale (VEGF) ad azione rimodellante e altri mediatori quali l'angioproteina Ang-2 (azione destabilizzante sui vasi). Affinché si abbia l'attivazione angiogenetica deve verificarsi, all'interno del microambiente tumorale, un'alterazione dell'equilibrio (o switch) tra fattori stimolanti ed inibenti a favore della stimolazione.

I mediatori chiave dell'angiogenesi

La ricerca ha recentemente focalizzato l'attenzione su composti ad effetto specifico su un singolo step dei processi angiogenici. A ciascuno step partecipa una grande varietà di enzimi, citochine e recettori pro e antiangiogenetici: alcuni, come il VEGF, altamente specifici per le cellule endoteliali, altri, come il fattore di crescita per i fibroblasti, con azione più a largo spettro (tab. 1).

Tabella 1
Fattori pro e anti-angiogenetici

Pro	Contro
Angiogenina	Angiostatina
Leptina	Endostatina
Fattore di crescita dei fibroblasti (acido e basico) (FGF)	Interferone alfa e beta (IFN)
Fattore di crescita degli epatociti	Interleuchina-12 (IL-12)
Interleuchina 8	Proteine indotte dall'interferone
Fattore di crescita placentare	Maspina
Fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF)	Inibitore dell'attivatore del plasminogeno
Pleiotropina	Fattore piastrinico 4
Fattore di crescita trasformante (TGF)	Inibitori tessutali delle metalloproteinasi
Fattore di necrosi tumorale alfa (TNF-alfa)	Inibitore del fattore di crescita endoteliale
Fattore di crescita vascolare endoteliale (VEGF)	Vasostatina
Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1)	Trombospondina-1

I più studiati **mediatori stimolanti** il processo angiogenico sono i *fattori di crescita* e in particolare il *Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)* e il *basic Fibroblast Growth Factor (bFGF)*, entrambi prodotti da vari tipi di cellule, sia normali che tumorali. Oltre a queste, sono state riconosciute altre sostanze in grado di stimolare l'angiogenesi e tra queste le più studiate sono *Trasforming Growth Factor (TGF), alfa e beta, Interleuchina-8 (IL-8), Leptina e Angiogenina, e Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1)*.

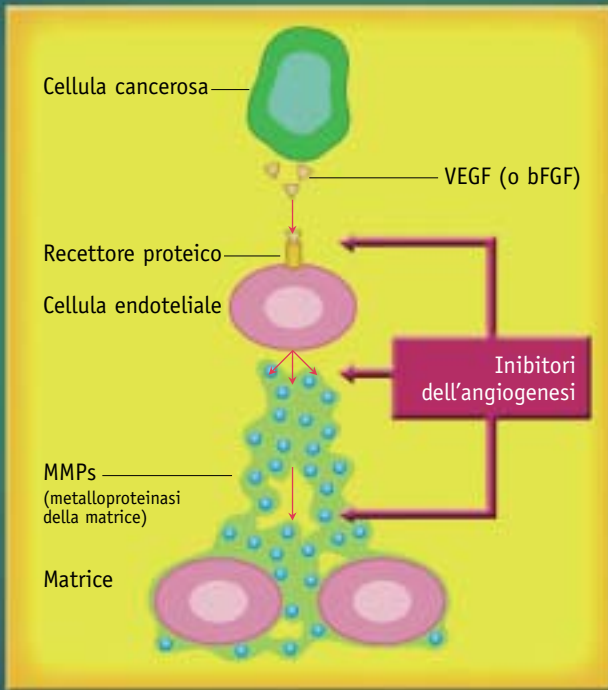
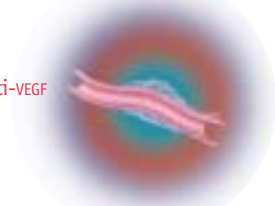
I più studiati **mediatori inibitori** dell'angiogenesi sono *Angiostatina e Endostatina, Interferone alfa (IFN- α) e Interleuchina-12 (IL-12), Angiopoietina-2, Trombospondina-1*.

Oggi con tecniche di biologia molecolare questi composti possono essere prodotti e modificati in laboratorio. Per esempio il gene che codifica VEGF, una volta clonato, può essere inserito nel genoma di *Escherichia coli* che si metterà a produrre VEGF in quantità. È a questo punto che i fattori di crescita, opportunamente modificati in modo da competere con la sostanza originale, divengono potenzialmente utilizzabili quali agenti terapeutici diretti a contrastare i diversi step del processo angiogenico (fig. 1).

VEGF

Il **Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)**, o fattore di crescita dell'endotelio vascolare, di tipo A (VEGF-A) è il mediatore dell'angiogenesi più studiato e conosciuto della famiglia dei VEGF e svolge un ruolo chiave nel processo di formazione di un nuovo network sanguigno. Il fattore di espressione meglio studiato di questo mediatore è l'*ipossia* che agisce con un meccanismo simile a quello della produzione di eritropoietina, processo indotto da basse concentrazioni di ossigeno.

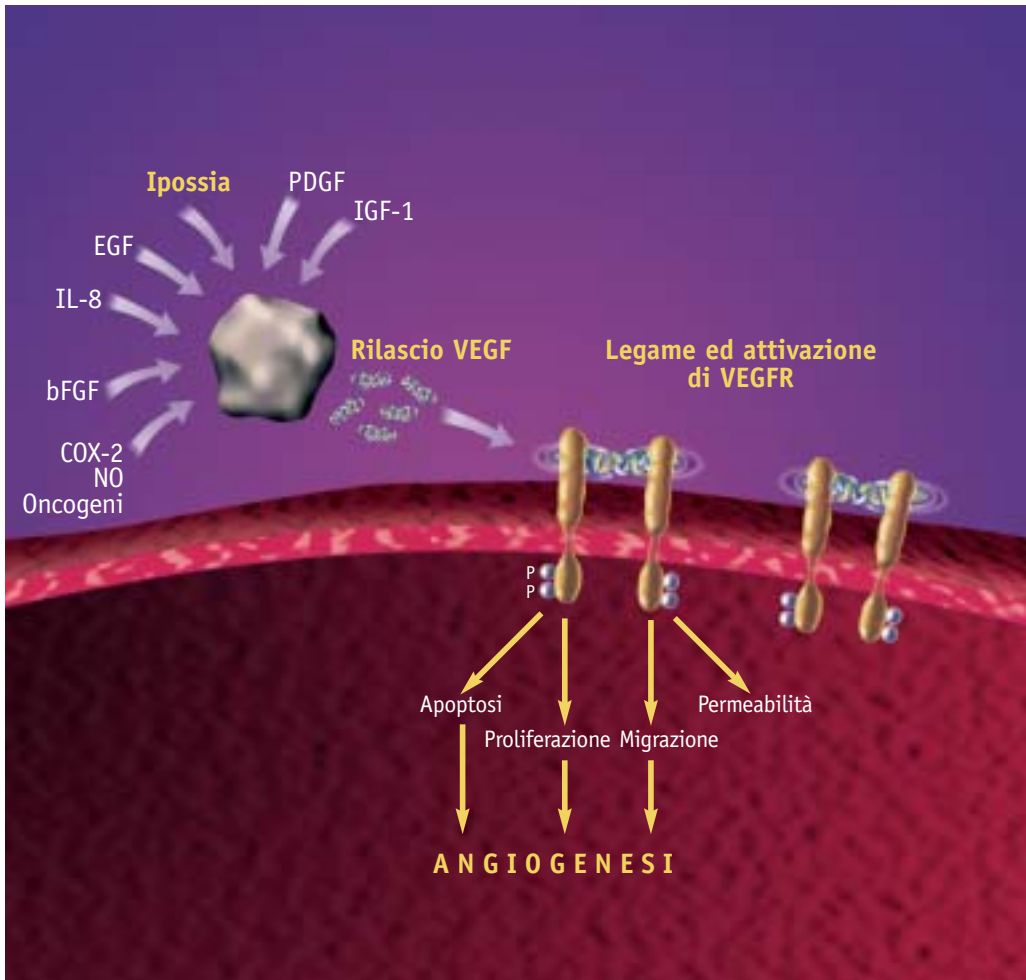
Figura 1
Diversi livelli d'azione dei principi anti-angiogenici nella terapia del tumore.

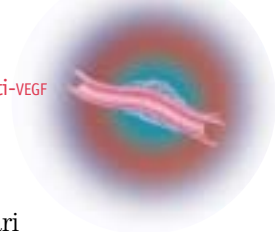


I recettori

I fattori di crescita hanno recettori specifici sulla superficie delle cellule endoteliali vascolari: legandosi ad essi provocano l'attivazione della *tirosin chinasi*, la sua fosforilazione e la trasduzione intracellulare del segnale.

L'effetto biologico di VEGF sembra essere principalmente mediato dal legame con il recettore 2 (VEGFR-2) che innesca (fig. 2):





- la proliferazione delle cellule endoteliali vascolari
- la migrazione delle cellule endoteliali vascolari
- la sopravvivenza delle cellule endoteliali vascolari immature
- un aumento della permeabilità vascolare, inducendo quindi l'angiogenesi.

Valore prognostico e predittivo del VEGF

VEGF e crescita tumorale

Il VEGF rilasciato dal tumore agisce a livello dei recettori presenti sulle cellule endoteliali, attivando l'angiogenesi. Il VEGF, stimolando la formazione di una vascolarizzazione nuova e immatura che presenta anomalie strutturali e funzionali, crea un feedback positivo e quindi un'ulteriore crescita tumorale: la neoplasia supera i limiti della sua vascolarizzazione e l'apporto di ossigeno e delle sostanze nutritive diviene inadeguato, dando luogo ad aree di ipossia e alla produzione del fattore attivato dall'ipossia HIF-1 che stimolano un'ulteriore produzione di VEGF; questo, a sua volta, stimola nuovamente la formazione di vasi. E, una volta che il tumore è entrato nella fase vascolare, la formazione di nuovi vasi prosegue per tutta la crescita neoplastica.

