

Conceptos Básicos en Angiogénesis Tumoral

Basic Concepts in Tumor Angiogenesis

Ignacio Roa*

ROA, I. Conceptos básicos en angiogénesis tumoral. *Int. J. Med. Surg. Sci., 1(2):129-138, 2014.*

RESUMEN: La transformación de células normales hacia cancerosas engloba una compleja serie de eventos, tales como alteraciones genéticas, ciclos celulares aberrantes, alteraciones en el fenotipo y en la adhesión celular, inhibición de la apoptosis y generación de nuevos vasos sanguíneos. Este proceso está controlado por factores que lo promueven y factores que lo inhiben, y el balance entre estos factores determina su avance, agresividad y pronóstico. La presente revisión nos muestra aspectos básicos en el proceso de angiogénesis tumoral.

PALABRAS CLAVE: Angiogénesis; Vasos sanguíneos; Células endoteliales; VEGF; Cáncer.

INTRODUCCIÓN

Actualmente han sido propuestos diez marcadores o sellos del cáncer (hallmarks of cancer), los cuales constituyen un principio de organización que proporciona un marco para la comprensión de la gran diversidad de enfermedades neoplásicas. Cada uno de estos hallmarks, indica como las células normales pueden evolucionar progresivamente a un estado neoplásico, adquiriendo alguno de estos sellos, los cuales ayudarán a las células cancerosas a adquirir las características que les permitan ser tumorigénicas y malignas en última instancia, dentro de estos importantes hallmarks se encuentra la inducción de la angiogénesis (Hanahan & Weinberg, 2011).

El crecimiento de los tumores sólidos y la formación de metástasis posteriores dependen de la generación de nuevos vasos sanguíneos; es así como las células tumorales poseen la capacidad de inducir este proceso, al producir numerosos factores proangiogénicos, dentro de los cuales se encuentra el Factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) (Gavalas *et al.*, 2013), siendo este el principal objetivo de las terapias antiangiogénicas actuales (Venkatesan *et al.*, 2011).

Angiogénesis

La angiogénesis (AG) es descrita como el proceso por el cual se forman nuevos vasos sanguíneos a partir de otros ya existentes. En donde las células endoteliales (CEs), migran y proliferan, organizándose hasta formar estructuras tubulares que eventualmente se unirán, para finalmente madurar en vasos sanguíneos estables (Fakhejehani & Toi, 2012).

Esta neoformación vascular es importante durante la progresión tumoral, en efecto, algunos tumores, especialmente los sólidos, inducen la formación de vasos sanguíneos que posteriormente promoverán su crecimiento mediante el suministro de nutrientes, oxígeno y la eliminación de residuos; además de ayudarlos en su proceso de invasión (metástasis). No solo existe proliferación persistente de CEs durante el cáncer, sino que en otros procesos patológicos como artritis reumatoide, psoriasis, retinopatía proliferativa además de presentarse durante eventos fisiológicos, tales como el ciclo reproductivo de la mujer y la cicatrización de heridas (Carmeliet, 2005).

* Unidad de Histología y Embriología, Departamento de Ciencias Básicas Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca, Chile.

La angiogénesis es regulada principalmente por las células tumorales, aunque se ha visto que distintos elementos celulares o del medio tumoral tienen un importante rol (Mittal *et al.*, 2014); tales como macrófagos y células endoteliales y mediadores químicos como factor inducible por hipoxia (HIF-1), Fibronectina, tenascina-C y ARN (miRNA), además de otras respuestas relacionadas al microentorno como hipoxia y actividad paracrina (Rodríguez *et al.*, 2013).

Evidencia reciente indica la existencia de cuatro mecanismos involucrados en la AG, dos que se establecen durante AG normal y dos en la tumoral, que estarían implicados en distintos momentos en el proceso tumoral, durante el crecimiento y remodelación de los vasos sanguíneos. Estos mecanismos son: la ramificación (forma-

ción de brotes) en la cual los vasos sanguíneos se dividen dicotómicamente formando nuevos vasos y la intususcepción en la cual la pared del vaso se invagina formando un tabique luminal y ramificaciones nuevas (Fig. 1). En la AG tumoral por su parte, las células tumorales (CT) se mimetizan adoptando un fenotipo endotelial formando una red vascular, fenómeno conocido como mimetismo. Por otro lado, la coopción se caracteriza por la habilidad de crecimiento del tumor hacia lechos vasculares preexistentes (De Spiegelaere *et al.*, 2012) (Fig. 2).

Factores pro y anti angiogénicos

La AG normalmente es regulada por factores pro y antiangiogénicos. Es aquí donde juega un rol importante el término "interruptor angiogénico" (*angiogenic switch*), el cual se re-

