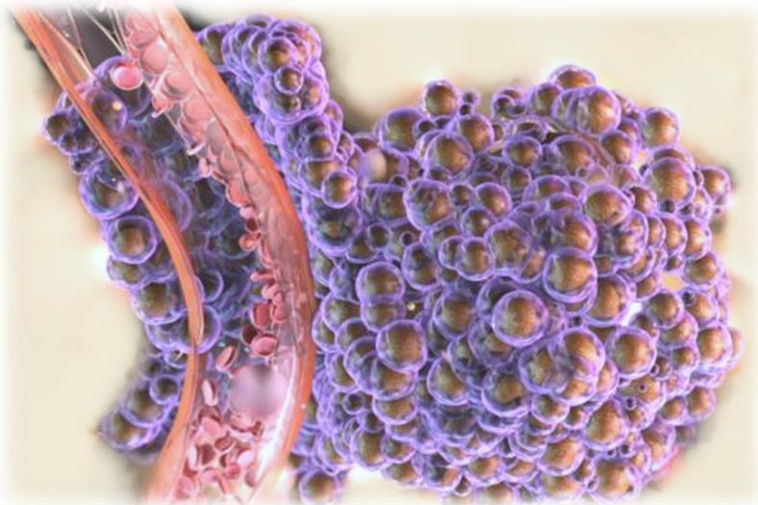




Facultad de Medicina
Clínica Alemana - Universidad del Desarrollo



Desarrollo Tumoral. Invasión y Metástasis



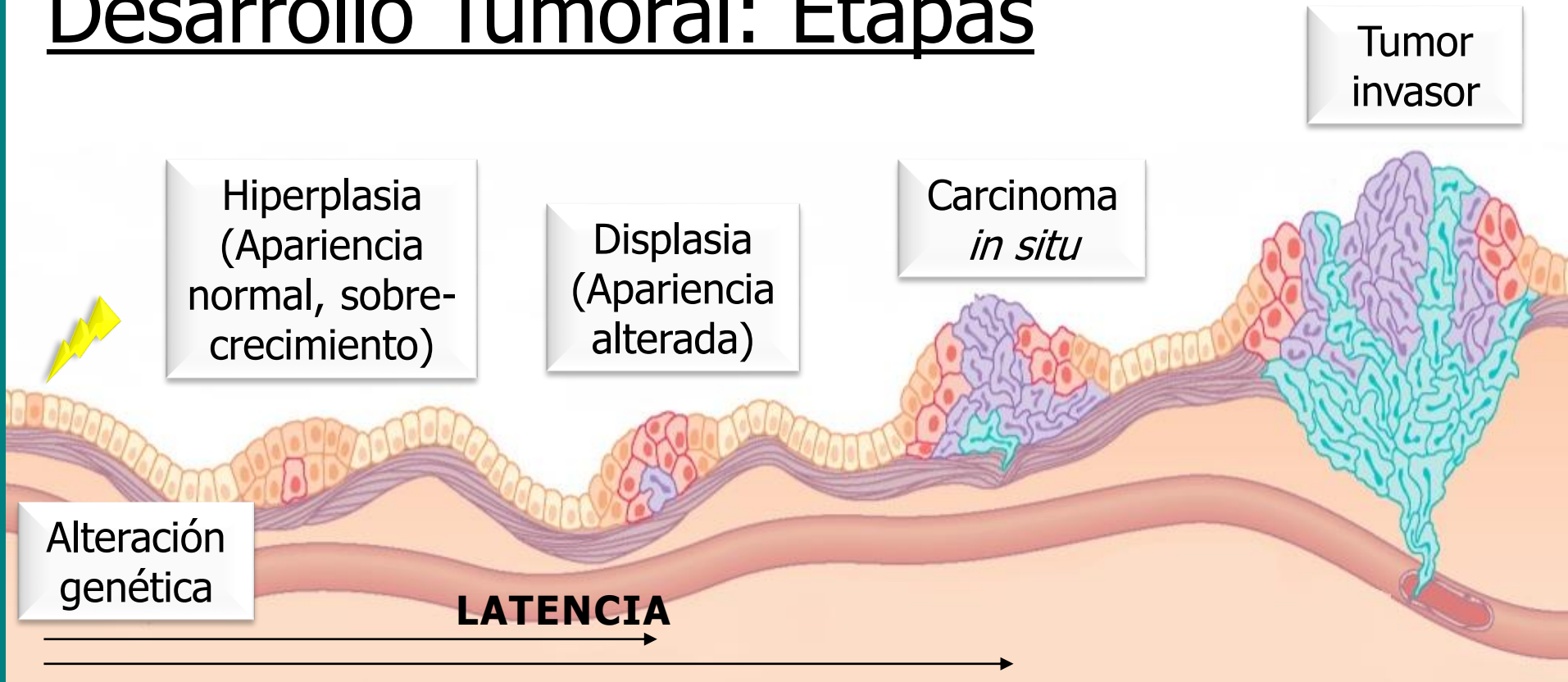
Annemarie Ziegler B., Ph.D.

Oncología Molecular
Agosto 2020

Objetivos

- Integrar los conocimientos relacionados con el desarrollo tumoral y conocer los procesos biológicos implicados en la generación de vasos sanguíneos
- Conocer los pasos biológicos implicados en invasión y metástasis
- Conocer algunos procesos y vías de señalización que regulan la invasión y metástasis
- Obtener una visión integrada del proceso metastásico

Desarrollo Tumoral: Etapas



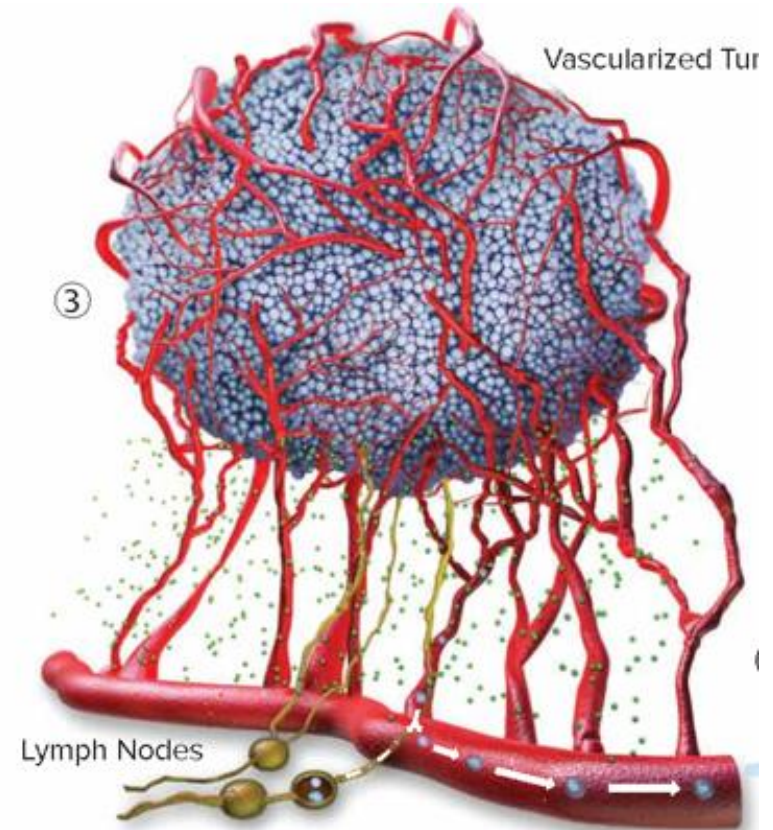
Diferenciación
Comunicación
Dependencia de factores
de crecimiento, anclaje

Alteraciones
(genéticas,
epigenéticas)



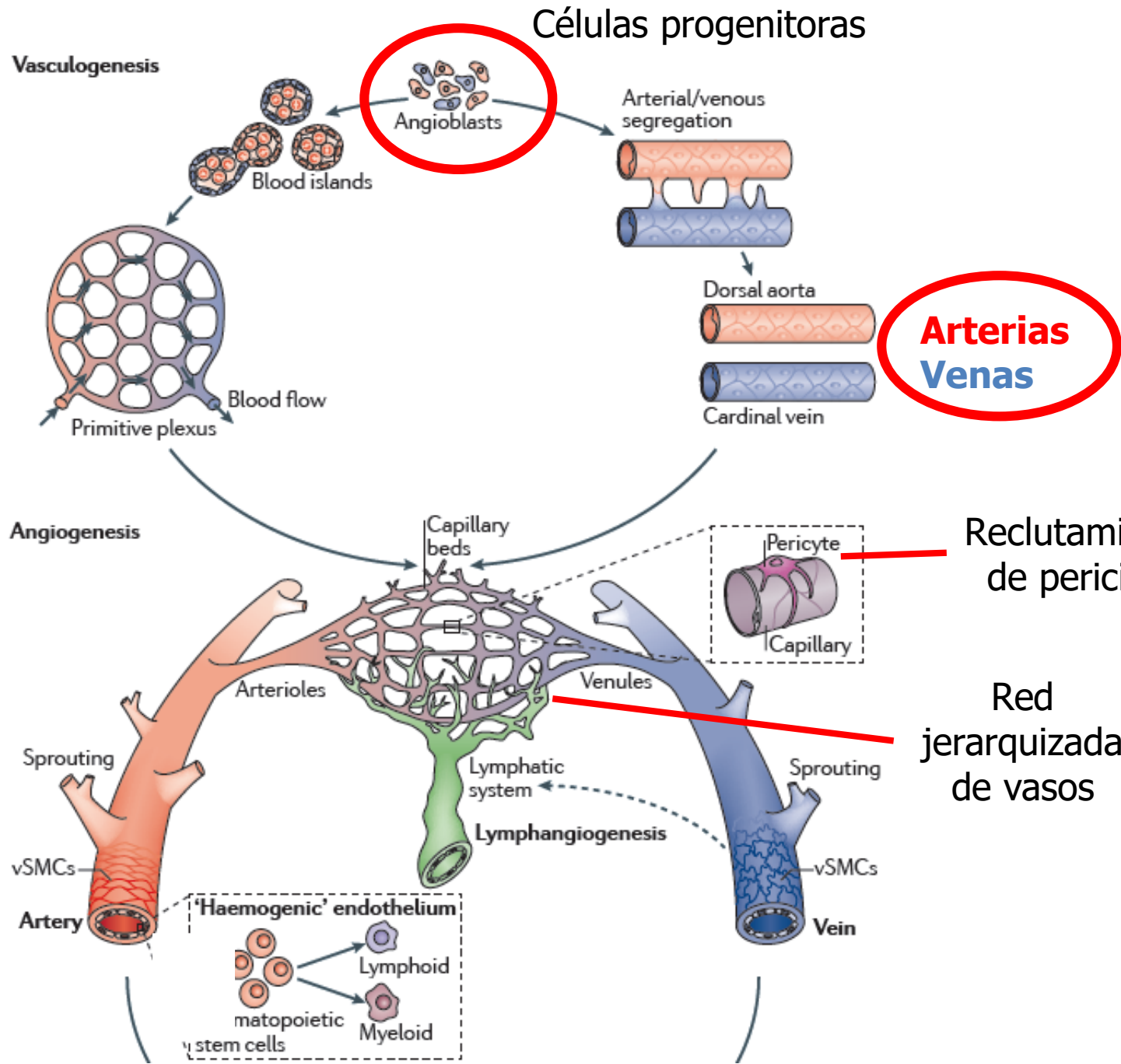
Tumores: Requisitos de Vasculatura

- Aporte de nutrientes, oxígeno
- Eliminación de desechos
- Formación de la vasculatura: de novo durante embriogénesis
- En adultos la vasculatura es quiescente (células endoteliales son longevas)



Vasculogénesis

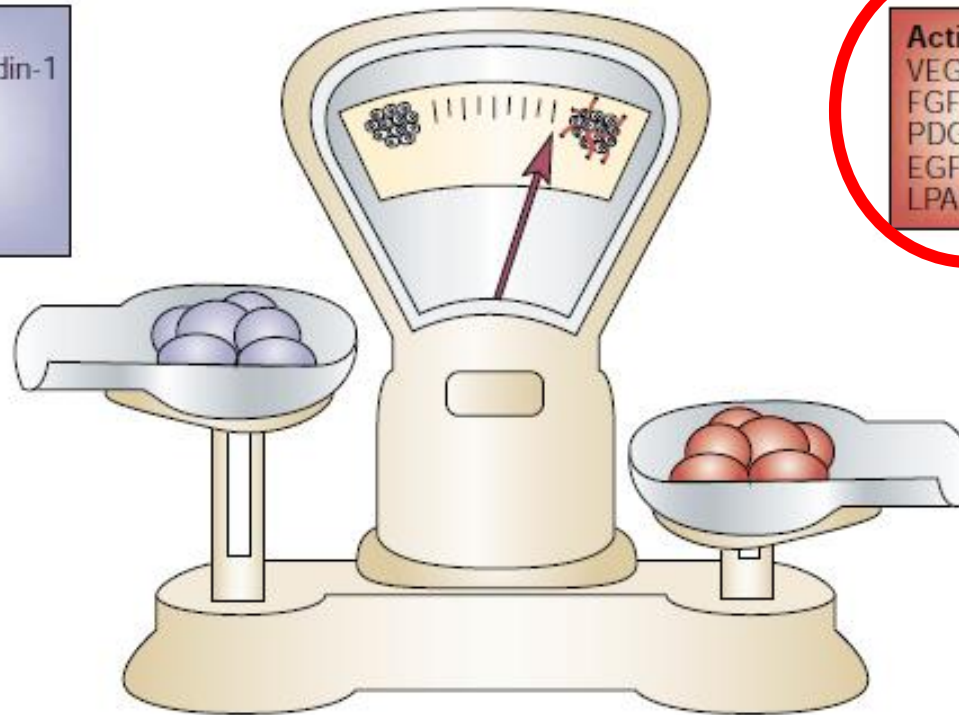
Angiogénesis



Balance y "Switch" Angiogénico

Inhibitors:
Thrombospondin-1
The statins:
Angiostatin
Endostatin
Canstatin
Tumstatin

Activators
VEGFs
FGFs
PDGFB
EGF
LPA



- **Moduladores** de proliferación y migración
- Estatinas como angiostatina, endostatina

SWITCH

- **Activadores** de proliferación y migración de células endoteliales
- Ligandos de receptores tirosina quinasa (ej.: VEGF, FGFs, PDGF, EGF)

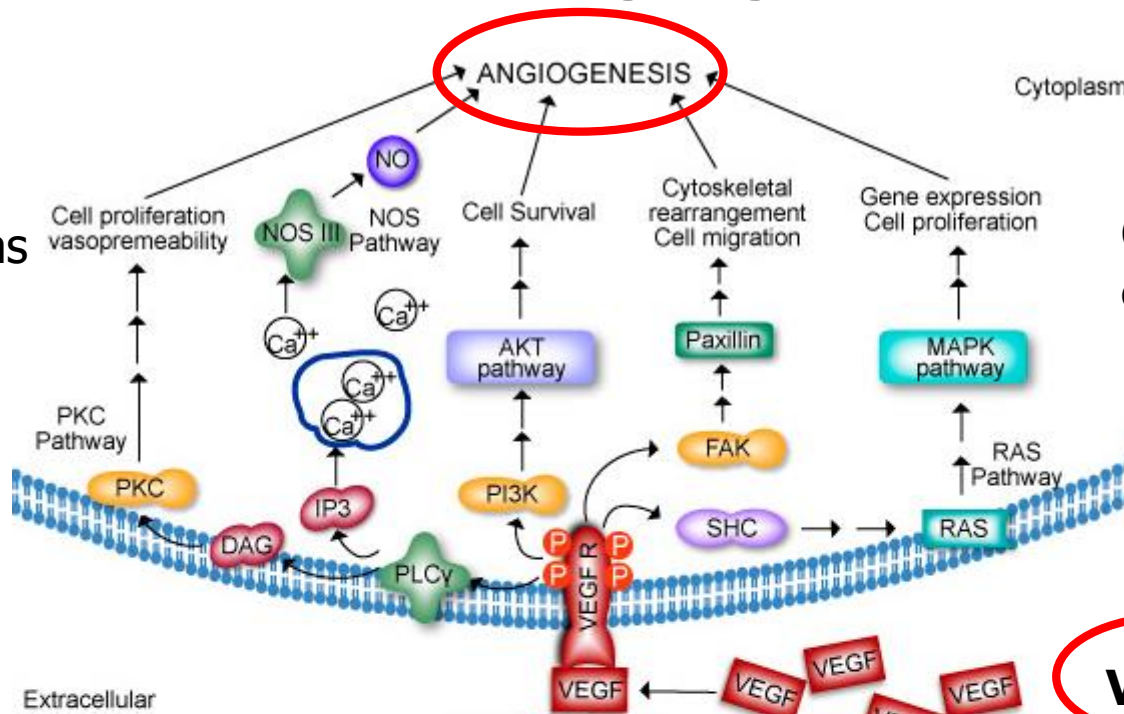
Inducción de Angiogénesis en Tumores

Se ve favorecida por:

- Hipoxia
- Mutación de oncogenes (RAS, MYC, EGF, sobreexpresión de HER2)
- Pérdida de función de supresores de tumores (PTEN, P53)
- Requiere interacción entre diferentes tipos de células y el microambiente
- Esencial para sobrevivencia tumoral, invasión y metástasis

Señalización Pro-Angiogénica

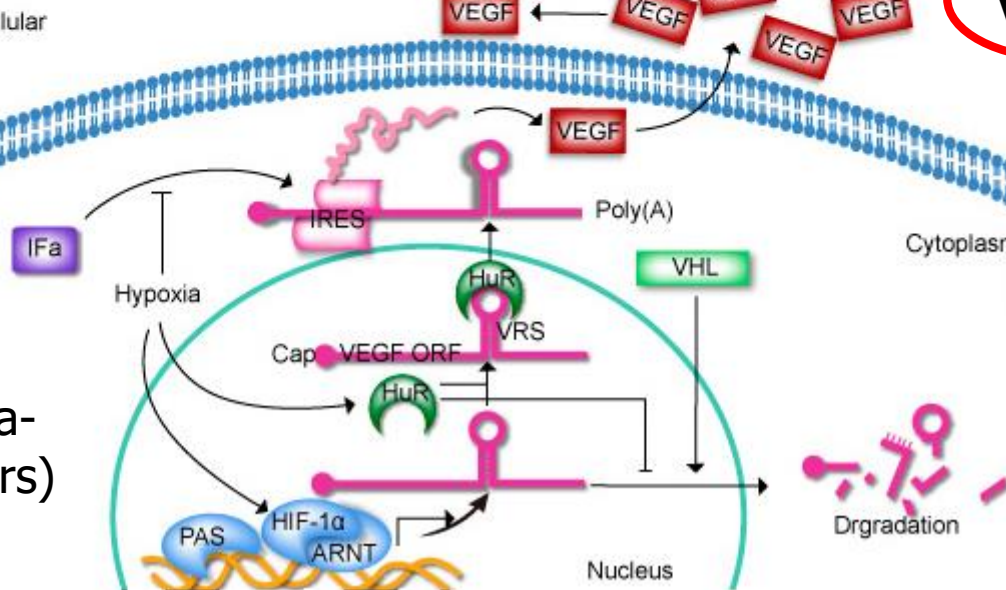
Resuestas proliferativas



Célula endotelial

VEGF

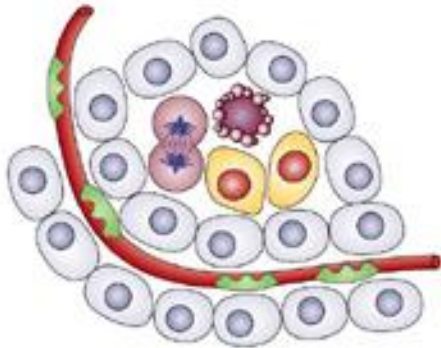
HIFs (Hipoxia-Induced Factors)



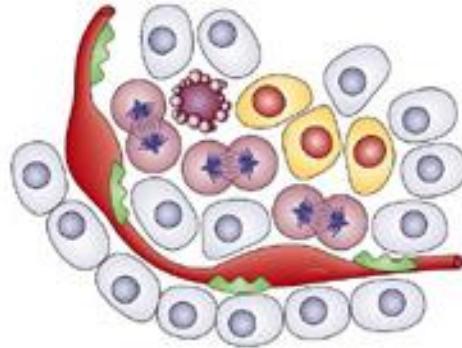
Célula tumoral hipóxica

Angiogenesis Tumoral

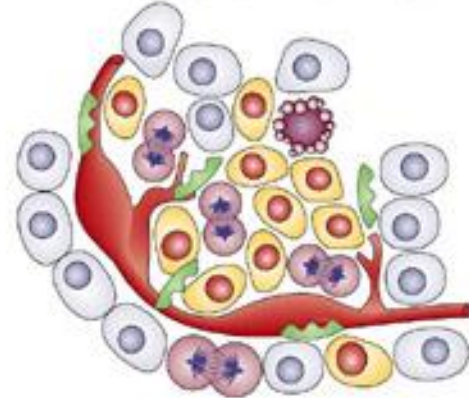
a Dormant



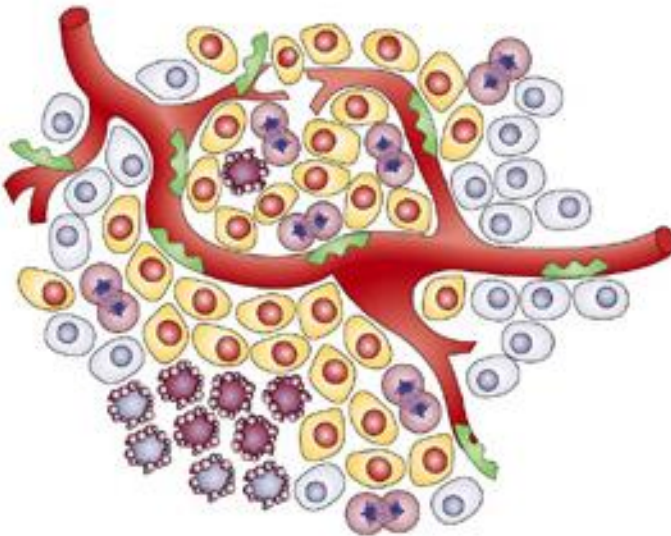
b Perivascular detachment and vessel dilation