Spesso i livelli più elevati di VEGF e di angiogenesi si trovano nelle zone adiacenti ai tessuti ischemici o necrotici dei tumori solidi. Tuttavia il VEGF è stato trovato anche in aree del tumore non ipossiche, a sostegno dell'ipotesi che la sua sovraregolazione dipenda anche da altri meccanismi, quali l'attivazione degli oncogeni.

Il VEGF agisce anche come fattore di *permeabilità vascolare*, grazie alla sua capacità di indurre la fenestrazione dei vasi (formazione di falle nella parete vascolare) e di aumentare la permeabilità del microcircolo (fig. 3).

Figura 2
I diversi mediatori stimolanti
l'angiogenesi tramite VEGF

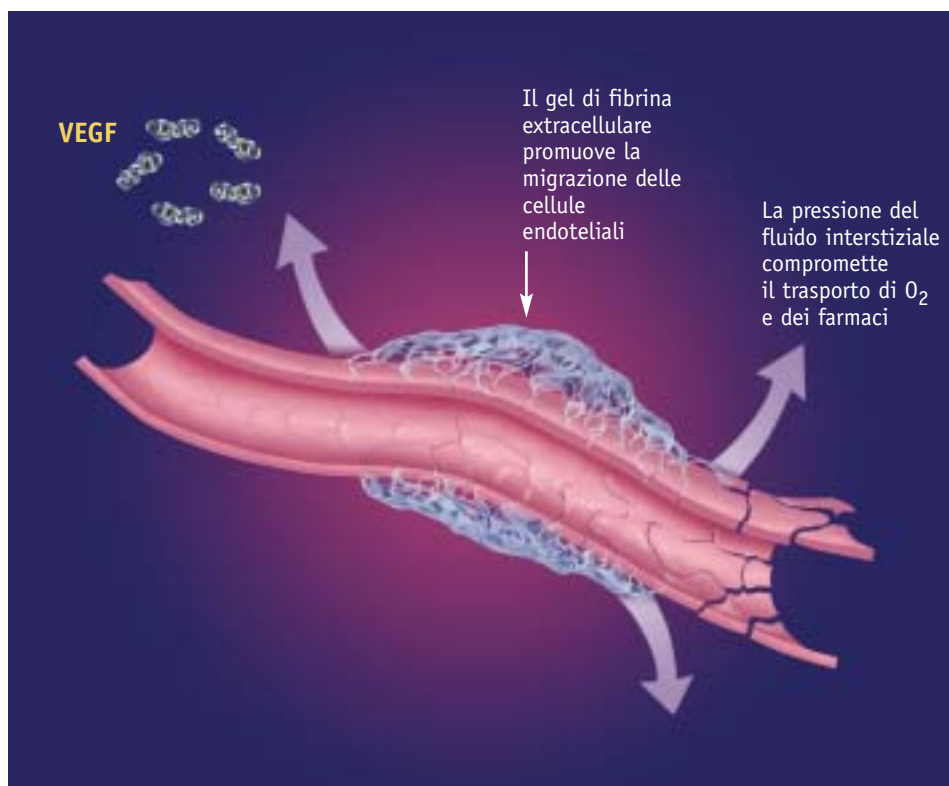
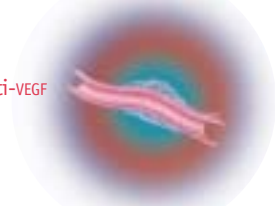


Figura 3
 Meccanismo di aumento della permeabilità vascolare indotto da VEGF

L'aumento della permeabilità dei vasi sanguigni tumorali nei confronti delle macromolecole circolanti permette la fuoriuscita delle proteine plasmatiche (per esempio, il fibrinogeno e altre proteine della coagulazione), con la conseguente formazione di uno stroma proangiogenico. Un'ulteriore conseguenza dell'aumentata permeabilità è l'innalzamento della pressione interstiziale, che inverte i gradienti di pressione normalmente presenti nel tessuto e in definitiva impedisce la penetrazione delle molecole, compresi gli agenti chemioterapici.

L'angiogenesi sollecitata dal VEGF favorisce il contatto delle cellule tumorali con i vasi sanguigni, offrendo alle cellule una via per invadere



i vasi stessi. Un'eccessiva produzione di VEGF determina la formazione di vasi immaturi, molto permeabili che faciliteranno l'invasione e quindi la metastatizzazione. Inoltre, il VEGF è coinvolto anche nella linfangiogenesi: stimolando la formazione di vasi linfatici di enormi dimensioni, il VEGF fornisce un'altra possibile via di diffusione metastatica.

Il ruolo critico del VEGF nella formazione di vasi sanguigni nei tumori e nelle metastasi lo rende pertanto un potenziale bersaglio della terapia di molte neoplasie umane.

Numerosi studi* hanno dimostrato che l'espressione di VEGF è elevata nei tessuti neoplastici o in circolo, in diversi tipi di tumori solidi umani: melanoma e carcinomi gastrointestinale, mammario, ovarico, cervicale, polmonare, epatico, renale, del SNC, della testa e del collo. È stata inoltre osservata una correlazione significativa tra i livelli plasmatici di VEGF e lo stadio della malattia o della metastasi. Ad esempio, nel corso dello sviluppo e progressione del carcinoma coloretale l'espressione di VEGF varia notevolmente in rapporto allo stadio (fig. 4).

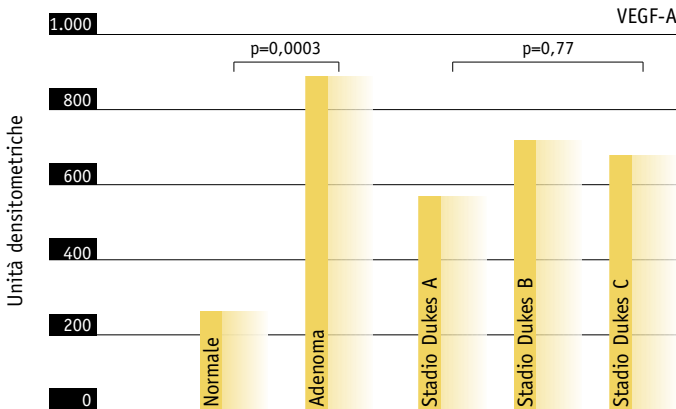


Figura 4
Espressione di VEGF nei diversi stadi del carcinoma coloretale*

* Negli studi effettuati la misurazione dei livelli di VEGF è avvenuta con metodiche differenti e i test sono stati eseguiti su tessuti preparati con procedure diverse. Ciò perché non è attualmente disponibile un test standard di riferimento. Inoltre, non esiste nessuna correlazione tra i livelli di VEGF e la risposta ad una terapia mirata anti-VEGF: non è pertanto necessario determinare tali livelli per definire l'eleggibilità di un paziente al trattamento anti-VEGF.

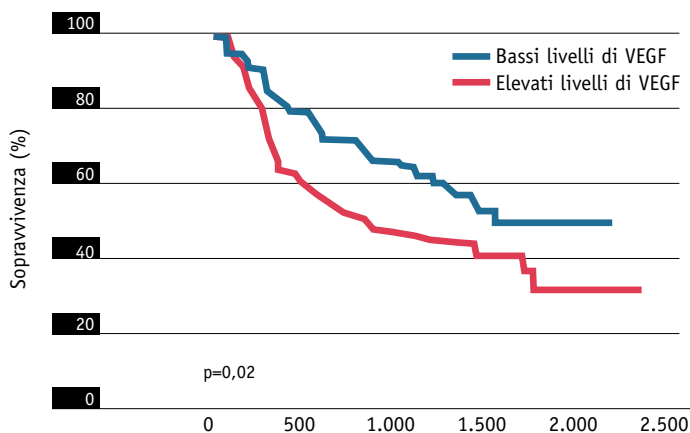


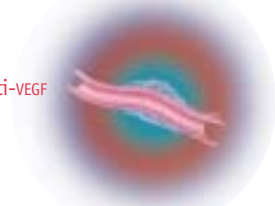
Figura 5
Sopravvivenza
nel NSCLC in rapporto
ai livelli di VEGF*

Livelli di VEGF e prognosi

Il ruolo dell'angiogenesi nello sviluppo e nella progressione tumorale evidenzia una correlazione tra i livelli incrementati di VEGF e una scarsa prognosi, soprattutto nel carcinoma mammario, polmonare e coloretale. I livelli elevati di VEGF, misurati sia a livello del tumore che in circolo, tendono a essere correlati con le dimensioni del tumore, il grado di diffusione metastatica, la sopravvivenza libera da malattia e quella globale. Ad esempio uno studio retrospettivo su 223 pazienti con carcinoma polmonare non microcitoma* ha dimostrato che i livelli incrementati di VEGF erano associati in maniera statisticamente significativa ad una ridotta sopravvivenza globale (fig. 5). È stato inoltre dimostrato che elevati livelli di VEGF sono legati alla risposta alla chemioterapia ed ormonoterapia in pazienti con carcinoma mammario.

Anche la densità dei vasi intratumorali (IVD) si è rivelata essere un valore di prognosi in una grande varietà di tumori solidi come cancro al

* Negli studi effettuati la misurazione dei livelli di VEGF è avvenuta con metodiche differenti e i test sono stati eseguiti su tessuti preparati con procedure diverse. Ciò perché non è attualmente disponibile un test standard di riferimento. Inoltre, non esiste nessuna correlazione tra i livelli di VEGF e la risposta ad una terapia mirata anti-VEGF: non è pertanto necessario determinare tali livelli per definire l'eleggibilità di un paziente al trattamento anti-VEGF.



seno, al polmone, melanoma maligno, cancro al tratto gastro-intestinale o genito-urinario. In questi tumori è stata trovata una correlazione positiva tra l'angiogenesi tumorale e il rischio di metastasi e morte.

