

El factor de crecimiento endotelial vascular en los derrames pleurales benignos y malignos

A. Kaya^a, B. Poyraz^a, G. Celik^a, A. Ciledag^a, B.E. Gulbay^a, H. Savas^b e I. Savas^a

^aDepartment of Chest Medicine. Ankara University. Ankara.

^bDepartment of Biochemistry. Ankara Social Insurance State Hospital. Etlik. Ankara. Turquía.

OBJETIVO: El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es un potente inductor de la permeabilidad capilar y desempeña un papel clave como mediador en la formación del derrame pleural. Este estudio se ha realizado para evaluar la utilidad del VEGF en el diagnóstico de los derrames pleurales malignos y no malignos de diversas causas.

PACIENTES Y MÉTODOS: Mediante la técnica de inmunoadsorción ligada a enzimas se determinaron las concentraciones de VEGF en los derrames pleurales correspondientes a 52 pacientes (20 con derrame pleural maligno, 12 con derrame de origen tuberculoso, 10 con derrame de tipo trasudado y 10 con derrame paraneumónico).

RESULTADOS: La concentración media del VEGF fue significativamente mayor ($p = 0,001$) en los derrames pleurales (10,16 pg/ml) de tipo exudado que en los derrames de tipo trasudado (3,82 pg/ml). Aunque los derrames pleurales malignos mostraron una tendencia a las concentraciones medianas y medias mayores de VEGF, en comparación con los derrames de origen tuberculoso, la diferencia no fue estadísticamente significativa. Tampoco fueron significativamente diferentes las concentraciones pleurales de VEGF en los distintos subtipos de cáncer pulmonar, y tampoco en los derrames malignos de distintos orígenes.

CONCLUSIONES: Aunque las concentraciones de VEGF son distintas en los derrames pleurales de orígenes diferentes, en nuestro estudio no han permitido discriminar los exudados de los trasudados. Son necesarios nuevos estudios de investigación sobre grupos más numerosos de pacientes con objeto de establecer el papel que puede desempeñar la concentración de VEGF en el diagnóstico de los derrames malignos, tuberculosos o ambos.

Palabras clave: Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Derrame pleural. Cáncer pulmonar. Tuberculosis.

Vascular Endothelial Growth Factor in Benign and Malignant Pleural Effusions

OBJECTIVE: Vascular endothelial growth factor (VEGF) is a potent inducer of capillary permeability and its role as a crucial mediator in pleural fluid formation has been established. This study was conducted to assess the usefulness of VEGF for diagnosing malignant and non-malignant pleural effusions of various causes.

PATIENTS AND METHODS: VEGF levels in pleural effusions collected from 52 patients (20 with malignant effusion, 12 with tuberculous effusion, 10 with transudative effusion, and 10 with parapneumonic effusion) were assessed by enzyme-linked immunosorbent assay.

RESULTS: The median level of VEGF was significantly higher ($P = .001$) in exudative effusions (10.16 pg/mL) than in the transudative effusions (3.82 pg/mL). Although malignant pleural fluids tended to have higher median and mean levels of VEGF compared to tuberculous effusions, the difference was not statistically significant. Pleural VEGF levels in subtypes of lung cancer and in malignant effusions of different origins were not significantly different.

CONCLUSIONS: In conclusion, although VEGF levels in pleural effusions of different origins vary, they were only able to discriminate exudates from transudates significantly in this study. Further studies in larger groups of patients are needed to establish the role of VEGF in diagnosing malignant and/or tuberculous effusions.

Key words: Vascular endothelial growth factor (VEGF). Pleural effusion. Lung cancer. Tuberculosis.

Introducción

El derrame pleural es un problema clínico frecuente¹ que afecta anualmente a más de 3.000 pacientes por cada 1.000.000 de personas y que se debe a un incremento de la producción de líquido, a una disminución

de su drenaje o a ambos factores, aunque en la mayor parte de los derrames de tipo exudado la causa subyacente es el aumento de la producción de líquido². A pesar de la gran importancia de este problema clínico, ninguno de los abordajes terapéuticos actuales, como la pleurotomía o la pleurodesis, parece tener una eficacia suficiente³. La falta de conocimiento sobre los mecanismos básicos que hacen que se acumule líquido en el interior del espacio pleural limita todavía más los intentos de prevención de los derrames pleurales.

