

Efecto vasodilatador de factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) en arterias de tumores colorrectales

Vasodilator effect of vascular endothelial growth factor (VEGF) on arteries from colorectal tumors

Oscar GARCÍA VILLAR*^{ORCID}, Eduardo FERRERO HERRERO*,
Miriam GRANADO GARCÍA**, Ángel Luis GARCÍA VILLALÓN**

* Servicio de Cirugía General, Aparato Digestivo y Trasplante de Órganos Abdominales. Hospital Universitario "12 de Octubre", Universidad Complutense, Avenida de Córdoba, s/n, 28041 Madrid, España.

** Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, Arzobispo Morcillo 2, 28029 Madrid, España.

Autor de correspondencia:

Ángel Luis García-Villalón.

angeluis.villalon@uam.es

ORCID: 0000-0002-5728-0125

Departamento de Fisiología,

Facultad de Medicina,

Universidad Autónoma de Madrid,

Arzobispo Morcillo 2, 28029

Madrid, España.

Recibido: 20-09-2023

Revisado: 30-09-2022

Aceptado: 17-10-2023

Publicado: 13-11-2023

Conflicto de interés:

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés. Los financiadores no tuvieron ningún papel en el diseño del estudio, ni en la recopilación, análisis o interpretación de datos, en la redacción del manuscrito o en la decisión de publicar los resultados. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Resumen

Para estudiar si el efecto del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) está alterado en las arterias tumorales, se obtuvieron arterias mesentéricas irrigando el tumor y arterias mesentéricas de una región alejada del mismo (controles) de 4 pacientes intervenidos quirúrgicamente por cáncer colorrectal, y se montaron en una preparación para el registro de la contracción isométrica en un baño de órganos. La depolarización del músculo liso vascular mediante una concentración elevada de potasio (100 mM) produjo contracción que fue menor en las arterias del tumor que en las controles. En las arterias contraídas previamente con el análogo del tromboxano U46618, el VEGF (10^{-8} - 10^{-9} M) produjo relajación que fue similar en las arterias del tumor que en las controles. Estos resultados indican que en las arterias de tumores colorrectales la capacidad vasoconstrictora del músculo liso está reducida pero el efecto vasodilatador del VEGF está preservado, lo que puede contribuir a mantener el flujo sanguíneo al tumor durante su crecimiento

Palabras clave: arterias, músculo liso, tumor colorrectal.

Abstract

To study whether the effect of the vascular endothelial growth factor is altered in tumoral arteries, arteries mesenteric arteries supplying blood flow to colorectal tumors, and mesenteric arteries far from said tumors were obtained from 4 patients undergoing colectomy, and these arteries were prepared for isometric tension recording in an organ bath. Depolarization of the vascular smooth muscle with a high concentration of potassium (100 mM) produced contraction which was similar in the arteries from the tumor and in control arteries. After precontraction with the thromboxane analog U46619, VEGF (10^{-8} - 10^{-9} M) produced relaxation which was similar in the arteries from the tumor and in control arteries. These results indicate that in the arteries from colorectal tumors the vasoconstrictor function of the smooth muscle is impaired, but the vasodilator effect of VEGF is preserved, which may contribute to maintaining the blood flow to the tumor during its growth.

Key words: arteries, smooth muscle, colorectal tumor.

Lista de abreviaturas

VEGF factor de crecimiento vascular endotelial



Archivos de Cirugía

Volumen 1:7

© Los autores 2023

ISSN: 3020-2655

Vasodilatación y VEGF en tumores colorrectales

Vasodilatation and VEGF in colorectal tumors

O. GARCÍA VILLAR, E. FERRERO HERRERO, M. GRANADO GARCÍA, Á. L. GARCÍA VILLALÓN

DOI: 10.14679/2328

Introducción

La vascularización de los tumores es un aspecto relevante de la biología y fisiopatología tumoral. El desarrollo de vasos sanguíneos permite que el aporte de flujo sanguíneo al tumor aumente de forma proporcional al crecimiento del mismo, y dicho aumento es una condición necesaria para permitir el desarrollo tumoral. Por otro lado, las arterias que irrigan los tumores presentan alteraciones tanto morfológicas como funcionales. Se ha encontrado que las arterias que irrigan tumores colorrectales presentan una mayor sensibilidad al péptido vasoconstrictor endotelina-1¹, y una menor respuesta vasoconstrictora a la activación de la tirosin kinasa². Estas alteraciones en la respuesta vascular pueden causar diferencias en el aporte de flujo sanguíneo al tumor, que limiten o favorezcan su crecimiento, y en el acceso de los fármacos antineoplásicos a las células tumorales.

El factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) es un factor clave en la angiogénesis. Mediante la unión a sus receptores estimula la formación de nuevos vasos sanguíneos³ durante el desarrollo embrionario⁴, y posteriormente cuando es necesaria la aparición de nuevos vasos, como sucede durante la isquemia⁵. Asimismo, puede tener un importante papel en la fisiopatología del cáncer⁶. Se ha encontrado aumento de la expresión del VEGF en muchos tipos de cáncer, incluyendo gástricos y colorrectales⁷, y este aumento de la expresión se correlaciona con un peor pronóstico⁸. Los inhibidores de este factor se utilizan terapéuticamente para impedir la angiogénesis en el tumor y así detener su crecimiento⁹.

Además de su acción angiogénica, se ha encontrado que el VEGF tiene un efecto vasodilatador en diversos lechos vasculares^{10,11,12}, mediado principalmente por la unión del VEGF a receptores del tipo VEGFR-2 (también llamados KDR o Flk-1)^{13,14,15,16} y por la producción de óxido nítrico y/o prostaglandinas en el endotelio vascular^{14,15,17,18,19}. La vasodilatación producida por el VEGF puede contribuir a corto plazo al aumento de flujo sanguíneo, complementando la formación de nuevos vasos sanguíneos que se produce a más largo plazo. Aunque se ha encontrado que las arterias que irrigan tumores colorrectales presentan cambios en la expresión de los receptores para el

VEGF², no se ha estudiado si la respuesta funcional de las arterias a este factor está alterada.

Material Y Metodos

En este trabajo se utilizaron arterias procedentes de 4 pacientes de adenocarcinomas de colon, 3 varones y una mujer con edades entre 69 y 79 años. El estudio fue aprobado por el Comité Ético y se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes. Se disecaron arterias del pedículo del tumor y arterias mesentéricas de una región vecina pero no afectada por el tumor, que se utilizaron como controles. Estas arterias se cortaron en segmentos de 2 mm de longitud y estos segmentos se montaron en un sistema para el registro de la tensión isométrica en un baño de órganos. Esta técnica consiste en introducir dos alambres por el interior de la luz vascular, uno de los cuales queda fijo y el otro está unido a un transductor de fuerza que registra la fuerza de contracción del músculo liso vascular. El segmento vascular quedaba sumergido en un baño de órganos en solución fisiológica de Krebs-Henseleit a 37°C y equilibrada con O₂ 95% y CO₂ 5%. Los cambios de tensión se registrarán en un ordenador con un sistema de registro PowerLab. Tras montar los segmentos arteriales en el baño de órganos se les aplicaba una tensión pasiva óptima de 2 g separando los dos alambres mediante un tornillo micrométrico, y los segmentos se equilibraron a esta tensión durante 1-1.5 horas en el baño de órganos antes de comenzar los experimentos. Una vez equilibrados los segmentos a la tensión basal de 2 g, se estudió la respuesta contráctil del músculo liso vascular a una concentración elevada de cloruro potásico (100 mM). Después de lavar el cloruro potásico, los segmentos se precontraían con el análogo del tromboxano A₂ U46619 para proporcionarles tono activo, y a continuación se añadirá VEGF al baño en concentraciones crecientes (10⁻⁹–10⁻⁸ M). La relajación al VEGF se calculó como el porcentaje del tono activo producido por el U46619, y la relajación al VEGF y la contracción al cloruro potásico se expresaron como la media +- el error standard. Las diferencias entre las arterias del tumor y las controles en la contracción al cloruro potásico o en la relajación al VEGF se analizaron mediante la t de Student no pareada siendo significativa una P<0.05.