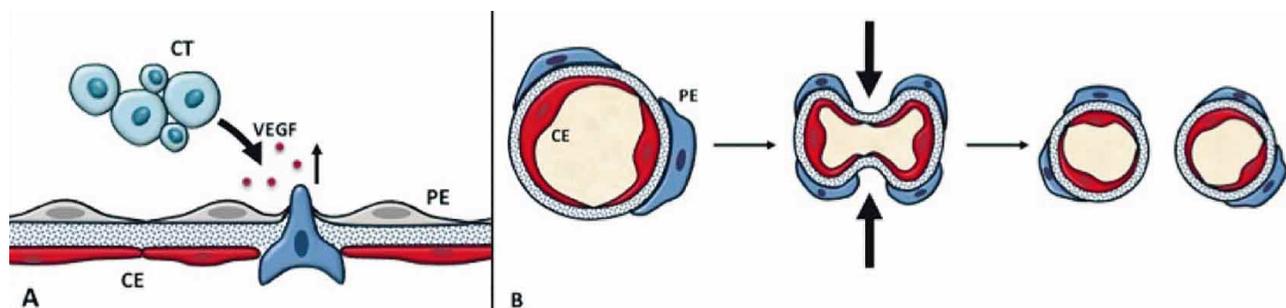


Fig. 1. Métodos conocidos de formación de vasos sanguíneos en tejidos normales y tumores, la formación de vasos puede ocurrir por ramificación (1A) o por un proceso de separación del vaso conocido como intususcepción (1B). Células tumorales (CT); pericito (PE); célula endotelial (CE) (Modificados de Spannuth *et al.*, 2008; Carmeliet & Jain, 2011 y De Spiegelaere *et al.*, 2012).

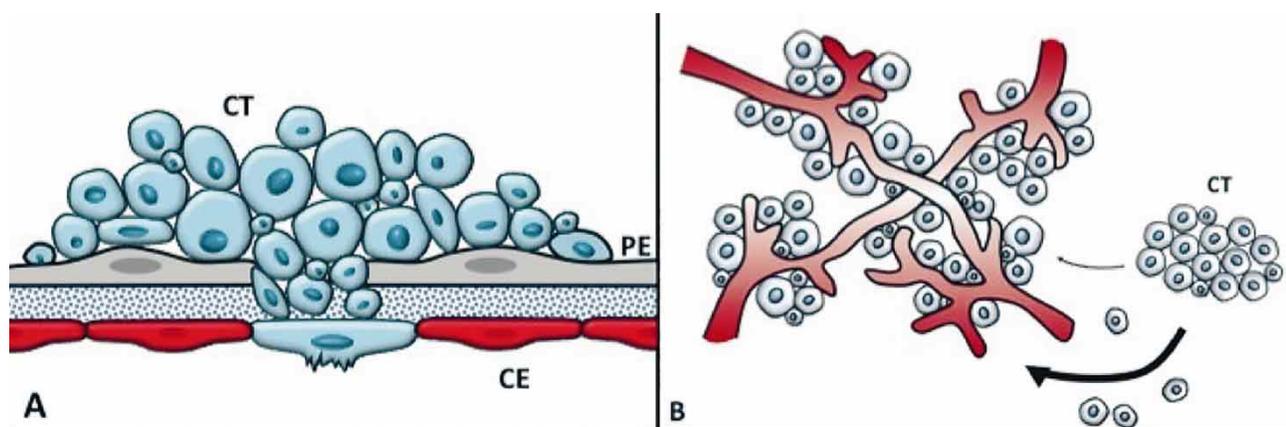


Fig. 2. Métodos conocidos de formación de vasos sanguíneos en tumores, donde las células tumorales pueden adoptar forma de células endoteliales, proceso llamado mimetismo (2A) o bien las células tumorales pueden crecer hacia vasos pre-existentes, proceso llamado coopción (2B). Células tumorales (CT); pericito (PE); célula endotelial (CE) (Modificados de Spannuth *et al.*, 2008; Carmeliet & Jain, 2011 y De Spiegelaere *et al.*, 2012).

fiere a un evento de tiempo limitado durante la angiogénesis en el cual existe un equilibrio entre los factores pro y antiangiogénicos, por lo cual un desequilibrio a favor de los factores pro o antiangiogénicos, inducirá o inhibirá este proceso (Baeriswyl & Christofori, 2009).

Inhibidores endógenos de la angiogénesis

Los inhibidores endógenos corresponden a un grupo de péptidos anti-angiogénicos, metabolitos de hormonas y moduladores de apoptosis, los cuales inhiben la AG y que permiten en conjunto con las moléculas proangiogénicas, que ocurra el "balance angiogénico" en nuestro organismo (Bergers & Benjamin, 2003; Eichhorn *et al.*, 2007). Se ha postulado que las neoplasias primarias tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de las lesiones metastásicas a través de la producción de inhibidores de AG derivados de tumores, como endostatinas y vasostatinas (Li *et al.*, 2001).

Existen dos clases de inhibidores de AG: aquellos derivados de matriz y aquellos que no lo son (Nyberg *et al.*, 2005), dentro de los primeros encontramos a los canstatinas, arrestenos, fragmentos de fibronectina, endorrepelinas, fibulinas, trombospondinas, tumstatinas y una de las más estudiadas, las endostatinas (derivadas del colágeno tipo XVIII), que interfieren con la transducción de señal inducida por el Factor de crecimiento de fibroblastos 2 (FGF-2), bloquea la movilidad de las CEs, induce apoptosis, causa arresto de CEs en la fase de G1 a través de la inhibición de la ciclina D1, además de bloquear la vía de señalización mediada por VEGF y bloquea la activación de c-Jun inducida por el factor de necrosis tumoral (TNF) (Cook & Figg, 2010).

También se ha investigado que la endostatina genera una "regulación hacia abajo" (*downregulation*) de muchas cascadas de señal en el endotelio microvascular humano asociado a actividad pro-angiogénica y al mismo tiempo genera una "regulación hacia arriba" (*upregulation*) de muchos genes anti-angiogénicos. Además de afectar eventos de señalización que no están asociados con AG, demostrando la importancia de la "comunicación cruzada" (*cross talking*) en una intrincada red de señales (Folkman, 2006).