Correspondencia: Dr. A. Kaya.
Ankara Üniversitesi TIP Fakültesi. Gogus Hastalyklary. Dikimevi-Ankara. Turquía.
Correo electrónico: akaya@medicine.ankara.edu.tr

Recibido: 19-4-2004; aceptado para su publicación: 2-11-2004.

TABLA I
Concentraciones de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y características del líquido de derrame pleural, según el tipo de derrame

	Maligno (n = 20)	Tuberculoso (n = 12)	Paraneumónico (n = 10)	Trasudado (n = 10)
Edad (años)	63,86 ± 8,63	41,20 ± 22,57	59,10 ± 20,21	67,54 ± 9,63
VEGF (pg/ml)	19,56 ± 9,05	13,17 ± 5,83	10,69 ± 6,70	4,81 ± 3,38
Proteínas (g/dl)	4,90 ± 0,56	5,41 ± 0,77	4,47 ± 1,45	2,40 ± 0,79
Glucosa (mg/dl)	102,26 ± 46,90	68,77 ± 46,05	82,75 ± 53,53	184,90 ± 122,45
LDH (UI/l)	1.212,52 ± 294,90	1.429,88 ± 976,62	1.190,44 ± 875,29	204,45 ± 102,70

Los datos se expresan como la media ± desviación estándar.
LDH: lactatodeshidrogenasa.

El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), denominado inicialmente factor de permeabilidad vascular, es una proteína homodimérica de 34-42 kD⁴. Actúa principalmente sobre el endotelio vascular, en el que puede inducir cambios morfológicos, alterar la expresión genética, estimular la proliferación y migración celulares e inhibir la apoptosis⁵⁻⁹. Su capacidad para incrementar la permeabilidad vascular explica el papel tan importante que desempeña en la formación del líquido de derrame pleural. El VEGF también es un factor angiogénico en los tumores¹⁰.

El objetivo del nuestro estudio ha sido la determinación de la concentración de VEGF en derrames pleurales de orígenes distintos. Especialmente, se ha intentado determinar si las concentraciones de VEGF son significativamente diferentes en los derrames benignos y malignos.

Pacientes y métodos

Se ha estudiado prospectivamente a 52 pacientes a los que se realizó toracocentesis entre agosto de 2001 y junio de 2002. Para identificar la causa del derrame pleural se utilizaron las definiciones estándar siguientes: *a*) derrame pleural maligno (n = 20), un derrame con citología positiva para células malignas; *b*) derrame pleural paraneumónico (n = 10), en pacientes con historia clínica indicativa de infección reciente, sin características de empiema y sin recidiva a las 6 semanas de seguimiento ambulatorio; *c*) derrame consistente en trasudado (n = 10), secundario a insuficiencia ventricular izquierda o a hipoalbuminemia, con un contenido de proteínas inferior a 3 g/dl y sin una causa identificable, y *d*) derrame pleural tuberculoso (n = 12), diagnosticado a través de la demostración de la presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes, del crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis* en cultivo, de la presencia de lesiones granulomatosas en la biopsia pleural o de cualquier combinación de estos hallazgos.

A todos los pacientes se les efectuaron los estudios citológicos y microbiológicos convencionales en el líquido de derrame pleural. Las muestras del derrame se cultivaron para demostración de la presencia de *M. tuberculosis*, y también para la determinación de las concentraciones de proteínas, glucosa y lactatodeshidrogenasa (LDH), así como para la detección de la actividad de la adenosindesaminasa. Se obtuvieron aproximadamente 20 ml de derrame pleural que se centrifugaron a 3.000 revoluciones por minuto durante 10 min hasta que se formó un grumo con los elementos celulares; el sobrenadante se almacenó a -70 °C para la determinación subsiguiente de la concentración de VEGF.

La determinación de la concentración de VEGF en los derrames pleurales se realizó mediante una técnica cuantitativa de inmunoabsorción ligada a enzimas en sándwich con un

equipo VEGF (Cytelisa Human VEGF, Cytimmune Sciences Inc., Rockville, MD, EE.UU.), siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron mediante el programa informático SPSS, versión 10.0 (Chicago, Illinois, EE.UU.). Se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson para establecer correlaciones entre las variables. La significación se estableció en $p = 0,01$. Las diferencias respecto al VEGF entre los 4 grupos se evaluaron mediante el análisis de la variancia de Kruskal-Wallis; en los casos en los que las diferencias mostraron un nivel de significación de $p < 0,05$ según el test de Kruskal-Wallis, se aplicó posteriormente un test de comparación múltiple.