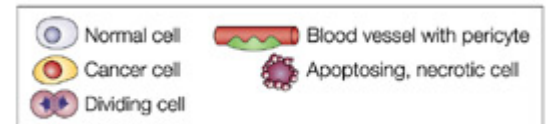
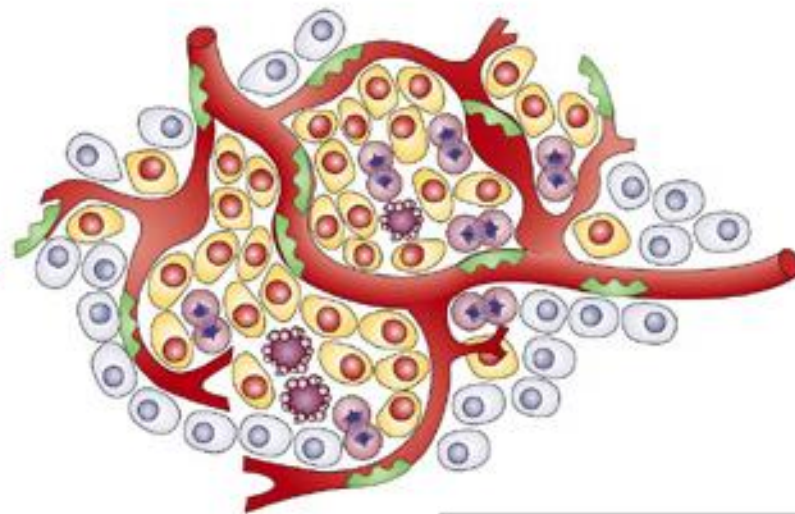
c Onset of angiogenic sprouting



d Continuous sprouting; new vessel formation and maturation; recruitment of perivascular cells



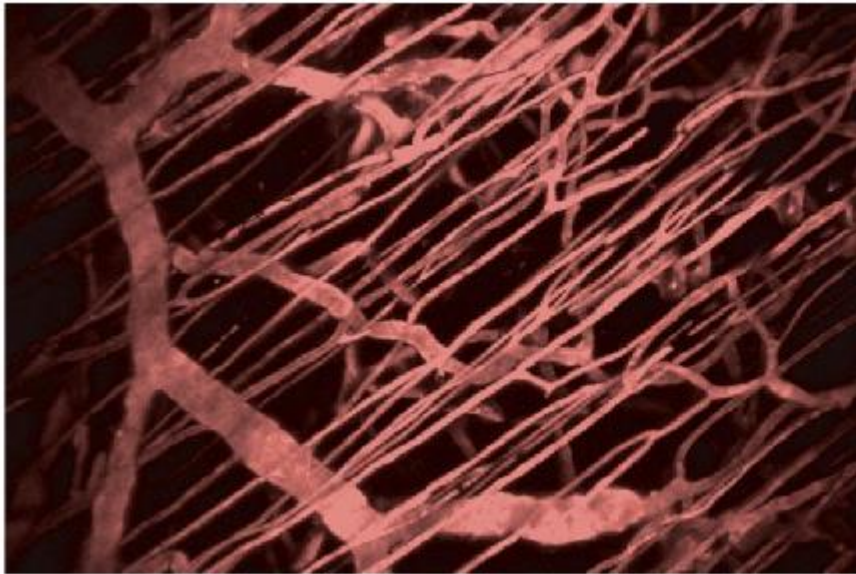
e Tumour vasculature



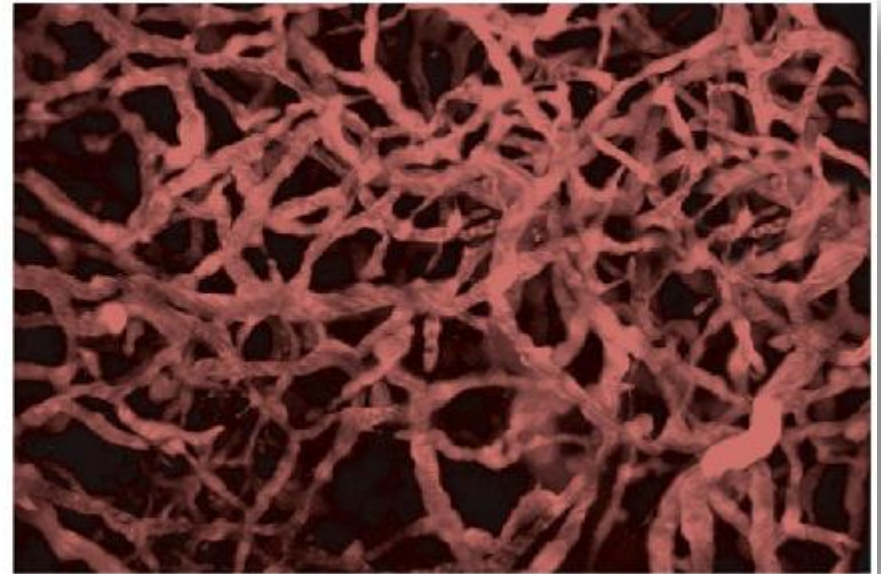
Vasculatura Tumoral

- No llega a estado quiescente, angiogénesis constante («herida que no sana»)
- Arquitectura anormal: forma irregular, tortuosa, dilatada, «dead-ends», hemorragias

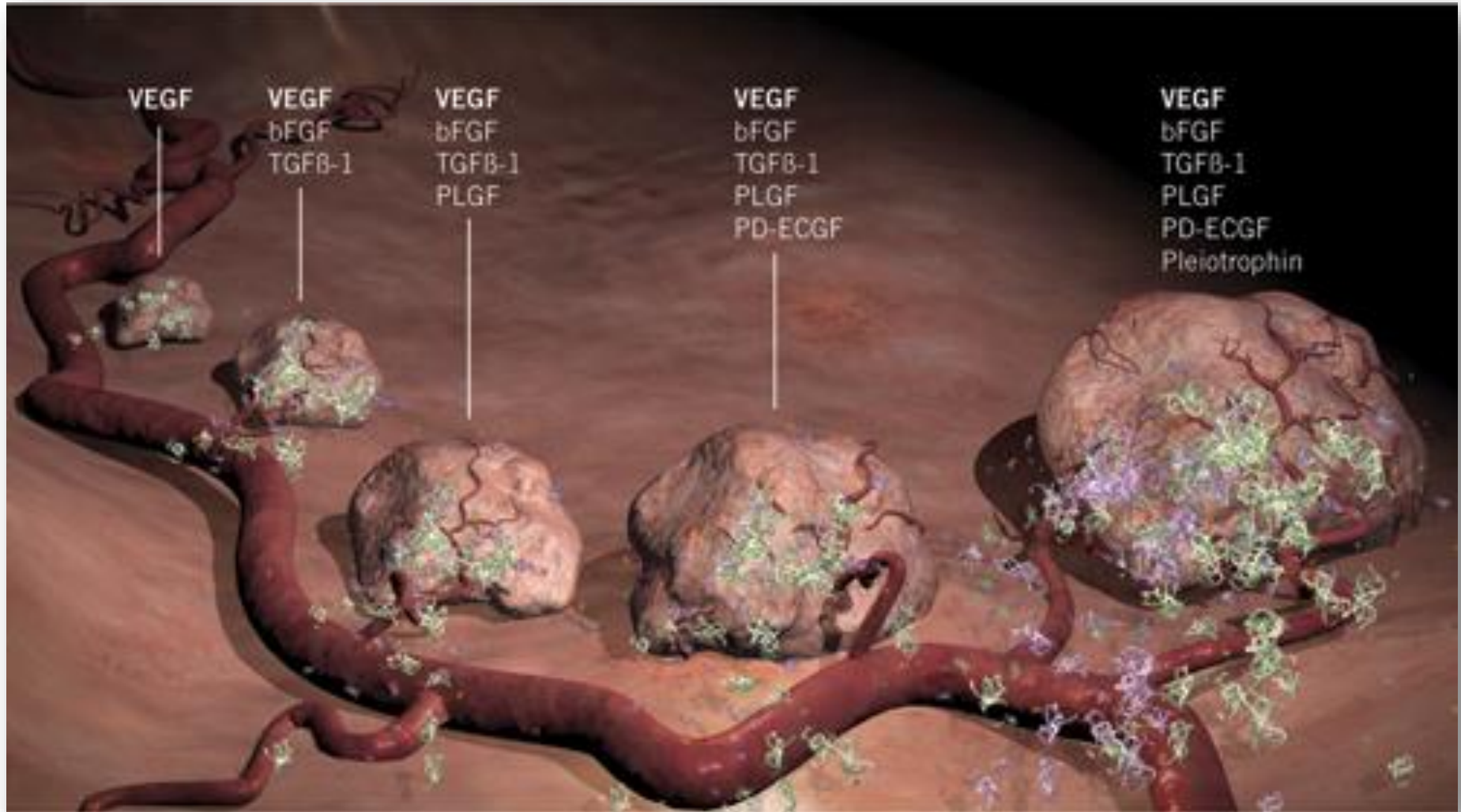
normal tissue



tumor



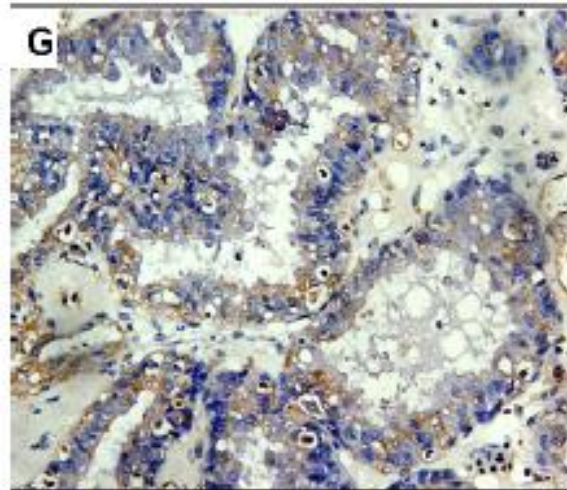
Angiogénesis es un Proceso Continuo



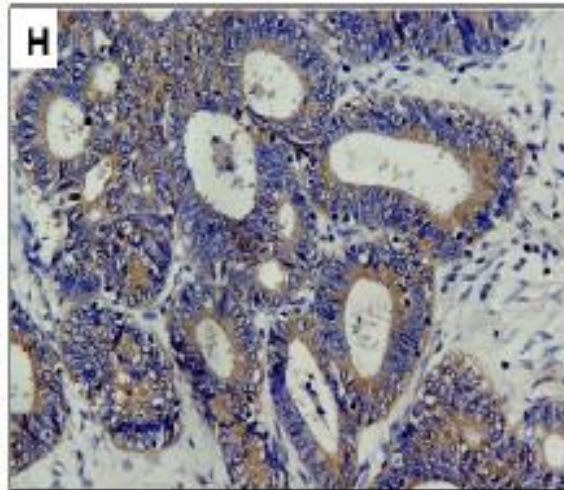
VEGF y Conducta Clínica de Tumores

- Presencia de VEGFA se asocia con angiogénesis
- VEGFA elevada puede estar asociada a estadios avanzados (ej: cáncer ovárico), peor sobrevida

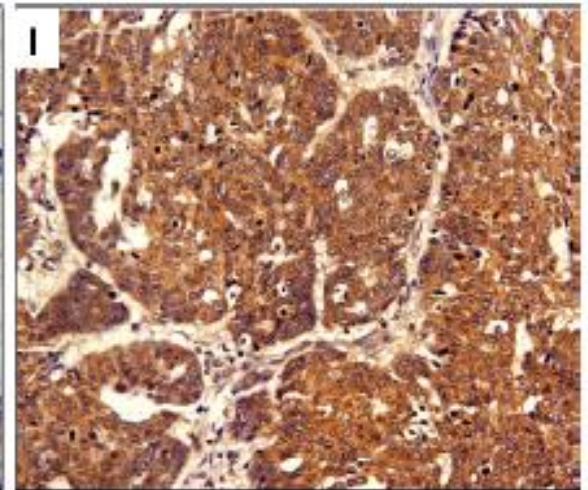
FIGO 2, Stage I



FIGO 2, Stage II

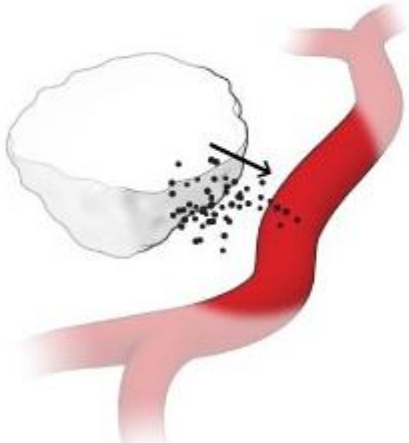


FIGO 3, Stage IV

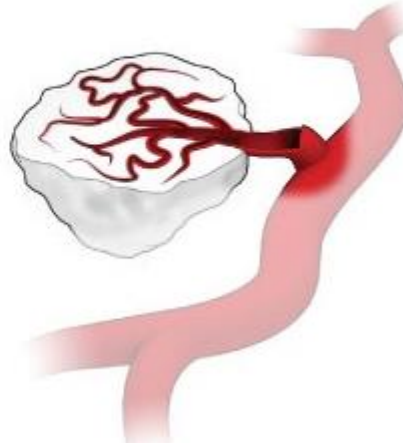


Dos Mecanismos para Abastecer un Tumor

1 Tumor cells secrete factors to **stimulate vessel growth**.

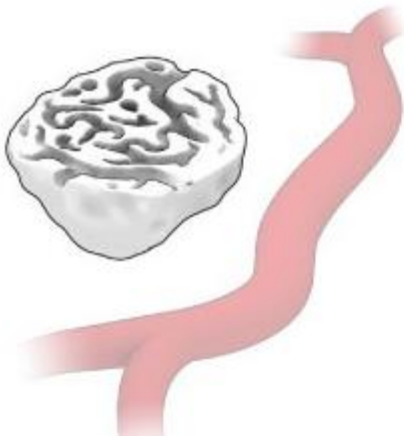


2 Vessel grows into the tumor mass.

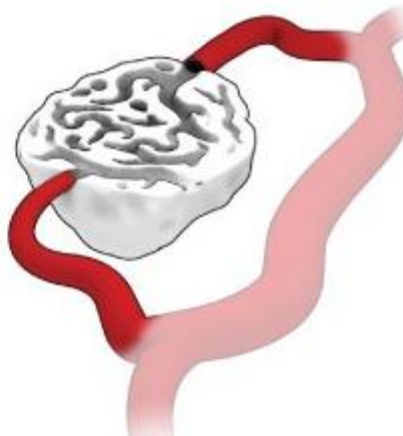


Angiogenesis

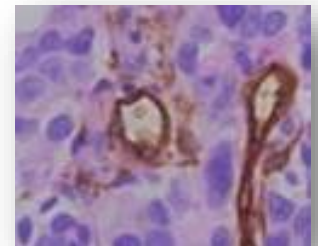
1 Tumor cells organize themselves to **form vessellike channels**.



2 Vessels hook up to channels within the tumor mass.

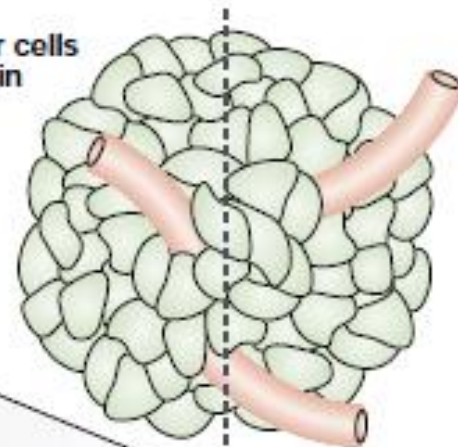


Vasculogenic mimicry

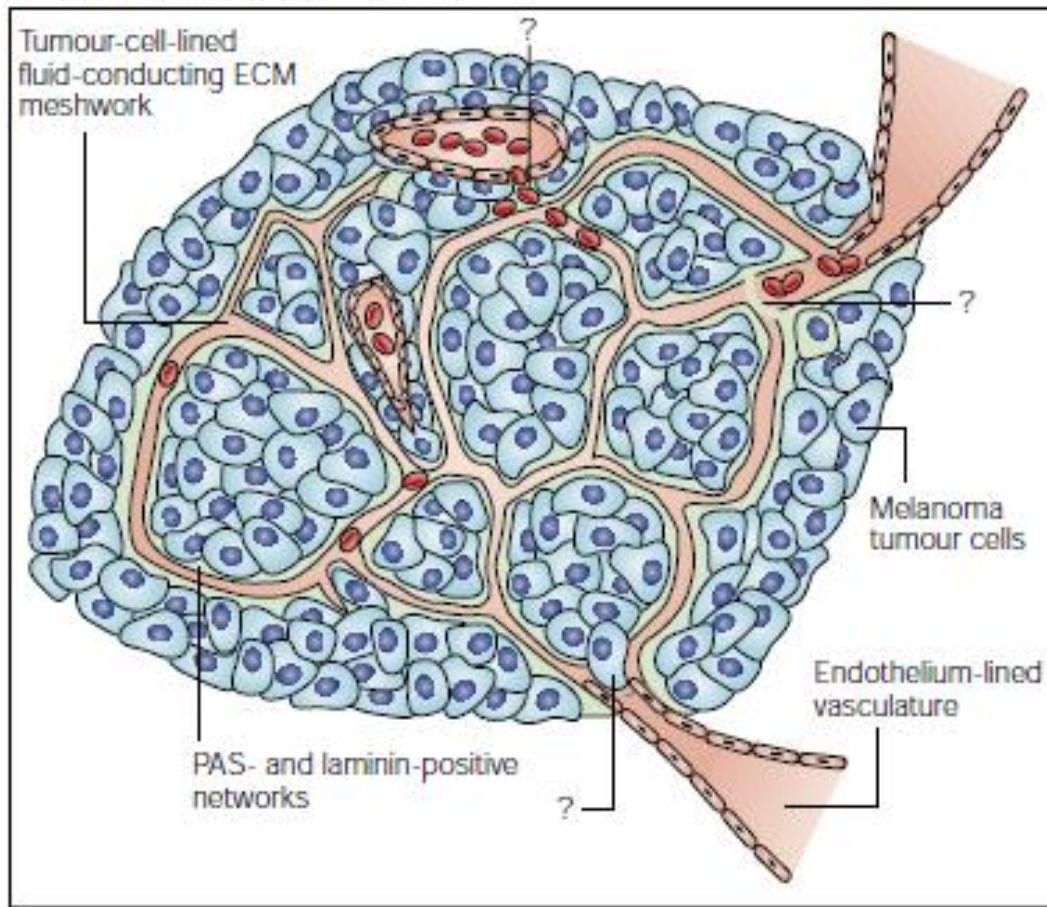


"Vasculogenic Mimicry"

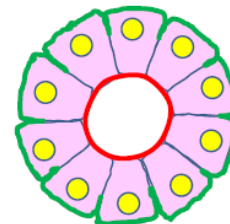
Cluster of tumour cells covered by laminin