Le terapie anti-angiogeniche

Differenze tra anti-angiogenici e chemioterapici

L'inibizione dell'angiogenesi presenta numerosi vantaggi teorici rispetto alla chemioterapia: diverso target biologico, scarsa tossicità sistemica e assenza di resistenza farmacologica. Negli ultimi anni molti trattamenti chemioterapici sono risultati sempre meno efficaci a causa della *resistenza*. Gli anti-angiogenici sembrano poter aggirare questo ostacolo perché i loro target non sono le cellule neoplastiche ma i vasi che le alimentano. E le cellule endoteliali reclutate dal tumore dai tessuti adiacenti e dal midollo osseo per formare nuovi vasi, al contrario delle cellule tumorali, sono geneticamente stabili. Inoltre i vasi tumorali differiscono da quelli normali: i target dei nuovi agenti anti-angiogenici colpiscono solo cellule endoteliali proliferative non interferendo quindi nei normali e fisiologici processi angiogenici.

Questi vantaggi hanno portato a un nuovo paradigma nel trattamento antitumorale non più diretto a distruggere le cellule cancerose ma a colpirle tenendole sotto controllo: come ha scritto di recente Folkman, *“arrestare la crescita tumorale potrebbe portare i pazienti a convivere per anni con il tumore come con una malattia cronica quale il diabete”*.

Una nuova classe di farmaci

I molti inibitori dell'angiogenesi oggi conosciuti rappresentano potenzialmente una nuova classe di farmaci per i quali, come per altri agenti 'targeted', non valgono le regole cliniche generalmente applicate ai chemioterapici. Per questo, sottolineano Folkman e Robert Kerbel, *“il successo dell'applicazione clinica di questi inibitori dipende in parte anche dal trasferimento delle acquisizioni scientifiche dai ricercatori – che hanno familiarità con i concetti della biologia dell'angiogenesi – ai clinici”*.

Si riportano di seguito i punti che Folkman e Kerbel evidenziano nell'introduzione a 'Clinical translation of angiogenesis inhibitors' [bibliografia], articolo contenente preziose indicazioni pratiche ma soprattutto risposte per l'oncologo medico (ad esempio: quali sono i casi clinici eleggibili ad un trial con queste molecole?) integrate con alcuni commenti che emergono dalle ricerche più recenti.

- Gli inibitori dell'angiogenesi costituiscono una classe di farmaci relativamente nuova che differisce per caratteristiche biologiche e biochimiche dai chemioterapici citotossici tradizionali.
- Per aumentare l'efficacia clinica di questi nuovi farmaci bisogna tenere presenti i seguenti punti:

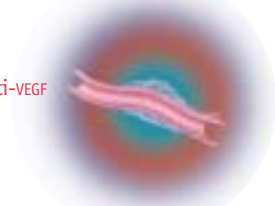
– la differenza tra inibitori dell'angiogenesi a *meccanismo diretto* (molecole anti-angiogeniche come endostatina e angiostatina, farmaci che bloccano direttamente i fattori angiogenici come il bevacizumab) e *indiretto* cioè gli inibitori dei recettori (ad esempio EGFR) che a loro volta favoriscono la produzione di VEGF e l'angiogenesi: a questo gruppo appartengono tra gli altri gli anticorpi o le piccole molecole anti-EGFR

– le cellule dell'endotelio microvascolare sono un target genetico stabile

– i tumori a lento accrescimento, più difficili da trattare con la chemioterapia, rispondono meglio al trattamento anti-angiogenico

– i tumori a rapida crescita richiedono dosi più alte di anti-angiogenici

– questi farmaci sono più efficaci quando vengono somministrati secondo uno schema di trattamento che permette di mantenere una concentrazione costante nel sangue piuttosto che uno schema in cui la terapia è periodicamente discontinua. La chemioterapia sembra essere, almeno in parte, angiogenesi-dipendente: così, una modifica del trattamento che permetta di colpire le cellule endoteliali invece che quelle tumorali può permettere di superare le resistenze farmacologiche da chemioterapici.



- Uno dei problemi della terapia antiangiogenica è la mancanza di marker sui quali valutare l'efficacia della risposta. Tuttavia si stanno facendo notevoli progressi anche in questo campo con:

– la misurazione dei precursori delle cellule endoteliali circolanti (CEC)

– il dosaggio di VEGF e di alcune citochine nel sangue

– le nuove tecniche di radio-imaging con risonanza magnetica e PET che consentono di “vedere” l'effetto del trattamento negli organi bersaglio (v. cap. 9).

- Quando questi nuovi farmaci anti-angiogenici entrano nell'uso clinico, è da considerare l'opzione di integrazione con la chemio o radioterapia o, in certe circostanze limitate, la combinazione con immuno o vaccino-terapia.

Il VEGF, bersaglio terapeutico ideale

Come si è già visto, l'inibizione dell'angiogenesi tumorale mediante il blocco dell'attività di VEGF – iperespresso nella maggioranza dei tumori umani – rappresenta un approccio terapeutico razionale, considerato il ruolo centrale svolto da questo mediatore in particolare su due processi neoplastici che qui si sottolineano.

- *Crescita e proliferazione*: il rilascio di VEGF da parte del tumore scatena l'attivazione del processo angiogenico che connette il tumore alla rete vascolare dell'ospite, consentendo alle cellule tumorali di ricevere l'apporto ematico e nutritivo necessario per la proliferazione e facilitandone la diffusione metastatica.
- *Resistenza al trattamento citotossico, sia chemio che radioterapico*: la struttura vascolare indotta dal VEGF è caratterizzata da un'elevata permeabilità che aumenta la pressione interstiziale e intratumorale, ostacolando così un'adeguata diffusione degli agenti chemioterapici e creando aree di relativa ipossia non responsive al trattamento radiante.

Sinergie con altre terapie

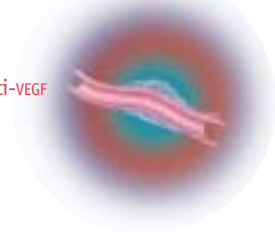
Numerose sperimentazioni – basate specialmente sui due punti precedentemente sottolineati – sono state condotte per verificare le possibili sinergie d'azione: i risultati suggeriscono che in alcuni casi la combinazione di molecole con un differente meccanismo d'azione anti-angiogenica dà una sinergia e che questo tipo di trattamento aumenta l'efficacia dei trattamenti citotossici tradizionali. La somministrazione combinata di inibitori dell'angiogenesi e radio o chemioterapia sembra aumentare l'efficacia di questi trattamenti, bloccando la possibilità che le cellule tumorali si mantengano in vita.

Nonostante il primo anticorpo monoclonale registrato nel 2003 come farmaco anti-angiogenico per il carcinoma coloretale possa essere utilizzato solo nel tumore metastatico, un'interessante prospettiva è che, sfruttando queste sinergie d'azione, i farmaci anti-angiogenici possano essere somministrati per lungo tempo e con diverse sequenze rispetto alle terapie convenzionali, chirurgia, chemio e/o radioterapia. Attualmente, però, come singola modalità terapeutica, l'antiangiogenica è solo parzialmente attiva in quei tumori in cui la crescita e le metastasi sono sostenute anche da altri meccanismi biologici o in presenza di grosse masse tumorali. Gli studi effettuati e quelli in corso confermano il potenziale della terapia antiangiogenica in particolare se associata con terapie convenzionali e/o con altri modificatori della risposta biologica (ad esempio anticorpi e induttori dell'apoptosi).

Le molecole anti-VEGF

Con un'azione mirata sul VEGF si può prevedere di ottenere l'inibizione dell'angiogenesi, insieme ad altri effetti sulla vascolarizzazione tumorale volti a inibire la crescita del tumore, senza compromettere la funzione della normale vascolarizzazione dei tessuti sani.

La trasduzione dei segnali da parte del VEGF può essere inibita puntando tanto sul ligando che sul recettore. Tanto la molecola del VEGF quanto i suoi recettori costituiscono dei possibili bersagli promettenti per il trattamento antitumorale e diverse possibili terapie che agiscono su questi elementi sono in via di sviluppo.



1. Inibizione del ligando

Anticorpi

Gli anticorpi anti-VEGF si legano al VEGF, eliminando la quota libera in circolo e impedendo che si leghi ai recettori. L'utilizzo degli anticorpi per agire su questa via presenta diversi vantaggi:

- gli anticorpi creati appositamente sono altamente specifici e si legano solo al VEGF
- inibendo il VEGF gli anticorpi sono in grado di prevenirne l'attività su tutti i recettori con i quali il ligando interagisce (recettori VEGF-R1, VEGF-R2 e il co-recettore neuropilina-1). Di conseguenza, agendo sul VEGF è possibile inibire gli effetti proangiogenici del VEGF mediati da tutti i recettori ai quali si lega.

Gli anticorpi monoclonali: il bevacizumab

Bevacizumab è il primo agente antiangiogenico i cui effetti antitumorali siano stati documentati in studi clinici di fase III. L'anticorpo progenitore di bevacizumab è un anticorpo monoclonale anti-VEGF umano prodotto nel topo (A4.6.1), in grado di neutralizzare il VEGF umano, che tuttavia non ha alcun effetto sul VEGF dell'ospite (vale a dire quello prodotto dal topo). Si lega a un sito specifico nell'ambito della molecola del VEGF, riconoscendo una sequenza di aminoacidi posizionati all'interno del β -turn dell'ansa sporgente $\beta 5$ - $\beta 6$. Così neutralizzato, il VEGF non si lega ai suoi recettori e non li attiva, inibendo perciò l'angiogenesi. Bevacizumab è la versione umanizzata di A4.6.1 ed è per il 93% di origine umana e per il 7% murina.

- Attraverso l'inibizione del VEGF, bevacizumab:

– riduce la pressione intratumorale, migliorando così il rilascio degli agenti citotossici a livello del tumore allo scopo di ridurne le dimensioni

– inibisce la formazione di nuovi vasi sanguigni nel tumore, limitandone l'accrescimento

– determina un'involuzione della anomala vascolarizzazione del tumore, favorendo il ripristino dell'architettura vascolare fisiologica.