Resultados

En el estudio participó un total de 52 pacientes (9 mujeres y 43 varones). Entre los 20 pacientes con tumores malignos, 13 presentaban cáncer pulmonar primario (8, adenocarcinoma; 4, carcinoma microcítico, y uno, carcinoma epidermoide) y 7, mesotelioma maligno. En la tabla I se recogen los valores medios ± desviación estándar de la edad, concentraciones de VEGF y parámetros bioquímicos.

Los pacientes con derrame de tipo trasudado fueron los que mostraron las concentraciones medias de VEGF más bajas, mientras que los que presentaban derrames malignos mostraron las concentraciones de VEGF más elevadas. La concentración mediana de VEGF en los derrames de tipo exudado (10,16 pg/ml) fue significativamente mayor que la concentración mediana en los trasudados (3,82 pg/ml) ($p = 0,001$). Aunque los derrames pleurales malignos mostraron una tendencia a presentar concentraciones medianas y medias de VEGF mayores que los derrames de origen tuberculoso, las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Asimismo, las concentraciones medias de VEGF fueron similares en los derrames malignos y en los de origen paraneumónico. Las concentraciones medias de VEGF en los 4 tipos de derrames se muestran en la figura 1.

Después se efectuó el análisis de los datos correspondientes a todos los pacientes con el objetivo de detectar la existencia de relaciones entre las concentraciones de VEGF en el líquido del derrame pleural como variable dependiente y las concentraciones de VEGF, proteínas totales, albúmina y glucosa también en el derrame pleural. La correlación más intensa fue la existente entre las concentraciones de VEGF y LDH ($r = 0,75$; $p < 0,001$).

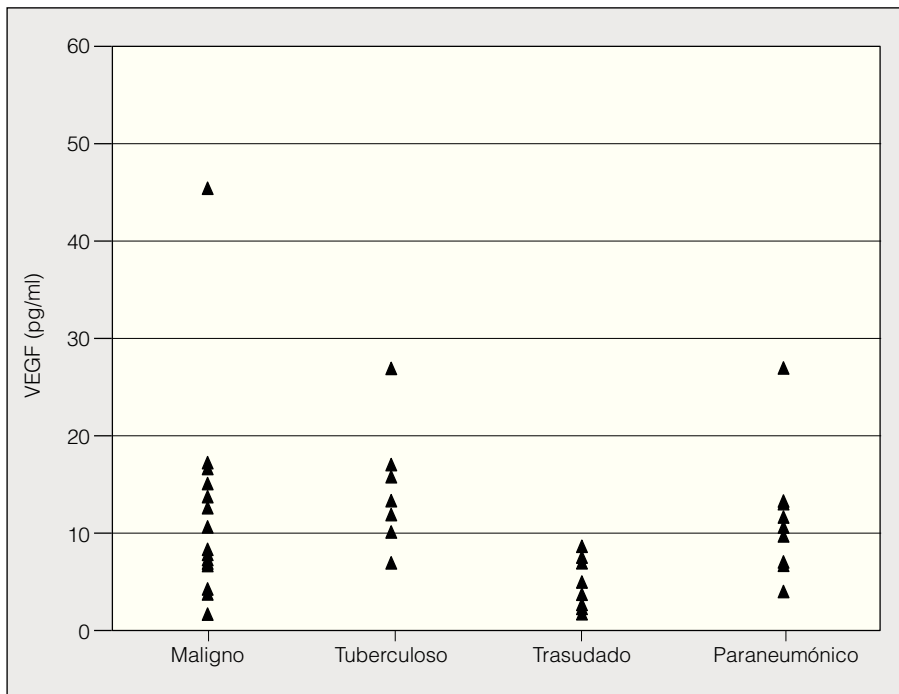


Fig. 1. Distribución de las concentraciones de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) en los 4 grupos de pacientes. No aparece en la gráfica el valor de 190 pg/ml de la concentración de VEGF en el derrame pleural de un paciente del grupo maligno.

Entre los pacientes con derrame pleural maligno, las concentraciones de VEGF fueron similares con independencia de la localización del tumor primario o de los subtipos histológicos de cáncer pulmonar.