Magnified cross-section of tumour



Tubule-like



Vessel-like

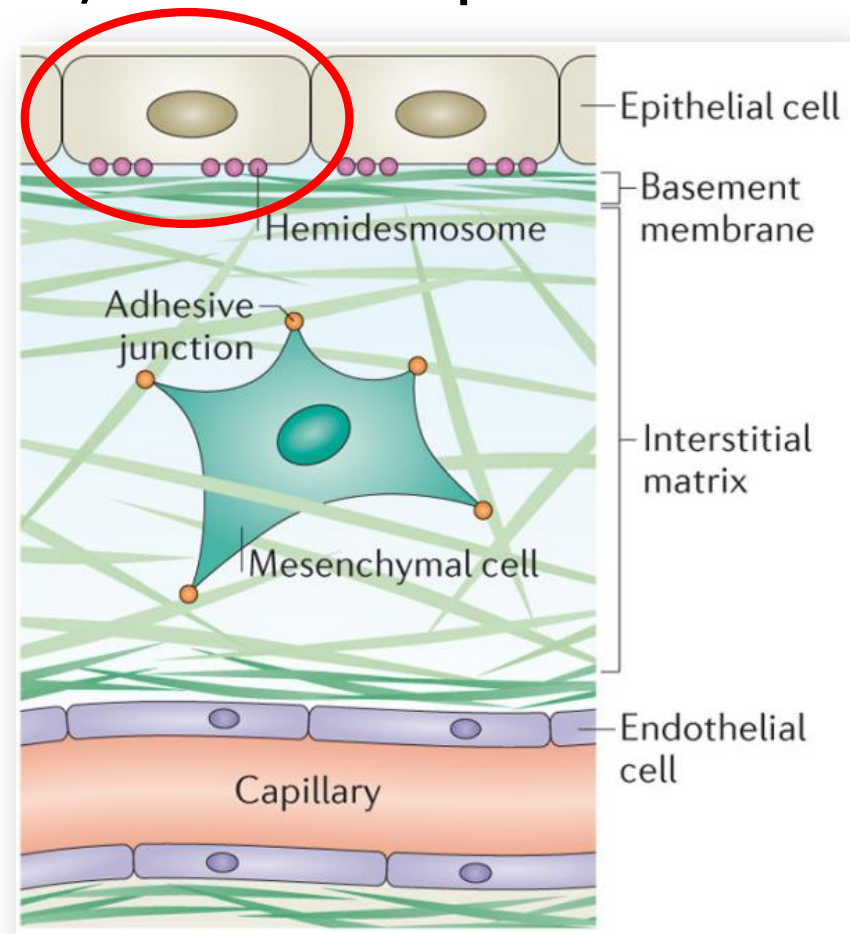


Invasión y

Metástasis

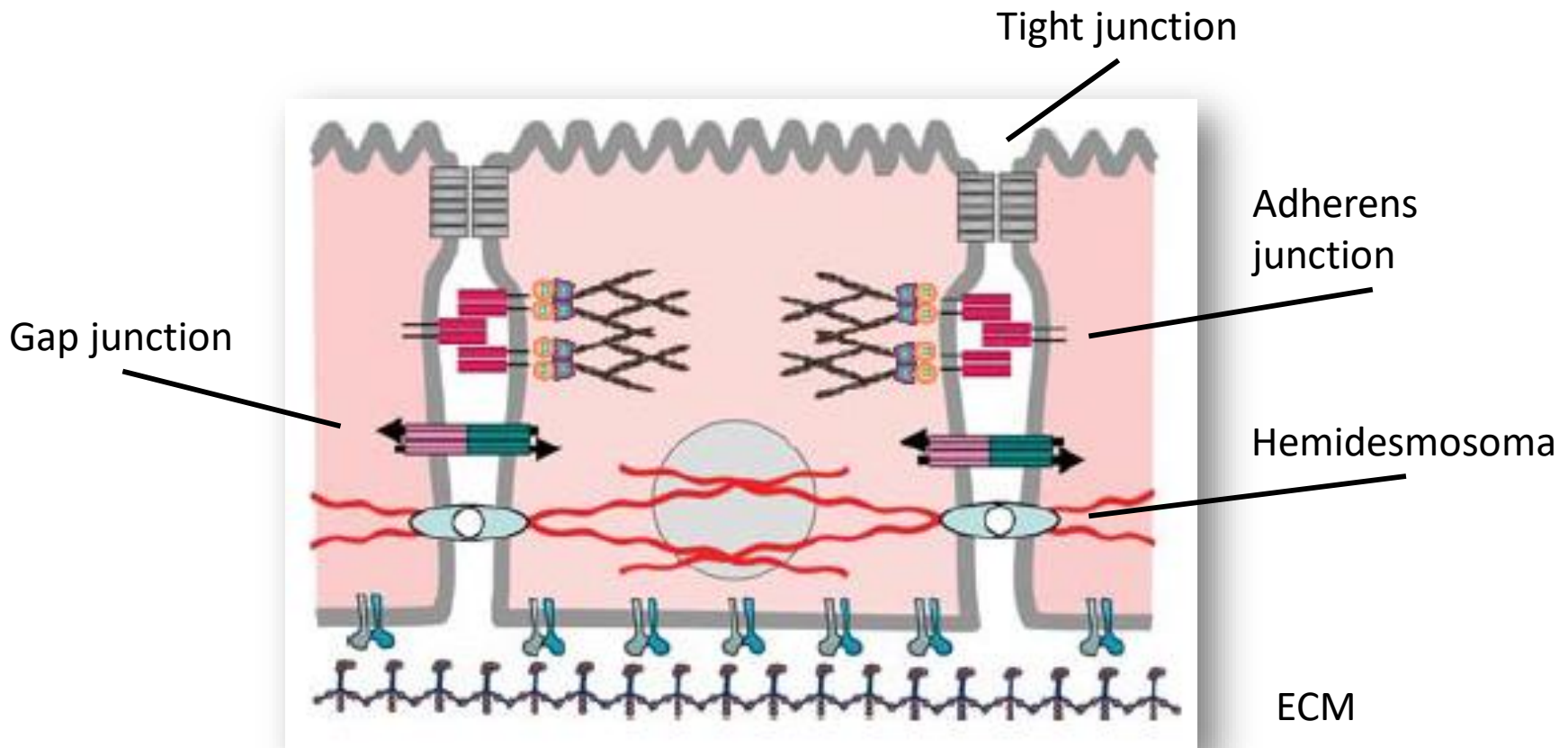
Conceptos Básicos

- Células epiteliales: adherentes, forman capas celulares (→ barreras)
- Células mesenquimáticas: solitarias, capacidad migratoria (→ «stem» cells, capacidad de diferenciar)
- Matriz extracelular (ECM): conformada por proteínas y carbohidratos (→ soporte, anclaje, señalización)



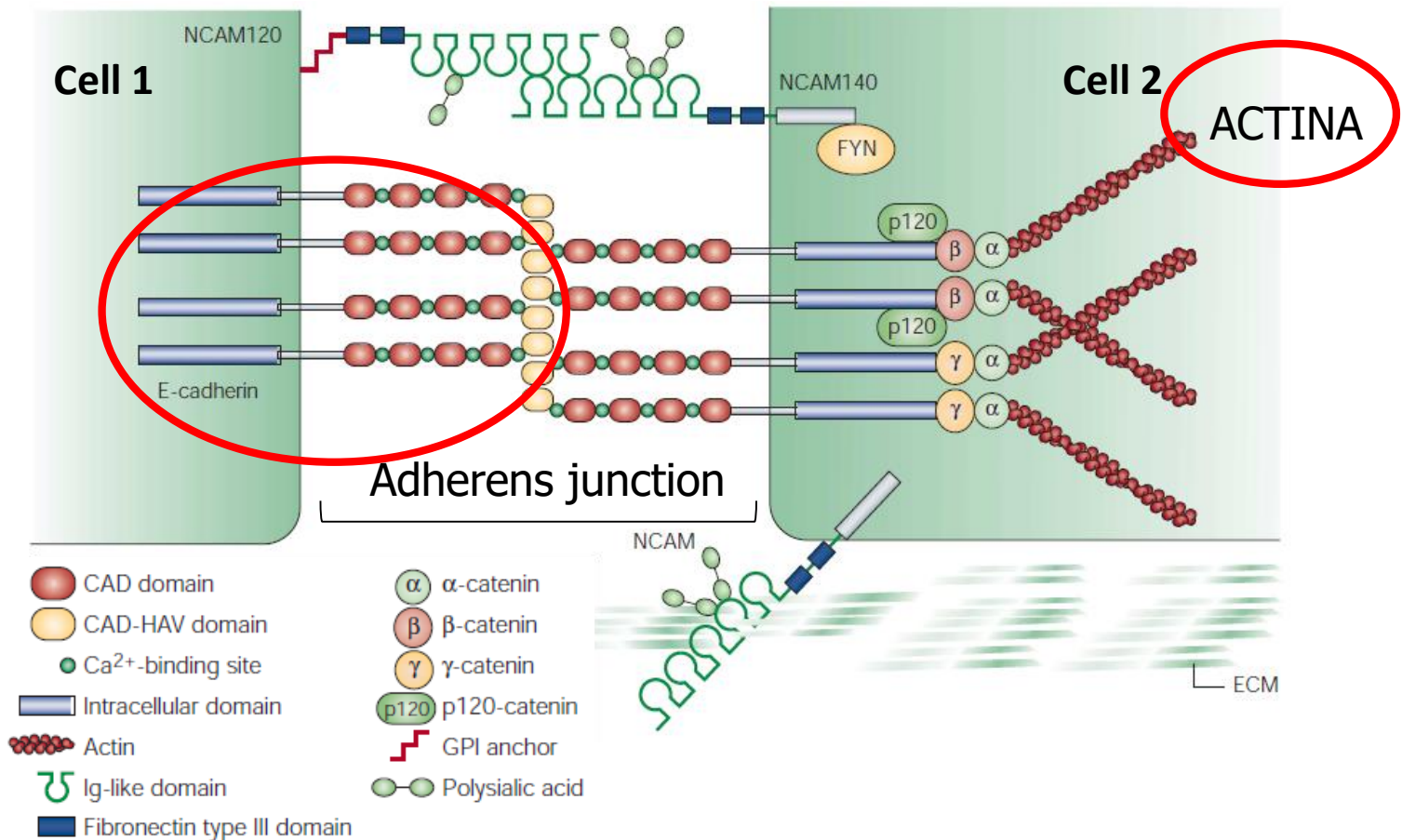
Fenotipo Epitelial

- Extensa comunicación intercelular y anclaje en la matriz extracelular
- Diferenciación, polaridad



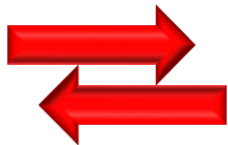
Fenotipo Epitelial: E-Cadherina

- *E-Cadherina*: inhibición por contacto y transmisión de señales que inhiben la proliferación

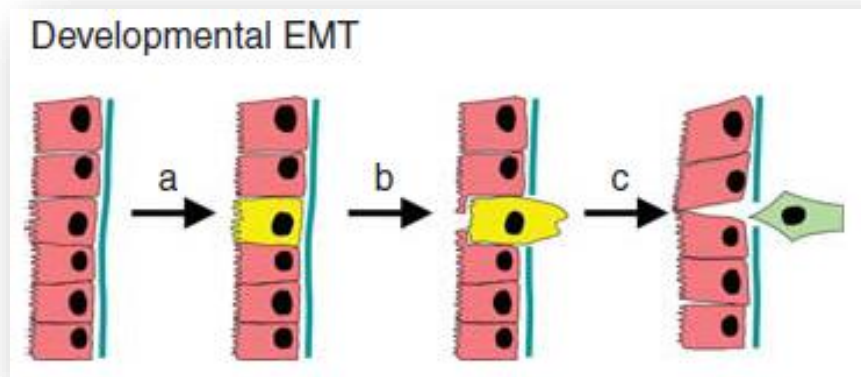


Transición Epitelial Mesenquimática (EMT)

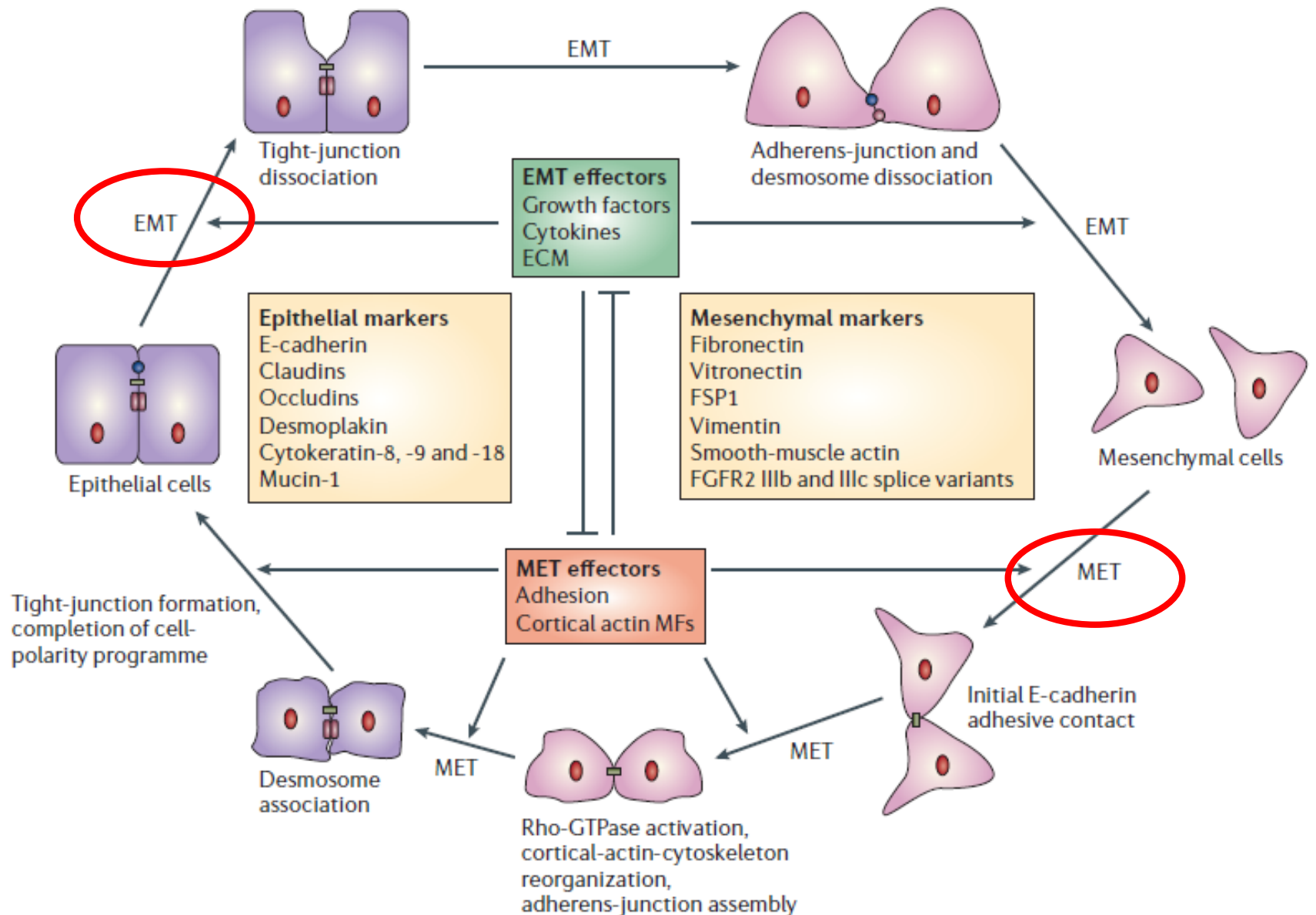
- Ciertos estímulos pueden inducir un cambio fenotípico de epitelial a mesenquimático (EMT)
- Rol fisiológico en desarrollo embionario: permite desdiferenciación y migración a otros sitios, donde las células reversionen nuevamente al fenotipo epitelial (MET)



Proceso **REVERSIBLE**

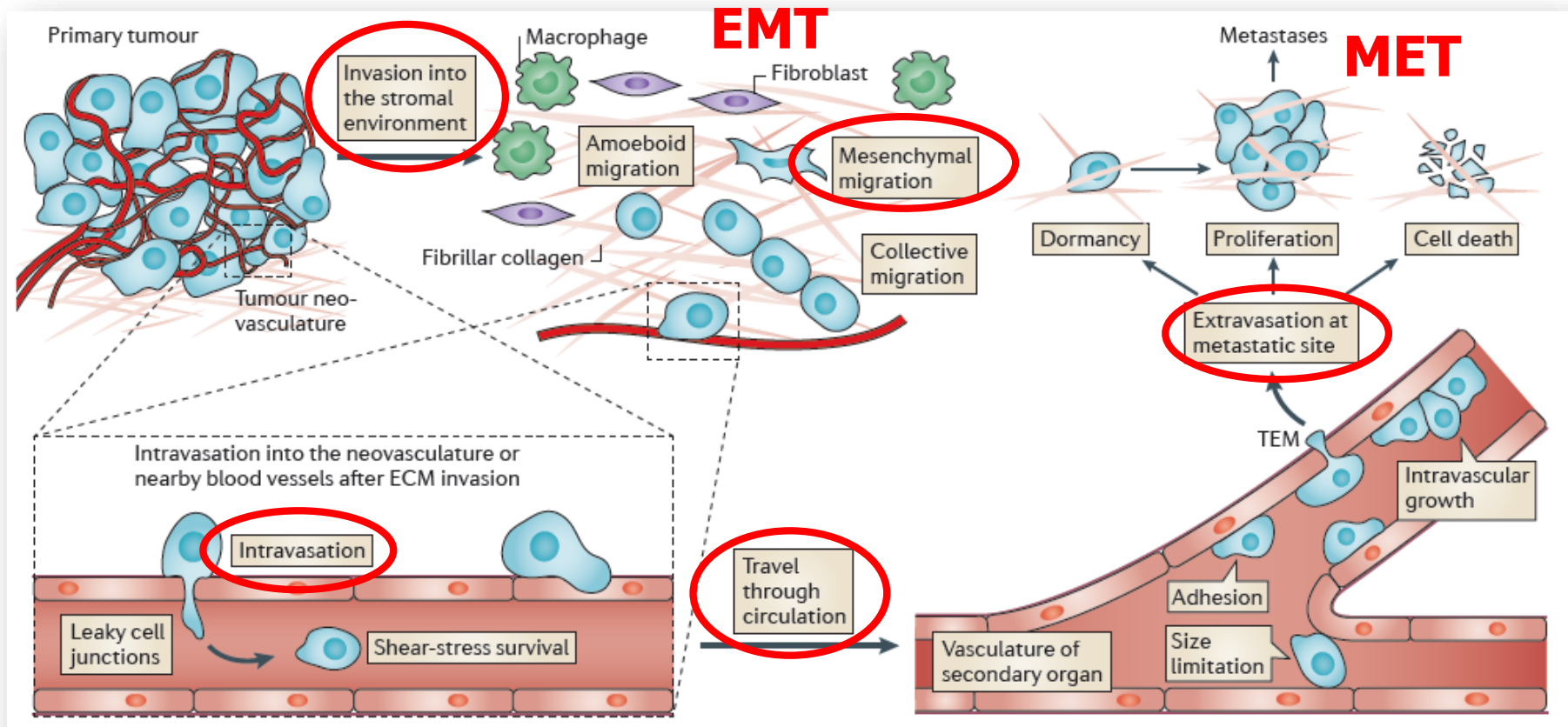


Ciclo de Plasticidad Celular



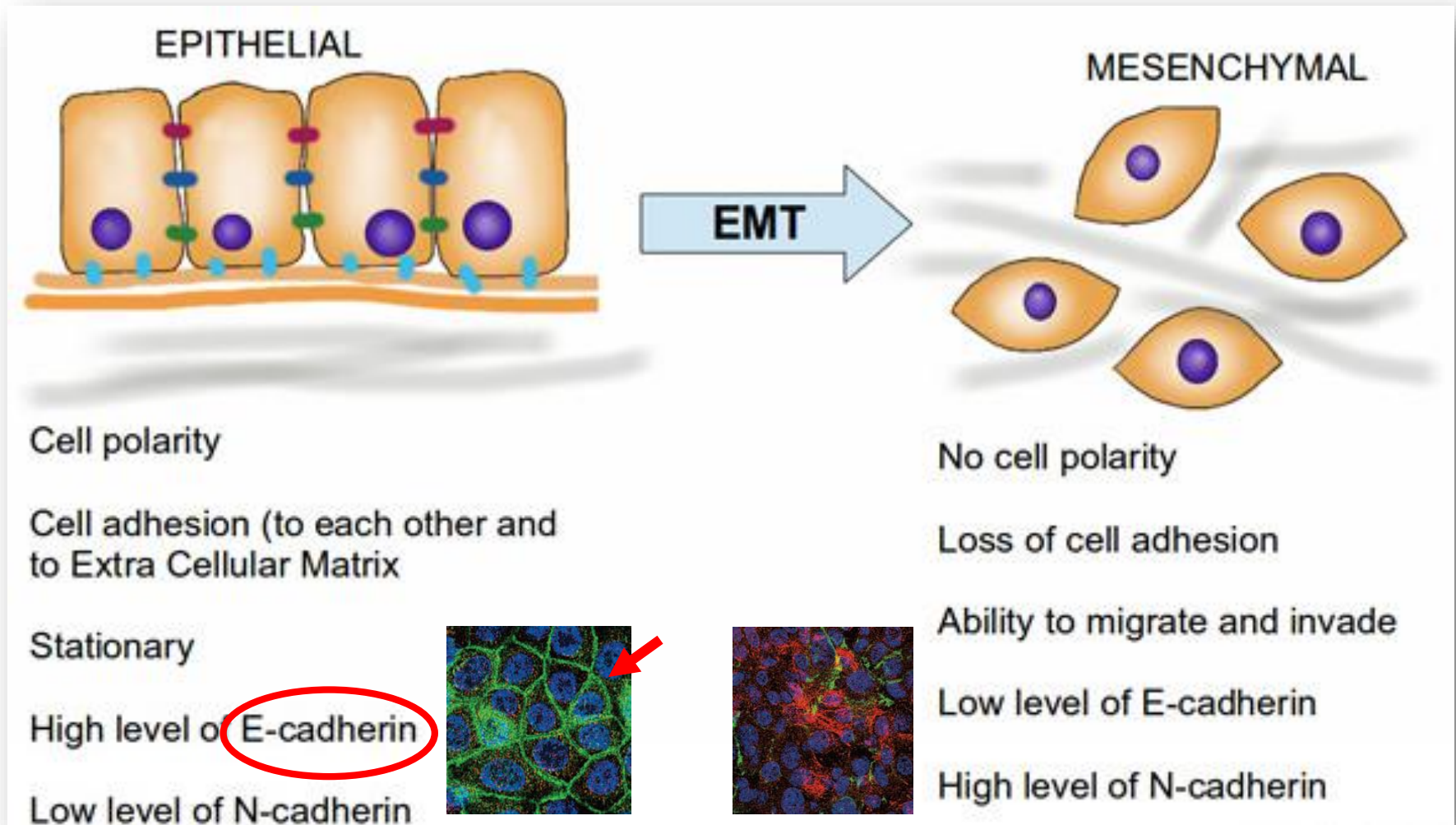
Metástasis

- Diseminación de células tumorales a un órgano en distancia
- Complejo: involucra varias etapas diferenciables:



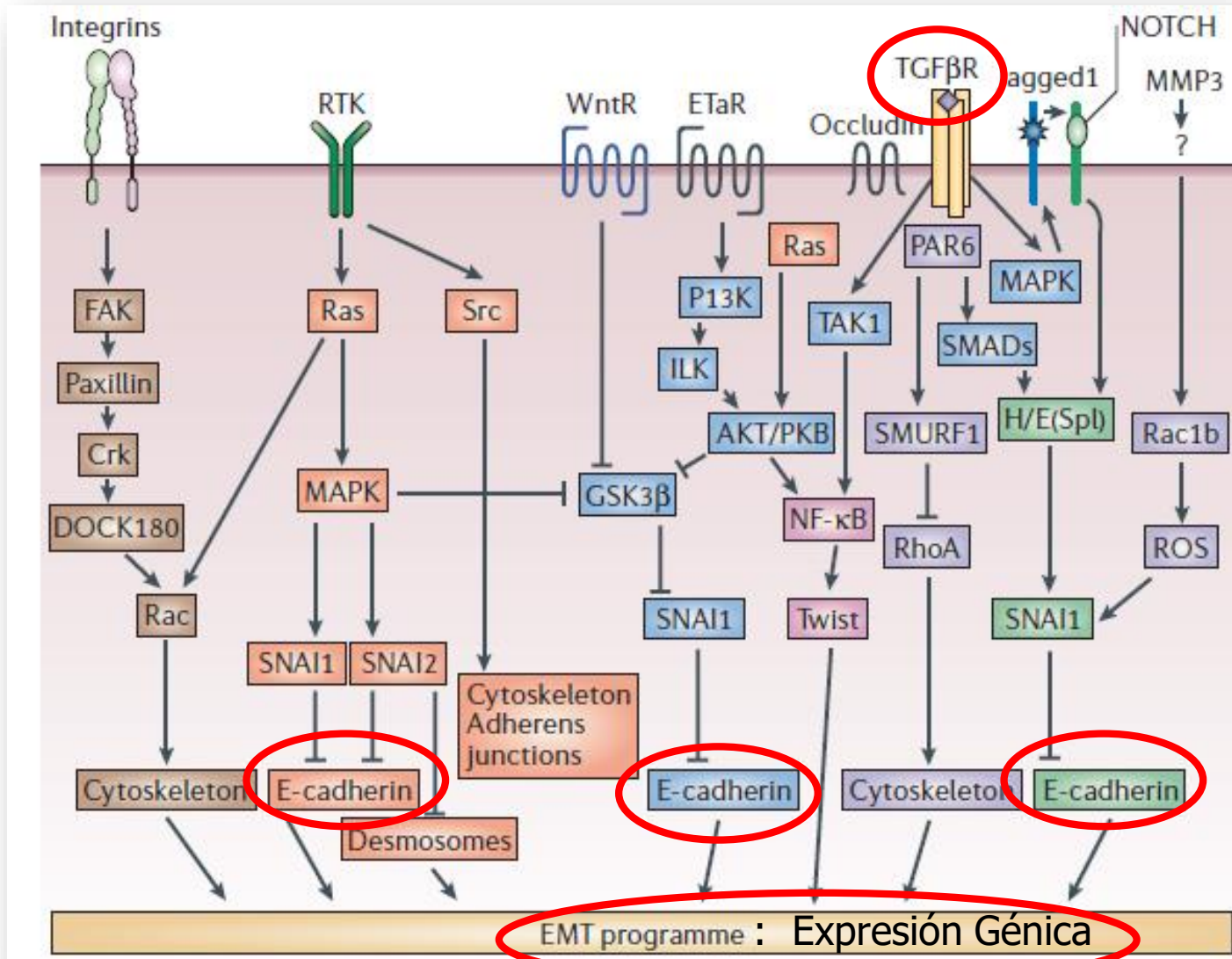
EMT: Requisito Necesario para Invasión

- EMT es necesaria para migración e invasión tumoral



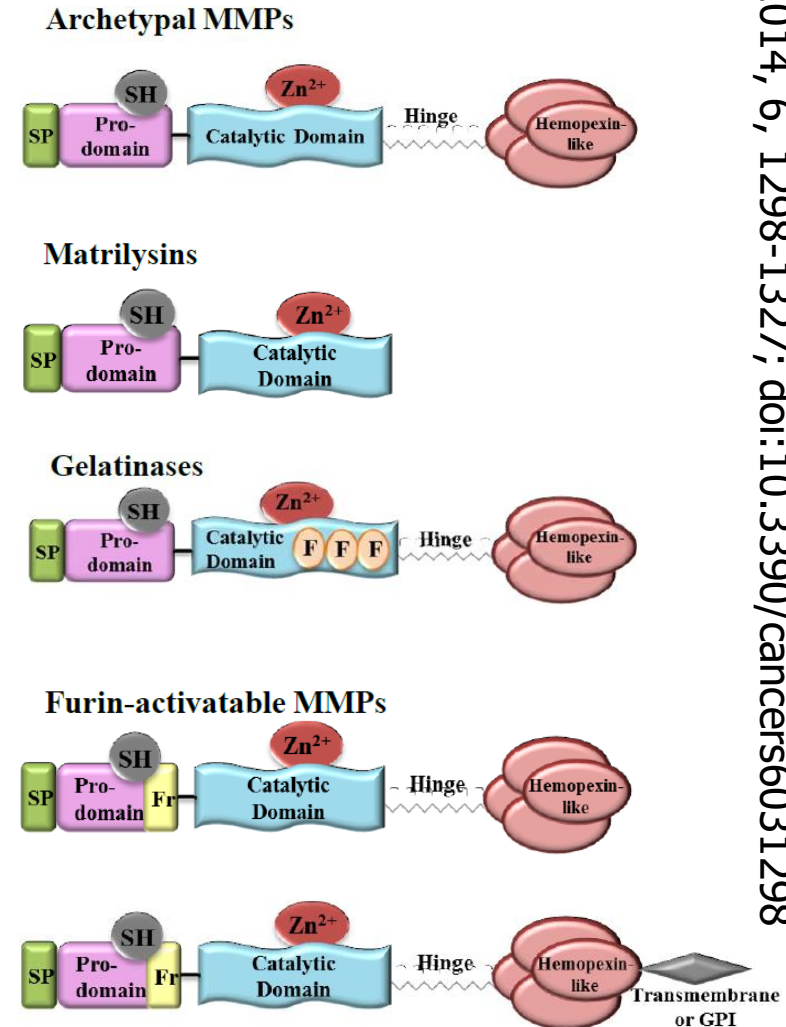
Inducción de EMT

- Rol de señalización extracelular: TGF- β



Degradación de la ECM

- Mediada por metaloproteinasas
- Degradan la lámina basal y permiten la migración a través del estroma
- Varias familias, agrupadas según estructura o localización (secretadas, proteínas de membrana)



Metaloproteinasas en Invasión

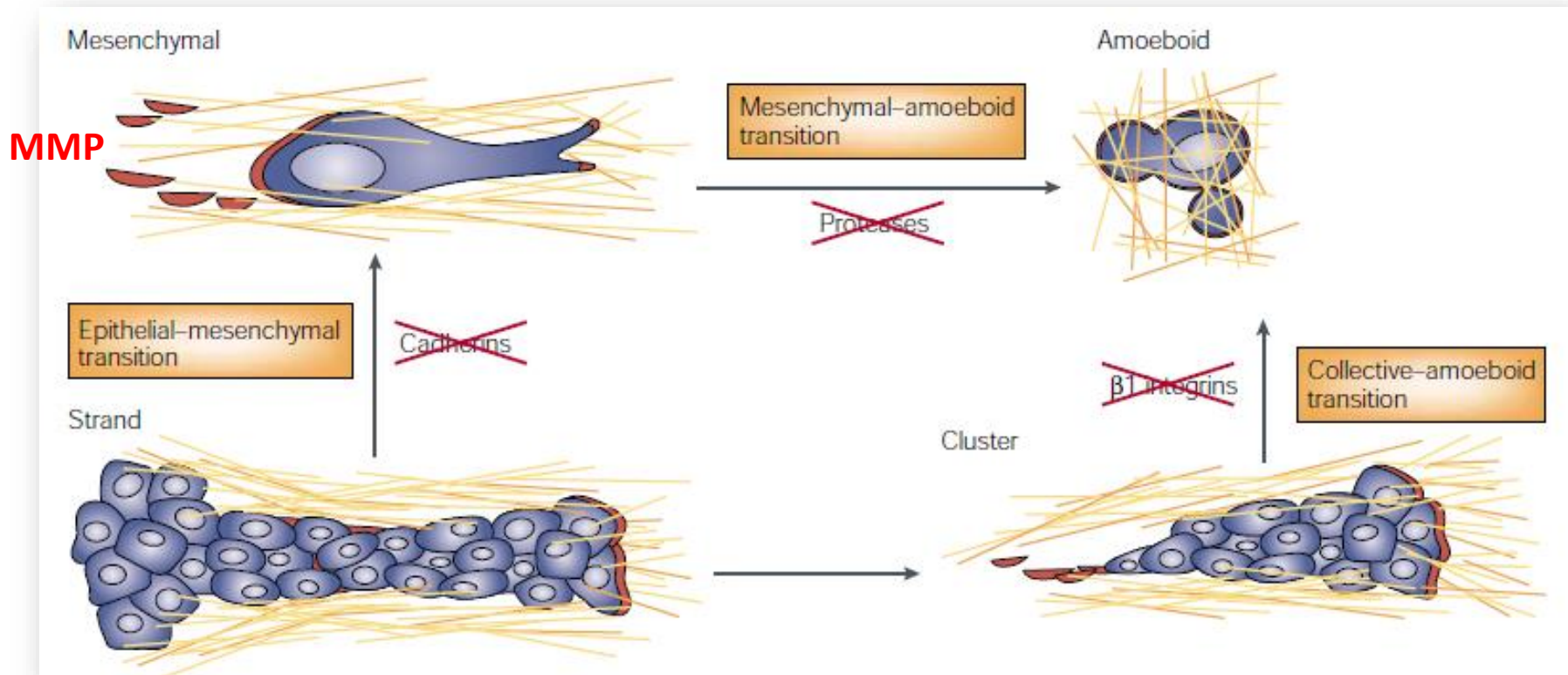
Enzyme	ECM substrates	Structure
MMP7	Collagen IV, gelatin, fibronectin, laminin, elastin, transferrin, casein	
MMP3	Collagens, gelatin, aggrecan, laminin, elastin, casein, osteonectin, fibronectin, ovostatin, entactin, plasminogen, pro-MMP9	
MMP2	Collagens (IV, V, VII, X), gelatin, elastin, fibronectin	
MMP9	Collagens (IV, V, VII, X), gelatin, elastin, fibronectin	
MMP14	Collagens, gelatin, fibronectin, laminin, vibronectin, entactin, pro-MMP2	

Ast-like Cat (Zn)	Astacin-like catalytic domain	EGF	EGF-like factor	Propeptide	Propeptide domain
Catalytic (Zn)	Catalytic domain	GPI	GPL anchoring sequence	S	Signal peptide domain
Cyto	Cytosolic tail	HPX	Haemopexin-like domain	Tbs	Thrombospondin type I-like repeat
Cys	Cys-rich domain	Ig	Immunoglobulin-like domain	TM	Transmembrane domain
Dis	Disintegrin domain	MAM	Meprin A5 protein tyr phosphatase μ-domain	TRAF	TNFR-associated factor domain

- Otras proteasas (ADAMS, uPA)

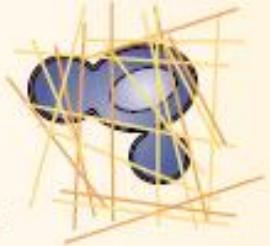


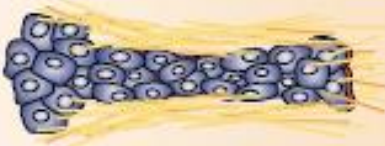
Plasticidad de la Migración Celular

- Varias formas: programas de migración adaptables (dif. patrones de expresión génica)
- Promovida por macrófagos asociados a tumores

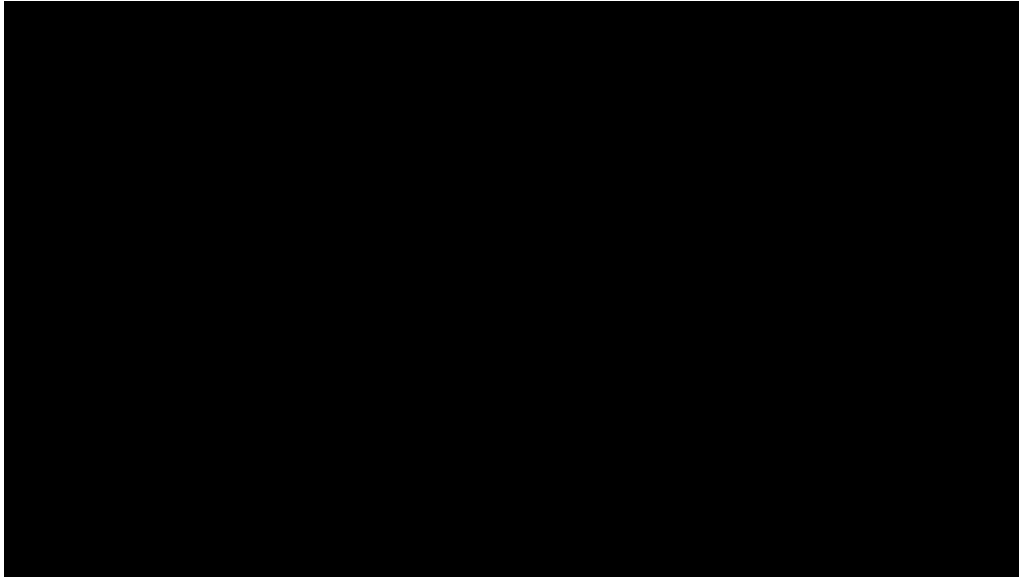


Migración Celular en Invasión

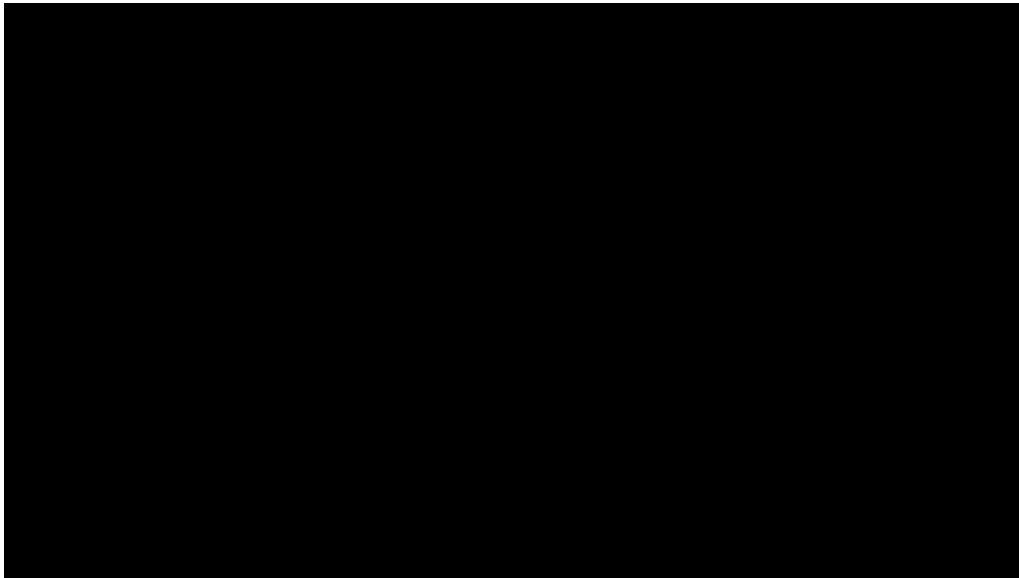
- Dependiente del tipo de tumor

	Migration strategy	Tumour type
Individual	 Ameoboid	Lymphoma Leukaemia SCLC
	 Mesenchymal (single cells)	Fibrosarcoma Glioblastoma Anaplastic tumours
	Mesenchymal (chains)	
Collective	 Cluster/cohorts	Epithelial cancer Melanoma
	 Multicellular strands/sheets	Epithelial cancer Vascular tumours

Migración en 2D

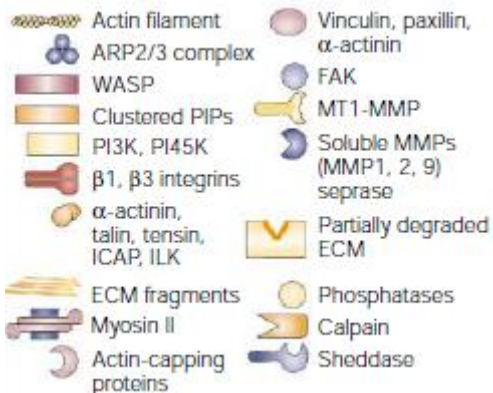
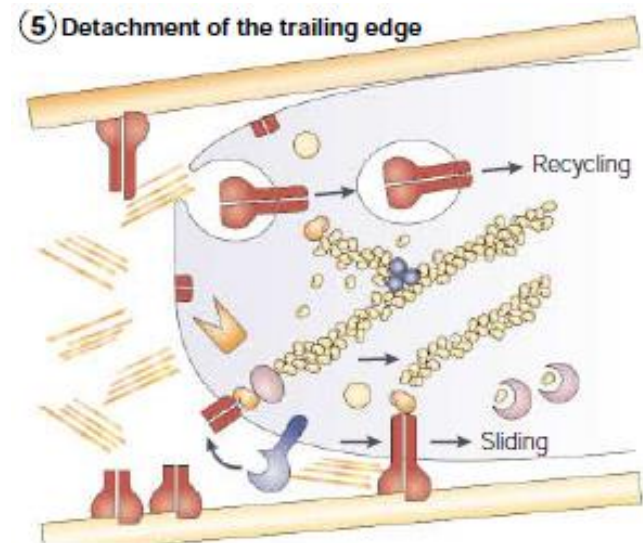
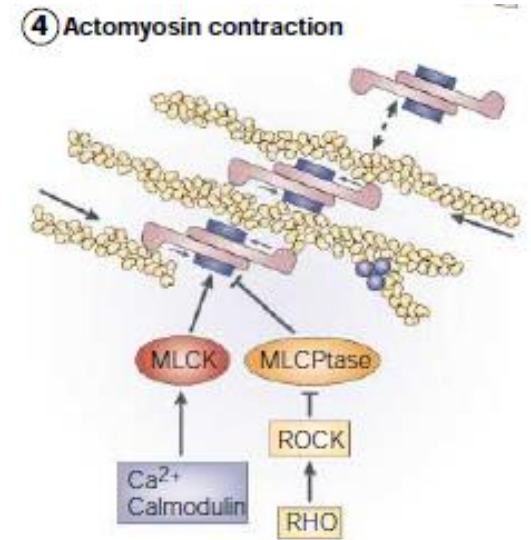
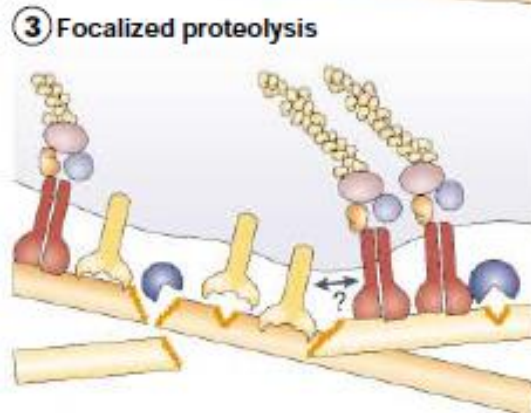
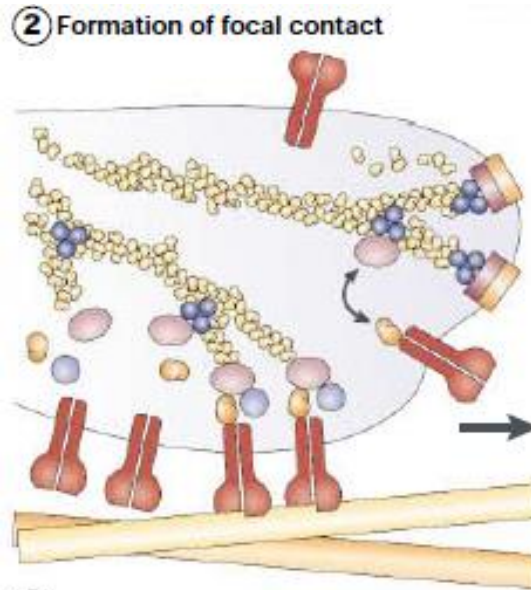
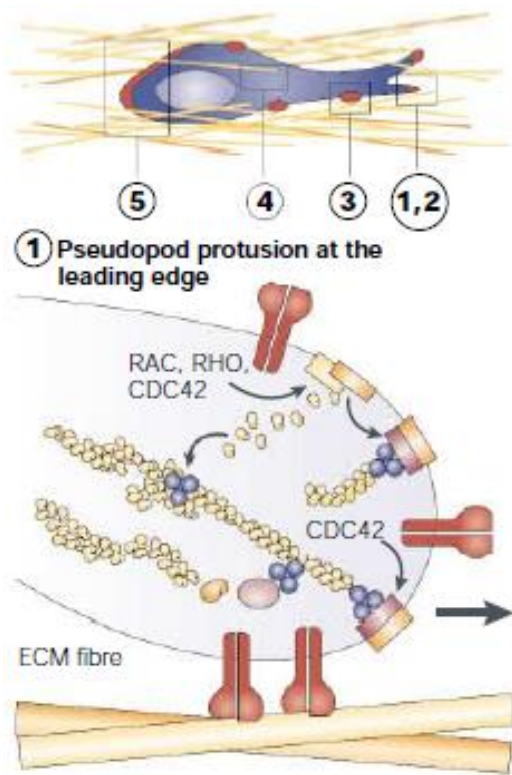