Recettori solubili del VEGF

Anche i recettori solubili si legano direttamente al VEGF. Tuttavia, dal momento che i recettori solubili legano molti componenti della famiglia del VEGF, tra i quali il VEGF-B e il fattore di crescita placentare (PIGF, Placental Growth Factor), i recettori solubili a scopo terapeutico inibiscono anche le attività degli altri componenti della famiglia del VEGF. A tutt'oggi non si sa molto degli effetti dell'inibizione del PIGF e del VEGF-B.

2. Azione mirata sui recettori del VEGF

Inibitori dei recettori del VEGF

Un approccio è costituito dall'inviare anticorpi verso i recettori del VEGF, impedendo in tal modo il legame dei recettori con il ligando. Gli anticorpi sono molto selettivi, essendo diretti verso un singolo recettore e quindi è possibile bloccare la trasduzione del segnale da parte del VEGF attraverso un singolo recettore senza incidere sulle attività del VEGF mediate da altri recettori.

Un altro modo di agire sui recettori del VEGF è rappresentato dall'utilizzo di piccole molecole che inibiscono la tirosina chinasi. Le piccole molecole che inibiscono la tirosina chinasi agiscono direttamente sulla tirosina chinasi intracellulare dei recettori del VEGF, inibendo la trasduzione del segnale attraverso il recettore. Tuttavia, non possedendo un elevato livello di specificità, queste molecole possono inibire altri recettori tirosina chinasi oltre ai recettori VEGF-R1 e VEGF-R2. Per di più, qualora non si riesca a legare e inibire tutti i recettori del VEGF, il VEGF che rimane libero in circolo continua a stimolare i recettori e a favorire l'angiogenesi.

Anticorpi che agiscono sui recettori del VEGF

Agiscono sempre a livello extracellulare; studi clinici di fase I con uno dei 4 composti allo studio indicano effetti indesiderati di scarsa importanza. Mancano prove d'efficacia clinica.

VEGF-Trap

VEGF-Trap associa elementi del dominio extracellulare dei recettori VEGF-R1 e R2 deputati al legame con il ligando, fusi alla porzione Fc dell'IgG ed è progettato per legarsi al VEGF circolante. A differenza del-



l'anticorpo monoclonale anti-VEGF, VEGF-Trap si lega sia al VEGF umano che a quello murino. Ciò significa che VEGF-Trap inibisce tutto il VEGF nei modelli murini di xenotrapianti e che è probabile che i suoi effetti in tali modelli siano superiori a quelli dell'anticorpo monoclonale. Inoltre tra i bloccanti del VEGF studiati finora, VEGF-Trap possiede l'affinità più elevata, anche se la rilevanza clinica dell'affinità del ligando non è nota.

I dati preclinici descrivono l'attività antitumorale di VEGF-Trap nei confronti degli xenotrapianti di tumori primitivi nei topi nudi e delle metastasi polmonari. Finora sono stati pubblicati solo dati di fase I. In uno studio che ha reclutato pazienti con tumori solidi e linfomi che non avevano risposto a una precedente chemioterapia, VEGF-Trap si è dimostrato in grado di indurre la stabilizzazione della malattia per almeno 10 settimane ed è stato ben tollerato, con effetti indesiderati simili a quelli segnalati per altri agenti anti-VEGF (proteinuria e ipertensione di grado 3); tra gli effetti tossici dose limitanti, la leucopenia, la proteinuria ed eventi tromboembolici. Altri studi di fase I sono attualmente in corso e una decisione sull'eventuale passaggio alla fase II non verrà presa prima della loro conclusione.

Inibitori della tirosina chinasi

L'attività della tirosina chinasi è intrinseca all'attività di trasduzione del segnale di molti inibitori che si legano alla membrana, compresi quelli dei recettori del VEGF. Questa attività è mediata dal legame del ligando sulla regione extracellulare del recettore, che stimola la fosforilazione della tirosina nel dominio intracellulare attraverso il legame con l'ATP e le successive cascate intracellulari di trasduzione del segnale. Gli inibitori della tirosina chinasi sono composti sintetici, permeabili alle membrane, di piccole dimensioni, disponibili per via orale, che bloccano o competono con il legame dell'ATP e così facendo inibiscono la cascata intracellulare di trasduzione del segnale stimolata da uno o più recettori.

Nel complesso, lo sviluppo di farmaci per diversi tipi di tumore si è focalizzato sull'impiego di inibitori della tirosina chinasi contro diversi recettori tirosina chinasi legati alla membrana. Finora solo imatinib e erlotinib hanno dimostrato di possedere un'efficacia significativa. Diversi inibitori dei recettori tirosina chinasi del VEGF hanno superato la

fase dello sviluppo e sono entrati negli studi clinici. Tuttavia, il primo inibitore non è riuscito a dimostrare di essere attivo negli studi di fase III per cui il programma di sviluppo è stato interrotto. Per gli altri agenti presi in esame i dati di fase II o III, quando ci sono, sono limitati e le prove dell'attività raccolte in fase I e II non sempre si traducono in un vantaggio clinico significativo. Inoltre gli inibitori della tirosina chinasi tendono a mirare al bersaglio in modo meno specifico rispetto ad altri tipi di approccio e l'impatto dell'inibizione di più recettori attualmente non è noto.

È interessante notare che, a differenza di quanto avviene con l'anticorpo monoclonale anti-VEGF, gli inibitori del recettore tirosina chinasi anti-VEGF sembrano indurre degli effetti indesiderati del tipo di quelli correlati alla chemioterapia come diarrea, nausea e vomito. Solo quando saranno disponibili i dati della fase III si potrà valutare se questa sovrapposizione dei profili di tossicità avrà una rilevanza clinica.

Inibitori tirosina chinasi del recettore del VEGF

Lo sviluppo di inibitori dei recettori tirosina chinasi del VEGF costituisce un settore dinamico di ricerca e sviluppo. Molti composti sono stati individuati e studiati a livello preclinico, ma soltanto qualcuno è entrato nella fase di sviluppo clinico.

Semaxinib (SU5416)

È stato il capostipite di questa classe. Si tratta di un inibitore competitivo dell'ATP, attivo prevalentemente nei confronti del recettore VEGF-R2. L'evidenza di un'attività biologica ha portato alla definizione di un programma di studi di fase II e III in alcuni tipi di tumore come il CCR, il carcinoma del polmone e quello renale. Sfortunatamente i primi studi che hanno generato dei dati non sono riusciti a soddisfare gli endpoint (studio di fase III nel CCR, studio di fase II nel carcinoma renale) e il programma di studi clinici su semaxinib è stato interrotto. Inoltre uno studio di fase I ha segnalato un'incidenza inaccettabile di eventi tromboembolici (nove in 19 pazienti).

SU11248

Recentemente sono stati pubblicati dati promettenti relativi a SU11248: uno studio di fase III sull'efficacia di SU11248 in pazienti con



GIST resistenti all'imatinib è stato interrotto anticipatamente a 7 mesi in seguito alla dimostrazione dell'efficacia e della sicurezza. In uno studio di fase II su pazienti affetti da carcinoma renale avanzato trattati, come terapia di seconda linea, con SU 11248 giornalmente per 4 settimane su 6, il tasso di risposta è stato del 33% e il 37% dei pazienti ha ottenuto la stabilizzazione della malattia per almeno 3 mesi. È in corso uno studio di fase III di confronto tra SU11248 e IFN- α in pazienti con carcinoma renale avanzato. Inoltre sono stati pianificati studi clinici di fase II in pazienti con carcinoma mammario, CCR e NSCLC.

Vatalanib (PTK-787)

Vatalanib inibisce i recettori del VEGF R1, R2 e R3, possiede un'attività preclinica nei confronti di diversi tipi di tumore e ha dimostrato di ridurre la densità del microcircolo, un parametro di misurazione dell'angiogenesi, e di migliorare la sopravvivenza in modelli murini di tumore cerebrale. Studi di fase I/II hanno dimostrato che gli effetti tossici comprendono senso di testa vuota, atassia, nausea, diarrea, vomito (tutti all'incirca nel 15% dei pazienti) e ipertensione (in oltre il 20% dei pazienti con CCR) e sono trattabili. La principale differenza tra il profilo degli effetti indesiderati di PTK-787 e quello degli altri inibitori della via del VEGF risiede nel verificarsi di una sindrome neurologica di gravità variabile, dal senso di testa vuota all'atassia grave, che obbliga i pazienti a rimanere a letto. Gli effetti si risolvono con la sospensione di PTK-787. Risposte parziali e stabilizzazioni della malattia per almeno 6 mesi sono state osservate in pazienti pesantemente pretrattati, in associazione alla chemioterapia.

Studi di fase I/II nel CCR hanno esaminato vatalanib in associazione a chemioterapia a base di irinotecan o di oxaliplatino. Uno studio che comprendeva l'IFL ha dato risultati negativi a causa dell'interazione tra vatalanib e irinotecan. Uno studio su FOLFOX e vatalanib ha coinvolto 35 pazienti e ha evidenziato un tasso di risposta del 53% e una sopravvivenza libera da progressione di 11,2 mesi, indicative di una certa attività. Uno studio di fase I/II su PTK-787 e 5-FU/LV + irinotecan (FOLFI-RI) in una popolazione simile di pazienti ha ottenuto un tasso di risposta inferiore (41%) e una sopravvivenza libera da progressione più breve (7,1 mesi). Due studi randomizzati di fase III su FOLFOX4 con o senza vatalanib in pazienti con CCR metastatico, uno in prima linea l'altro

in seconda linea, hanno concluso il reclutamento nel 2004 e i dati sono attesi verso la fine del 2005.