Factores proangiogénicos

Por su parte, un factor proangiogénico es una molécula que puede alterar en forma selectiva a las CEs y estructuras perivasculares asociadas con el fin de promover la formación de nuevos vasos sanguíneos (Schalper *et al.*, 2003). El principal factor angiogénico es el VEGF (Yancopoulos *et al.*, 2000), además de éste existen distintas moléculas implicadas en la regulación positiva de la AG, incluyendo al factor de crecimiento de fibroblástico ácido y básico (aFGF y bFGF), factor de crecimiento transformante alfa y beta (TGF-a y TGF-b), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), factor de necrosis tumoral alfa (TNF-a), angiogenina, interleucina 8 (IL-8) y las angiopoyetinas 1 y 2 (Ang-1 y 2), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), VEGF derivado de la glándula endocrina (EGVEGF), leptina, las prostaglandinas, lípidos, entre otros. Algunos de ellos como el TGF-a y bFGF, actúan al menos en parte, en la regulación de la expresión del VEGF (Gacche & Meshram, 2014).

Factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF)

La familia VEGF está conformada por seis citoquinas: VEGFA, B, C, D, E, y el factor de crecimiento placentario (PGF o PLGF), así como de sus respectivos receptores (VEGFRs), entre los cuales encontramos: VEGFR1 y 2 (Goel & Mercurio, 2013). Son los factores más críticos en la regulación de los procesos de vasculogénesis, AG y linfangiogénesis (Tabla I).

VEGF-A: Es un regulador esencial para la vasculogénesis y AG, ya que promueve la división celular y migración de las CEs; es el principal miembro y más estudiado de esta familia, se une tanto al VEGFR-1 como al VEGFR-2 y puede inducir heterodímeros entre estos dos receptores (Veikkola *et al.*, 2000). Hasta el momento se han reportado seis isoformas del VEGF en seres humanos (Partanen & Paavonen, 2001; Ferrara *et al.*, 2003). Las isoformas del VEGF-A incrementan la permeabilidad vascular, estimulan la proliferación y migración de ECs, proveen a dichas células señales de supervivencia y antisenescencia junto a neuroprotección en desordenes isquémicos (Dvorak, 2005). El VEGF-A₁₆₅ es la isoforma más común y predomina

Tabla I. Subtipos de VEGFs, receptores y funciones.

Subtipo de VEGF	Receptor	Mecanismo de acción
VEGF-A	VEGFR-1, VEGFR-2, neuropilina-1	Fundamental en vasculogénesis y angiogénesis.
VEGF-B	VEGFR-1	Factor de supervivencia para células endoteliales, células musculares lisas vasculares y pericitos.
VEGF-C	VEGFR-2, VEGFR-3	Esencial para linfangiogénesis y angiogénesis patológica.
VEGF-D	VEGFR-2, VEGFR-3	Promueve la metástasis linfática e induce angiogénesis.
VEGF-E	VEGFR-2	Efecto mitogénico de células endoteliales e induce la angiogénesis.
PGF	VEGFR-1, neuropilina-1	Promueve la supervivencia de las células endoteliales y modula la actividad de señalización de VEGFA.

minante, VEGF-A₁₄₅ y VEGF-A₁₈₃ son las variantes menos frecuentes. El VEGF-A₁₆₅, tiene la capacidad de unirse al VEGFR-2 y a neuropilina 1 (NRP-1), aunque es aproximadamente hasta 10 veces, más afín al receptor VEGFR-2 (Shibuya, 2001).

VEGF-B: Es un ligando para VEGFR-1 y NRP-1. Se expresa en distintos tejidos humanos normales, principalmente en el miocardio en desarrollo, además de tumores benignos y malignos (Partanen & Paavonen). También actúan como factor de supervivencia para las CEs, células musculares lisas presentes en los vasos y pericitos (Oklu *et al.*, 2010).

VEGF-C: Esencial durante la linfangiogénesis y en tumores humanos, su expresión se ha correlacionado con el desarrollo de la metástasis linfática (Ohta *et al.*, 2003). Tanto las formas maduras del VEGF-C como las parcialmente procesadas se unen al VEGFR-3 con gran afinidad, mientras que solo las formas completamente procesadas se unen al VEGFR-2. Este factor estimula la migración y proliferación de ECs; su unión al VEGFR-3 regula la señalización del VEGFR-2 actuando de manera sinérgica con el VEGF-A. Además, está asociado a las células neuroendocrinas (NE) aunque sin participación aparente en el desarrollo de la vasculatura del sistema neuroendocrino (Partanen & Paavonen).

VEGF-D: Es un mitógeno para las ECs y un ligando para VEGFR-2 y VEGFR-3. Este factor es un compuesto linfangiogénico de menor potencia que el VEGF-C. Al igual que el VEGF-C, esta proteína se encuentra asociada con las células NE (Partanen & Paavonen). Promueve

la metástasis linfática en modelos tumorales experimentales de ratón. La expresión de este ha demostrado ser un indicador de mal pronóstico para el carcinoma de endometrio (Yokoyama *et al.*, 2003).

VEGF-E: Este miembro de la familia del VEGF se une y activa específicamente al VEGFR-2 (Shibuya, 2001), resultando en un efecto mitogénico y en actividad de permeabilidad vascular similar al producido por el VEGF-A₁₆₅ (Zhu & Witte, 1999). Además, induce la expresión del factor tisular (TF) y la AG (Matsumoto & Claesson-Welsh, 2001).

PGF: Al igual que VEGFB, promueve la supervivencia de las CEs y modula la actividad de señalización de VEGFA (Adini *et al.*, 2002).

