

SIMPOSIO

Metastasis cancerosa cerebral

Garth L. Nicolson, Edna M. Mora

Departamento de Biología de Tumores (108), Medicina Oncológica (092) Universidad de Texas, Houston. Texas. EUA.

SUMMARY

Cancer metastasis in the brain. An important clinical end point in patients with cancer is the formation of metastasis in the brain. Understanding this phenomenon is important in several types of cancers, including melanoma and lung and breast cancers. Metastatic cells use specific adhesion molecules to home to brain, and there they must attach to microvessel endothelial cells and respond to brain endothelial-derived motility factors and brain invasion factors to invade the CNS. Neurotrophins are important factors in this process, and the ability to invade the brain depends on metastatic cell responses to neurotrophins and production of basement membrane degradative enzymes. Brain-metastatic human melanoma cells express low-affinity receptors for neurotrophins, such as nerve growth factor, but they do not express the high affinity-type receptors encoded by the proto-oncogene *trkA*. Tumor cells can proliferate in the CNS in response to local paracrine growth factors and inhibitors, but their growth also depends on their production of autocrine growth factors. A major organ-derived paracrine growth factor has been isolated that differentially stimulates the growth of cells metastatic to the brain. Characterization of this mitogen demonstrated that it is a transferrin-like glycoprotein; cells that are metastatic to the brain express greater numbers of transferrin receptors on their surfaces than cells that are poorly metastatic or metastatic to other sites. The transferrin-like factors are expressed in fetal brain, and these and other factors are probably important in determining whether metastatic cells can successfully invade, colonize, and grow in the brain. *Patología (Méx.) 1994, 32: 155-169.*

RESUMEN

La formación de metastasis cerebrales es un hecho importante en la progresión clínica de los pacientes con cáncer. La comprensión de este fenómeno es de interés en muchos tipos de cáncer que incluyen melanoma, cáncer de pulmón y de mama. Las células metastásicas utilizan moléculas de adhesión específicas para fijarse y adherirse a las células endoteliales que cubren la pared de la microvasculatura del cerebro. Las células metastásicas responden a factores de motilidad derivados de las células endoteliales y a factores cerebrales que promueven la invasión. Las neurotrofinas son factores importantes en este proceso. La habilidad para invadir al cerebro depende en gran medida de la respuesta de las células endoteliales a las neurotrofinas y a la producción de enzimas que degradan la membrana basal. Las células humanas de melanoma metastásicas a cerebro expresan receptores de baja afinidad para neurotrofinas, tales como el factor de crecimiento del nervio (NGF**), pero no expresan receptores de alta afinidad codificados por el proto-oncogene *trkA*. Las células tumorales proliferan en el sistema nervioso central (SNC) en respuesta a factores locales paracrinos, estimuladores e inhibitorios de crecimiento. Se ha aislado un importante factor de crecimiento paracrino que diferencialmente estimula el crecimiento de las células metastásicas a cerebro. La caracterización de este factor mitogénico demuestra que es una glicoproteína similar a la transferrina. Las células metastásicas a cerebro expresan receptores de transferrina en la superficie en mayor número que las células con poco potencial metastásico o metastásicas a otros órganos. Los factores similares a la transferrina se expresan en el tejido cerebral fetal. Posiblemente estos, al igual que otros factores, son importantes para determinar si la célula metastásica puede invadir, colonizar y crecer exitosamente en el cerebro.

Palabras Clave: Metástasis en localizaciones específicas, adhesión celular, neurotrofinas, factores de motilidad.

** Las siglas referentes a las citocinas y factores de crecimiento se utilizaron en inglés dado el uso común de las mismas.

INTRODUCCION

Actualmente está establecido que el alojamiento mecánico de émbolos de células tumorales en la primera red capilar encontrada es un factor importante en la diseminación originada en el torrente sanguíneo de algunos cánceres. Sin embargo, después de observar los patrones únicos de colonización en cancer de mama y en los microorganismos, Paget¹ propuso que la formación de metastasis no se basaba solamente en propiedades mecánicas sino también en el encuentro de una célula tumoral particular ("semilla") con un ambiente ("suelo") en el cual se pudiera desarrollar y crecer. El concluyó que en esos cánceres, la colonización metastásica en localizaciones particulares no se podía explicar con base en consideraciones mecánicas como la conexión circulatoria del sitio secundario con el sitio primario o la configuración del sistema microcirculatorio.