Resultados

La activación del músculo liso vascular con cloruro potásico 100 mM produjo contracción que fue menor en las arterias de los tumores que en las controles ($P < 0.05$) (Figura 1). La precontracción con el análogo del tromboxano U46619 produjo

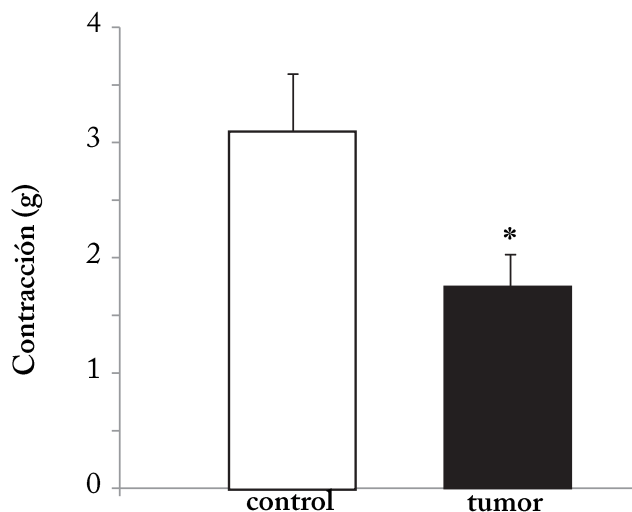


Figura 1. Contracción al cloruro potásico (100 mM) en arterias mesentéricas obtenidas de 4 pacientes con tumor colorrectal, irrigando el tumor (9 segmentos) u obtenidas de los mismos pacientes de una región alejada del tumor (control, 8 segmentos).

* Diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$). Los valores representan la media \pm el error standard.

Discusion

Los resultados indican que la función de los vasos sanguíneos irrigando los tumores colorrectales puede estar parcialmente alterada. En este estudio se ha encontrado que la contracción a una concentración elevada de potasio estaba reducida en las arterias del tumor comparado con las arterias controles. El potasio produce contracción depolarizando directamente la membrana de las células de músculo liso, independientemente de los mecanismos mediados por receptores, por tanto este resultado indica una disminución de la capacidad contráctil del músculo liso vascular. Las arterias que irrigan tumores gástricos, de colon o de páncreas presentan una progresiva disminución de la cantidad de músculo liso en su pared al acercarse al interior del tumor²⁰. Esta disminución de la cantidad de músculo liso y del grosor de la capa media se ha

un tono activo que fue semejante en las arterias de los tumores (3,9 \pm 0,7 g) que en las controles (4,9 \pm 0,9 g), y el VEGF produjo en los segmentos precontraídos una relajación que fue mayor con la concentración de 10^{-9} M que con la de 10^{-8} M, y que no fue diferente en las arterias de los tumores que en las controles (Figura 2).

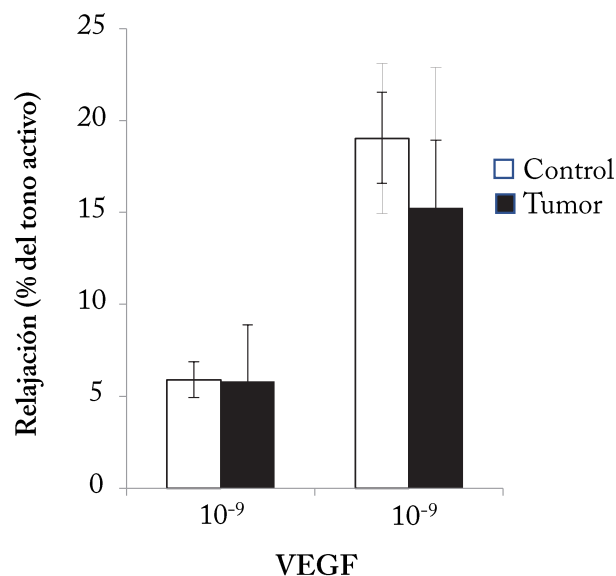


Figura 2. CRelajación al VEGF (10^{-9} – 10^{-8} M) de arterias precontraídas con U46619, en arterias mesentéricas obtenidas de 4 pacientes con tumor colorrectal, irrigando el tumor (9 segmentos) u obtenidas de los mismos pacientes de una región alejada del tumor (control, 8 segmentos). Los valores representan la media \pm el error standard