ZD6474

Un altro inibitore del recettore tirosina chinasi in sviluppo clinico è ZD6474. È attivo nei confronti del recettore VEGF-R2 e del recettore EGF (EGFR), che è il bersaglio degli inibitori specifici del recettore tirosina chinasi gefitinib e erlotinib. Come semaxinib e vatalanib, ZD6474 determina un'inibizione della crescita tumorale in una vasta gamma di xenotrapianti di tumori umani in modelli animali. Dati preliminari da uno studio di fase I/II su ZD6474 in associazione a docetaxel nel NSCLC indicano che l'associazione è ben tollerata e possiede attività antitumorale. Al momento uno studio di fase II sta esaminando ZD6474 con carboplatino e paclitaxel in pazienti con NSCLC recidivante.

Altri agenti che mirano al VEGF

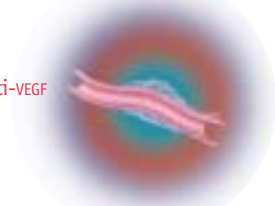
Oltre a queste che sono le principali modalità di approccio al sistema del VEGF, ne sono state sviluppate altre, attualmente indagate dal punto di vista clinico.

Ribozimi

Angiozyme è un ribozima che taglia in modo selettivo l'mRNA del recettore VEGF-R1 impedendo l'espressione del recettore e quindi inibendo l'angiogenesi. Questo agente è il primo ribozima inserito in studi clinici, tuttavia, dal momento che il ruolo del recettore VEGF-R 1 non è del tutto chiarito, che il recettore non partecipa alla mediazione degli effetti mitogeni e chemiotattici del VEGF e che può essere un "recettore esca", è difficile valutare le potenzialità di Angiozyme.

Studi di fase I hanno dimostrato che Angiozyme somministrato da solo e con paclitaxel e carboplatino in pazienti con tumori in fase avanzata è ben tollerato.

Sono stati progettati studi clinici di fase II per esaminare Angiozyme nel carcinoma mammario e nel CCR, ma a causa dei risultati deludenti lo sviluppo nel carcinoma mammario è stato interrotto. Anche i dati nel CCR sono stati deludenti. Il tasso di risposta e il tempo alla progressione ottenuti aggiungendo Angiozyme all'IFL sono risultati simili a quelli di un precedente studio con il solo IFL. D'altra parte il profilo di tossici-



tà è rimasto piuttosto buono, con le reazioni in sede di iniezione come evento più frequente. Al momento lo sviluppo di Angiozyme è stato sospeso.

Antisenso anti-VEGF: il Veglin

Veglin è un oligonucleotide complementare (antisense) alla sequenza di RNA messaggero che codifica per il VEGF: ne impedisce quindi la traduzione in proteina, prevenendo così la produzione stessa di VEGF. Veglin è stato impiegato in studi di fase I, dimostrando la capacità di inibire il bersaglio VEGF al prezzo di una tossicità molto modesta. Inoltre, in uno studio condotto su 47 pazienti affetti da diversi tipi di neoplasia sono state ottenute evidenze di attività clinica.

Neovastat

AE-941 (Neovastat) è una miscela di quattro composti differenti ottenuti per ultrafiltrazione della cartilagine liquida di squalo, in grado di impedire il legame del VEGF ai suoi recettori. Neovastat si somministra per os e inizialmente è stato studiato in diverse indicazioni al di fuori dell'oncologia, comprese la psoriasi e l'artrite, ma tutti gli studi nelle indicazioni non oncologiche sono stati sospesi nel 2000. Anche il programma degli studi oncologici era inizialmente molto ampio, ma è stato successivamente snellito concentrandolo sul NSCLC e sul carcinoma renale con studi di fase III in queste indicazioni. A questo si è giunti sulla base dei risultati di due studi: un'analisi retrospettiva della sopravvivenza che ha dimostrato un aumento significativo della sopravvivenza (6,15 vs 4,17 mesi, $p = 0,017$) tra i pazienti con NSCLC non resecabile in trattamento con Neovastat a dosi superiori a 2,63 ml/kg/die e uno studio di fase II nel carcinoma renale che ha fornito le prove delle risposte al trattamento e di un miglioramento della sopravvivenza. Tuttavia lo studio di fase III nel carcinoma renale non ha soddisfatto l'endpoint principale della sopravvivenza, per cui lo sviluppo di Neovastat in questa indicazione è stato sospeso. Lo studio di fase III nel NSCLC non resecabile sta reclutando i pazienti al trattamento con chemioterapia e radioterapia standard, con o senza Neovastat, per accertare se Neovastat conferisca o meno un vantaggio in termini di sopravvivenza. Si attendono i risultati nel corso del 2005.

Conclusioni sul VEGF

Diverse modalità di approccio sono state impiegate per sviluppare terapie specifiche dirette contro il VEGF e i suoi recettori. Queste terapie che agiscono sulla via di trasduzione del segnale del VEGF hanno mostrato la loro attività antitumorale nel corso degli studi preclinici e attualmente parecchi agenti fanno ben sperare a livello clinico. Diversi hanno raggiunto la fase II o III degli studi clinici in varie indicazioni.

Altri target e altre molecole anti-angiogeniche

- **Antivascolari**

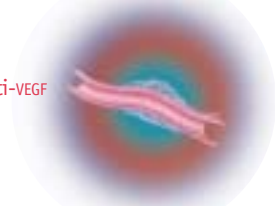
Il target in questo caso è il network vascolare tumorale. Questo approccio terapeutico antitumorale si basa sulla identificazione di molecole bersaglio presenti sui vasi neoformati tumore-indotti, ma assenti sull'endotelio normale, per poter effettuare terapie selettive e non gravate da tossicità sistemica. Le potenziali molecole bersaglio sono le $\alpha_v\beta_3$, la E-selettina, il VEGF e i recettori Tie.

La distruzione dei vasi tumorali può essere ottenuta attraverso la distribuzione locale di peptidi o anticorpi con attività biologica diretta. La modulazione dell'angiogenesi può essere realizzata con la somministrazione di dosi singole o multiple di peptidi angio-regolatori, di farmaci o con una terapia genica. Quest'ultima offre una potenziale via per ottenere il rilascio di sostanze terapeutiche; ad esempio, sono stati usati vettori retrovirali e adenovirali che producono un cDNA che codifica per le angiostatine o VEGF antisense per inibire l'angiogenesi e la crescita tumorale in vivo (vedi sopra).

- **PD-ECGF e COX2 inibitori**

PD-ECGF (Platelet-Derived Growth Factor/ Thymidine Phosphorylase) stimola in vitro la migrazione delle cellule endoteliali e in vivo l'angiogenesi. Quest'ultimo effetto è determinato dalla conversione del 2-deossiribosio, come risultato di una fosforolisi reversibile del deossinucleoside pirimidinico da parte di TP, in 2-deossi D-ribosio 1-fosfato. Quest'ultimo viene poi defosforilato e trasportato fuori della cellula.

TP è iperespresso in molti tipi di tumori solidi (cancro al seno, alle



ovaie, al colon-retto e al pancreas) e nell'endometrio durante il ciclo mestruale ed è importante nella vascolarizzazione sia fisiologica che tumorale. Sono stati progettati pochi inibitori di TP, tra cui 6-amminotimina (6-AT), 6-ammino-5-bromouracile (6-A5BU) e 7-deazaxantina (7-DX) che sono i più potenti.

COX-2 controlla diversi processi cellulari ed è iperespressa durante lo sviluppo del cancro allo stomaco e al colon. La COX-2 stimola le cellule cancerose del colon a rilasciare prostaglandine angiogeniche e TXA_2 che inducono la migrazione delle cellule endoteliali e la formazione di vasi. Questo processo può essere bloccato dai tradizionali farmaci anti-infiammatori non steroidei come l'aspirina che inibisce COX-1 e COX-2 oppure NS-398, inibitore selettivo della COX-2.

Gli inibitori della COX-1 causano tossicità gastro-intestinale e renale perciò la ricerca focalizza l'attenzione su inibitori specifici della COX-2 per il trattamento del cancro maligno al colon.

- **Tumor Necrosis Factor**

Il più importante fattore di necrosi tumorale è il TNF- α che stimola l'angiogenesi indirettamente poiché, liberato all'esterno dei vasi sanguigni, agisce su macrofagi, mastociti, cellule endoteliali e tumorali stimolandoli a produrre i fattori ad azione pro-angiogenica diretta. Aumenta l'espressione di VEGF, VEGFR, IL-8 e FGF-2.

TGF- β agisce con un meccanismo analogo a TNF- α e inoltre stimola l'espressione di TNF- α , FGF-2, PDGF e VEGF.

- **Altre**

bFGF-2 (basic Fibroblast Growth Factor)

È il prototipo delle chemochine e citochine ad azione angiogenica. La famiglia FGF consiste di almeno 19 membri di cui i più studiati sono FGF-1 (aFGF, acid fibroblast growth factor) e FGF-2 (bFGF, Basic Fibroblast Growth Factor). Sono proteine con alta affinità per l'eparina. Gli effetti di FGF sulle cellule avvengono tramite uno specifico legame con recettori tirosin-chinasi ad alta affinità.

L'attivazione del recettore (FGFR) porta a proliferazione, migrazione e differenziazione di cellule endoteliali, produzione di proteasi e angiogenesi. FGF-2 è implicato in processi sia fisiologici sia patologici del-

l'angiogenesi. Inoltre le numerose molecole valutate interferiscono anche con molti altri fattori di crescita ad elevata affinità per l'eparina, mancando pertanto di selettività verso il network tumorale.

Dato che l'attività di FGF-2 dipende dalle concentrazioni di eparina extracellulare, sono stati valutati diversi agenti esogeni analoghi dell'eparina. Sono state impiegate suramina ad alte dosi contro il sarcoma di Kaposi e IFN negli emangiomi giovanili.

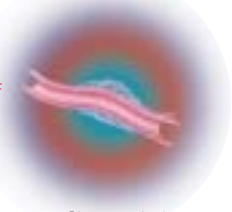
Interleuchina-8

Le interleuchine mostrano un'attività biologica simile a TNF- α , sebbene siano stati riscontrati risultati contraddittori per IL-1. Solo per IL-8 è stato scoperto che induce neovascolarizzazione in vivo in modo dose-dipendente che può essere inibita con anticorpi anti IL-8.