Receptores VEGF

Los receptores de la familia VEGF pertenecen a una subfamilia de receptores tirosina-kinasa transmembrana de la clase III (TKs; RTKs) que se expresan en altos niveles en las CEs. Existen tres tipos de receptores para VEGF (VEGFRs); VEGFR1 regula negativamente la AG mediante la modulación de la actividad de VEGFR2. VEGFR1 es requerida para el normal desarrollo y ensamblaje de angioblastos en los vasos sanguíneos (Kaplan *et al.*, 2005).

VEGFR2 se expresa principalmente en las CEs activas y sus precursores embrionarios, además es necesario para diferenciación de los angioblastos durante la vasculogénesis, mientras que VEGFR3 es predominantemente expresada en endotelio linfático (Mäkinen *et al.*, 2001). Células progenitoras hematopoyéticas

expresan VEGFR1 y precursores de CE expresan VEGFR2 son ambos implicados en la promoción de la vascularización de los tumores primarios (Kaplan *et al.*).

Todas las isoformas del VEGF son capaces de unirse a alguno de estos tres receptores: VEGFR-1 (Flt-1), VEGFR-2 (KDR o Flk-1) (Partanen & Paavonen) o VEGFR-3 (Flt-4) (Veikkola *et al.*; Ferrara, 2002). Además, algunos VEGFs que se unen al VEGFR-1 o VEGFR-2 también pueden unirse a co-receptores como las neuropilinas (NRPs) (Ferrara). Al igual que otros RTKs, los VEGFRs se dimerizan y experimentan trans-autofosforilación con la unión al ligando, desencadenando una cascada de señalización fosforilando distintas proteínas, como la proteína quinasa-C (PKC), fosfolipasa C-gamma (PLC-g), fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K), sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS) y el blanco de rapamicina en mamíferos (mTOR),

regulando mecanismos involucrados en AG, activados por el VEGF (Dvorak).

El fenómeno AG se lleva a cabo principalmente por los siguientes pasos; unión de la molécula señal, VEGF a un receptor de membrana de ECs (VEGFR1 Flt-1), lo cual promueve la fosforilación de su respectivo receptor. Como consecuencia de esta fosforilación, se activan varias rutas intracelulares: a) la vía de señalización MEK/ERK, que media la proliferación de células endoteliales; b) una cascada en la que interviene la activación de quinasa de adhesión focal (FAK), que media la reorganización del citoesqueleto y la migración celular; c) la vía fosfoinositol 3-quinasa (PI3K), que media la supervivencia de las células, y d) activación de la fosfolipasa C- γ (PLC- γ), que regula la permeabilidad vascular y la proliferación celular (Fig. 2) (Oklu *et al.*; Carmeliet & Jain, 2011; Fan *et al.*, 2012) (Fig. 3).