Las propiedades asociadas con la preferencia de metastásis por ciertos órganos y su papel en la producción de metastásis en sitios específicos, se ha estudiado principalmente en modelos experimentales²⁻⁸. Las células malignas con capacidad de metastatizar en sitios específicos deben poseer ciertas características (Tabla 1). Además, el órgano blanco debe poseer varias características importantes que incluyen a los componentes de adhesión apropiados, factores de motilidad, factores de invasión y de crecimiento (Tabla 2).

Las interacciones apropiadas entre las células metastásicas y las células endoteliales de la microvasculatura, células asociadas, y células efectoras derivadas del órgano son requisitos para una colonización exitosa. Estas interacciones de la célula tumoral pueden cambiar durante la progresión de la condición maligna^{6,7}. Mientras las células tumorales progresan y metastatizan en localizaciones próximas y distantes, también se llevan a cabo cambios en sus propiedades de colonizar órganos. Por ejemplo, en las etapas iniciales de metastásis muchos cánceres muestran una tendencia a metastatizar en sitios espe-

Tabla 2: Algunas Propiedades Importantes del Microambiente del Húesped en la formación de Metastasis.

1. Las células endoteliales de la microvasculatura apropiadas^{23,24,105}.
2. La matriz de la membrana basal y estroma apropiados^{19,101,106}.
3. Los factores paracrinos de motilidad y de invasión apropiados^{9,107}.
4. Los factores de supervivencia, vigilancia, citotoxicidad natural y citostáticos apropiados^{108,109,110}.
5. Los factores paracrinos de crecimiento e inhibitorios apropiados^{6,7,9,103,11}.

cíficos, éstas son las llamadas metastasis específicas de órganos^{2,3,4,8}. Las células tumorales que progresan a un fenotipo metastásico y colonizan órganos a distancia deben ser menos dependientes de los factores paracrinos de motilidad, y otros factores paracrinos de crecimiento en el tejido de origen y más sensibles a factores paracrinos y citoquinas presentes en el nuevo microambiente del órgano secundario^{6,9}.

Pacientes con ciertos cánceres avanzados, tales como melanoma maligno diseminado, cáncer de mama, cáncer de pulmón y otros, frecuentemente desarrollan lesiones metastásicas en el cerebro y la médula espinal, que originan complicaciones neurológicas severamente debilitantes y dolorosas¹⁰. A pesar de que las lesiones metastásicas en otros órganos frecuentemente pueden ser bien toleradas y algunas son asintomáticas, una vez que el cerebro está invadido con depósitos metastásicos de crecimiento acelerado, la calidad de vida se deteriora rápidamente. Una de las mayores diferencias entre las lesiones metastásicas en el cerebro y otros órganos, es que las lesiones cerebrales presentan síntomas severos en una etapa más temprana. Aunque la incidencia total de lesiones tumorales metastásicos al sistema nervioso central no ha sido precisada, aproximadamente el 13% de la población de pacientes con cáncer, presentará complicaciones sintomáticas relacionadas con metastásis cerebrales¹¹. Los estudios basados en autopsias sugieren que la incidencia de lesiones tumorales metastásicas en el sistema nervioso central ha aumentado, en un porcentaje del 24% de los pacientes de cáncer¹². Basados en las cifras actuales de cánceres sistémicos y con este porcentaje de frecuencia de metastásis, aproximadamente 70,000 muertes por cáncer presentarán lesiones metastásicas en cerebro. Menos de una tercera parte de estos pacientes serán tratados de sus complicaciones en el SNC. Un 40% de los pacientes con melanoma serán tratados por complicaciones debidas a metastásis cerebrales, y aproximadamente 70 a 80% mostrarán en la autopsia lesiones en el SNC. Por otro lado, raramente ocurre metastásis a cerebro en cáncer de

Tabla 1: Algunas Propiedades Importantes de las Células Metastásicas.