Farmaci con potenziale attività angiosoppressiva già utilizzati per patologie non neoplastiche

Questa categoria comprende alcuni farmaci impiegati per patologie non neoplastiche per i quali recentemente è stata dimostrata un'attività angiosoppressiva, in particolare talidomide e captopril.

La *talidomide*, nota in passato per i suoi effetti teratogeni, si è rivelata un moderato inibitore dell'angiogenesi indotta da fibroblast growth factor (FGF) su modelli di vascolarizzazione corneale *in vivo*. Un elegante studio clinico effettuato in pazienti con infezioni da HIV portatori di ulcere aftose del cavo orale, ha dimostrato che talidomide è efficace e ben tollerata nel trattamento di tali lesioni e che il suo effetto terapeutico è correlato ad un incremento delle concentrazioni plasmatiche di TNF- α e ai suoi recettori solubili ed in parte, alla sua attività angiobitoria (19). Attualmente negli USA sono in corso numerosi studi di fase II con la talidomide per valutare la sua attività antitumorale in pazienti con carcinoma mammario e prostatico, refrattari ai trattamenti convenzionali, sarcomi di Kaposi HIV correlati, gliomi ad alto grado di malignità recidivati e mieloma multiplo. Di estremo interesse sono i risultati recentemente riportati in pazienti con mieloma multiplo resistenti alla chemioterapia e trattati con talidomide, che ha indotto in oltre il 50% dei casi remissioni della neoplasia o prolungate stabilizzazioni di malattia. I principali effetti collaterali sono costituiti da neurotossicità periferica (parestesie), stipsi e sonnolenza.



Anche il *captopril* inibisce l'angiogenesi sia *in vitro*, mediante inibizione mediata da bFGF sulla migrazione delle cellule endoteliali, che *in vivo*, in modelli sperimentali di neovascolarizzazione corneale nel ratto. Vari meccanismi alla base dell'attività angiosoppressiva del captopril sono stati postulati, tra cui l'inibizione dell'attività del bFGF e delle metalloproteinasi, nonché la modulazione delle prostaglandine.

Farmaci citotossici con parziale attività di inibizione dell'angiogenesi

In questa categoria sono compresi agenti antiproliferativi già utilizzati nella pratica clinica, per i quali è stata dimostrata un'attività angiosoppressiva: interferoni, interleuchina 12, tamoxifen, retinoidi e taxolo.

L'*interferone α* (IFN α) ha un'azione antineoplastica in parte dovuta alla sua capacità di inibire il processo angiogenetico sia direttamente, attraverso l'azione sulle cellule endoteliali dei microvasi, sia indirettamente interagendo nella produzione di bFGF da parte delle cellule tumorali. Questa sua azione è stata sfruttata favorevolmente da Esekowitz in un trial clinico nel trattamento di emangiomi "life-threatening" dell'età pediatrica.

L'*interleuchina 12* si è dimostrata *in vivo* un potente inibitore dell'angiogenesi bFGF indotta ed è un inibitore endogeno dell'angiogenesi.

Il *tamoxifen* ha dimostrato in modelli sperimentali un'azione angiostatica, che spiegherebbe la sua azione antineoplastica non correlata al blocco recettoriale estrogenico.

L'*acido retinoico*, impiegato in alcuni studi clinici come agente chemiopreventivo, *in vitro* ed *in vivo* possiede un'azione inibente la crescita tumorale legata sia alla sua azione angioinibitoria sia all'induzione di apoptosi nelle cellule tumorali.

Fra i farmaci citotossici comunemente impiegati nella pratica clinica, il *paclitaxel* ha un'interessante attività angiosoppressiva mediata dall'inibizione sia della proliferazione delle cellule tumorali che della produzione di bFGF e VEGF.

Nuovi agenti specificamente sviluppati come inibitori dell'angiogenesi

Fra gli agenti di sintesi, specificamente sviluppati come inibitori esogeni dell'angiogenesi, oltre agli anticorpi monoclonali umanizzati anti VEGF e anti bFGF, alcuni sono di estremo interesse: TNP-470, alcuni steroidi ad alta affinità per l'eparina, marimastat, suramina, pentosan, linomide.

Il *TNP-470* è un analogo sintetico della fumagillina, isolato dall'*Aspergillus fumigatus*, che rispetto al composto di origine, risulta essere cinquanta volte più attivo nell'inibire la crescita endoteliale e meno tossico. Il TNP-470 è un potente inibitore dell'angiogenesi in vitro ed agisce bloccando l'entrata delle cellule endoteliali nella fase G del ciclo cellulare. In topi affetti da tumore polmonare e trattati con TNP-470 è stata osservata una stimolazione significativa della proliferazione B-linfocitaria associata alla inibizione della crescita del tumore primitivo e dello sviluppo delle metastasi. Effetti collaterali che si manifestano in seguito al trattamento con tale agente sono rappresentati da: aborto, inibizione della maturazione endometriale e sterilità nelle donne fertili. L'azione antiangiogenica e antitumorale del TNP-470 viene potenziata dall'associazione con altri inibitori dell'angiogenesi, quali la minociclina, IFN α/β , tamoxifen, pentosan polisolfato o la radioterapia.

Fra gli steroidi, il *tetraidrocortisolo* è quello dotato di maggiore attività angiostatica. Il suo meccanismo d'azione è riconducibile ad una alterazione del "turnover" della membrana basale endoteliale durante la crescita dei vasi sanguigni e del metabolismo del collagene, con conseguente perdita dell'integrità strutturale della matrice extracellulare e blocco della neovascolarizzazione.

Il *marimastat* è un inibitore delle metalloproteinasi tissutali ed è attivo per via orale, inibendo il potenziale invasivo delle cellule tumorali, la formazione di metastasi e l'angiogenesi.

La *suramina* (già citata per la sua azione eparino-simile agente sul FGF-2) è un farmaco usato nel trattamento della tripanosomiasi, con attività antitumorale nei linfomi non-Hodgkin HIV correlati. La suramina blocca il legame di diversi fattori di crescita tumorale (TGF α , EGF, bFGF) ai loro recettori di superficie cellulare. Studi clinici di fase I-II hanno dimostrato che la suramina è un agente antitumorale attivo nei confronti di carcinoma della prostata, ovaio, surrene, mammella e linfomi refrattari. Il trattamento con suramina è tuttavia gravato da importanti effetti collate-



rali sistemici quali tossicità renale, neuropatia periferica e coagulopatia. Sono stati pertanto sviluppati alcuni analoghi con azione angioinibitoria, di uguale attività e minore tossicità, quale il FCE 26644 (suradista).

Il *pentosan polisolfato*, noto per la attività anticoagulante, è un farmaco in grado di bloccare l'attività biologica del FGF sulle cellule endoteliali vascolari. Il farmaco è generalmente ben tollerato e i principali effetti collaterali (trombocitopenia, scoagulazione) sono reversibili e transitori. Con l'impiego di tale farmaco non è stata però riportata nessuna risposta clinica antitumorale obiettiva.

Linomide è un farmaco sviluppato inizialmente come immunomodulante. Il trattamento con linomide determina effetti citostatici sulle cellule endoteliali della vena ombelicale umana (HUVEC) in vitro ed una riduzione del 40% della vascolarizzazione di tumori prostatici nell'animale da sperimentazione in vivo. Linomide è stata impiegata come terapia adiuvante in pazienti affetti da leucemia mieloide acuta in remissione dopo chemioterapia e trapianto midollare autologo ed ha determinato un aumento significativo delle funzioni delle cellule Natural Killer, dei linfociti T e dei monociti con un prolungamento della sopravvivenza libera da malattia; lo studio tuttavia non è randomizzato ed è stato condotto in un numero limitato di pazienti. Recenti studi di fase II hanno evidenziato che linomide non è attivo nel carcinoma del rene e nel melanoma maligno metastatico e refrattario alle terapie convenzionali.

Le principali applicazioni terapeutiche e i trial in corso

Dal momento che i tumori solidi non possono crescere senza il supporto nutritivo fornito dalla vascolarizzazione, l'angiogenesi gioca un ruolo centrale in diversi tumori con tassi elevati di prevalenza e di mortalità. Inoltre in molti pazienti affetti da tumori solidi una iperespressione del VEGF si correla con una prognosi infausta e con ridotti tassi di sopravvivenza.

Carcinoma coloretale

L'ampio studio randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo di fase III pubblicato sul *New England Journal of Medicine*, definito AVF2107, ha indicato che l'aggiunta dell'anticorpo monoclonale

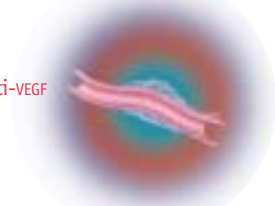
bevacizumab alla chemioterapia di combinazione attiva nel carcinoma metastatico (regime IFL, proposto da Saltz a base di irinotecano e fluorouracile) conferisce un vantaggio in termini di sopravvivenza, sia globale che libera da progressione.

Nello studio sono stati arruolati 923 pazienti con buon performance status (0-1) e con almeno una sede di malattia metastatica misurabile, non pretrattati con chemioterapia per la fase avanzata. L'aggiunta dell'anticorpo monoclonale alla chemioterapia ha aumentato del 30% la sopravvivenza mediana (da 15 a 20 mesi, fig. 6), ha prolungato del 70% la sopravvivenza libera da malattia (PFS) (da 6 a 10 mesi, fig. 7) ed ha aumentato in maniera statisticamente significativa sia la risposta al trattamento che la durata di tale risposta.

Questi risultati si sono mantenuti inalterati dopo l'analisi per sottogruppi di pazienti, selezionati per età, sesso, performance status, tipo di neoplasia e numero di sedi metastatiche. Nei pazienti che hanno ricevuto chemioterapia contenente oxaliplatino come seconda linea a progressione, circa il 25% in totale, la sopravvivenza mediana è risultata più alta nei pazienti che avevano ricevuto in prima linea IFL + bevacizumab (25 mesi vs 22 mesi).