https://www.youtube.com/watch?v=t3u2_pAEB94



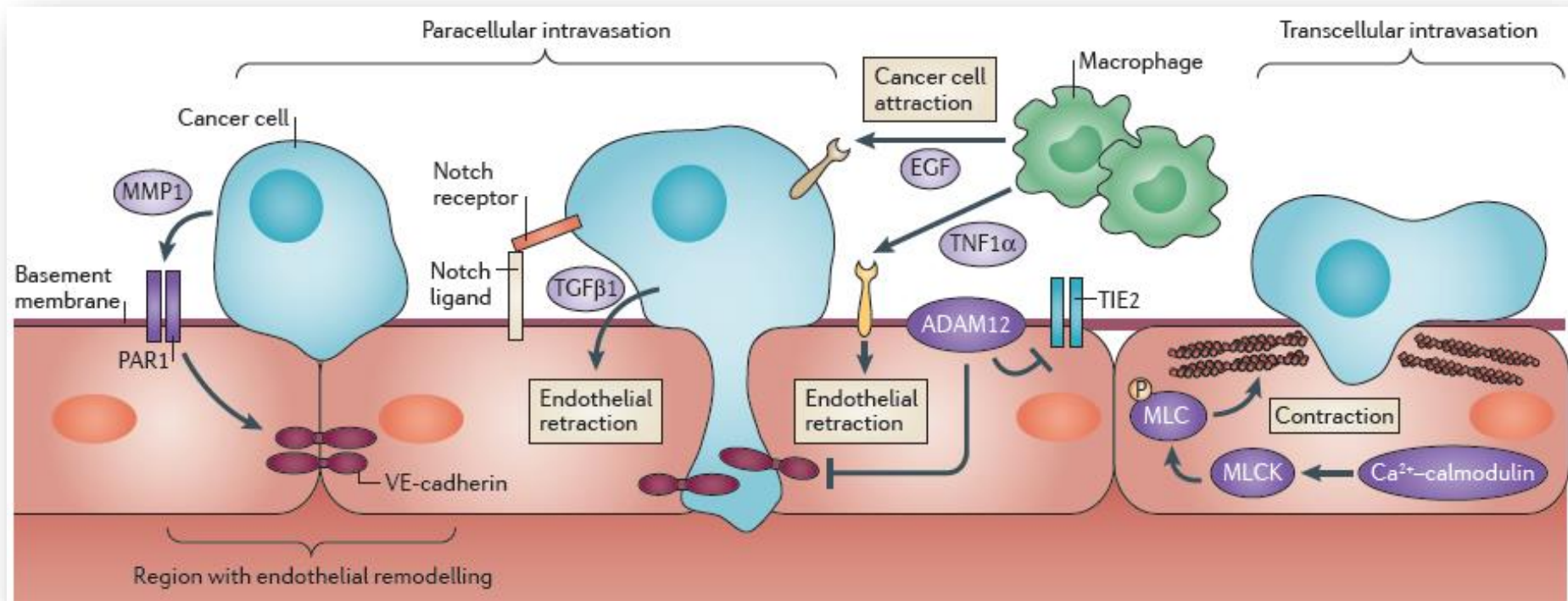
<https://www.youtube.com/watch?v=vAaQ4WS8QhI>

Pasos en la Migración en 3D



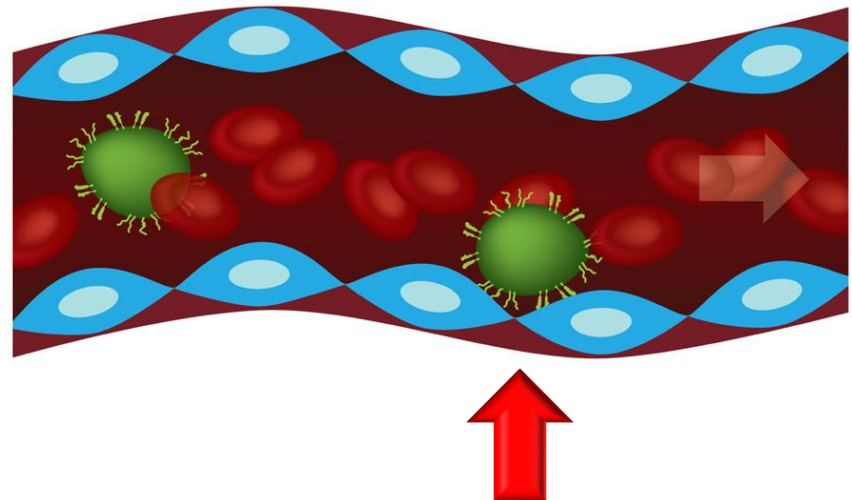
Intravasación

- Señalización compleja, rol de metaloproteinasa1
- A través de espacios intercelulares o de la célula endotelial



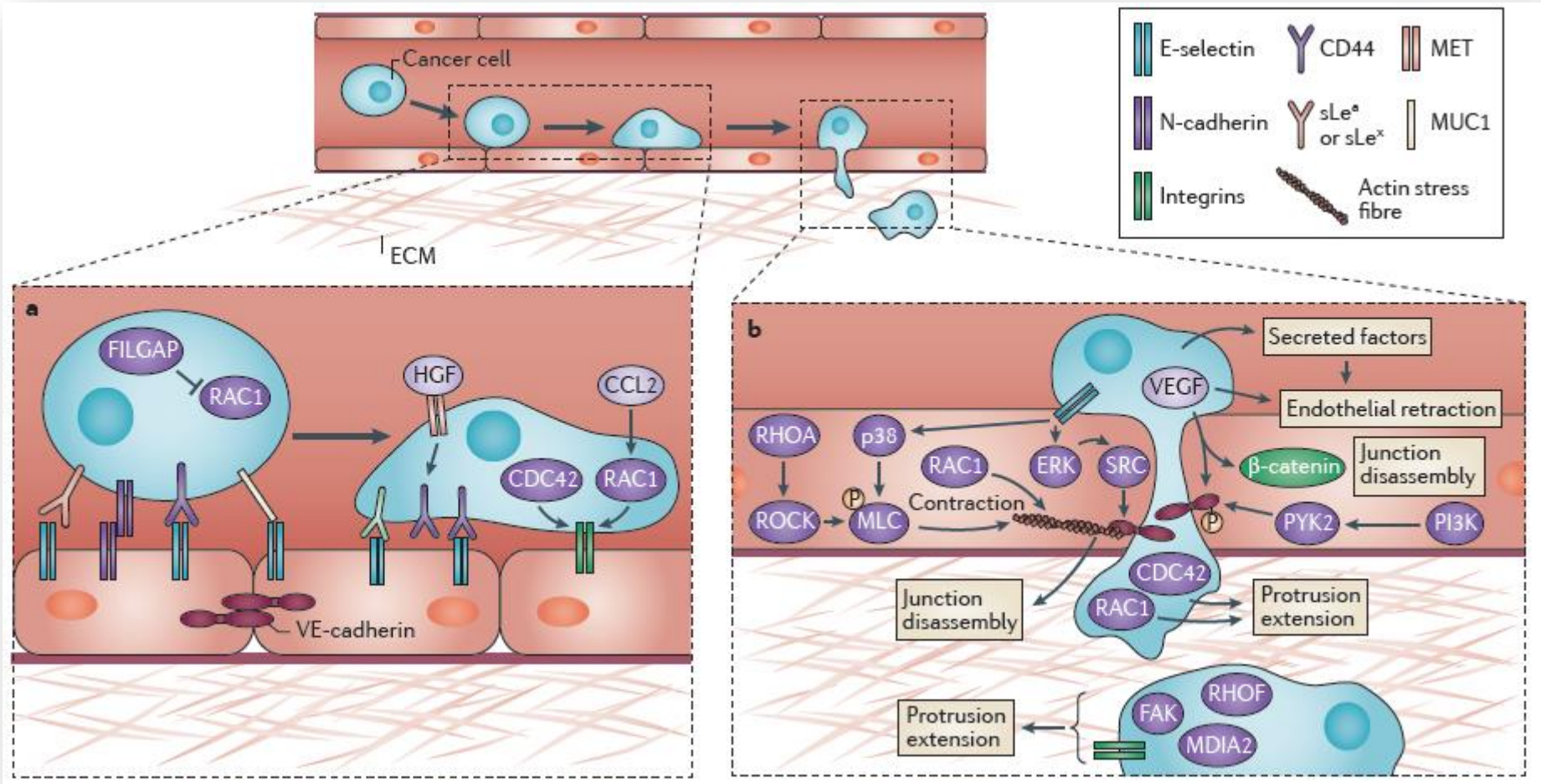
Transporte en Vías Sanguíneas

- Células tumorales deben sobrevivir condiciones adversas (espacio reducido, fricción, niveles de oxígeno, falta de anclaje)
- Células migran hasta encontrar ambiente propicio para extravasar: en general, capilares pequeños (disminuye velocidad de transporte, coágulo, tiempo para adhesión a pared endotelial)

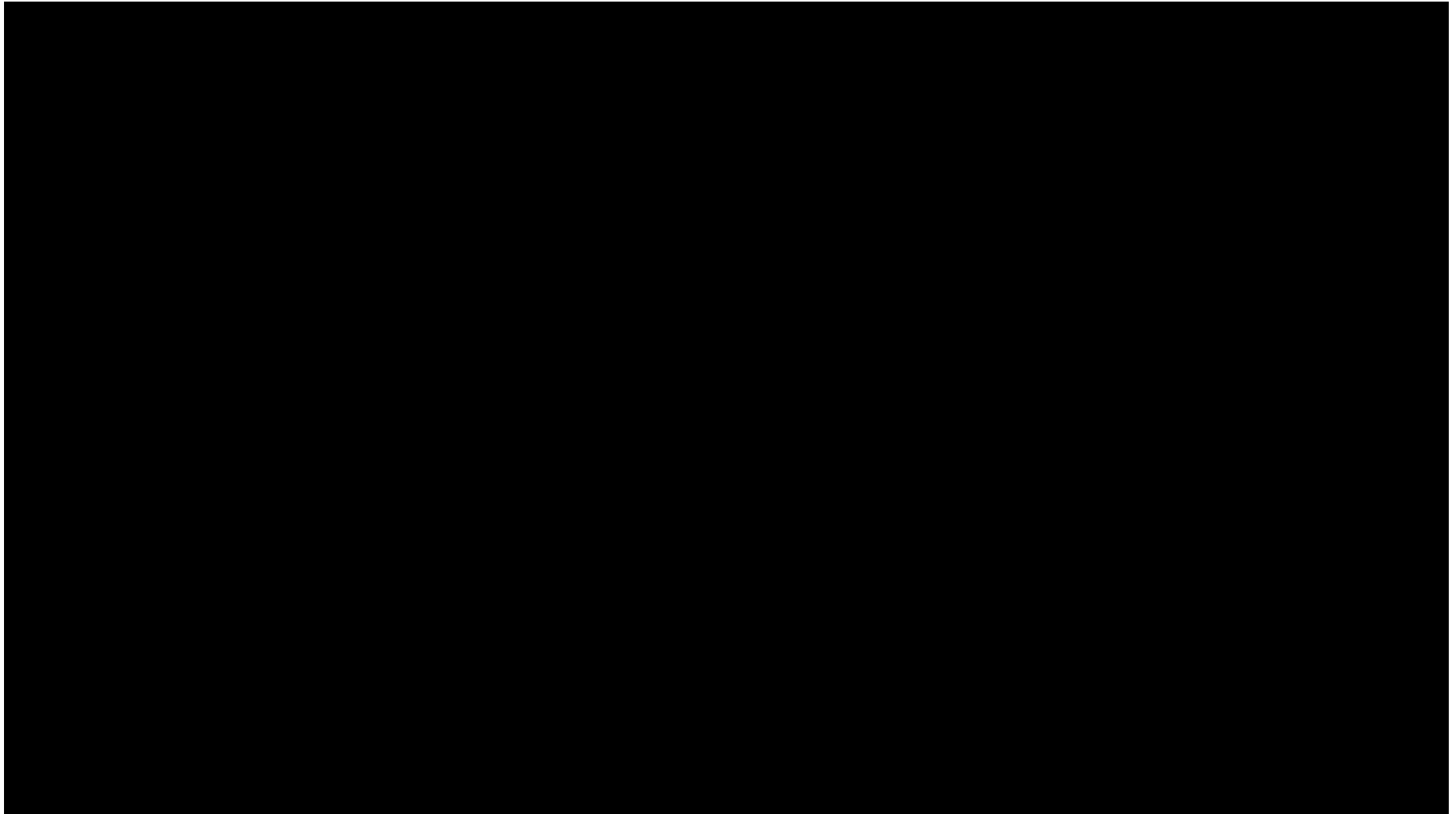


Adhesion y Extravasación

- Mediada por varias proteínas de superficie
- Facilitada por otras células



Invasión

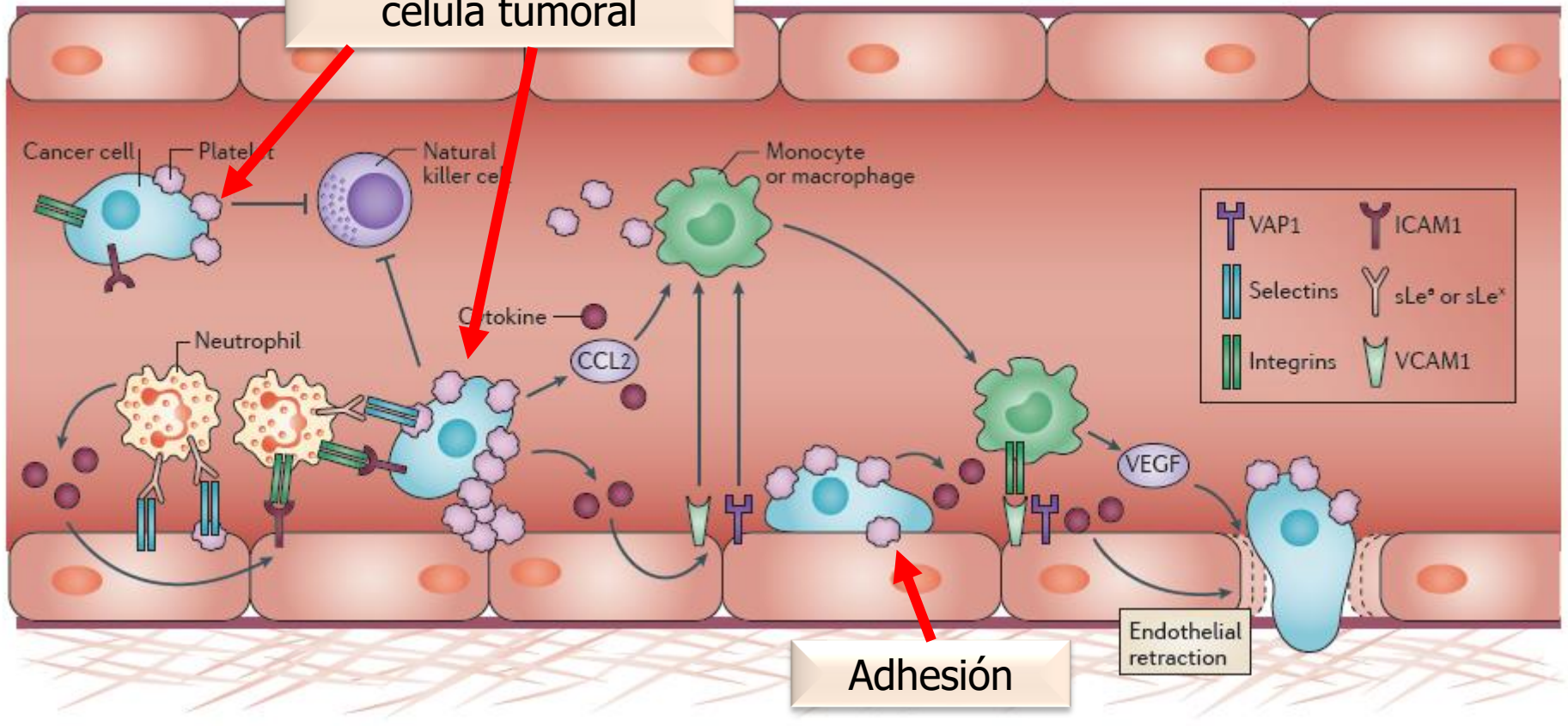


<https://www.youtube.com/watch?v=bdWRZd19swg>

Contribución de Otras Células

- Interacción con **plaquetas**: protección contra sistema inmune; ↑↑ adherencia a células endoteliales