1. Adhesión preferencial a las células endoteliales de la microvasculatura del órgano colonizado^{3,4,7,16,17,18}.
2. Capacidad de responder a señales quimiotácticas y haptotácticas secretadas por células del órgano colonizado^{34,37,48}.
3. Deben invadir y degradar la matriz subendotelial y estroma del órgano colonizado^{19,22,99,100}.
4. Evasión del sistema de inmunidad natural del órgano colonizado^{3,4,101,102}.
5. Capacidad de responder a señales locales de crecimiento solubles e insolubles en el órgano colonizado^{6,7,103}.
6. Estimulación de la angiogénesis¹⁰⁴.

hígado o próstata. Estos cánceres muestran una incidencia de 4 a 5% de metástasis cerebrales respectivamente.

La metástasis al SNC es generalmente considerada un hecho tardío y de mal pronóstico en la evolución de los cánceres, aunque en algunos representa el primer evento sintomático. Una vez que ocurre la metástasis a cerebro, la supervivencia media después del diagnóstico de la lesión, es aproximadamente seis meses para la mayoría de los cánceres. Aunque las cifras de mortalidad suelen deberse a los efectos sistémicos de la amplia diseminación de la enfermedad, algunos pacientes de melanoma sucumben a la enfermedad, con evidencia de metástasis únicamente el SNC. La diseminación a cerebro ocurre en dos grupos de edad, de 0-5 años y 55-60 años. Estas cifras corresponden a la incidencia de cánceres pediátricos (leucemia, linfoma, sarcomas) y a cánceres en el adulto que muestran predisposición a colonizar el cerebro.

La formación de metástasis cerebrales es un hecho único, que difiere significativamente de la formación de lesiones metastásicas en otros órganos¹⁰. El cerebro es más sensible que otros

órganos a las alteraciones en su microambiente local. Esta respuesta es debida, principalmente, a la limitación de espacio en el cráneo. El cerebro no tiene sistema linfático para eliminar el exceso de líquido que acompaña al crecimiento del tumor. Por lo tanto, el edema cerebral representa una de las mayores complicaciones asociadas con lesiones tumorales en el SNC. Una lesión metastásica relativamente pequeña en el cerebro puede causar síntomas severos, que incluyen parálisis, cefalea, convulsiones y alteraciones sensoriales y del razonamiento. Como las metástasis cerebrales suelen estar acompañadas por otras complicaciones, el tratamiento es generalmente paliativo.

Propiedades de Adhesión de Células Metastásicas a Cerebro.

Las propiedades adhesivas de la célula tumoral son importantes en varias etapas del proceso de metástasis^{2,3,4,8}. Para poder alcanzar órganos distantes, las células malignas deben desprenderse de su localización primaria y entrar en la circulación sanguínea y ya en ella, la adhesión de