Per quanto riguarda la tossicità, gli eventi avversi di grado 3-4 sono stati il 10% in più nel braccio contenente bevacizumab, soprattutto a causa dell'ipertensione arteriosa (22,4% vs 8,3%), della diarrea (32,4% vs 24,7%) e della leucopenia (37% vs 31%). Non c'è stata differenza tra i due bracci riguardo all'ospedalizzazione ed alle morti tossiche legate al trattamento. L'ipertensione ha richiesto un trattamento con calcio-antagonisti, inibitori dell'enzima che converte l'angiotensina e diuretici, ma non si sono registrati picchi ipertensivi o decessi legati direttamente all'ipertensione. Non si è resa mai necessaria la sospensione del trattamento nel braccio con bevacizumab.

Nello stesso studio AVF2107 era stato previsto un braccio di trattamento con solo fluorouracile e folato (FU/LV) + bevacizumab. Altri 2 studi, tra cui uno randomizzato di fase II e uno randomizzato di fase III, definito AVF2192, hanno esplorato questa combinazione terapeutica. Specialmente dagli studi di fase III è emerso un vantaggio nell'aggiunta del bevacizumab alla chemioterapia con FU/LV, con un miglioramento significativo della sopravvivenza libera da progressione (9,2 mesi con-



tro 5,5 mesi). Uno studio randomizzato di fase III ha valutato l'uso in seconda linea di trattamento del bevacizumab in associazione al regime a base di oxaliplatino e FU definito FOLFOX, in pazienti con malattia avanzata o metastatica. I risultati dello studio, definito ECOG3200, hanno dimostrato un vantaggio significativo nella sopravvivenza dei pa-

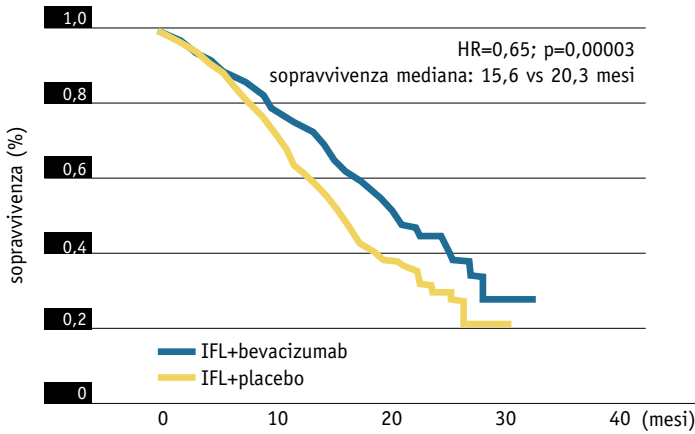


Figura 6
Sopravvivenza mediana

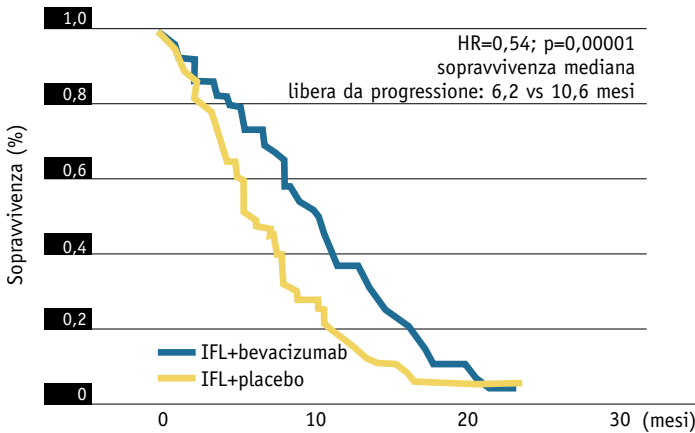


Figura 7
Sopravvivenza libera da progressione

zienti che hanno ricevuto la combinazione di farmaci rispetto al solo FOLFOX. Infine, i risultati preliminari di uno studio di fase II in cui è stato aggiunto bevacizumab all'anticorpo anti-EGFR cetuximab o al cetuximab + CPT-11: il numero delle risposte ottenute sembra molto superiore nei gruppi di pazienti che hanno aggiunto il bevacizumab. Molti trial clinici sono attualmente in corso con bevacizumab associato a diversi regimi chemioterapici sia nella malattia avanzata sia nella fase adiuvante, cioè in pazienti già operati radicalmente.

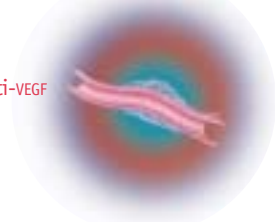
Carcinoma renale

Il carcinoma renale metastatico è un tumore di solito resistente alla chemioterapia che nel migliore dei casi induce solo risposte limitate. Attualmente viene data la preferenza a diverse varietà di immunoterapia, come l'IFN- α e l'IL-2 (Interleuchina-2), ma i miglioramenti che si ottengono nella mediana della sopravvivenza sono di solito modesti. Per la maggior parte dei pazienti affetti da carcinoma renale i vantaggi terapeutici rimangono limitati e sono necessarie nuove opportunità di trattamento.

Nella maggioranza dei pazienti con carcinoma renale si riscontra la perdita di funzione del gene oncosoppressore di von Hippel-Lindau (VHL). Il gene VHL sottopone a regolazione negativa l'mRNA indotto dall'ipossia, compreso l'mRNA del VEGF. In condizioni normali, la proteina VHL sopprime il VEGF legandosi al fattore di trascrizione HIF-1, mentre in caso di ipossia l'HIF-1 non viene degradato e la trascrizione del VEGF viene stimolata, dando luogo all'espressione del VEGF.

Ciò è particolarmente degno di nota dal momento che i ricercatori hanno dimostrato una correlazione tra livelli elevati di VEGF e riduzione della sopravvivenza. Per questo si sta valutando l'impiego di molecole anti-angiogeniche nel trattamento del carcinoma renale.

Uno studio di fase II con l'anticorpo monoclonale bevacizumab su poco più di 100 pazienti non ha però rilevato vantaggi in termini di sopravvivenza. Particolarmente rilevanti sono stati invece i risultati della combinazione di bevacizumab e l'inibitore di tirosina chinasi EGFR erlotinib in pazienti con malattia metastatica. Si è ottenuto un 21% di risposte parziali e un 66% di stabilizzazioni di malattia con sopravvivenza a 1 anno libera da progressione in circa il 50% dei pazienti trattati.



Carcinoma polmonare

NSCLC metastatico

Nel NSCLC la chemioterapia migliora di poco la mediana della sopravvivenza e la sopravvivenza globale è limitata. Solo pochi pazienti riescono a guarire e, fatta eccezione per i tumori più localizzati, l'esito del trattamento standard è sempre scadente. Di conseguenza sono in corso studi clinici che esaminano l'impiego di terapie mirate per il trattamento del NSCLC.

In uno studio di fase II pazienti affetti da NSCLC metastatico sono stati trattati con carboplatino/paclitaxel o con la chemioterapia più bevacizumab. In questo secondo braccio sia il tempo alla progressione che la sopravvivenza globale sono risultati significativamente più lunghi rispetto al braccio con sola chemioterapia.

Gli eventi avversi sono stati lievi e facilmente trattabili, ma 6 pazienti in trattamento con bevacizumab sono andati incontro a un'emottisi grave.

Dopo i risultati positivi del trial di fase II, sono stati presentati all'ASCO 2005 i risultati del trial di fase III. Oltre 850 pazienti affetti da un tumore del polmone di istotipo non squamoso sono stati trattati con carboplatino e paclitaxel o con lo stesso regime più bevacizumab. In questo ultimo gruppo si è registrata una sopravvivenza globale significativamente migliore e una sopravvivenza libera da malattia dopo 2 anni di oltre il doppio rispetto al gruppo che ha praticato solo chemioterapia.

Carcinoma mammario

I risultati degli studi finora condotti con bevacizumab indicano che la malattia metastatica del seno pretrattata e resistente a taxani e antracicline non è la condizione ideale di impiego dell'anticorpo anti-VEGF. L'osservazione che l'influenza relativa del VEGF si riduce con il progredire della malattia, fa ritenere che il bevacizumab possa essere più efficace se usato in fasi meno avanzate della malattia e in pazienti con una massa tumorale ridotta.

Infatti, risultati molto promettenti sono stati presentati all'ASCO 2005 in pazienti affette da neoplasia metastatica della mammella non pretrattate con regimi di polichemioterapia. Oltre 700 donne sono state trattate con solo paclitaxel o con paclitaxel più bevacizumab. L'analisi preliminare dei risultati ha registrato un numero doppio di risposte

e un incremento significativo della sopravvivenza senza progressione di malattia nel gruppo di pazienti che ha ricevuto paclitaxel più bevacizumab.

Carcinoma del pancreas

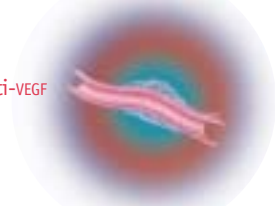
Dati recenti hanno dimostrato che l'associazione di erlotinib e gemcitabina migliora la sopravvivenza rispetto alla gemcitabina in monoterapia. Visto l'elevato tasso di mortalità della malattia i ricercatori continuano a studiare associazioni con nuovi agenti terapeutici. Poiché il VEGF gioca un ruolo chiave nel carcinoma del pancreas, il bevacizumab viene considerato un possibile agente terapeutico.

I risultati degli studi finora condotti hanno registrato una sopravvivenza globale a 1 anno stimata al 29% e complessivamente gli end point sono più favorevoli rispetto a quanto si osserva nei pazienti trattati con la sola gemcitabina, trattamento standard attuale. Ulteriori studi di fase III sono in corso.