Discusión

El VEGF, denominado inicialmente factor de permeabilidad vascular, es una proteína homodimérica de 34-42 kD que induce vasodilatación *in vivo*, en un efecto dependiente de la dosis¹¹. Tiene una potencia 50.000 veces mayor que la de la histamina en lo relativo a la inducción de la permeabilidad vascular⁸ y también es un mitógeno potente para las células endoteliales macro y microvasculares originadas en arterias, venas y vasos linfáticos¹²⁻¹⁵. Además, se supone que el VEGF actúa como factor de angiogénesis tumoral. Su mecanismo de acción tiene lugar a través de 3 receptores de la tirosinasa que se expresan principalmente en las células endoteliales, así como en los tejidos pleurales y en la mayor parte de las células tumorales⁷. Por tanto, se ha prestado una gran atención a la contribución de este factor a la acumulación del derrame pleural y a la progresión tumoral.

Se ha demostrado que el VEGF está presente en cantidades importantes en los derrames pleurales y peritoneales de diversas etiologías. En modelos experimentales de ascitis maligna se ha observado una correlación directa entre la acumulación de líquido y la producción de VEGF¹⁶. También se ha identificado la presencia de VEGF en diversos tumores malignos, entre ellos varios tipos histológicos de cáncer pulmonar¹⁷⁻¹⁹. El mecanismo de la acumulación del líquido de derrame pleural en los pacientes con tumores malignos no se ha definido con precisión, pero se considera que el incremento de la

permeabilidad capilar en la pleura visceral desempeña una función importante en la formación de los derrames de tipo exudado²⁰. El papel que desempeña el VEGF en la acumulación de líquido de derrame pleural a través del aumento de la permeabilidad vascular también ha sido observado en un modelo animal²¹.

Los resultados de nuestro estudio demuestran que las concentraciones de VEGF en el líquido de derrame pleural son distintas en función de su etiología. Nuestras observaciones son congruentes con las realizadas previamente en el sentido de que las concentraciones de VEGF son significativamente diferentes en los derrames de tipo trasudado y en los de tipo exudado. Thickett et al⁴ demostraron que el 90% de los derrames pleurales de tipo exudado muestra concentraciones de VEGF mayores que las que se observan en los derrames de tipo trasudado. La existencia de concentraciones bajas de VEGF en los derrames de tipo trasudado no es sorprendente ya que estos derrames se deben a modificaciones en los gradientes de presión osmótica o hidrostática, mientras que se supone que el VEGF actúa sobre la permeabilidad de las células endoteliales.

Se han publicado 2 estudios en los que se observó que las concentraciones de VEGF en los derrames de origen maligno eran significativamente mayores que las que aparecían en los derrames de origen no maligno; los autores de estos estudios señalaron que esta diferencia podría ser útil para discriminar los derrames malignos y los no malignos^{22,23}. Sin embargo, Cheng et al²⁴ no apreciaron diferencias significativas entre los derrames malignos y paraneumónicos en lo relativo a las concentraciones de VEGF, a pesar de que en su estudio estas concentraciones fueron significativamente mayores en los derrames de origen maligno que en los derrames que

presentaron los pacientes que habían sido intervenidos mediante cirugía de revascularización coronaria. Los autores señalaron que era poco probable que las concentraciones de VEGF tuvieran utilidad diagnóstica. En congruencia con sus resultados, en nuestro estudio se ha observado que las concentraciones medias de VEGF fueron mayores en los derrames de origen maligno que en los exudados de otras causas, pero la diferencia no fue estadísticamente significativa. No obstante, consideramos que son necesarios nuevos ensayos clínicos de mayor envergadura y efectuados con controles antes de poder establecer una conclusión definitiva acerca de la utilidad diagnóstica de este parámetro.

Aunque algunos autores han observado que las concentraciones de VEGF en el líquido pleural de los pacientes con cáncer pulmonar son significativamente mayores que las observadas en las pacientes con cáncer de mama y derrame pleural^{16,24}, la explicación de esta diferencia no está clara y hasta el momento no hay pruebas de que las células del carcinoma de mama produzcan cantidades menores de VEGF que las del carcinoma pulmonar. Por el contrario, en nuestro estudio no se han observado diferencias significativas al comparar las concentraciones de VEGF en los derrames pleurales malignos de orígenes diversos. Tampoco ha habido diferencias significativas en las concentraciones pleurales de VEGF respecto a los distintos subtipos histológicos de cáncer pulmonar, en congruencia con lo observado en estudios previos²².

Al correlacionar las concentraciones de VEGF con otros marcadores bioquímicos en el líquido de derrame pleural, la única correlación significativa observada ha sido con la concentración de LDH, tal como ya observaron previamente Cheng et al²⁴. Dado que la LDH es un marcador básico de la inflamación, este hallazgo no es sorprendente.