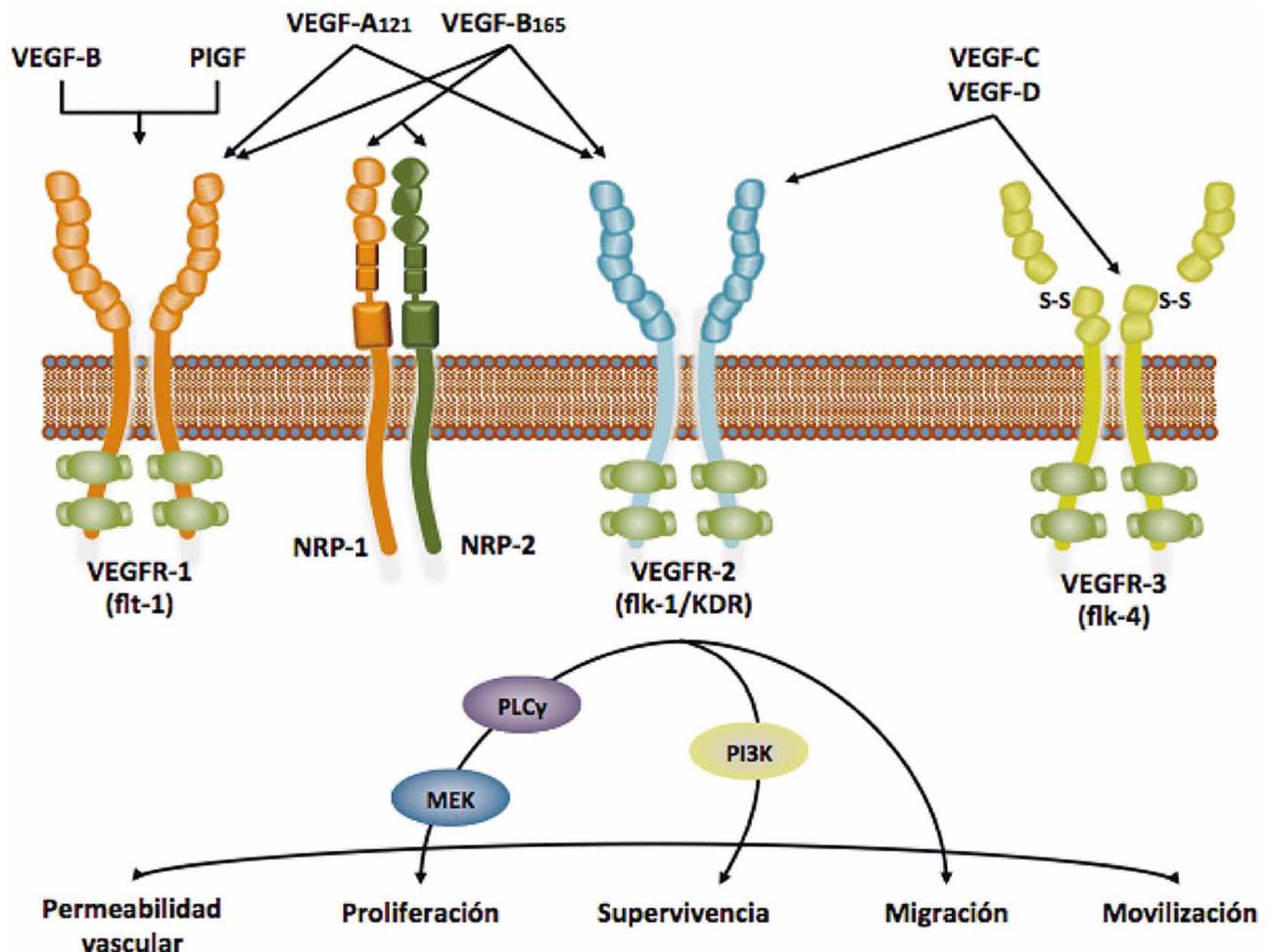


Fig. 3. Familia de VEGF, receptores y vías de señalización (Modificado de Kerbel, 2008).

Resistencia a la terapia antiangiogénica

Si bien actualmente han surgido numerosos tratamientos anti-angiogénicos, se ha observado en diversos estudios la presencia de una "resistencia terapéutica" donde los tumores comienzan a crecer progresando aun más la enfermedad, luego de que el paciente fuera sometido a un tratamiento. Si bien, Bergers & Hanahan (2008) lo consideran tan sólo como una hipótesis, se cree que existen al menos 2 mecanismos por los cuales puede ocurrir esta resistencia:

A. Evasión de terapia anti-angiogénica: Esta hipótesis consiste en que los tumores angiogénicos pueden adaptarse a la presencia de inhibidores de AG. Al contrario de lo que ocurre con el concepto de resistencia a drogas que ha sido adquirida por mutaciones genéticas, la resistencia evasiva es indirecta, en el que se activan vías alternativas que mantienen el crecimiento tumoral pero que el blanco terapéutico específico de la droga anti-angiogénica sigue siendo inhibida. La evidencia experimental actual, la cual no es aun definitiva, sugiere que existen al menos cuatro mecanismos adaptativos que manifiestan resistencia evasiva a las terapias anti-angiogénicas: 1. Regulación hacia arriba de circuitos de señalización pro-angiogénica alternativa. 2. Reclutamiento de células progenitoras vasculares y monocitos pro-angiogénicos desde la médula ósea. 3. Incremento en la cobertura de los pericitos que favorezca la protección de los vasos sanguíneos. 4. Incremento en la capacidad de invasión sin AG (Fernando *et al.*, 2008).

B. Indiferencia a la terapia anti-angiogénica: este segundo mecanismo, aunque un poco más difuso, consiste en una respuesta negativa preexistente de un tumor. Aunque este mecanismo podría reflejar una rápida adaptación y el inicio de la resistencia evasiva, se espera que esto sea probado posteriormente (Batchelor *et al.*, 2007). La definición de este modelo de resistencia preexistente es la ausencia de un efecto benéfico discernible de un inhibidor de AG aun cuando los tumores de los pacientes son analizados. Esto sin duda hace necesario buscar nuevas alternativas terapéuticas y estudiar de mejor manera los complejos mecanismos que generan la AG.

Estrategia antiangiogénica

En los años 70s, hipotetizó que si el tumor requería de la neoangiogénesis para poder crecer más allá de 1-2 mm entonces, al inhibir la AG, la expansión tumoral debería regresar por lo menos a un tamaño de 1-2 mm (Folkman, 1971), lo cual trajo consigo una nueva mirada a los procesos relacionados con el cáncer.

El VEGF y sus receptores juegan un papel fundamental en los distintos eventos tumorales tales como la AG y metástasis, por lo que su inactivación resulta conveniente dentro de las estrategias anti-angiogénicas. Las CEs corresponden al principal blanco de esta estrategia porque, en teoría, su estabilidad genómica no les permitiría adquirir resistencia a las intervenciones antiangiogénicas (Carmeliet).

En virtud de que el VEGF es uno de los factores clave en la promoción de la AG, se han llevado a cabo distintos esfuerzos para inhibirlo, uno de estos es el desarrollo de anticuerpos específicos, como es el caso de Bevacizumab (Avastin®), que es un anticuerpo monoclonal recombinante humanizado contra el VEGFA165 (rhu Mab VEGF) (Yoo & Kwon, 2013), así como el pegaptinib, un aptamero que bloquea al mismo factor, para el tratamiento de cáncer colorectal metastásico en combinación con regímenes de quimioterapia basada en 5-fluorouracilo y el ranibizumab, que es un fragmento molecular de un anticuerpo monoclonal (Fab) que neutraliza a todas las isoformas del VEGF, los cuales son ampliamente utilizados en las terapias antiangiogénicas (Ferrara & Kerbel, 2005). Por otra parte Sunitinib, inhibidor oral de la tirosina quinasa, que posee la capacidad de bloquear la activación a través del receptor del Factor de células madre (Kit) y del receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas, ha demostrado una potente actividad antitumoral contra varios tumores sólidos, incluyendo carcinoma de células renales, tumores del estroma gastrointestinal, y los tumores neuroendocrinos (Kim *et al.*, 2014).