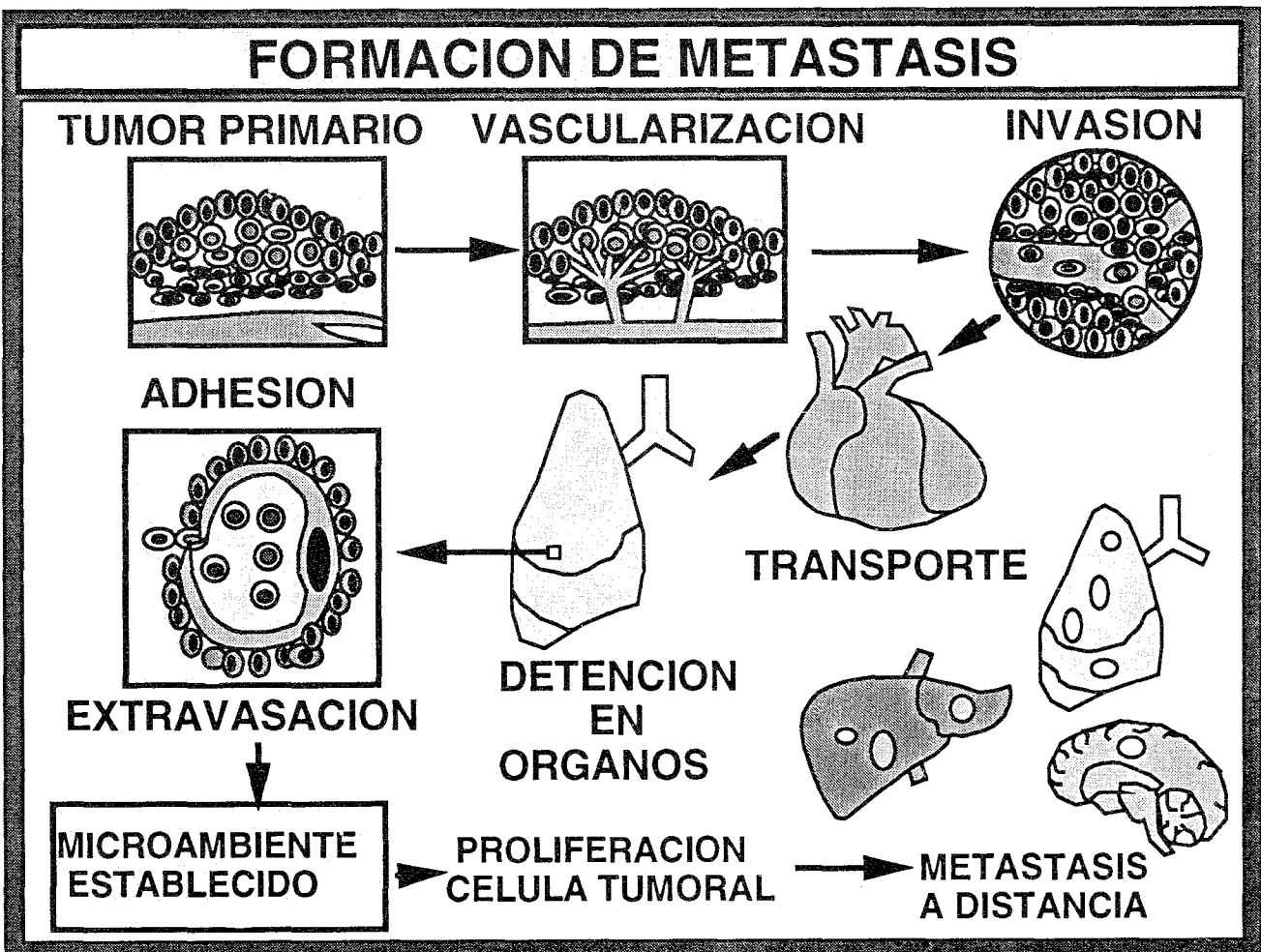


Fig. 1. Los diferentes pasos en la patogénesis de las metástasis.

una célula maligna a otra¹³, a células circulantes normales como linfocitos¹⁴ y plaquetas¹⁵, a células endoteliales específicas de la microvasculatura¹⁶⁻¹⁸ y a su matriz subendotelial o membrana basal^{19,10} son importantes en la determinación de la localización del órgano metastásico. Una vez que ocurre la adhesión del endotelio, las células malignas estimulan la retracción de la célula endotelial exponiendo así la membrana basal subyacente. Finalmente, la célula maligna debe penetrar esta estructura para tener acceso al parénquima del órgano²¹ (fig.1)

Con los recientes adelantos en los métodos para el establecimiento de cultivos de células endoteliales de diferentes órganos, las interacciones de la célula metastásica con las células endoteliales de la microvasculatura se pueden estudiar *in vitro*. Nosotros hemos encontrado que líneas de melanoma murino que colonizan el cerebro con gran eficiencia tienen una frecuencia más alta de adhesión a células endoteliales cerebrales singénicas de la microvasculatura. De igual manera, células de melanoma que colonizan el pulmón poseen una alta frecuencia de adhesión a células endoteliales de la microvasculatura de pulmón^{3,20}. Nosotros hemos obtenido datos similares para líneas celulares humanas de melanoma que colonizan el cerebro²².