Plaquetas recubren célula tumoral



Organos Afectados por Metástasis

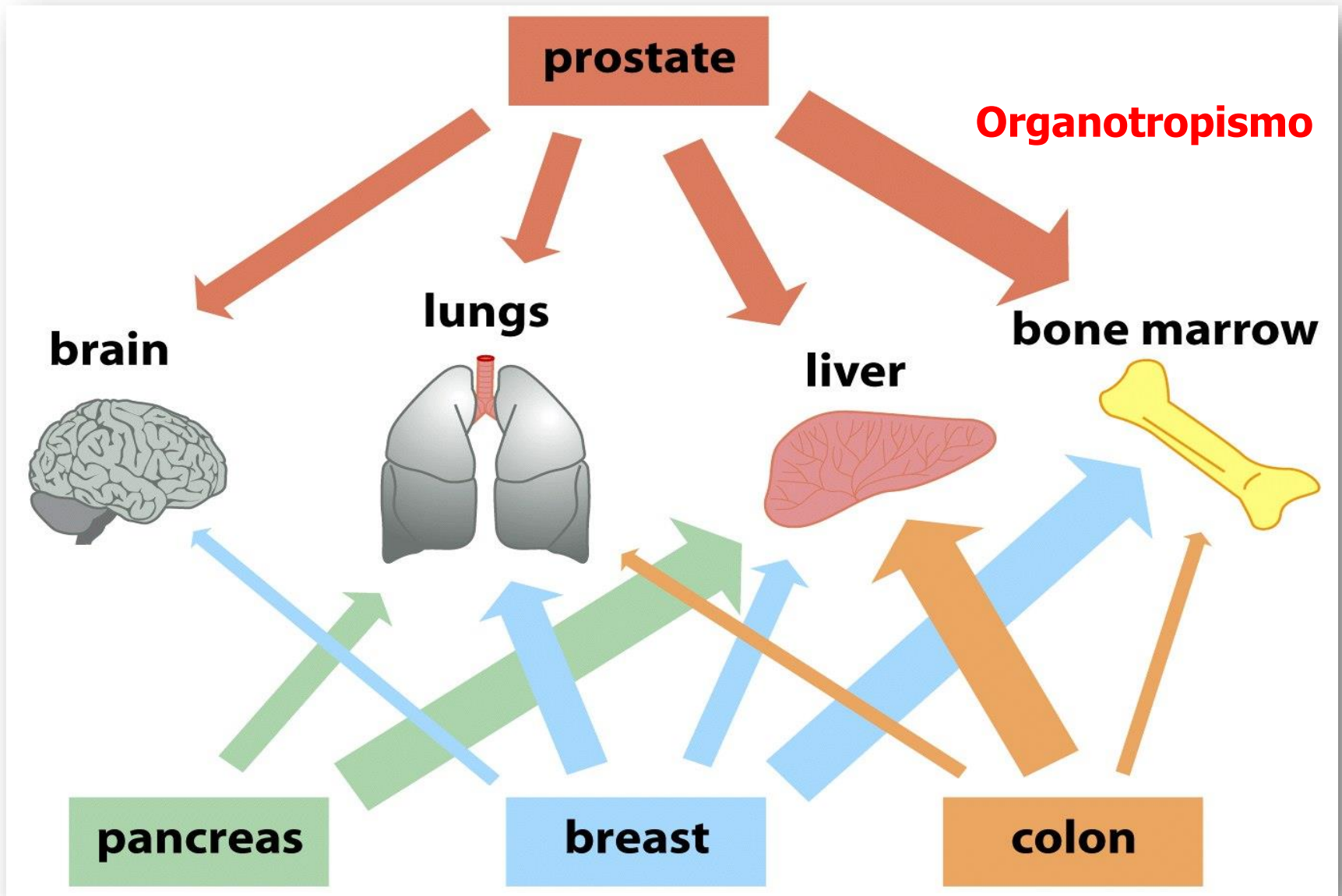
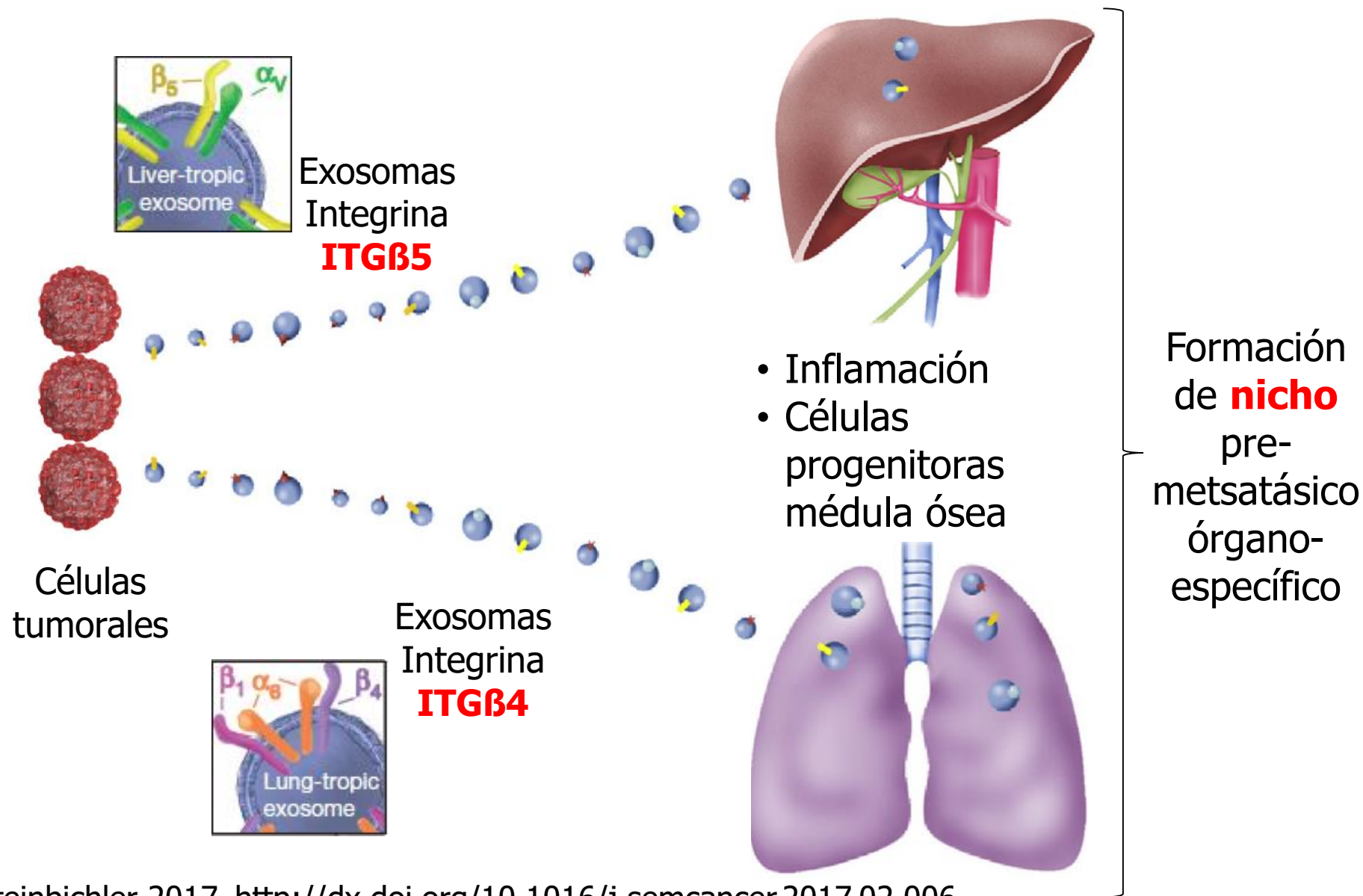
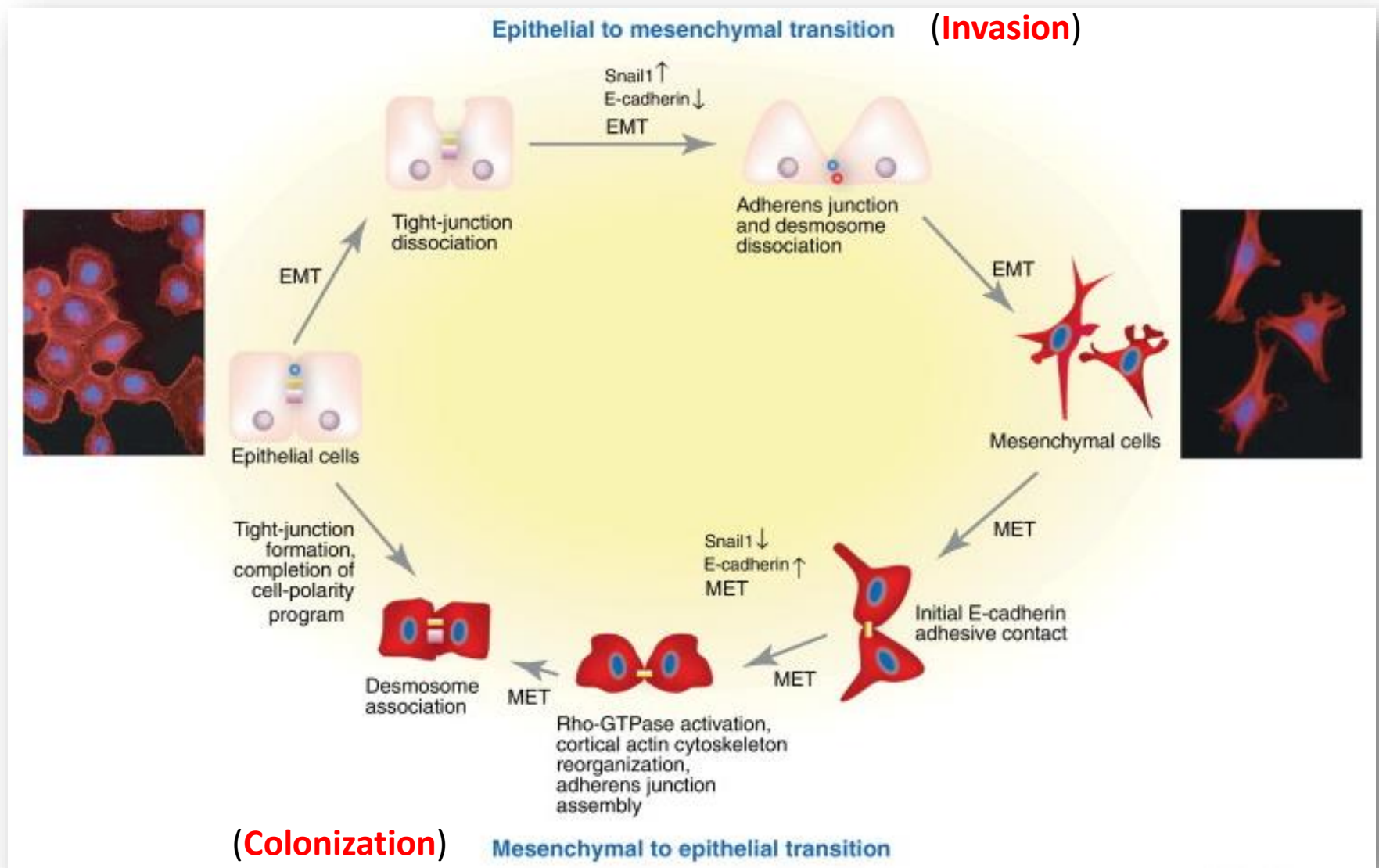


Figure 14.42 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

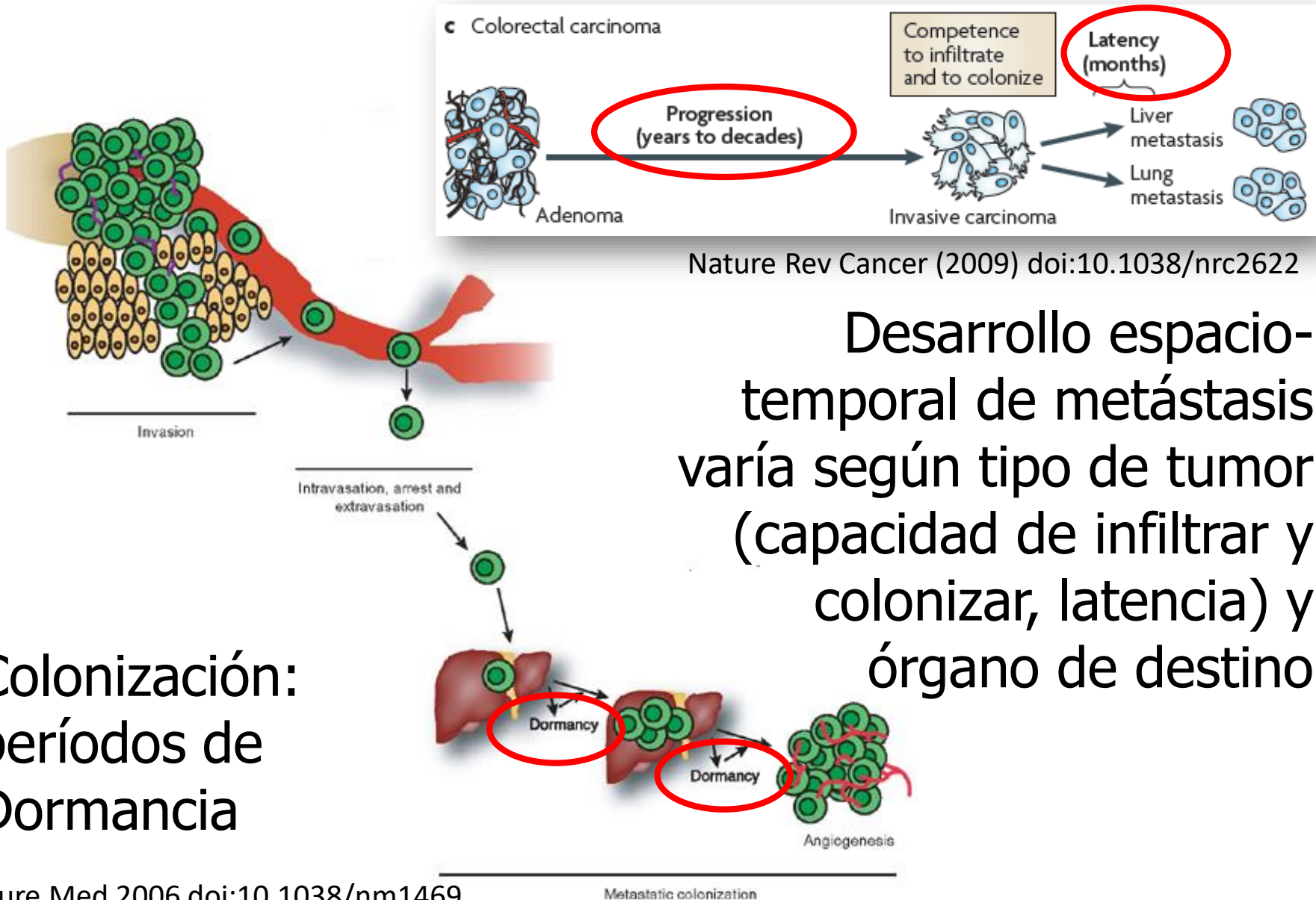
Rol de Exosomas: Organotropismo



Colonización Requiere MET



Dormancia y Latencia



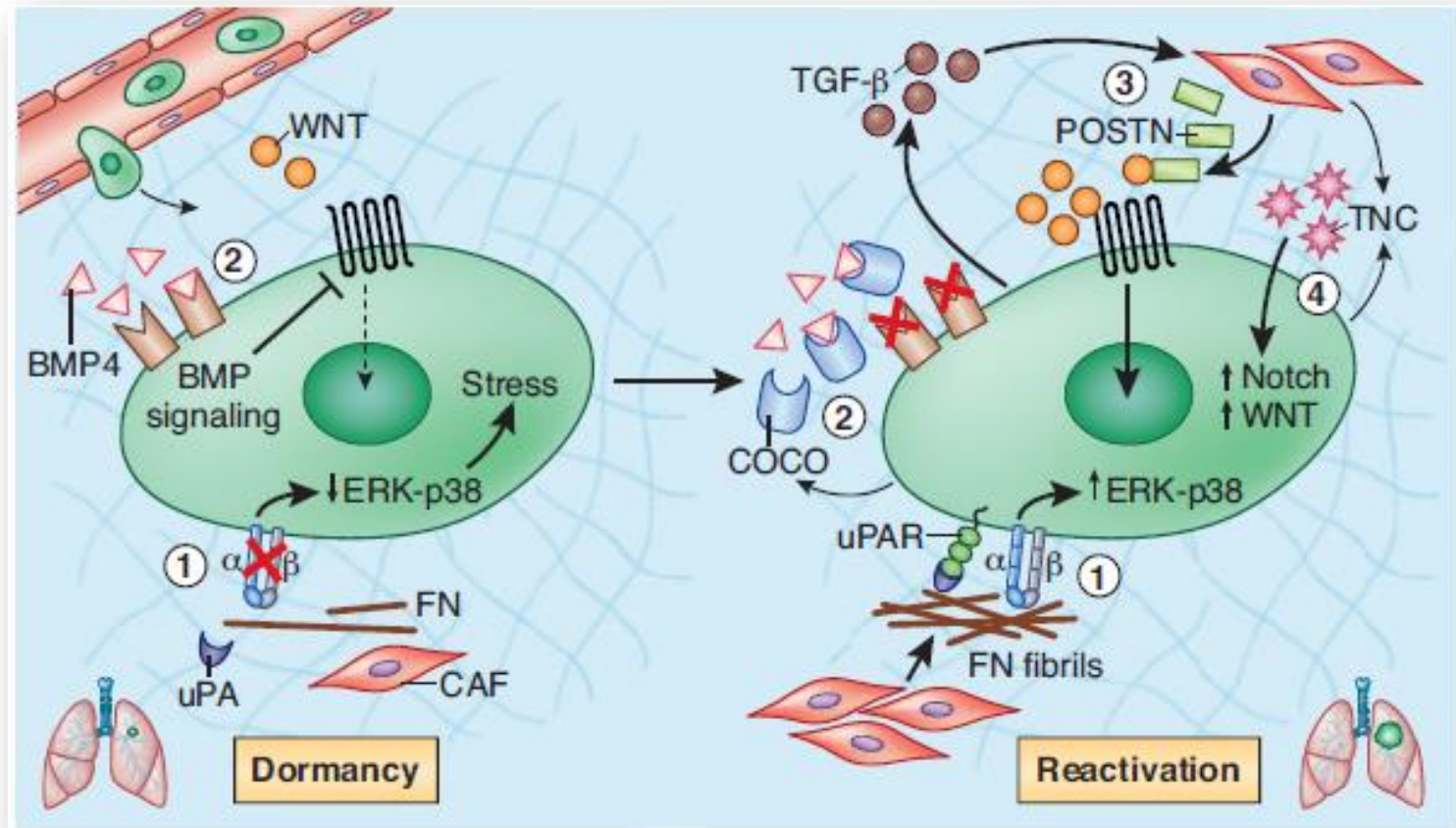
Nature Rev Cancer (2009) doi:10.1038/nrc2622

Desarrollo espacio-temporal de metástasis varía según tipo de tumor (capacidad de infiltrar y colonizar, latencia) y órgano de destino

Colonización: períodos de Dormancia

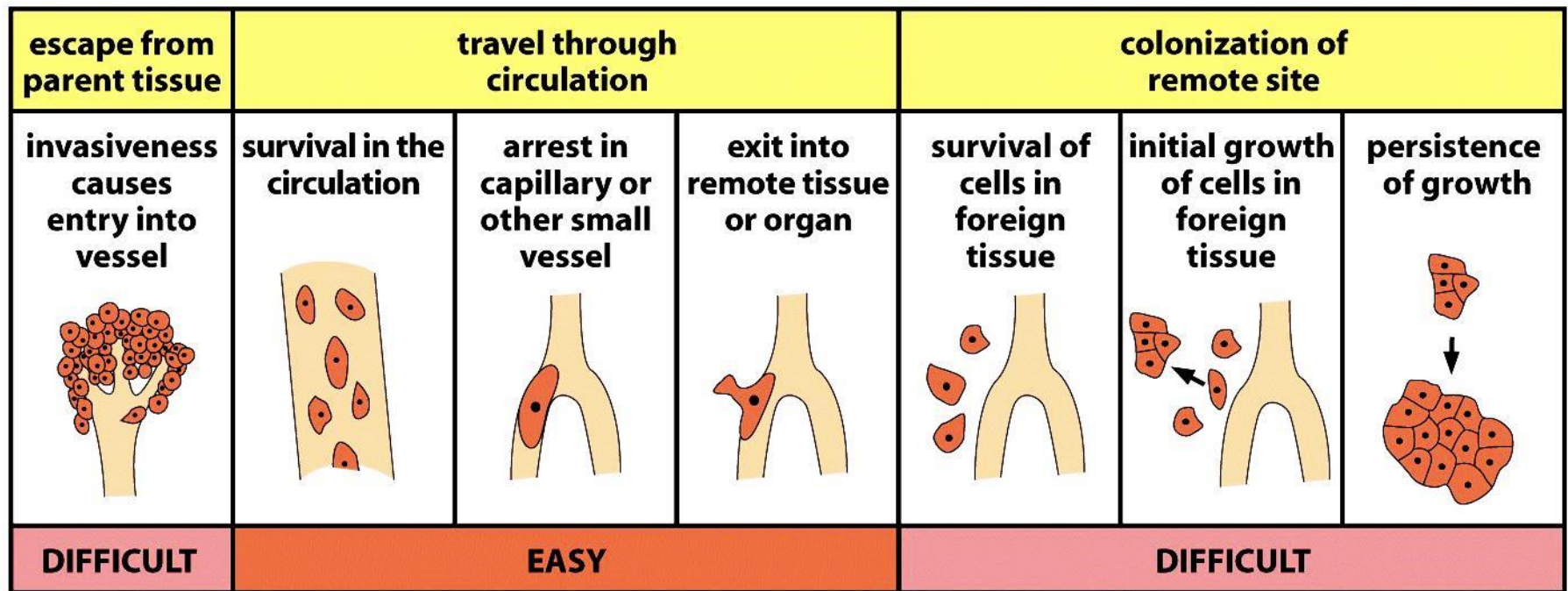
Reactivación de Células en Dormancia

- Presencia de señales mitogénicas adecuadas
- Remodelación del microambiente
- Estimulación autocrina



Resumen

- El proceso metastático se divide en varias etapas: regulación y grados de dificultad distintos
- Principal causa de muerte asociada a enfermedades malignas



Resumen Metástasis

- https://www.youtube.com/watch?v=eSwG50_kiOQ
- <https://www.youtube.com/watch?v=bdWRZd19swg>