Además de los fármacos que actúan específicamente a nivel de VEGF, los glucocorticoides; también poseen un efecto antiangiogénico (Illanes *et al.*, 2002; Zúñiga *et al.*, 2003). Se ha comprobado de manera expe-

rimental que la betametasona tendría capacidad de disminuir la densidad microvascular, además de disminuir el volumen tumoral, mejorando así el tiempo de sobrevida (Garrido *et al.*, 2010).

Otro de los fármacos altamente estudiado como agente antiangiogénico, está el Celecoxib (Cx), potente inhibidor de la ciclooxigenasa 2 (COX-2), que es actualmente utilizado como anti-inflamatorio en el tratamiento de la artritis reumatoide y la osteoartritis. Este ha sido objeto de investigación en el tratamiento de diversos tumores malignos y premalignos, incluyendo cáncer colorrectal, cáncer de mama de pulmón y próstata (Gosh *et al.*, 2010). Además investigaciones han demostrado que la COX-2 se sobreexpresa con frecuencia en diversos tipos de cáncer del tracto gastrointestinal, tales como el cáncer colorrectal, el carcinoma de esófago, cáncer gástrico y cáncer de páncreas (Masferrer *et al.*, 2000), por lo cual su inhibición resultaría beneficiosa en el tratamiento de estos.

Cada vez más estudios han demostrado que los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) no selectivos, así como los inhibidores selectivos de la COX-2, pueden reducir la proliferación celular, inducir la apoptosis, promover la vigilancia inmunológica, y/o reducir la AG (Husain *et al.*, 2002; Hilmi & Goh, 2006). Los mecanismos por los cuales Cx actúa inhibiendo la AG estarían dados por su capacidad de inhibir la motilidad endotelial y por la inhibición de la producción de factores proangiogénicos como el VEGF-A (Gosh *et al.*).

En estudios de la acción de Cx administrado vía oral, sobre modelo tumoral murino en, se observó que el fármaco disminuyó los síntomas asociados a la presencia del tumor así como la invasión tumoral, proliferación celular, y la presencia de factores proangiogénicos, mientras que la apoptosis de células tumorales se vio aumentada, debido presumiblemente a la acción del Cx sobre la producción de VEGF, Prostaglandinas y Survivina (Rosas *et al.*, 2013).

CONCLUSIÓN

Muchas de las evidencias experimentales acumuladas hasta hoy en día, reafirman

que el crecimiento tumoral depende en gran parte del complejo proceso de la AG. Cuando ésta es suprimida, los tumores en animales de experimentación son limitados a un tamaño microscópico o latente.

Sin duda la AG es uno de los procesos más relevantes durante la progresión tumoral, contribuyendo no solo al proceso de nutrición de las células tumorales así como a la invasión, otorgándole a las células una vía de diseminación que les permitirá finalmente proliferar fuera de su sitio de origen; por lo cual el conocimiento de los distintos procesos involucrados en esta, así como sus actores, permiten hoy establecer a la AG como el principal blanco de acción de las terapias antineoplásicas. Aunque sin duda aún resta un largo camino por recorrer en el entendimiento de todos los procesos, tanto de las células tumorales como del microambiente que las rodea y como ellas contribuyen a la neoformación vascular, la exploración de nuevos fármacos; así como del empleo de métodos poco invasivos y económicos servirán en un futuro como parte de la estrategia global dirigida contra la erradicación del cáncer.

ROA, I. Basic concepts in tumor angiogenesis. *Int. J. Med. Surg. Sci.*, 1(2):129-138, 2014.

SUMMARY: The transformation of normal cells into cancer encompasses a complex series of events, such as genetic disorders, aberrant cell cycles, changes in the phenotype and in cell adhesion, inhibition of apoptosis and generation of new blood vessels. This process is controlled by factors that promote and which factors inhibit it, and the balance between these factors determines their advancement, aggressiveness and prognosis. This review shows basics in the process of tumor angiogenesis.

KEY WORDS: Angiogenesis; Blood vessels; Endothelial cells; VEGF; Cancer.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Adini, A.; Kornaga, T.; Firoozbakht, F. & Benjamin, L. E. Placental growth factor is a survival factor for tumor endothelial cells and macrophages. *Cancer Res.*, 62:2749-52, 2002.

