
ANGIOGÊNESE NO CARCINOMA COLORRETAL – REVISÃO E PERSPECTIVAS

CLÁUDIO TARTA – TSBCP
CLÁUDIO ROLIM TEIXEIRA
VINÍCIUS DUVAL DA SILVA
CÉSAR CHIELE NETO – TSBCP
JOÃO CARLOS PROLLA
PEDRO GUS – TSBCP

TARTA C; TEIXEIRA CR; DA SILVA VD; CHIELE NETO C; PROLLA JC; GUS P - Angiogênese no carcinoma colorretal – revisão e perspectivas. *Rev bras Coloproct*, 2000; 20(4): 227-230.

RESUMO: Em adição aos sistemas de estadiamento clinicopatológicos comumente utilizados, fatores de risco para a recorrência no carcinoma colorretal têm sido investigados. Entre estes a quantificação da angiogênese e de peptídeos angiogênicos têm demonstrado aplicação clínica na avaliação da sobrevida e recorrência. A angiogênese é o crescimento de novos capilares, estando associada tanto ao desenvolvimento tecidual pré e pós-natal, cicatrização e reprodução como em doenças inflamatórias e neoplasias. Além de permitir o crescimento tumoral, evidências experimentais demonstram que a angiogênese associa-se com o processo metastático, pois maior é a superfície vascular para o escape de células neoplásicas, o que também pode ser facilitado pela imaturidade dos novos vasos. Neste artigo de revisão discute-se o processo de formação de vasos capilares, associado ao crescimento tumoral e ao surgimento de metástases hematogênicas, bem como uma revisão de literatura abordando angiogênese e carcinoma colorretal e o seu papel como um possível alvo terapêutico.

UNTERMOS: Carcinoma colorretal, metástases hematogênicas, angiogênese

No carcinoma colorretal, um dos tumores sólidos mais comuns, fatores de risco para a recorrência, em adição aos sistemas de estadiamento clinicopatológicos comumente utilizados, têm sido investigados. Entre estes, a quantificação da angiogênese e de peptídeos angiogênicos têm demonstrado aplicação clínica na avaliação da sobrevida e recorrência ⁽¹⁾.

A angiogênese é o crescimento de novos capilares ⁽²⁻⁴⁾. É uma etapa essencial no desenvolvimento tecidual pré e pós-natal e também participa na cicatrização, reprodução, doenças inflamatórias e degenerativas, distúrbios metabólicos e neoplasia. A angiogênese associada aos tumores sólidos é um processo em que novos capilares são formados no estroma tumoral a partir de células endoteliais do hospedeiro ^(2,4-6). Isto permite o crescimento do tumor além de 2-3mm, através da perfusão de oxigênio e nutrientes e remoção de metabólitos tóxicos, ao invés da simples difusão no espaço extracelular que mantém o tumor restrito e com uma pequena população celular ⁽²⁾. Evidências experimentais demonstram que a angiogênese também contribui com o processo metastático, pois à medida em que há expansão da vascularização, maior é a superfície para o escape de células tumorais na circulação, o que também pode ser facilitado

pela imaturidade dos novos vasos formados ⁽⁵⁻⁸⁾. Desde a demonstração pioneira por Folkman ⁽⁹⁾, em 1971, o crescimento tumoral é considerado angiogênese-dependente, a partir do isolamento do “fator de angiogênese do tumor”. Desde então, numerosos fatores angiogênicos têm sido identificados e os mais freqüentemente encontrados em tumores são o fator de crescimento fibroblástico básico (bFGF) e o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)⁽¹⁰⁾. Estes são liberados pelas células tumorais, células endoteliais ou pela matriz extracelular. A formação de novos vasos sanguíneos requer a inibição dos fatores inibidores da angiogênese, tais como: trombospodina-1, fator plaquetário 4, inibidores teciduais das metaloproteínas, prolactina, angiostatina, bFGF soluble receptor, fator transformador de crescimento β (TGF- β), interferon α e placentar proliferin-related protein ⁽²⁾.