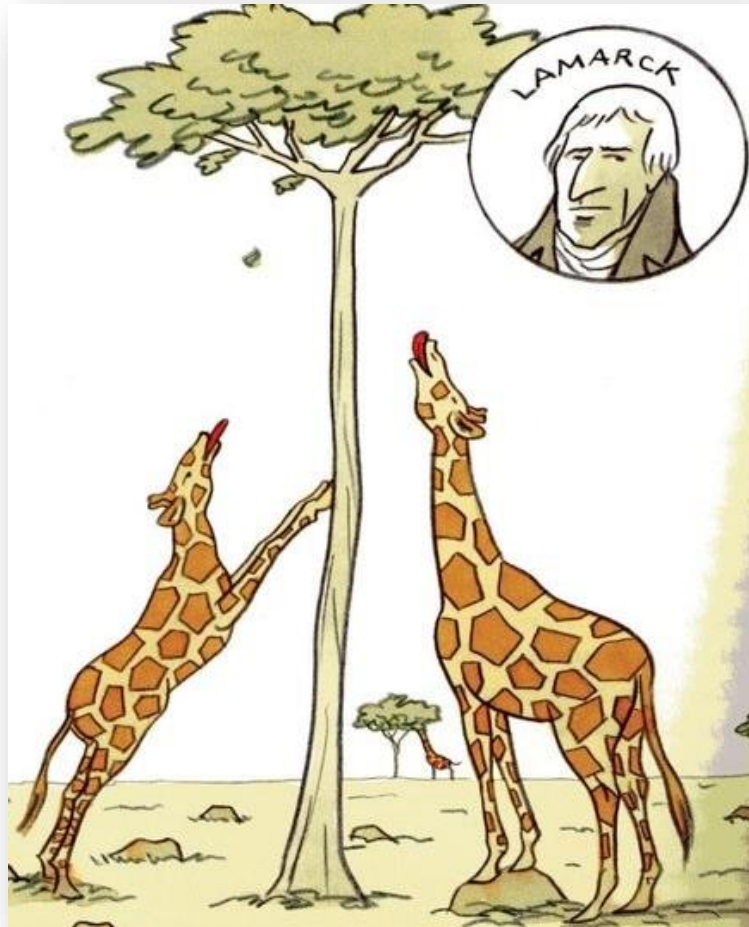


Heterogeneidad y Evolución Tumoral

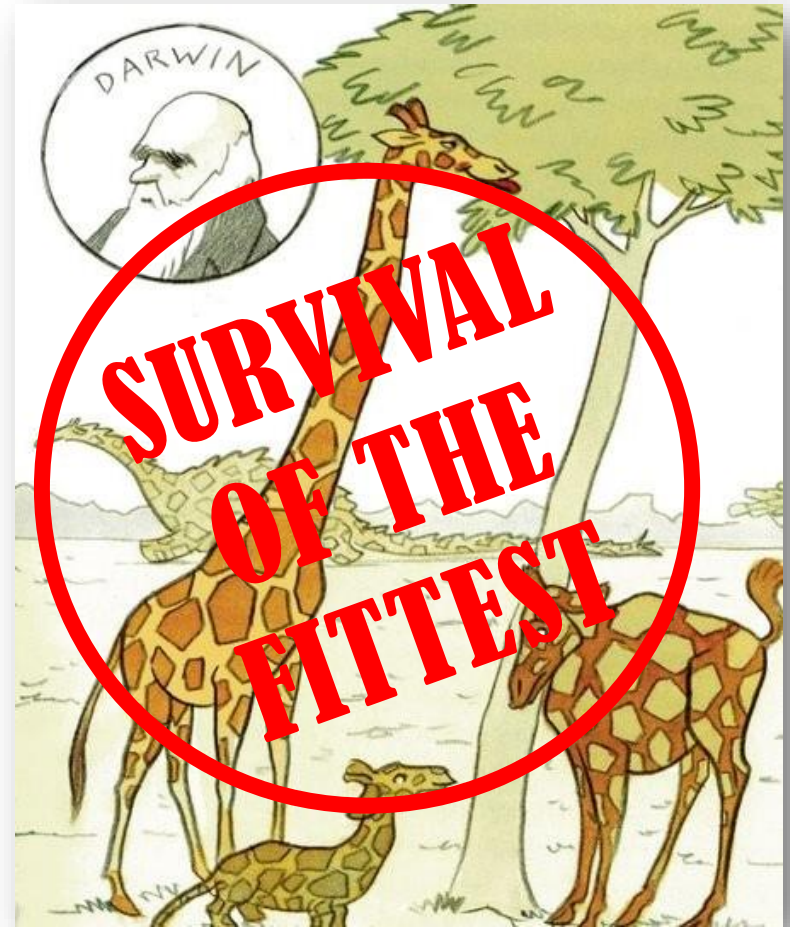
Objetivos

- Comprender el significado y las causas de la heterogeneidad tumoral
- Conocer las bases de la metodología que permite estudiar la heterogeneidad tumoral
- Comprender el impacto de la heterogeneidad tumoral en el desarrollo tumoral y sus implicancias terapéuticas

Teoría de la Evolución (Especies)

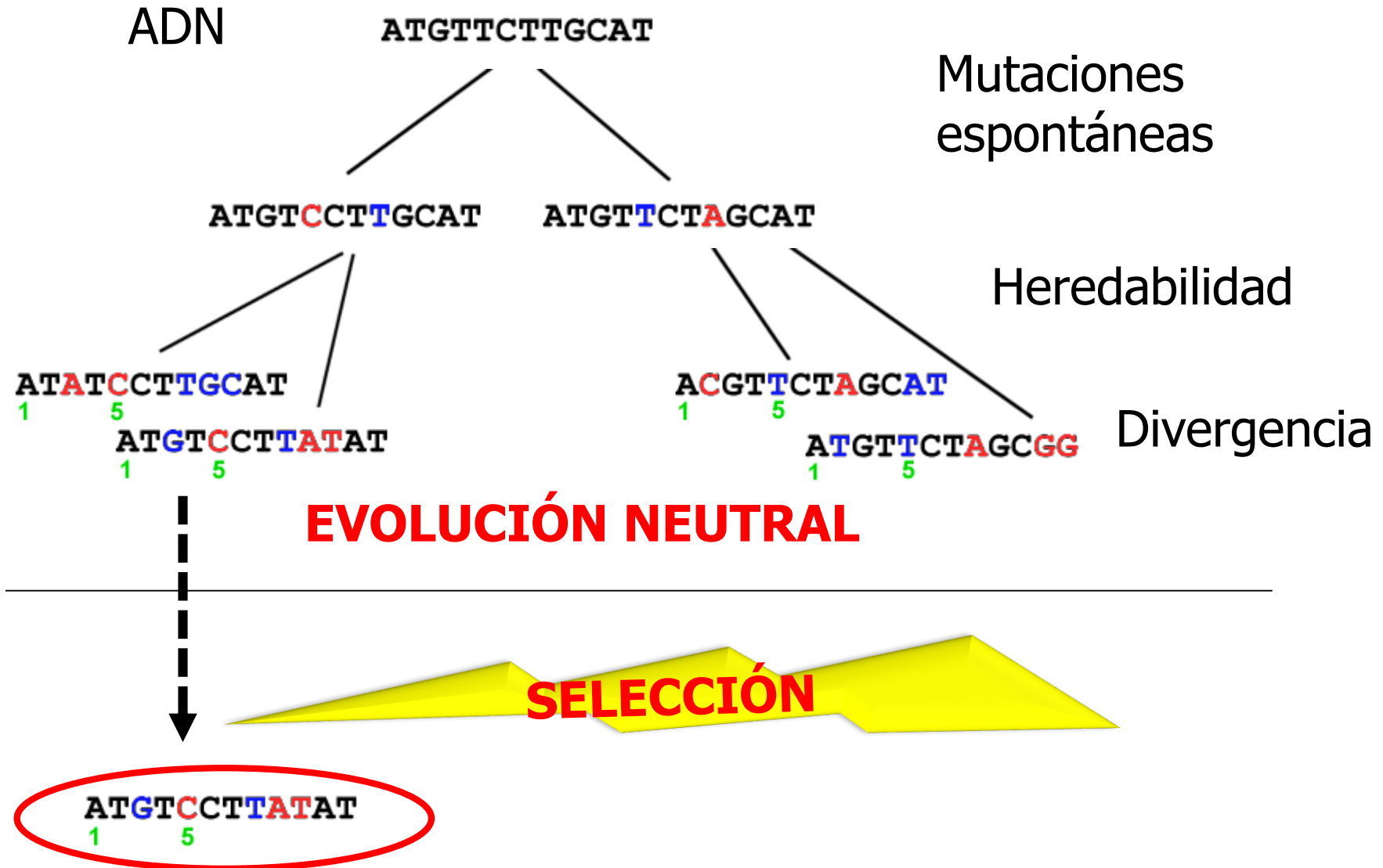


Jean-Baptiste Lamarck (1744-1829)

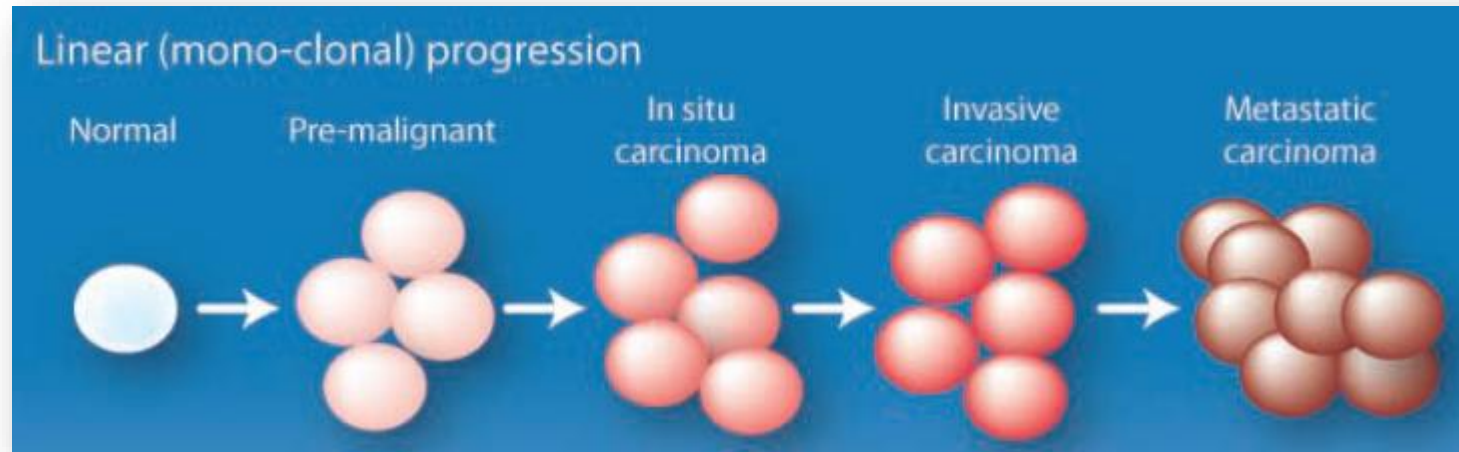


Charles Darwin (1809-1882)

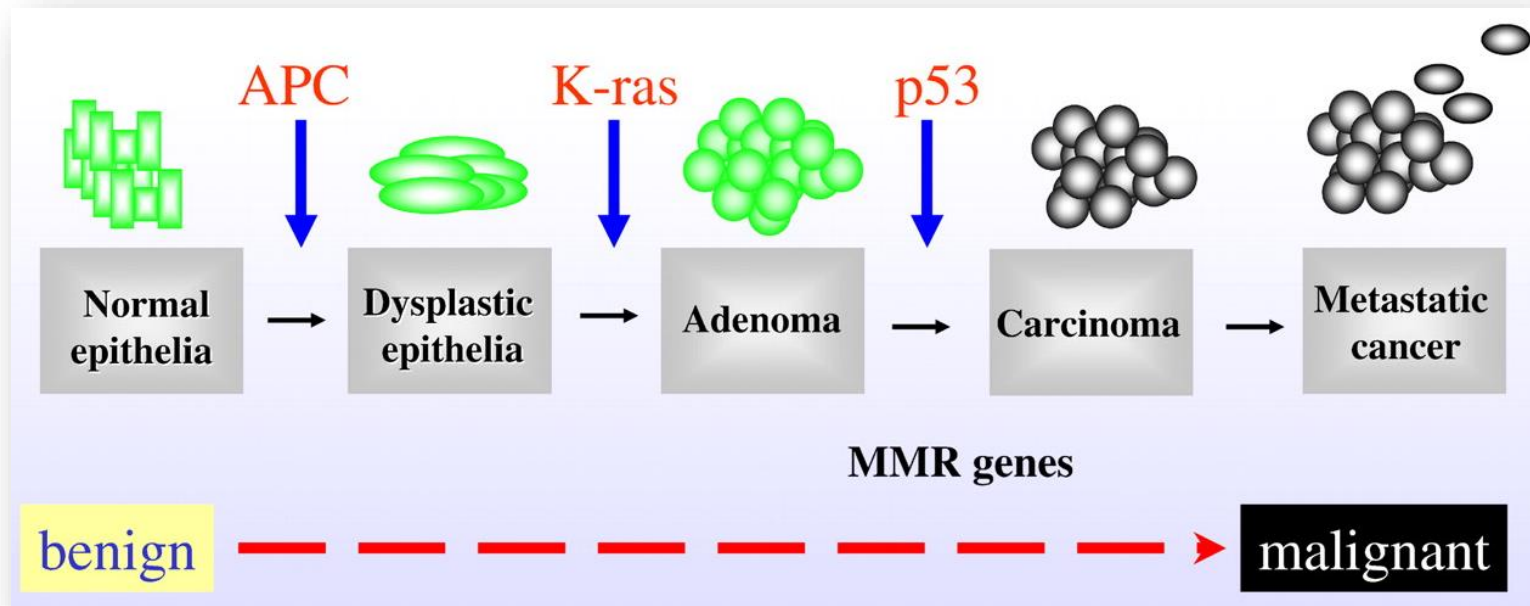
Teoría de la Evolución (Molecular)



Tumores: Modelo de Evolución Linear

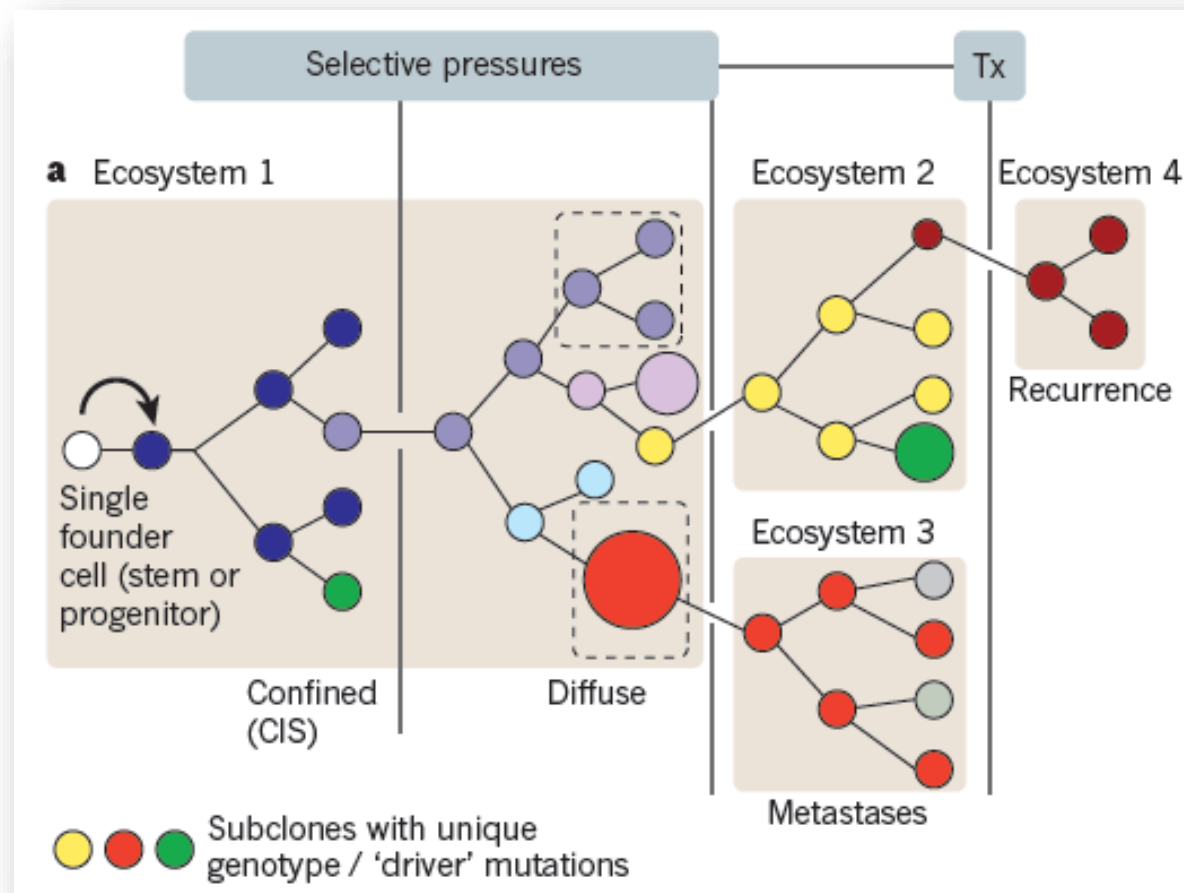


Clin Cancer Res (2008) doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-2188



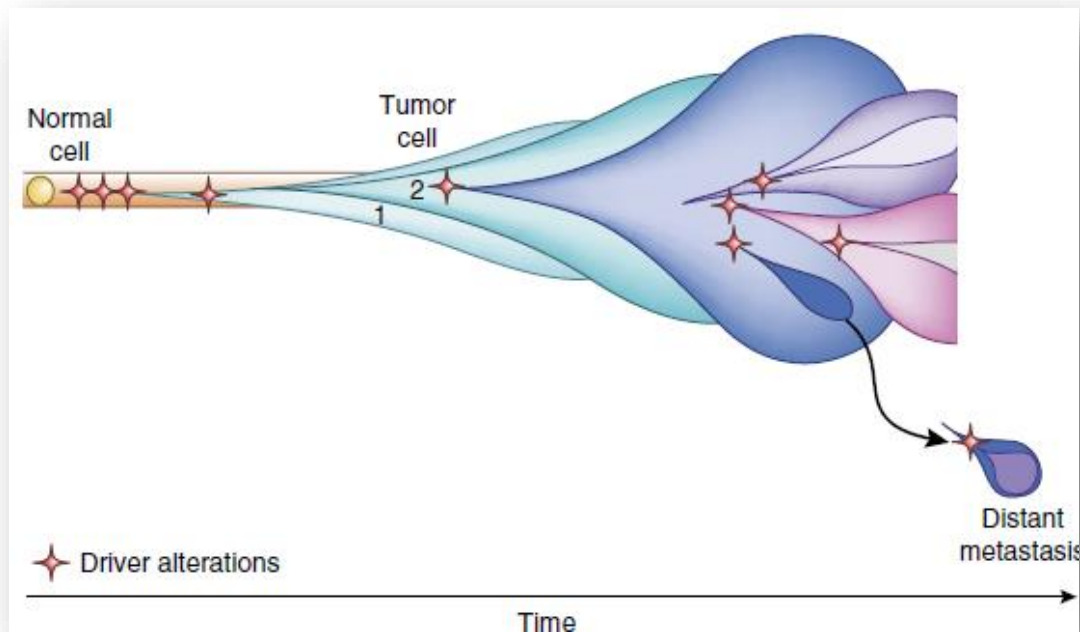
Evolución Tumoral es Ramificada

- Presión selectiva del microambiente (ej: hipoxia)
- Clones metastásicos pueden originarse en diversos puntos, más de una vez

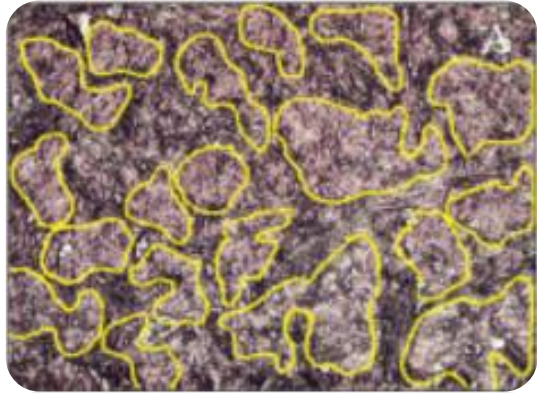


Heterogeneidad Tumoral: Conceptos

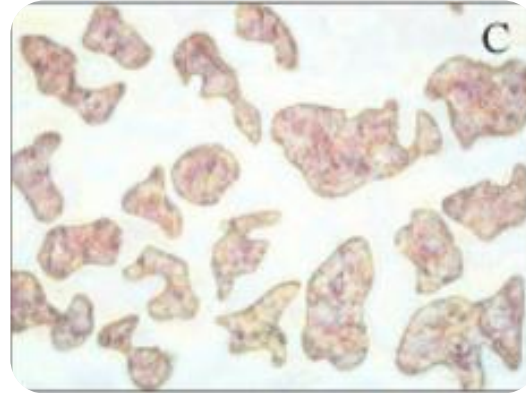
- Heterogeneidad: molecular, celular
- Intratumoral (dentro del mismo tumor)
- Entre tumores en diferentes localizaciones (mismo paciente)
- Entre tumores análogos en diferentes pacientes