- Baeriswyl, V. & Christofori, G. The angiogenic switch in carcinogenesis. *Semin. Cancer Biol.*, 19(5):329-37, 2009.
- Batchelor, T. T.; Sorensen, A. G.; di Tomaso, E.; Zhang, W. T.; Duda, D. G.; Cohen, K. S.; Kozak, K. R.; Cahill, D. P.; Chen, P. J.; Zhu, M.; Ancukiewicz, M.; Mrugala, M. M.; Plotkin, S.; Drappatz, J.; Louis, D. N.; Ivy, P.; Scadden, D. T.; Benner, T.; Loeffler, J. S.; Wen, P. Y. & Jain, R. K. AZD2171, a pan VEGF receptor tyrosine kinase inhibitor, normalizes tumor vasculature and alleviates edema in glioblastoma patients. *Cancer Cell*, 11:83-95, 2007.
- Bergers, G. & Hanahan, O. Modes of resistance to anti-angiogenic therapy. *Nat. Rev. Cancer*, 8:592-603, 2008.
- Bergers, G. & Benjamin, L. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat. Rev. Cancer*, 3:401-41, 2003.
- Carmeliet, P. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature*, 438:932-6, 2005.
- Carmeliet, P. & Jain, R. K. Molecular mechanism and clinical applications of angiogenesis. *Nature*, 473:298-307, 2011.
- Cook, K. M. & Figg, W. D. Angiogenesis Inhibitors: Current Strategies and Future Prospects. *CA Cancer J. Clin.*, 60:222-43, 2010.
- De Spiegelaere, W.; Casteleyn, C.; Van den Broeck, W.; Plendl, J.; Bahramsoltani, M.; Simoens, P.; Djonov, V. & Cornillie, P. Intussusceptive Angiogenesis: A Biologically Relevant Form of Angiogenesis. *J. Vasc. Res.*, 49:390-404, 2012.
- Dvorak, H. F. Angiogenesis: update 2005. *J. Thromb. Haemost.*, 3:1835-42, 2005.
- Eichhorn, M.; Kleespies, A.; Angele, M.; Jauch, K. & Bruns, C. Angiogenesis in cancer: molecular mechanisms, clinical impact. *Langenbecks Arch. Surg.*, 392:371-9, 2007.
- Fakhejehani, E. & Toi, M. Tumor angiogenesis: pericytes and maturation are not be ignored. *J. Oncol.*, 2012:261750, 2012.
- Fan, F.; Schimming, A.; Jaeger, D. & Podar, K. Targeting the tumor microenvironment: focus on angiogenesis. *J. Oncol.*, 2012:281261, 2012.
- Fernando, N. T.; Koch, M.; Rothrock, C.; Gollogly, L. K.; D'Amore, P. A.; Ryeom, S. & Yoon, S. S. Tumor escape from endogenous, extracellular matrix associated angiogenesis inhibitors by up regulation of multiple proangiogenic factors. *Clin. Cancer Res.*, 14:1529-39, 2008.
- Ferrara, N. Role of vascular endothelial growth factor in physiologic and pathologic angiogenesis: therapeutic implications. *Semin. Oncol.*, 29:10-4, 2002.
- Ferrara, N.; Gerber, H. P. & LeCouter, J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat. Med.*, 9(6):669-76, 2003.
- Ferrara, N. & Kerbel, R. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature*, 438:967-74, 2005.
- Folkman, J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N. Engl. J. Med.*, 285:1182-6, 1971.
- Folkman, J. Antiangiogenesis in cancer therapy—endostatin and its mechanisms of action. *Exp. Cell Res.*, 312:594-607, 2006.
- Gacche, R. N. & Meshram, R. J. Angiogenic factors as potential drug target: Efficacy and limitations of anti-angiogenic therapy. *Biochim. Biophys Acta*, 1846(1):161-79, 2014
- Garrido, O.; Letelier, R.; Rosas, C.; Fuenzalida, M.; Ferreira, A. & Lemus, D. Betamethasone inhibits tumor development, microvessel density and prolongs survival in mice with a multiresistant adenocarcinoma TA3. *Biol. Res.*, 43(3):317-22, 2010.
- Gavalas, N. G.; Lontos, M.; Trachana, S. P.; Bagratuni, T.; Arapinis, C.; Liacos, C.; Dimopoulos, M. A. & Bamias, A. Angiogenesis-Related Pathways in the Pathogenesis of Ovarian Cancer. *Int. J. Mol. Sci.*, 14:15885-909, 2013.
- Ghosh, N.; Chaki, R.; Mandal, V. & Mandal, S. C. COX-2 as a target for cancer chemotherapy. *Pharmalogical Rec.*, 62:233-44, 2010.
- Goel, H. L. & Mercurio, A. M. VEGF targets the tumour cell. *Nat. Rev. Cancer*, 13(12):871-82, 2013.
- Hanahan, D. & Weinberg, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5):646-74, 2011.
- Hilmi, I. & Goh, K. L. Chemoprevention of colorectal cancer with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Chin. J. Dig. Dis.*, 7:1-6, 2006.
- Husain, S. S.; Szabo, I. L. & Tarnawski, A. S. NSAID