La adhesión de células malignas que colonizan a las células endoteliales apropiadas de órganos específicos sugiere que las células endoteliales poseen determinantes específicos de órgano. De hecho, células endoteliales de la microvasculatura expresan *in vivo* e *in vitro* patrones únicos de glicoproteínas de superficie que probablemente son importantes en una variedad extensa de procesos fisiológicos^{23,24}. Esto es especialmente evidente en la microvasculatura del cerebro donde la expresión de ciertas glicoproteínas es significativamente diferente comparada con la de otros órganos, como el pulmón, hígado, riñón y brazo²³.

Aparentemente múltiples moléculas están implicadas en la adhesión de las células tumorales a las células endoteliales^{4,5,25} así como también en la adhesión de células normales a células endoteliales. Algunas moléculas de adhesión de células tumorales están envueltas en la adhesión preferencial de células tumorales a tipos específicos de células endoteliales, mientras otras están asociadas con la adhesión a células endoteliales diversas^{24,26-29}. Otra familia de moléculas altamente implicadas en la adhesión de células tumorales a células endoteliales es la de las selectinas³⁰, CD44²⁵, NCAMS³¹, anexinas²⁸ e integrinas²⁵. La expresión de integrinas por el cerebro así como también por células tumorales puede ser importante en el desarrollo de metástasis cerebrales. Las integrinas expresadas por astrocitos normales poseen las subunidades $\alpha 2$,

$\alpha 3$, $\alpha 6$, $\beta 1$ y $\beta 4$ en áreas asociadas con interacciones con el estroma³². Por el contrario, los astrocitos muestran un aumento en la expresión de las integrinas $\alpha 3$, $\beta 1$ y $\beta 4$ y expresión de novo de las integrinas $\alpha 5$, αV y $\beta 4$ ³². La expresión de la integrina $\alpha 4$ por linfocitos infiltrantes de tumor cerebral³³ sugiere que las células tumorales metastásicas a cerebro pueden también expresar la integrina $\alpha 4$. Algunas de las moléculas generales de adhesión de células endoteliales, como las anexinas, están probablemente implicadas en parte en el anclaje de células metastásicas de cerebro a células endoteliales de la microvasculatura del SNC. Las moléculas en las células metastásicas a cerebro y en células endoteliales responsables del acogimiento por el cerebro y del carácter específico de esta interacción no han sido identificadas hasta el presente.

Propiedades de Motilidad de las Células Metastásicas a Cerebro.

La motilidad de las células tumorales es un elemento esencial en la invasión de la célula metastásica^{34,35}. La habilidad de las células tumorales en la respuesta a sustancias quimioatrayentes específicas a órgano o asociadas a órgano, pueden ser determinantes importantes en la invasión selectiva de células tumorales en tejidos específicos. Se han identificado factores quimioatrayentes derivados de órganos y en algunos casos han sido parcialmente purificados. Orr et al.³⁶ identificaron un factor quimioatrayente derivado de hueso proveniente de cultivos de células de carcinosarcoma de Walker; Hunjanen y Terranova³⁷ demostraron que células tumorales que metastatizan a cerebro o hígado, migran a favor de un gradiente de concentración de componentes solubles extraídos de cerebro o hígado respectivamente.

Algunos de los factores de motilidad relacionados con el proceso de metástasis son moléculas previamente aisladas. Por ejemplo, un factor de motilidad conocido que se piensa es importante en las metástasis es el factor de dispersión ("scatter factor"), que fué originalmente identificado en suero, e induce el movimiento de células epiteliales *in vitro*. Este factor es producido por fibroblastos embrionarios y algunas líneas de fibroblastos³⁸ y probablemente juega un papel importante en la estimulación de la invasión de ciertos tumores epiteliales y mesenquimatosos.