O papel da angiogênese na progressão do tumor primário e sua associação com metástases hematogênicas e sobrevida tem sido extensamente estudado – principalmente no carcinoma de mama – com a maioria dos estudos publicados em tumores de pulmão, trato gastrointestinal e genitourinário demonstrando associação estatisticamente significativa entre a intensa neovascularização e pior prognóstico ⁽¹¹⁻²⁰⁾.

É de fundamental importância na investigação da angiogênese a metodologia de quantificação microvascular e a seleção de pacientes, com pequenas variações intra e

Trabalho realizado no Curso de Pós-Graduação em Cirurgia e nos Departamentos de Cirurgia e Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS.

inter-observador, permitindo, assim, a comparação de resultados. A partir de secções histológicas em parafina e coradas com hematoxilina-eosina, os microvasos intratumorais (capilares e pequenas vênulas) são identificados por imunohistoquímica. Entre os numerosos anticorpos primários endotélio-específicos disponíveis destacam-se o anticorpo anti-CD 31 que é superior em secções de parafina, com a segunda melhor opção (sensibilidade/especificidade) entre o anti-CD 34, anti-FVIII (fator de Von-Willebrand) e o BW200. Utiliza-se o método de quantificação microvascular introduzido por Weidner et al.⁽¹⁵⁾ e recentemente modificado conforme Consenso Internacional de avaliação da angiogênese em tumores sólidos humanos⁽²¹⁾. A secção histológica é primeiramente analisada em pequeno aumento a fim de identificar áreas com mais intensa neovascularização – as chamadas “hot spots” – que apresentam maior densidade de coloração de tonalidade marrom (anticorpo primário). Nessas áreas, localizadas principalmente na margem tumoral invasiva, realiza-se a contagem microvascular em grande aumento.

No carcinoma colorretal foi encontrada uma associação significativa entre a elevada contagem microvascular e redução da sobrevida por análise univariada em nove estudos retrospectivos⁽²²⁻³⁰⁾. Realizando-se análise multivariada em seis desses estudos, demonstrou-se o valor prognóstico da contagem microvascular em cinco destes. Engel et al.⁽²²⁾ demonstraram que a contagem microvascular elevada, após análise multivariada controlada para o estadiamento de Dukes, associa-se significativamente à recorrência tumoral e ao intervalo de tempo de sua ocorrência.

O primeiro estudo prospectivo realizado em carcinoma colorretal confirmou o valor prognóstico da contagem microvascular, previamente demonstrado em estudos retrospectivos⁽³¹⁾. Nesse estudo, combinado à determinação semiquantitativa da expressão do p53, a contagem microvascular elevada foi associada significativamente à redução de sobrevida e aumento da incidência de metástases hematogênicas, após análise uni e multivariada.

Embora a maioria dos autores tenha demonstrado o valor prognóstico da contagem microvascular em carcinoma colorretal avançado, há alguns resultados discordantes. Bossi et al.⁽³²⁾ não encontraram associação entre contagem microvascular e sobrevida no câncer colorretal, e outro estudo demonstrou uma associação significativa entre a contagem microvascular elevada e maior sobrevida, após análise uni e multivariada⁽³³⁾. As razões para estes achados não são inteiramente compreendidas, mas a metodologia empregada variou consideravelmente do método de contagem microvascular originalmente introduzido por Weidner et al.⁽¹⁵⁾ e recentemente modificado⁽²¹⁾. Banner et al.⁽³⁴⁾ encontraram contagem microvascular mais elevada em pa-

cientes portadores de carcinoma colorretal com maior sobrevida, porém sem associação estatisticamente significativa. Pavlopoulos et al.⁽³⁵⁾, avaliando parâmetros morfométricos da microcirculação, associados à contagem microvascular, encontraram significância prognóstica somente com o padrão de ramificações vasculares e a área vascular total na margem invasiva de carcinomas colorretais avançados.