La valutazione della risposta terapeutica

Una possibilità è il dosaggio dei fattori angiogenici nei tessuti tumorali, nelle urine e nel plasma prima, durante, e dopo la terapia. Molti studi sono basati sulla misura di singoli regolatori positivi come FGF-2 o VEGF, nel siero o nelle urine di pazienti affetti da tumore. Studi sono in corso per verificare la riproducibilità della misurazione delle cellule endoteliali circolanti (CEC). Nuove tecniche di imaging in radiodiagnostica (RMN, PET ecc.) stanno fornendo importanti risultati per una valutazione dinamica dell'effetto della terapia direttamente sugli organi bersaglio.

L'attività di specifici farmaci antiangiogenici, come gli inibitori delle metalloproteinasi, è strettamente correlata ai livelli dei bersagli biologici che devono essere inibiti, nel caso specifico l'attività delle metalloproteinasi nella matrice tissutale. Diversi studi hanno inoltre dimostrato che la quantificazione intratumorale della densità dei microvasi – densità dei vasi intratumorali, MVD o IVD – è un marker di angiogenesi correlato alla prognosi e all'efficacia dei trattamenti convenzionali nei tumori solidi. A tal scopo sono usati marcatori specifici per le cellule en-



doteliali come VWF, CD-31 (molecola d'adesione alle cellule endoteliali di derivazione piastrinica) e CD-34 o la misura in vivo del flusso sanguigno usando il color doppler o l'NMR.

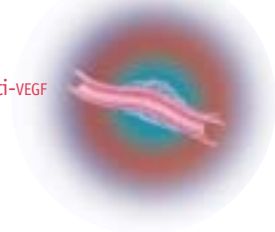
Conclusioni e prospettive

La relativa efficacia di molti chemioterapici è dovuta a problemi di distribuzione, penetrazione nella massa tumorale e a un modesto grado di selettività per le cellule neoplastiche che comporta anche il danneggiamento dei tessuti sani. Le cellule tumorali, inoltre, a causa della loro instabilità genetica, eterogeneità e alto grado di mutazione, danno luogo a resistenza. La terapia basata su composti anti-angiogenici colpisce solo le cellule endoteliali attivate e alcuni farmaci messi a punto solo o principalmente le endoteliali tumorali. Questo approccio presenta molti vantaggi, alcuni dimostrati, altri dimostrabili o teorici; infatti le cellule endoteliali sono diploidi, geneticamente stabili e raramente vanno incontro a mutazioni spontanee provocando resistenza e rendendo inefficace o poco efficace il trattamento. Inoltre il turnover delle endoteliali tumorali può essere fino a 50 volte maggiore rispetto a quello dell'endotelio normale e i vasi attivati esprimono marker specifici aggredibili dai composti anti-angiogenici in modo mirato e selettivo. Dato che questi farmaci sono diretti a colpire le cellule endoteliali attivate, i loro target dovrebbero essere facilmente accessibili attraverso una somministrazione sistemica. Infine, ogni singolo capillare serve più cellule tumorali eterogenee e le cellule dell'endotelio tumorale contribuiscono, mediante liberazione di mediatori specifici, sia alla crescita dell'endotelio stesso che del tumore. Di conseguenza l'endotelio attivato costituisce un bersaglio più specifico delle cellule tumorali e l'inibizione della crescita anche di un piccolo numero di vasi tumorali può avere un effetto antiproliferativo su molte cellule neoplastiche di tipo diverso.

Per quanto riguarda la modulazione della terapia anti-angiogenica per ogni paziente, i maggiori progressi previsti riguardano l'individuazione e la misurazione dei marker correlati al fenomeno angiogenetico. Ma il presente di questo tipo di terapia è la combinazione con i regimi chemioterapici o radioterapici attualmente disponibili. In particolare si utilizza l'effetto aspecifico degli agenti citotossici che comporta anche

l'inibizione dell'angiogenesi. Da questo punto di vista si può ipotizzare che una regolare somministrazione a lungo termine di chemioterapici a basse dosi (metronomic chemotherapy) possa inibire la proliferazione delle cellule endoteliali tumorali e conseguentemente la crescita della neoplasia. Attualmente sono in fase di studio molte combinazioni dei vari farmaci antiangiogenici sia con la chemioterapia sia con la radioterapia. Particolarmente interessanti e promettenti sembrano le associazioni con altri farmaci inibitori di molecole di segnale, con l'obiettivo di bloccare simultaneamente diverse vie di trasduzione che stimolano la crescita tumorale e la disseminazione metastatica. Tale strategia è stata realizzata con successo sia bloccando con due inibitori selettivi l'angiogenesi e un'altra via di segnale (prevalentemente i recettori della famiglia dell'EGFR) sia usando farmaci multibersaglio che bloccano simultaneamente recettori del VEGF e altre proteine di segnale.

I recenti successi dei trial clinici che hanno valutato i composti dotati di attività anti-angiogenetica permettono di guardare con ottimismo all'utilizzo nella pratica clinica di un'arma terapeutica in più per rallentare o bloccare la crescita tumorale. D'altro canto molte sono ancora le questioni rimaste irrisolte, capaci di generare ulteriori interrogativi nel ricercatore, nel clinico e nell'oncologo medico: un quadro dal quale emerge chiaramente da un lato la vitalità di un settore di ricerca costantemente all'avanguardia, dall'altro il convincimento che il lavoro da compiere sia ancora lungo ma foriero di risultati sempre più interessanti.



Bibliografia essenziale

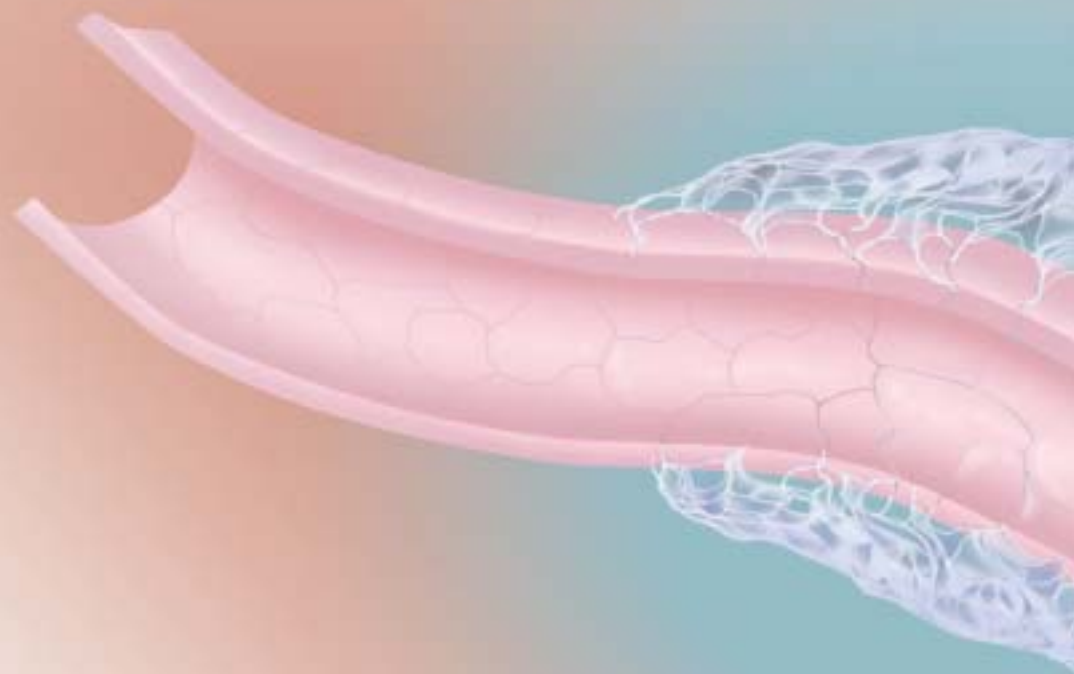
Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med.* 285:1182-1186 (1971).

Kerbel R & Folkman J. Clinical translation of angiogenesis inhibitors. *Nature Rev. Cancer.* 2, 727-739 (2002).

Kerbel RS, Kamen BA. The anti-angiogenic basis of metronomic chemotherapy. *Nat Rev Cancer.* 4:423-36 (2004).

Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, Berlin J, Baron A, Griffing S, Holmgren E, Ferrara N, Fyfe G, Rogers B, Ross R, Kabbinavar F. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *New Engl J Med.* 350:2335-42 (2004).

Sito web dell'ASCO 2005 con tutte le presentazioni disponibili, anche audio e video. http://www.asco.org/ac/1,1003,_12-002803,00.asp





A cura di:

Mauro Boldrini
Sabrina Smerrieri
Sergio Ceccone

Consulenza scientifica:

prof. Roberto Labianca
prof. Giampaolo Tortora

Hanno collaborato:

Daniela Pelicioli, Gino Tomasini,
Carlo Buffoli, Giuliano D'Ambrosio

Intermedia Editore

Healthcare Communication Network

via Malta 12/b - 25124 Brescia
Tel. 030.226105, FAX 030.2420472
imediabs@tin.it

via C. Morin 44 - 00195 Roma
Tel. 06.3723187
intermedia@intermedianews.it
www.medinews.it

Stampa:

Grafica Sette
Bagnolo Mella (BS)

**Consiglio Direttivo
Nazionale AIOM**

Presidente

Roberto Labianca

Presidente Eletto

Emilio Bajetta

Segretario

Carmelo Iacono

Tesoriere

Marco Venturini

Consiglieri

Vincenzo Adamo, Sandro Barni,

Oscar Bertetto, Filippo De

Marinis, Gianfranco Filippelli,

Fausto Roila, Giovanni Rosti,

Vittorina Zagonel



**Associazione
Italiana di
Oncologia Medica**

via Nöe, 23
20133 Milano
tel. 02.70630279
fax 02.2360018

e-mail: aiom.mi@tiscalinet.it
www.aiom.it

Questa pubblicazione è resa possibile
da un educational grant di



Innovazione per la salute



Intermedia editore