Como el endotelio vascular es el primer tipo de célula que interactúa con células tumorales circulantes, y existen diferencias en las propiedades de células endoteliales de la microvasculatura de diferentes órganos, estudiamos los factores de motilidad tumoral secretados por células endoteliales de órganos específicos. Encontramos que células endoteliales derivadas de la microvasculatura del cerebro secretan factores

paracrinos de motilidad que diferencialmente estimulan el movimiento quimioquinético y quimiotáctico de células murinas de melanoma colonizantes a cerebro con una frecuencia más alta que las de melanoma metastásico a pulmón³⁹. Los factores de motilidad secretados por células endoteliales derivadas de la microvasculatura cerebral no han sido purificados, pero aparentemente son diferentes de los factores de motilidad secretados por el endotelio de la microvasculatura del pulmón o células sinusoidales endoteliales del hígado y que diferencialmente, estimulan el movimiento de células de linfoma de células, grandes metastásicas en pulmón o hígado respectivamente³⁹. Un potente factor de motilidad de células de linfoma colonizador en el hígado ha sido purificado y secuenciado. Este factor es un fragmento de alto peso molecular (M_r) (200,000) de componente C3 de la cascada de complemento. Este factor de motilidad (C3b) no es capaz de estimular la motilidad de células epiteliales, ni de células de tumor linfóide pobremente metastásicas o células altamente metastásicas a pulmón⁴⁰.

Los fragmentos de bajo peso molecular de los componentes de la cascada de complemento son factores quimiotácticos conocidos. Un factor quimiotáctico de motilidad de bajo peso molecular derivado del componente C5 de la cascada del complemento es activo en la migración de neutrófilos⁴¹ y células tumorales⁴². Otro factor de motilidad de bajo peso molecular con actividad quimiotáctica ha sido obtenido del componente de complemento C3⁴³. Nosotros encontramos que el fragmento C3b es un factor de motilidad potente para células de linfoma colonizadoras del hígado⁴⁰.

Los factores de motilidad presentes en la matriz extracelular de un órgano pueden estimular la migración de células metastásicas de melanoma con más frecuencia que las células no metastásicas⁴⁴. La matriz extracelular del hígado estimula la migración de células de melanoma y de sarcoma de células reticulares colonizadoras de hígado con una frecuencia mayor que las de melanoma metastásicas a pulmón⁴⁵.

Las células tumorales metastásicas también pueden producir factores de motilidad autocrinos. Los factores autocrinos de motilidad han recibido recientemente mucha atención por su probable papel en cascada de metástasis tumoral^{46,47}. Estos factores son secretados por la célula tumoral metastásica y estimulan la motilidad quimioquinética de la célula. Un factor de motilidad autocrino importante de peso molecular aproximado de 53,000 se ha aislado de células de melanoma y de carcinoma de mama^{47,48}. El receptor para el factor de motilidad autocrino de células de melanoma ha sido identificado⁴⁹. La secreción y la respuesta excesiva a factores de

motilidad autocrinos no debe esperarse que necesariamente aumenten la especificidad del órgano de la célula maligna; sin embargo, en general éste debe aumentar las propiedades malignas de las células tumorales y ayudarlas a la invasión tisular. Por lo tanto, moléculas tales como los factores de motilidad autocrinos pueden ser importantes en la formación de la metástasis pero es poco probable que contribuyan a la especificidad de órgano de la metástasis.

Propiedades Invasivas de Células Metastásicas a Cerebro.

El acceso al cerebro está altamente regulado por la barrera hematoencefálica. Esta es una estructura básicamente definida por las conexiones (tight junctions) entre las células endoteliales del cerebro, una membrana basal relativamente gruesa, y una capa subyacente de astrocitos que regulan estrictamente el flujo de iones, nutrientes y células al cerebro. Para la formación de metástasis al cerebro, la célula maligna debe adherirse a la superficie luminal de las células endoteliales de la microvasculatura del cerebro e invadir la barrera hematoencefálica. Este proceso requiere la expresión de una variedad de receptores de superficie celulares, enzimas degradativas y respuesta a factores paracrinos de motilidad y de invasión.