A angiogênese também é investigada em lesões que antecedem o adenocarcinoma colorretal invasivo, incluindo os adenomas exofíticos e planos. Bossi et al.⁽³²⁾ com o objetivo de determinar o início da angiogênese e o seu papel na progressão tumoral, encontrou contagem microvascular significativamente mais elevada conforme à progressão tumoral: mucosa normal (42 ± 10); adenomas (36 ± 10); mucosa transicional (89 ± 23) e carcinoma colorretal (115 ± 39). Esses achados sugerem que a angiogênese é estimulada precocemente na tumorigênese colorretal, alcançando a máxima intensidade no adenocarcinoma. Esse estudo também demonstrou que a contagem microvascular foi significativamente mais elevada na mucosa transicional, porém esta foi significativamente menor quando comparada ao adenocarcinoma. Possivelmente a angiogênese, a partir de seus mediadores, tenha seu estímulo máximo na superfície tumoral, os quais também são passíveis de difusão aos tecidos adjacentes. Confirmando tal achado, Fox et al.⁽³⁶⁾ encontraram densidade microvascular na margem histológica equivalente à neoplasia em carcinomas colorretais em estágio T3 e T4. Pavlopoulos et al.⁽³⁵⁾ realizando imunohistoquímica em 106 carcinomas colorretais e 17 adenomas excisados endoscopicamente, encontraram contagem microvascular nos carcinomas colorretais em estágio A duas vezes maior em relação aos adenomas; subsequentemente houve um decréscimo com a progressão do estadiamento. Demonstrou-se que a angiogênese não é somente um evento precoce na carcinogênese, mas que alcança seu nível máximo no crescimento tumoral precoce. Um decréscimo similar na contagem microvascular com a progressão tumoral foi previamente demonstrado em modelos experimentais animais. Isto pode refletir a influência de fatores inibidores da angiogênese, inadequação de mecanismos angiogênicos para suportar o rápido crescimento neoplásico ou à gradual redução de necessidades metabólicas tumorais. Aotake et al.⁽³⁷⁾ estudaram a apoptose celular tumoral, proliferação e angiogênese na seqüência adenoma-carcinoma colorretal demonstrando aumento do potencial apoptótico, paralelamente ao incremento da proliferação, em adenomas com baixa displasia, mas diminuído quando adenomas progrediram de baixa displasia a displasia acentuada e câncer. Um incremento gradual da densidade microvascular foi ob-

servado durante a progressão com um aumento durante a transição de baixa displasia a displasia acentuada e câncer. Rubio ⁽³⁸⁾ investigou a associação de colágeno e microvascularização entre 35 adenomas exofíticos e 38 adenomas planos, demonstrando aumento moderado a intenso de colágeno e microvascularização em adenomas, mas ligeiramente aumentados nos adenomas planos.

PERSPECTIVAS

A descoberta do interferon α -2a como droga antiangiogênica levou a sua utilização com sucesso no tratamento de hemangioma pulmonar em uma criança de 7 anos em 1988 ⁽³⁹⁾, incrementando a pesquisa da terapêutica antiangiogênica. Tal abordagem tem sido possível devido ao melhor conhecimento do processo angiogênico e dos fatores que o regulam. Especificamente, o potente fator angiogênico VEGF tem sido intensamente pesquisado e a inibição deste fator ou de seus receptores leva a pronunciados efeitos negativos no desenvolvimento tumoral em experimentos ani-