- inhibition of GI cancer growth: clinical implications and molecular mechanisms of action. *Am. J. Gastroenterol.*, 97:542-53, 2002.
- Illanes, J.; Dabancens, A.; Acuña, O.; Fuenzalida, M.; Guerrero, A.; Lopez, C. & Lemus, D. Effects of betamethasone, sulindac and quinacrine drugs on the inflammatory neoangiogenesis response induced by polyurethane sponge implanted in mouse. *Biol. Res.*, 35(3-4):339-45, 2002.
- Kaplan, R. N.; Riba, R. D.; Zacharoulis, S.; Bramley, A. H.; Vincent, L.; Costa, C.; MacDonald, D. D.; Jin, D. K.; Shido, K.; Kerns, S. A.; Zhu, Z.; Hicklin, D.; Wu, Y.; Port, J. L.; Altorki, N.; Port, E. R.; Ruggero, D.; Shmelkov, S. V.; Jensen, K. K.; Rafii, S. & Lyden, D. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature*, 438:820-7, 2005.
- Kerbel. Tumor Angiogenesis. *N. Eng. J. Med.*, 358:2039-49, 2008.
- Kim, S.; Ding, W.; Zhang, L.; Tian, W. & Chen, S. Clinical response to sunitinib as a multitargeted tyrosine-kinase inhibitor (TKI) in solid cancers: a review of clinical trials. *Onco Targets Ther.*, 7:719-28, 2014.
- Li, T. S.; Kaneda, Y.; Ueda, K.; Hamano, K.; Zempo, N. & Esato, K. The influence of tumour resection on angiostatin levels and tumour growth: an experimental study in tumour-bearing mice. *Eur. J. Cancer*, 37(17):2283-8, 2001.
- Mäkinen, T.; Jussila, L.; Veikkola, T.; Karpanen, T.; Kettunen, M. I.; Pulkkanen, K. J.; Kauppinen, R.; Jackson, D. J.; Kubo, H.; Nishikawa, S.; Ylä-Herttuala, S. & Alitalo, K. Inhibition of lymphangiogenesis with resulting lymphedema in transgenic mice expressing soluble VEGF receptor-3. *Nat. Med.*, 7:199-205, 2001.
- Masferrer, J. L.; Leahy, K. M.; Koki, A. T.; Zweifel, B. S.; Settle, S. L.; Woerner, B. M. & Edwards, D. A.; Flickinger, A. G.; Moore, R. J. & Seibert, K. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Res.*, 60(5):1306-11, 2000.
- Matsumoto, T. & Claesson-Welsh, L. VEGF receptor signal transduction. *Sci, STKE*, 112(RE21):1-17, 2001.
- Mittal, K.; Ebos, J. & Rini, B. Angiogenesis and the tumor microenvironment: vascular endothelial growth factor and beyond. *Semin. Oncol.*, 41(2):235-51, 2014.
- Nyberg, P.; Xie, L. & Kalluri, R. Endogenous Inhibitors of Angiogenesis. *Cancer Res.*, 65(10):3967-3979, 2005.
- Ohta, M.; Konno, H.; Tanaka, T.; Baba, M.; Kamiya, K.; Syouji, T.; Kondoh, K.; Watanabe, M.; Terada, H. & Nakamura, S. The significance of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) protein in gastric cancer. *Cancer Lett.*, 192:215-25, 2003.
- Oklu, R.; Walker, T. G.; Wicky, S. & Hesketh, R. Angiogenesis and current antiangiogenic strategies for the treatment of cancer. *J. Vasc. Interv. Radiol.*, 21(12):1791-805 2010.
- Partanen, T. A. & Paavonen, K. Lymphatic versus blood vascular endothelial growth factors and receptors in humans. *Microsc. Res. Tech.*, 55:108-21, 2001.
- Rodríguez, P.; Lampurlanés-Balvoa, D.; Pérez-Pinto, C.; Roa, R. & Rivera, C. Revisión sistemática: células e inductores de angiogénesis tumoral. *Rev. Med. Maule*, 29(1):49, 2013.
- Rosas, C. C.; Roa, I.; Sinning, O. M.; Fuenzalida, B. M. & Lemus, A. D. Efecto de celecoxib en una variante multirresistente del tumor TA3. Una descripción histológica. *Int. J. Morphol.*, 31(2):392-8, 2013.
- Schalper, P. J.; Schalper, C. K.; Piérart, Z. C. & Piérart, P. J. Análisis de la distribución de los componentes de membrana basal laminina, fibronectina y colágeno IV en vasos sanguíneos de patología mamaria benigna y maligna. *Rev. Chil. Cir.*, 55(3):249-55, 2003.
- Shibuya, M. Structure and function of VEGF/ VEGF-receptor system involved in angiogenesis. *Cell Struct. Funct.*, 26:25-35, 2001.
- Spannuth, W. A.; Sood, A. K. & Coleman, R. L. Angiogenesis as a Strategic Target for Ovarian Cancer Therapy. *Nat. Clin. Pract. Oncol.*, 5:194-204, 2008.
- Veikkola, T.; Karkkainen, M.; Cleason-Welsh, L. & Alitalo, K. Regulation of angiogenesis via vascular endothelial growth factor receptors. *Cancer Res.*, 60:203-12, 2000.
- Venkatesan, P.; Puvvada, N.; Dash, R.; Prashanth Kumar, B. N.; Sarkar, D.; Azab, B.; Pathak, A.; Kundu, S. C.; Fisher, P. B. & Mandal, M. The potential of celecoxib-loaded hydroxyapatite-chitosan nanocomposite for the treatment of co-

Ion cancer. *Biomaterials*, 32(15):3794-806, 2011.

Yancopoulos, G. D.; Davis, S.; Gale, N. W.; Rudge, J. S.; Wiegand, S. J. & Holash, J. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature*, 407:242-8, 2000.

Yoo, S. Y. & Kwon, S. M. Angiogenesis and Its Therapeutic Opportunities. *Mediators Inflamm.*, 127170:1-11, 2013.

Yokoyama, Y.; Charnock-Jones, D. S.; Licence, D.; Yanaihara, A.; Hastings, J. M.; Holland, C. M.; Emoto, M.; Sakamoto, A.; Sakamoto, T.; Maruyama, H.; Sato, S.; Mizunuma, H. & Smith, S. K. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)- D and its receptor, VEGF receptor 3, as a prognostic factor in endometrial carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 9:1361-9, 2003.

Zhu, Z. & Witte, L. Inhibition of tumor growth and metastasis by targeting tumor-associated angiogenesis with antagonists to the receptors of vascular endothelial growth factor. *Invest. New Drugs*, 17:195-212, 1999.

Zúñiga, J.; Fuenzalida, M.; Guerrero, A.; Illanes, J.; Dabancens, A.; Díaz, E. & Lemus, D. Effects of steroidal and non steroidal drugs on the neovascularization response induced by tumoral TA3 supernatant on CAM from chick embryo. *Biol. Res.*, 36(2):233-40, 2003.

Dirección para correspondencia:
Ignacio Roa Henríquez
Unidad de Histología y Embriología
Depto. Ciencias Básicas Biomédicas
Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad de Talca
Av. Lircay s/n, Talca
CHILE

Email: iroa@utalca.cl

Recibido : 18-03-2014

Aceptado: 21-04-2014