observado también en las arterias que irrigan tumores hepatocelulares, incluso en segmentos distantes al tumor²¹. Asimismo, la contracción a la activación de la tirosin quinasa está disminuida en arterias de tumores colorrectales². Por el contrario, la contracción a la noradrenalina² o la endotelina-1¹ no está reducida. Por consiguiente, en las arterias de los tumores parece existir una alteración de los mecanismos contráctiles, pero que es compensada por una hipersensibilidad de los receptores a los agentes vasoconstrictores.

En los segmentos vasculares precontraídos el VEGF produjo relajación dependiente de la dosis, tanto en las arterias del tumor como en los controles. El VEGF produce vasodilatación en la circulación coronaria humana²², de cerdo²³ o rata²⁴, en la circulación placentaria humana²⁵, en arterias pulmonares bovinas²⁶ y en arterias mamarias y radiales

humanas^{27,28}, y esta relajación puede estar mediada por la producción de óxido nítrico y/o prostaglandinas en el endotelio vascular^{12,13,15}. En el presente estudio, la relajación fue semejante en las arterias del tumor que en las controles. Asimismo, la relajación mediada por el endotelio a la bradiquinina tampoco está alterada en estas arterias². Por consiguiente, la disfunción del músculo liso en las arterias del tumor no afecta a la relajación mediada por el endotelio.

El efecto vasodilatador del VEGF puede estar mediado por los receptores del subtipo VEGFR2/KDR en el endotelio vascular^{13,14,15,16}. En un estudio previo se encontró que la expresión génica de este subtipo estaba reducida en las arterias del tumor, pero por el contrario, su expresión proteica estaba aumentada en estas arterias². Este aumento del receptor endotelial

puede compensar la alteración del músculo liso vascular, y mantener el efecto vasodilatador en las arterias del tumor. Esto permitiría que el tumor mantenga un aporte sanguíneo suficiente para su crecimiento.

Conclusion

Los resultados de este trabajo indican que la función vasoconstrictora del músculo liso está reducida en las arterias que irrigan los tumores colorrectales. En cambio, el efecto vasodilatador del VEGF está preservado en estas arterias, lo que puede contribuir al desarrollo del tumor manteniendo el aporte sanguíneo.

Descargo de responsabilidad/Nota del editor

Las declaraciones, opiniones y datos contenidos en todas las publicaciones pertenecen exclusivamente a los autores y colaboradores individuales y no al MDPI (Instituto Multidisciplinario de Publicaciones Digitales) ni a los editores. MDPI y/o el(los) editor(es) declinan toda responsabilidad por cualquier daño a personas o propiedad que resulte de cualquier idea, método, instrucción o producto mencionado en el contenido.

Materiales complementarios

La siguiente información de apoyo se puede descargar en: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/ijms24076453/s1>: Conjuntos de datos y transferencias Western originales (WB).

Contribuciones de los autores

Conceptualización, E.F.H. y A.L.G.V.; metodología, E.F.H. y A.L.G.V.; análisis formal, E.F.H., A.L.G.V. y O.G.V.; investigación, E.F.H., A.L.G.V., O.G.V. y M.G.G.; recursos, E.F.H. y A.L.G.V.; obtención de datos, O.G.V. y A.L.G.V.; redacción-preparación del borrador original, O.G.V., E.F.H. y A.L.G.V.; redacción-revisión y edición, O.G.V., E.F.H. y A.L.G.V.; supervisión, E.F.H., A.L.G.V., M.G.G.; adquisición de fondos, E.F.H. y A.L.G.V.

Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Financiación

Este trabajo ha sido financiado por subvenciones aportadas por los P.I. de

FIS PI050494 del Programa de Investigación Biomédica y en Ciencias de la Salud del Ministerio de Sanidad y Consumo 2005; MMI013/2004; MMI 0141/2005; MMI 142/2006; MMI 0343/2007 y MMI 5724/2009) para "Efectos del factor de creci-

miento vascular (VEGF) en arterias humanas de tumores colorrectales" y del Grupo de Investigación en Neoplasia Colorrectal (INVESCOL) (E.F.H.) (ref. 911644/2008, 911644/2010, 911644/2014 y 911644/2017, ref. UCM-GR17.911644).

Declaración de la Junta de Revisión Institucional

El estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid, con referencias de aprobación-código del CEI 08/146 del HU12O, en relación al estudio de investigación "Efectos del factor de crecimiento vascular (VEGF) en arterias humanas de tumores colorrectales" (I.P.: E.F.H.) y en la realización del P.I. de la Tesis Doctoral (O.G.V.), dirigida por E.F.H. y M.G.G.: "Papel del VEGF en la actividad vascular y en el tejido adiposo peritumoral en el carcinoma colorrectal".

Declaración de consentimiento informado

Se obtuvo el consentimiento informado de todos los sujetos involucrados en el estudio.

Declaración de disponibilidad de datos

Los conjuntos de datos, análisis estadístico y resultados globales finales del estudio original se resumen como archivos de información complementaria en Tesis en acceso abierto en: Docta Complutense (pdf), Materias UCM: Oncología, Medicina Interna; Materias Unesco: 3201.01 Oncología, 3205 Medicina Interna, URI <https://hdl.handle.net/20.500.14352/21805> y en Dyalnet.

Agradecimientos.

Los autores desean agradecer el apoyo editorial brindado por Ed. Dikynson (info@dikynson.com), en especial a David Martin y Diana Martin y el apoyo que abrió el camino investigador brindado por María Labalde Martínez.