mais. Apesar destes resultados favoráveis obtidos em estudos animais, é necessário estabelecer se tumores humanos, os quais podem apresentar-se em estado de relativa quiescência, respondem ao tratamento anti-VEGF como tumores de rápido crescimento habitualmente utilizados em experimentos animais ⁽⁴⁰⁾. Drogas anti-angiogênicas estão sendo utilizadas em ensaios clínicos ⁽⁴¹⁾ (tabela 1) e novas gerações de drogas antiangiogênicas potentes tais como a endostatina e angiostatina podem ser utilizadas na regressão tumoral. Esta abordagem parece apresentar melhores resultados quando administrada precocemente no tratamento adjuvante e, preferencialmente, associada à terapêutica citotóxica convencional, necessitando ser administrada a longo prazo (meses ou anos) porque a regressão do leito vascular é um processo mais lento do que a lise celular tumoral. Isto requer monitorização para a toxicidade a longo-prazo (processos fisiológicos normais que necessitam angiogênese podem sofrer alterações, como por exemplo: cicatrização, regeneração endometrial, e a resposta à isquemia cardíaca ou vascular periférica) ^(2,42).

Tabela 1 - AGENTES ANTI-ANGIOGÊNICOS (POTENCIAIS E DE USO CLÍNICO)

Angiostatina	Inibidores da protease (Batimistar, Marimistat)
Fator plaquetário 4	Anticorpos aos fatores angiogênicos específicos
Antagonista receptor aos fatores angiogênicos específicos	Cm 101
Tetraciclinas	Endostatina
Talidomida	Interferons
TNP-470	Inibidores da quinase (suramin, genestein)

Embora seja reconhecido o papel central da angiogênese na progressão do tumor primário e sua relação com metástases hematogênicas, o estágio atual de conhecimento ainda não permite a utilização clínica rotineira da terapêutica antiangiogênica. Porém, entre as diferentes tera-

pêuticas biológicas utilizadas em ensaios clínicos no carcinoma gastro-intestinal – incluindo manipulação hormonal, imunoterapia e terapia gênica – encontram-se perspectivas bastante favoráveis e promissoras em relação ao leito vascular tumoral como um alvo terapêutico importante.

SUMMARY: In addition to clinicopathologic stages usually used, risk factors to recurrency on colorectal carcinoma have been investigated. Among these, angiogenesis quantification and angiogenic peptides have been demonstrated clinical applicability in the assessment of recurrence and survival. Angiogenesis is the growth of new capillars, being associated to pre and post-natal tecidual development, wound healing, reproduction, and also to inflammatory diseases and neoplasia. Besides allowing tumoral growth, angiogenesis has been proved - according to experimental evidences - to be linked to the metastatic process, since it provides a wider vascular surface to release neoplastic cells and this one can be facilitated by imaturity of new vessels. The present article discusses the process of formation of new capillar vessels, associated to tumoral growth and the hematogenic metastasis. It also reviews the literature concerning angiogenesis and colorectal carcinoma and its role as a possible therapeutic target.

KEYWORDS: Colorectal Carcinoma, Metastasis, Angiogenesis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chung YS, Maeda K, Sowa M. Prognostic value of angiogenesis in gastrointestinal tumors. *Eur J Cancer* 1996;32:2501-5.
2. Folkman J. Clinical applications of research on angiogenesis. *N Engl J Med*; 1995;333:1757-1763.
3. Saclarides, TJ. Angiogenesis in colorectal cancer. In *Surg Clin of North America*. New and Controversial Issues in the Management of Colorectal Diseases 1997;77:253-260. Editor: Theodore J. Saclarides.
4. Dickinson AJ, Fox SB, Persad RA, Hollyer J, Sibley GNA, Harris AL. Quantification of angiogenesis as an independent predictor of prognosis in invasive bladder carcinomas. *Br J Urol* 1994;74: 762-6.
5. Liotta LA, Kleinerman J, Saidel GM. Quantitative relationship of intravascular tumor cells, tumor vessels, and pulmonary metastasis following tumor implantation. *Cancer Res* 1974; 34:997-1004.
6. Liotta LA, Kleinerman J, Saidel GM. The significance of hematogenous