En conclusión, aunque hay variaciones en las concentraciones de VEGF en los derrames pleurales de distintos orígenes, este marcador sólo permite diferenciar los exudados de los trasudados. Son necesarios nuevos estudios con grupos mayores de pacientes para establecer qué función puede desempeñar la concentración de VEGF en el diagnóstico de los derrames pleurales de orígenes neoplásico, tuberculoso o ambos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Marel M, Zrustova M, Stasny B, Light RW. The incidence of pleural effusion in a well-defined region. Epidemiologic study in central Bohemia. *Chest*. 1993;104:1486-9.
2. Light RW, Hamm H. Malignant pleural effusion: would the real cause please stand up? *Eur Resp J*. 1997;10:1701-2.
3. Lee YCG, Rodríguez RM, Lane KB, Light RW. Pleurodesis for recurrent pleural effusions in new millennium. *Recent Advances and Research Updates*. 2001;2:81-9.
4. Thickett DR, Armstrong L, Millar AB. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in inflammatory and malignant pleural effusions. *Thorax*. 1999;54:707-10.
5. Grove CS, Lee GYC. Vascular endothelial growth factor: the key mediator in pleural fluid formation. *Curr Opin Pulm Med*. 2002;8:294-301.
6. Ferrera N. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. *J Mol Med*. 1999;77:527-43.
7. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor and its receptors. *FASEB J*. 1999;13:9-22.
8. Brown LF, Detmar M, Claffey K, Nagy JA, Feng D, Dvorak AM, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factors: a multifunctional angiogenic cytokine. *EXS*. 1997;79:233-69.
9. Detmar M. The role of VEGF and thrombospondins in skin angiogenesis. *J Derm Sci*. 2000;24:78-84.
10. Folkman J. Clinical applications of research on angiogenesis. *N Engl J Med*. 1990;333:1757.
11. Ku DD, Zaleski JK, Liu S, Brock TA. Vascular endothelial growth factor induces EDRF-dependent relaxation in coronary arteries. *Am J Physiol*. 1993;265:H586-H92.
12. Ferrera N. Vascular endothelial growth factor. *Eur J Cancer*. 1996;32A:2413-22.
13. Ferrera N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1989;161:851-9.
14. Ploüët J, Schilling J, Gospodarowicz D. Isolation and characterization of a newly identified endothelial cell mitogen produced by AtT20 cells. *EMBO J*. 1989;8:3801-7.
15. Pepper MS, Wasi S, Ferrera N, Orci L, Montesano R. *In vitro* angiogenic and proteolytic properties of bovine lymphatic endothelial cells. *Exp Cell Res*. 1994;210:298-305.
16. Yeo KT, Wang HH, Nagy JA, Sioussat TM, Ledbetter SR, Hoogwerf AJ, et al. Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) in guinea pig and human tumor and inflammatory effusions. *Cancer Res*. 1993;53:2912-8.
17. König JE, Tolnay E, Wiethege T, Müller KM. Expression of vascular endothelial growth factor in diffuse malignant pleural mesothelioma. *Virchows Arch*. 1999;435:8-12.
18. Volm M, Koomagi R, Mattern J. Interrelationships between microvessel density, expression of VEGF and resistance to doxorubicin of non-small cell carcinoma. *Anticancer Res*. 1996;16:213-7.
19. Takanami I, Tanaka F, Hashizume T, Kodaira S. Vascular endothelial growth factor and its receptors correlate with angiogenesis and survival in pulmonary adenocarcinoma. *Anticancer Res*. 1997;17:2811-4.
20. Light RW, Mac Gregor MI, Luchsinger PC, Ball WC. Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med*. 1972;77:507.
21. Senger DR, Perruzzi CA, Feder J, Dvorak HF. A highly conserved vascular permeability factor secreted by a variety of human and rodent tumor cell lines. *Cancer Res*. 1986;55:3964.
22. Yanagawa H, Takeuchi E, Suzuki Y, Ohmoto Y, Bando H, Sone S. Vascular endothelial growth factor in malignant pleural effusion associated with lung cancer. *Cancer Immunol Immunother*. 1999;48:396-400.
23. Lim SC, Jung SI, Kim YC, Park KO. Vascular endothelial growth factor in malignant and tuberculous pleural effusions. *J Korean Med Sci*. 2000;15:279-83.
24. Cheng D, Rodríguez RM, Perkett EA, Rogers J, Bienvenu G, Lappalainen U, et al. Vascular endothelial growth factor in pleural fluid. *Chest*. 1999;116:760-5.