1. Ferrero E, Labalde M, Fernández N, Monge L, Salcedo A, Narvaez R, et al.
2. Response to endothelin-1 in arteries from human colorectal tumours: Role of endothelin receptors *Exp Biol Med* 2008;233:1602-1607.
3. Ferrero E, Mauricio MD, Granado M, García-Villar O, Aldasoro M, Vila JM, et al. Tyrosine phosphorylation modulates the vascular responses of mesenteric arteries from human colorectal tumors *Biomed Res Int* 2013;313:2-8.
4. Ferrara N, Gerber H-P, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nature Medicine*. 2003;9:669-676.
5. Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, Pollefeyt S, Kieckens L, Gertsenshtein M, et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* 1996;380: 435-439.
6. Banai S, Jacklitach MT, Shou M, Lazarous DF; Scheinowitz M, Biro S, et al. Angiogenic-induced enhancement of collateral blood flow to ischemic myocardium by vascular endothelial growth factor in dogs. *Circulation* 1994;89:2183-2189.
7. Rapisarda A, Melillo G. Role of the VEGF/VEGFR Axis in Cancer Biology and Therapy *Advances in Cancer Research*, 2012;114:237-267.
8. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev*. 1997;18:4-25.
9. Hicklin D, Ellis L. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *J. Clin. Oncol*. 2005;23:1011-1027.
10. Rosen LS. VEGF-targeted therapy: Therapeutic potential and recent advances. *The oncologist*. 2005;10:382-391.
11. Stormont JM, Meyer M, Osol G. Estrogen augments the vasodilatory effects of vascular endothelial growth factor in the uterine circulation of the rat. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:449-453.
12. Ku DD, Zaleski JK, Liu SY, Brock TA. Vascular endothelial growth factor induced EDRF-dependent relaxation in coronary arteries. *Am J Physiol* 1993;256:H586-H592.
13. Ashrafpour H, Huang N, Neligan PC, Forrest CR, Addison PD, Moses MA, et al. Vasodilator effect and mechanism of action of vascular endothelial growth factor in skin vasculature. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;286:H946-H954.
14. He H, Venema VJ, Gu X, Venema RC, Marrero MB, Caldwell RB. Vascular endothelial growth factor signals endothelial cell production of nitric oxide and prostacyclin through Flk.1/KDR activation of c-Src. *J Biol Chem*. 1999;274:25130-25135.
15. Wei W, Jin H, Chen ZW, Zioncheck TF, Yim AP, He GW. Vascular endothelial growth factor-induced nitric oxide- and PGI2-dependent relaxation in human internal mammary arteries: a comparative study with KDR and Flt-1 selective mutants. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2004;44:615-621.
16. Li B, Ogasawara AK, Yang R, Wei W, He G-W, Zioncheck TF, et al. KDR (VEGF receptor-2) is the major mediator for the hypotensive effect of VEGF. *Hypertension* 2007;39:1095-1100.
17. Lim S, Zhang Y, Zhang D, Chen F, Hosaka K, Feng N, et al. VEGFR2-mediated vascular dilation as a mechanism of VEGF-induced anemia and bone marrow cell mobilization. *Cell Rep*. 2014;9:569-580.
18. Lopez JJ, Laham RJ, Carrozza JP, Tofikujji M, Selke F, Bunting S, et al. Hemodynamic effects of intracoronary VEGF delivery: evidence of tachyphylaxis and NO dependence response. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1997;273:H1317-H1323.
19. Hein TW, Rosa RH Jr, Ren Y, Xu W, Kuo L. VEGF receptor-2-linked PI3K/calpain/SIRT1 activation mediates retinal arteriolar dilations to VEGF and shear stress. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56:5381-5389.
20. Thengchaisri N, Lih Kuo L, Hein TW H2O2 Mediates VEGF- and Flow-Induced Dilations of Coronary Arterioles in Early Type 1 Diabetes: Role of Vascular Arginase and PI3K-Linked eNOS Uncoupling *Int J Mol Sci* 2022; 24:48.
21. Yaegashi H, Takahashi T. Encasement and other deformations of tumor-embedded host arteries due to loss of medial smooth muscles. Morphometric and three-dimensional reconstruction studies on some human carcinomas. *Cancer*. 1990;65(5):1097-1103.
22. Suzuki M, Takahashi T, Sato T. Medial regression and its functional significance in tumor-supplying host arteries. A morphometric study of hepatic arteries in human livers with hepatocellular carcinoma. *Cancer*. 1987;59(3):444-50.
23. Metais C, Jianyi LI, Jian LI, Simons M, Sellke FW. Effects of coronary artery disease on expression and microvascular response to VEGF. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 1998;275:H1411-H1418.
24. Sellke FW, Wang SY, Stamler A, Lopez JJ, Li J, Li, Simons M. Enhanced microvascular relaxations to VEGF and bFGF in chronically ischemic porcine myocardium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 1996;271:H713-H720.
25. LeBlanc AJ, Shipley RD, Kang LS, Muller-Delp JM. Age impairs Flk-1 signaling and NO-mediated vasodilation in coronary arterioles, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008;295:H2280-H2288.



26. P. Brownbill P, McKeeman GC, Brockelsby JC, Crocker IP, Sibley CP. Vasoactive and permeability effects of vascular endothelial growth factor-165 in the term in vitro dually perfused human placental lobule. *Endocrinology* 2007;148:4734–4744.
27. Jacobs ER, Zhu D, Gruenloh S, Lopez B, Medhora M. VEGF-induced relaxation of pulmonary arteries is mediated by endothelial cytochrome P-450 hydroxylase. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2006;291:L369–L377.
28. Liu MH, Jin H, Floten HS, Ren Z, Yim AP, He GW. Vascular endothelial growth factor-mediated, endothelium-dependent relaxation in human internal mammary artery. *AnnThoracic Surg* 2002;73:819824.
29. Wei W, Chen ZW, Yang Q, Jin H, Furnary A, Yao WQ, et al. Vasorelaxation induced by vascular endothelial growth factor in the human internal mammary artery and radial artery. *Vasc Pharmacol*, 2007;46:253–259.