- tumor cell clumps in the metastatic process. *Cancer Res* 1976; 36: 889-94.
7. Liotta LA, Steeg PS, Stetler-Stevenson WG. Cancer metastasis and angiogenesis: an imbalance of positive and negative regulation. *Cell* 1991;64:327-336.
 8. Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature* 1989;339:58-61.
 9. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;285:1182-6.
 10. Bresalier RS. The biology of colorectal cancer metastasis. *Gastroenterol Clin NA* 1996;25:805-820.
 11. Bosari S, Lee AKC, Delellis RA, Heatley G, Wiley B, Silverman ML. Microvessel quantitation and prognosis in invasive breast carcinoma. *Hum Pathol* 1992;23:755-61.
 12. Horak E, Leek R, Klenk N, Lejeune S, Smith K, Stuart N, Greenall M, Sptepniewska K, Harris A. Angiogenesis, assessed by platelet/endothelial cell adhesion molecule antibodies, as indicator of node metastasis and survival breast cancer. *Lancet* 1992;340:1120-1124.
 13. Kaldjian E, Jin L, Lloyd R. Immunohistochemical analysis of breast carcinomas: correlation of estrogen and progesterone receptors, proliferative activity, tumor vascularity and lymph node metastasis. *Mod Pathol* 1992;5:14.
 14. Sneige N, Singletary E, Sahin A, El-Naggar A. Multiparameter analysis of potential prognostic factors in node negative breast cancer patients. *Mod Pathol* 1992; 5: 18A.
 15. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis - correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8.
 16. Weidner N, Folkman J, Pozza F, Bevilacqua P, Allred EN, Moore DH, Meli S, Gasparini G. Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84:1875-1887.
 17. Yamazaki K, Abe S, Takekawa H, Sukoh N, Watanabe N, Ogura S, Nakajima I, Isobe H, Inoue K, Kawakami Y. Tumor angiogenesis in human lung adenocarcinoma. *Cancer*, 1994; 74:2245-2250.
 18. Macchiarini P, Fontanini G, Hardin MJ, Squartini F, Angeletti CA. Relation of neovascularization to metastasis of non-small-cell lung cancer. *Lancet* 1992;340:145-6.
 19. Chung, YS, Maeda K, Sowa M. Prognostic value of angiogenesis in gastrointestinal tumors. *Eur J Cancer*, 1996;32:2501-5.
 20. Weidner N. Intratumoral vascularity as a prognostic factor in cancers of the urogenital tract. *Eur J Cancer* 1996;32:2506-2512.
 21. Vermeulen PB, Gasparini G, Fox SB, Toi M, Martin L, McCulloch P, Pezzella F, Viale G, Weidner N, Harris AL, Dirix LY. Quantification of angiogenesis in solid human tumours: an international consensus on the methodology and criteria of evaluation. *Eur J Cancer* 1996; 32:2472-2484.
 22. Engel CJ, Bennett ST, Chambers AF, Doig GS, Kerkvliet N, O'malley FP. Tumor angiogenesis predicts recurrence in invasive colorectal cancer when controlled for Dukes Staging. *Am J Surg Path* 1996;20:1260-5.
 23. Takebayashi Y, Akiyama S-I, Yamada K, Akiba S, Aikou T. Angiogenesis as an unfavorable prognostic factor in human colorectal carcinoma. *Cancer* 1996;78:226-231.
 24. Saclarides T, Speziale N, Elizabeth D, Szeluga DJ, Rubin DB. Tumor angiogenesis and rectal carcinoma. *Dis Colon Rectum* 1994;37:921-6.
 25. Choi HJ, Hyun MS, Jung GJ, Kim SS, Hong SH. Tumor angiogenesis as a prognostic predictor in colorectal carcinoma with special reference to mode of metastasis and recurrence. *Oncology* 1998;55:575-81.