Metodología de Análisis



Micro-
disección

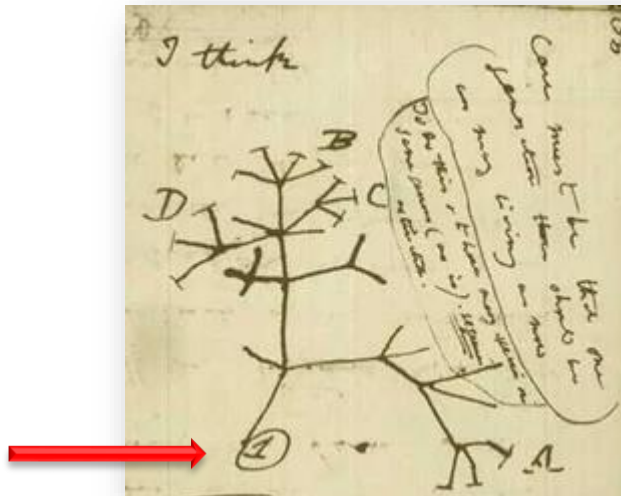


Células
tumoraes



Análisis
mutacional

Reconstrucción de Árbol filogenético:
Evolución de clones tumorales

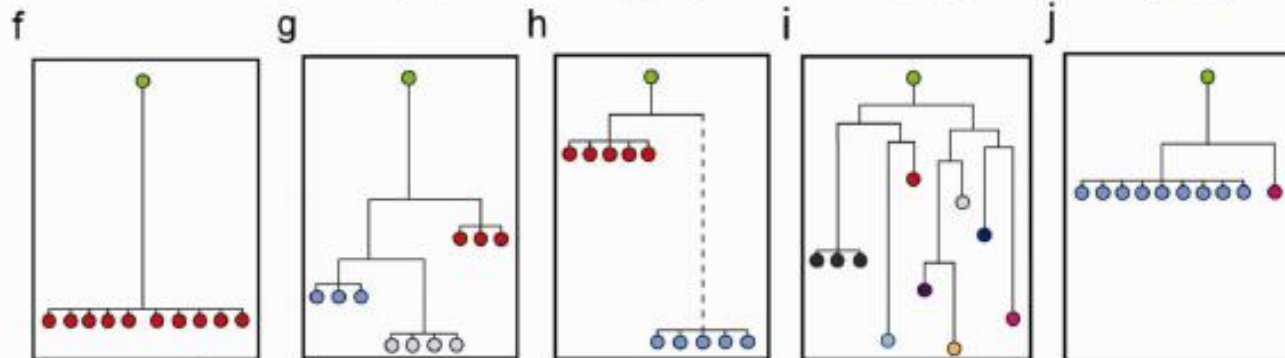
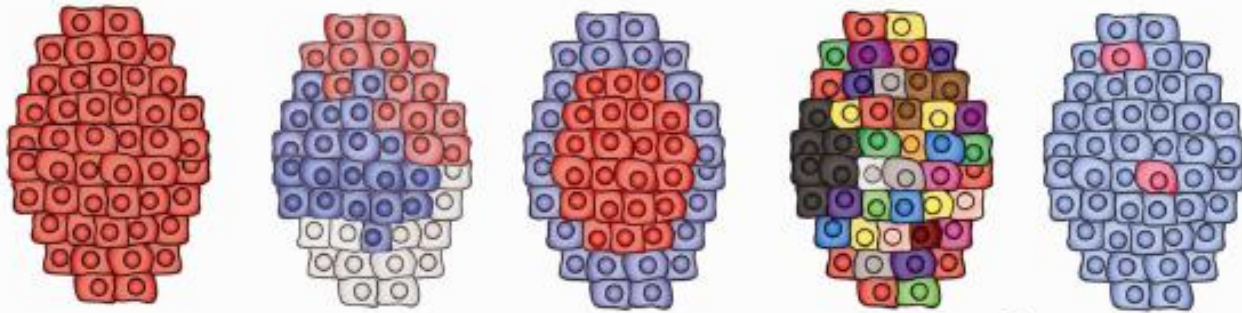
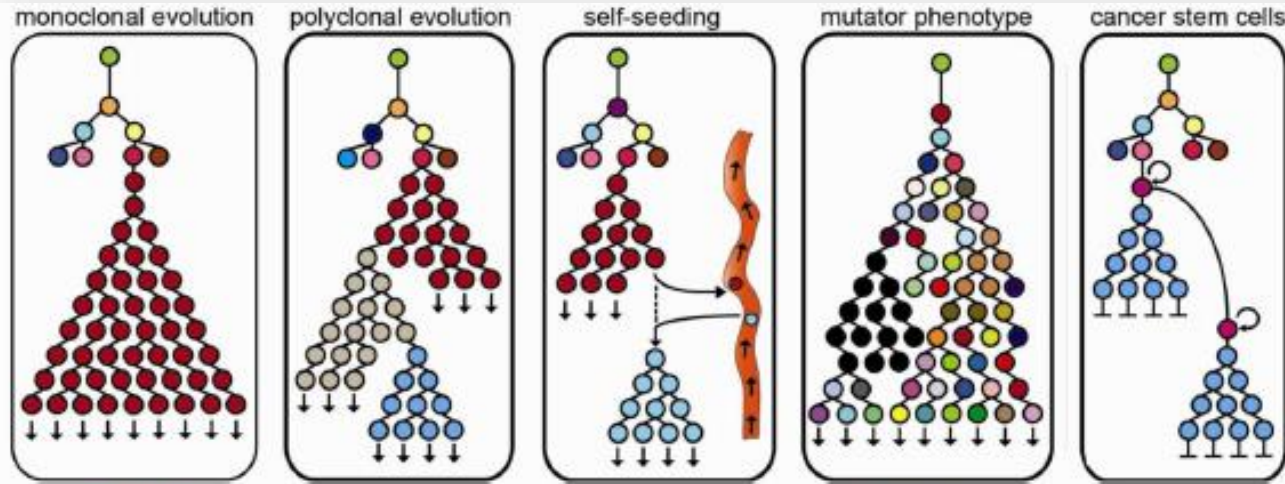


<https://www.icgi.net/Projects/Heterogeneity>

Lineage tracing

T1

 Tn



Cáncer: Evolución Somática

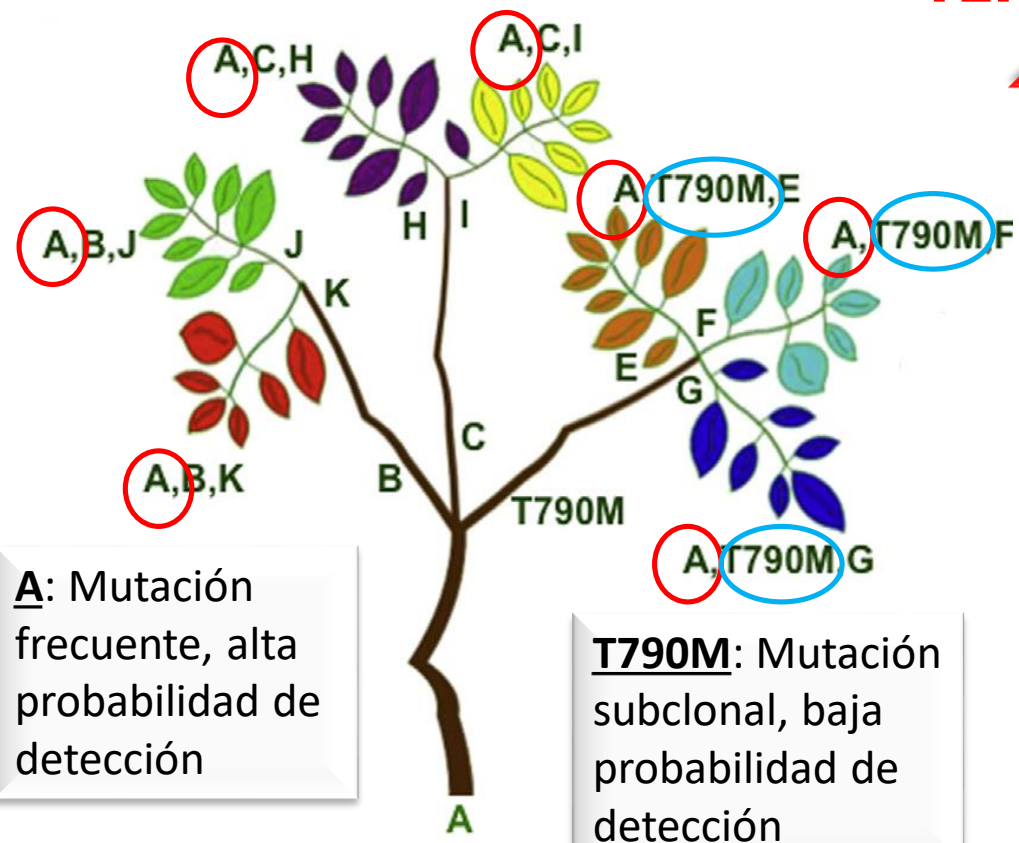
- La mayoría de los cánceres en humanos son de origen clonal
- La progresión tumoral se rige por fenómenos de mutación somática y selección

Alteraciones: Mutaciones somáticas, epigenéticas, alteraciones cromosómicas, inestabilidad genómica

Selección: Sistema inmune, competencia entre células tumorales, hipoxia, agentes terapéuticos

Heterogeneidad y Tratamiento

Tumor primario



A: Mutación frecuente, alta probabilidad de detección

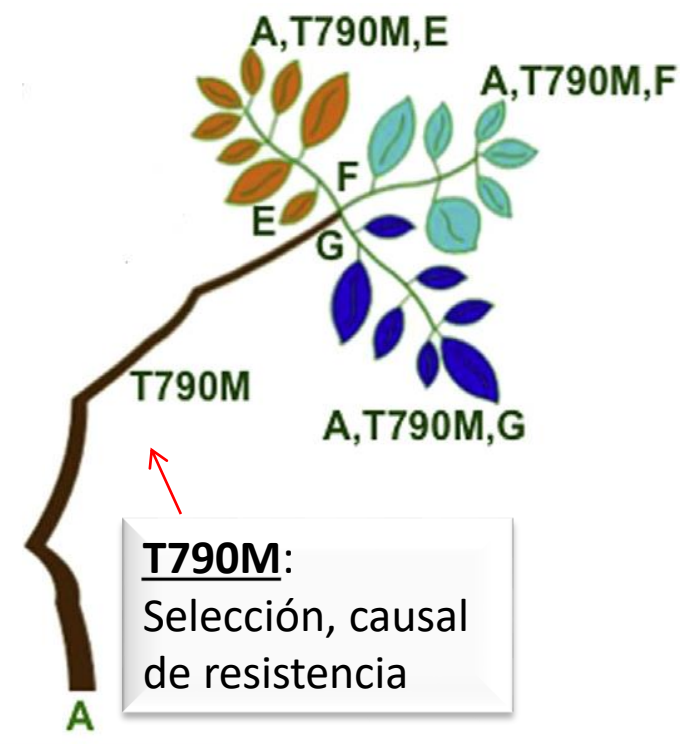
T790M: Mutación subclonal, baja probabilidad de detección

Pre-treatment

TERAPIA



Selección de clones: Tumor resistente



T790M: Selección, causal de resistencia

Resistant disease

**SURVIVAL
OF THE
FITTEST**

Passenger

Driver



CLON 1

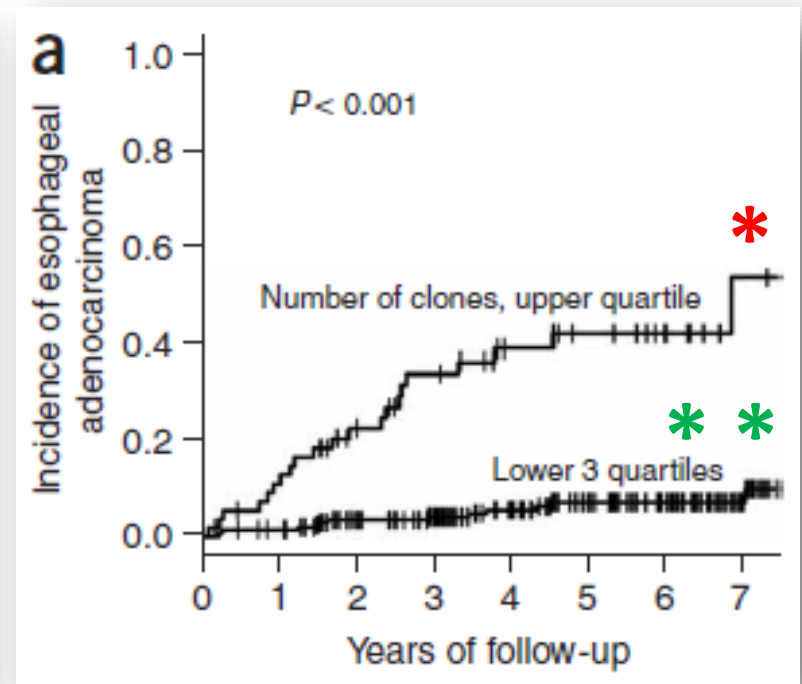
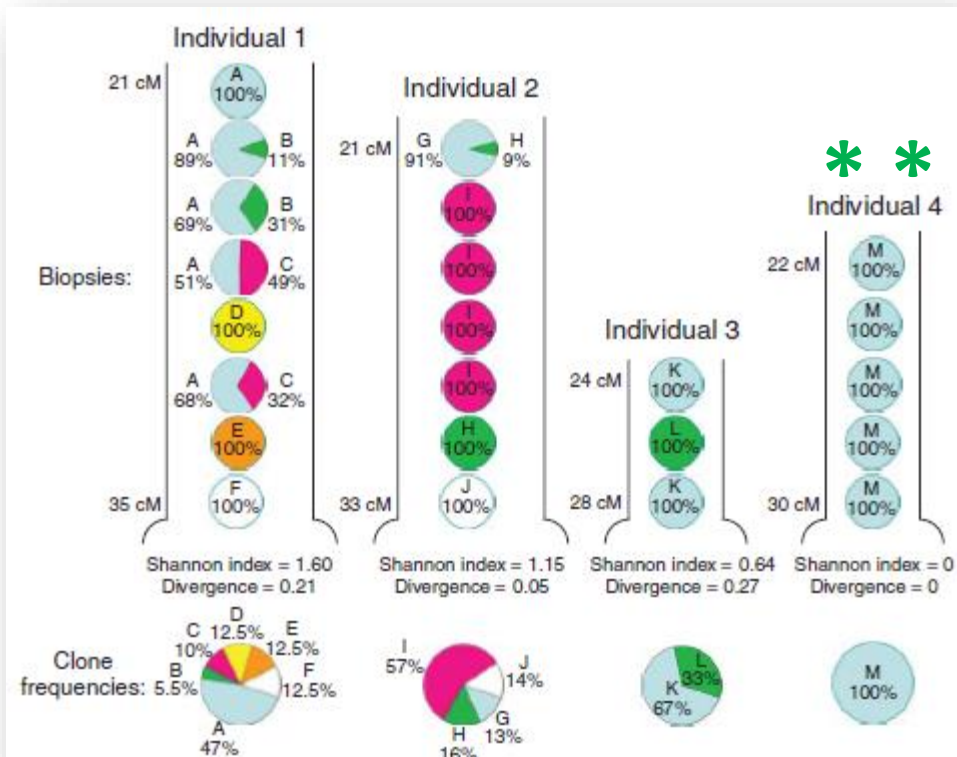
CLON 2

"Don't look now, but here comes
some natural selection."

Diversidad Clonal Promueve Progresión

- Estudio prospectivo, cáncer de esófago: factor pronóstico

*

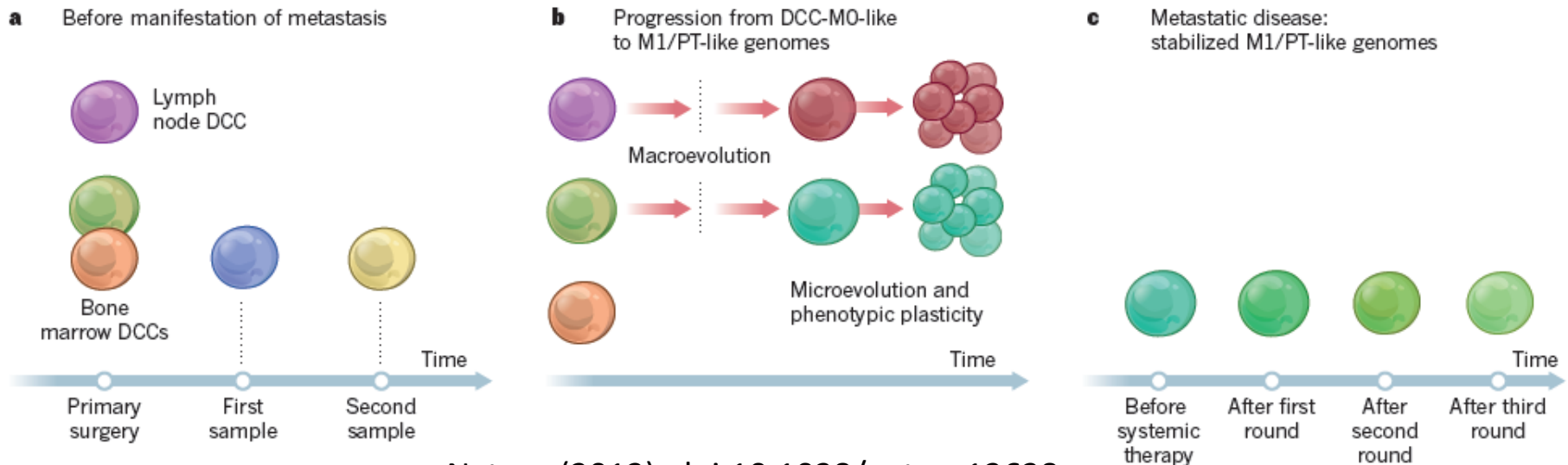


Cáncer en seguimiento

Biopsias premalignas
(esófago de Barrett's)

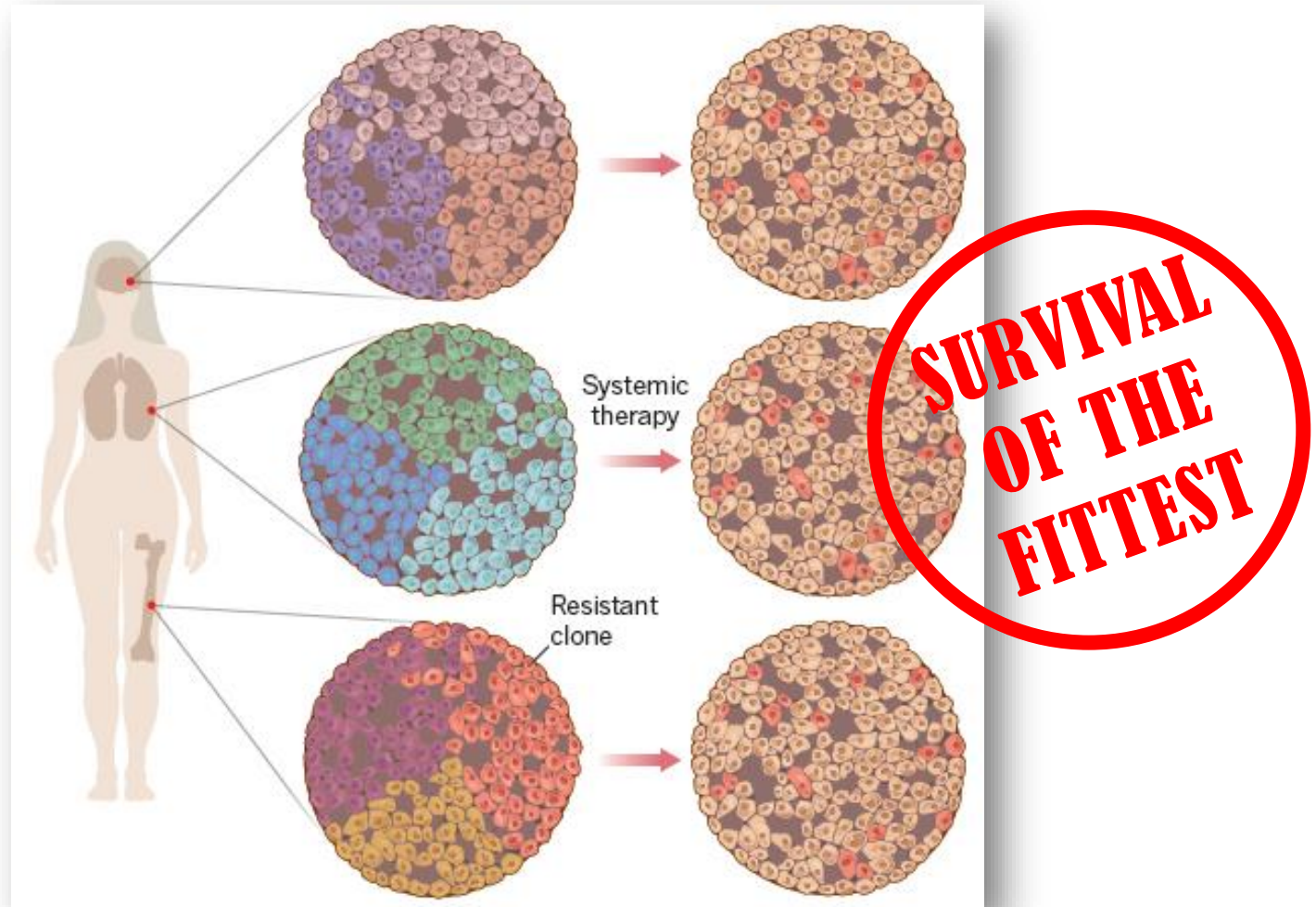
Heterogeneidad y Metástasis

- Células tumorales diseminadas muestran heterogeneidad, previo a la aparición de metastasis
- Heterogeneidad de células diseminadas se pierde con manifestación clínica de metástasis: prevalencia de clones más agresivos



Heterogeneidad y Metástasis

- Selección y homogenización de clones resistentes a través de terapias sistémicas



Resumen

- La mayoría de los cánceres en humanos son de origen clonal
- Los tumores están en constante evolución
- Proceso dinámico, cambios en espacio y tiempo
- Evolución tumoral se rige por presiones selectivas
- La heterogeneidad tumoral promueve la progresión del cáncer
- Las terapias actúan como presión selectiva: sobreviven clones resistentes



“Cancers evolve by a **reiterative process of clonal expansion, genetic diversification and clonal selection** within the adaptive landscapes of tissue ecosystems. The dynamics are complex, with highly variable patterns of genetic diversity and resulting clonal architecture. **Therapeutic intervention** may destroy cancer clones and erode their habitats, but it can also inadvertently provide a **potent selective pressure for the expansion of resistant variants**. The inherently Darwinian character of cancer is the primary reason for this therapeutic failure, but it may also hold the key to more effective control”.

Bibliografía

- Cooper GM, Sunderland (MA). **The Cell: A Molecular Approach. 2nd edition.**
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9963/>
- **The Biology of Cancer.** Robert Weinberg
- Artículos citados en la clase