Las células metastásicas a cerebro expresan niveles altos de enzimas hidrolíticas de la membrana basal, tales como colagenasa tipo IV, activador de plasminógeno y heparinasa⁵⁰. Nosotros hemos encontrado que células metastásicas a cerebro de melanoma humano y murino, secretan altas cantidades de enzimas degradativas de la membrana basal⁵⁰. A pesar de que las células metastásicas generalmente tienen la capacidad de secretar enzimas degradativas, la síntesis de algunas de estas enzimas puede ser inducida (factores de invasión paracrinos) o provista por el microambiente (células endoteliales de la microvasculatura, neutrófilos). Estas pueden ser estimuladas para aumentar la síntesis y secreción de enzimas degradativas de la barrera hematoencefálica. Por ejemplo, nosotros hemos encontrado que células metastásicas a cerebro, de origen murino y humano son sensibles al factor de crecimiento de nervio (NGF)^{51,52}. El NGF funciona en las interacciones paracrinas de los ganglios craneales y ha sido estudiado principalmente por su papel en el mantenimiento de la célula neural⁵³. Durante la progresión maligna de melanoma hay un aumento en la expresión de receptores de baja afinidad para neurotrofinas ($p75^{RFCN}$)⁵⁴. La evaluación inmunohistoquímica de $p75^{RFCN}$ demostró un aumento en la expresión en etapas avanzadas de melanoma⁵⁵.

En contraste con los factores paracrinos crónicos del cerebro, las neurotrofinas como NGF son consideradas factores paracrinos de crecimiento agudos ya que son inducidos por trauma y probablemente por células tumorales en la metástasis cerebral. El NGF se acopla a receptores específicos de neurotrofinas en la superficie de células humanas de melanoma pero no induce mitogénesis⁵⁶. Estos receptores pueden ser de baja afinidad (p75^{RFCN}) o alta afinidad (codificados por la familia de oncogenes *trk*)⁶⁷. Por ejemplo, el receptor de alta afinidad para NGF es la proteína p140^{proto-trkA} codificada por el gen *trkA*⁵⁸.

Nosotros hemos encontrado que el NGF puede estimular la invasión y degradación de la matriz extracelular de células malignas de melanoma, particularmente en las líneas celulares altamente metastásicas a cerebro. El NGF puede realizar estas funciones en ausencia de la proteína p140^{proto-trkA}⁵¹ lo cual sugiere que el receptor de NGF de baja afinidad p75^{RFCN}, tiene un papel en la señal de invasión.

La incubación de células de melanoma murino o humano con concentraciones fisiológicas de NGF, aumenta la producción de enzimas degradativas de la matriz^{51,59} y aumenta la habilidad de invadir una membrana basal reconstituida⁵¹ o sus componentes⁵⁹. Este fenómeno ocurre únicamente si las células han sido cultivadas en matriz extracelular y estimuladas por el factor quimiotáctico derivado de las células endoteliales de la microvasculatura del cerebro. Esto sugiere que además de la respuesta a factores neutróficos como NGF, las células de melanoma deben recibir señales apropiadas de la matriz y de motilidad paracrina para ser invasivas⁵¹. Estos efectos de las neurotrofinas probablemente no son exclusivos del cerebro, ya que las neurotrofinas se encuentran también en otros tejidos^{60,61}. La alta expresión de p57^{RFCN} en células de melanoma metastásicas a cerebro sugiere que el cerebro probablemente es el único que utiliza el NGF como un factor invasivo. El NGF y las otras neurotrofinas probablemente participan en la regeneración tisular del SNC⁶².

El NGF y las otras neurotrofinas probablemente participan en la regeneración tisular del SNC⁶².

Propiedades de Crecimiento de Células Metastásicas a Cerebro.