 26. Tomisaki S-I, Ohno S, Ichiyoshi Y, Kuwano H, Maehara Y, Sugimachi K. Microvessel quantification and its possible relation with liver metastasis in colorectal cancer. *Cancer Supplement* 1996;77:1722-8.
 27. Tanigawa N, Amaya H, Matsumara M, Lu C, Kitaoka A, Matsuyama K, Muraoka R. Tumor angiogenesis and mode of metastasis in patients with colorectal cancer. *Cancer Res* 1997;57:1043-6.
 28. Takahashi Y, Tucker SL, Kitadai Y, Koura AN, Bucana CD, Cleary KR, Ellis LM. Vessel counts and expression of vascular endothelial growth factor as prognostic factors in node-negative colon cancer. *Arch Surg* 1997;132:541-6.
 29. Takebayashi Y, Akiyama S, Yamada K, Akiba S, Miyadera K, Sumizawa T, Yamada Y, Murata F, Aikou T. Clinicopathological and prognostic significance of an angiogenic factor, thymidine phosphorylase, in human colorectal carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:1110-17.
 30. Frank RE, Saclarides TJ, Leurgans S, Speziale NJ, Drab E, Rubin DB. Tumor angiogenesis as a predictor of recurrence and survival in patients with node-negative colon cancer. *Ann Surg* 1995;222:695-9.
 31. Vermeulen PB, Van den Eynden GG, Huget P, Goovaerts G, Weyler J, Lardon F, Van Marck E, Hubens G, Dirix LY. Prospective study of intratumoral microvessel density, p53 expression and survival in colorectal cancer. *Br J Cancer*, 1999;79:316-322.
 32. Bossi P, Giuseppe V, Lee AKC, Alfano RM, Coggi G, Bosari S. Angiogenesis in colorectal tumors: microvessel quantitation in adenomas and carcinomas with clinicopathological correlations. *Cancer Res* 1995;55:5049-5053.
 33. Lyndmark G, Gerdin B, Sundberg C, Pahlman L, Bergstrom R, Glimelius B. Prognostic significance of the microvascular count in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 1996;14:461-6.
 34. Banner BF, Whitehouse R, Baker SP, Swanson RS. Tumor angiogenesis in stage II colorectal carcinoma - association with survival. *AJCP* 1998;109:733-7.
 35. Pavlopoulos PM, Konstantinidou AE, Agapitos E, Kavantzias N, Nikolopoulos P, Davaris P. A morphometric study of neovascularization in colorectal carcinoma. *Cancer* 1998;83:2067-2075.
 36. Fox SH, Whalen GF, Sanders MM, Burleson JA, Jennings K, Kurtzman S, Kreutzer D. Angiogenesis in normal tissue-adjacent to colon cancer. *J Surg Oncol* 1998;69:230-4.
 37. Aotake T, Lu C-D, Chiba Y, Muraoka R, Tanigawa N. Changes of angiogenesis and tumor cell apoptosis during colorectal carcinogenesis. *Clin Cancer Res* 1999;5:135-142.
 38. Rubio CA. Differences in angiogenesis and collagenesis between exophytic and flat adenomas of the colorectal mucosa. *Anticancer Res* 1997;17:737-742.
 39. White CW, Sondheimer HM, Crouch EC, Wilson H, Fan LL. Treatment of pulmonary hemangiomas with recombinant interferon alfa-2a. *N Engl J Med* 1989;320:1197-1200.
 40. Leenders WP. Targeting VEGF in anti-angiogenic and anti-tumour therapy: where are we now? *Int J Exp Pathol* 1998;79:339-46.
 41. Ellis LM, Walker RA, Gasparin G. Is determination of angiogenic activity in human tumours clinically useful? *Eur J Cancer* 1998;34:609-618.
 42. Harris AL. Anti-angiogenesis therapy and strategies for integrating it with adjuvant therapy. *Recent Results Cancer Res* 1998;152:341-52.

Endereço para correspondência:

Cláudio Tarta
Rua Mostardeiro, 157 sala 403.
CEP 90430 001. Porto Alegre – RS.
E-mail: tarta@ez-poa.com.br