Las respuestas de algunas células cancerosas a factores de crecimiento paracrinos expresados diferencialmente en sitios metastásicos particulares, podrían explicar porqué ciertos cánceres muestran una preferencia de crecimiento en órganos específicos^{6,7,9}. Este fenómeno también podría explicar el aumento en la afinidad de receptores particulares de crecimiento y la res-

puesta aumentada de las células metastásicas a factores de crecimiento. Por ejemplo, la expresión aumentada del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF) codificado por *c-erbB-1* está asociado con un pronóstico pobre o a un aumento en la capacidad metastásica de carcinoma de mama⁶³⁻⁶⁵. Un gen relacionado (*c-erbB-2/neu*) codifica el receptor de superficie del factor de crecimiento p185, cuya expresión aumentada está asociada con un pobre pronóstico de carcinoma de mama^{65,66} y carcinoma de ovario^{68,69}. La progresión de células de melanoma humano a etapas más avanzadas de malignidad está asociada con una expresión aumentada del receptor para EGF⁵⁴.

En general, la progresión de cáncer a etapas avanzadas de malignidad se basa en el concepto de que los receptores para factores de crecimiento que resultan importantes en el proceso de metástasis son los que muestran una expresión aumentada durante las etapas tardías de la progresión tumoral⁶. Para demostrar que la expresión aumentada de receptores de crecimiento es importante en la progresión del tumor y la metástasis, la técnica de transferencia genética ha sido utilizada para aumentar la expresión de los receptores de crecimiento en células y determinar las propiedades biológicas de éstas. Por ejemplo, la transferencia de genes mutados o no mutados de *c-erbB-2/neu*, tiene como resultado que por lo menos ciertas células transfectadas adquieran el fenotipo metastásico⁷⁰. Los cambios en las propiedades metastásicas de las células transfectadas con *c-erbB-2/neu* ocurre concomitantemente con otros cambios, como por ejemplo, un aumento en la adhesividad a las células endoteliales de la microvasculatura, aumento en la invasividad de una membrana basal reconstituida, y aumento en motilidad en respuesta a factores quimiotácticos derivados de órganos⁷⁰. No todas las células transfectadas se convierten a fenotipos metastásicos. Por lo tanto, la conversión de células no transformadas o células de tumor benigno a células de alto potencial maligno por transferencia de un oncogen activado, está usualmente acompañada por cambios en la expresión de receptores de factores de crecimiento así como también de cambios en la expresión de otros productos genéticos implicados en otras etapas de la formación de metástasis.

La expresión de factores paracrinos estimuladores e inhibitorios de crecimiento en cantidades variable en diferentes órganos y tejidos, probablemente determina en gran medida el potencial de crecimiento de las células metastásicas en tejidos específicos. Es conocido que los cánceres son frecuentemente dependientes, por lo menos en las etapas iniciales, de factores paracrinos de crecimiento secretados por células circundantes del huesped⁶. Sin embargo, una vez que ocurre la

progresión al fenotipo metastásico, la capacidad de responder a factores de crecimiento cambia. Las células metastásicas responden más a factores estimuladores/inhibitorios de crecimiento expresados en la localización secundaria⁶ (Fig. 1).

La preferencia por órganos de las células metastásicas se ha correlacionado con un aumento en la respuesta mitogénica a factores estimuladores/inhibitorios de crecimiento expresados en la localización secundaria para colonización⁷¹⁻⁷⁴. Por ejemplo, cuando se cultivaron las células tumorales metastásicas en medio condicionado de órganos con riesgo de colonización metastásica, encontramos que el crecimiento celular en medio con cantidades mínimas de suero fué diferencialmente estimulado por factores no dializables de tejidos de órganos a riesgo^{73,74}. En 1989 Chackal-Roy et al.⁷⁵ encontraron que el medio condicionado contiene un factor de crecimiento derivado de la médula ósea que diferencialmente estimula el crecimiento de carcinoma metastásico de próstata. Por otro lado, Price et al.⁷⁶ en 1988 encontraron que el potencial de colonización de una serie de clones derivadas de células de melanoma no siempre se correlaciona con su habilidad de crecer en co-cultivo con fragmentos de tejido pulmonar, indicando que otros factores son necesarios para la preferencia de órganos por las metástasis.

Factores Similares a la Transferrina y Metastasis Cerebrales

En 1989 nosotros purificamos un factor paracrino de crecimiento importante para las células metastásicas⁷⁷ el cual resultó ser similar a transferrina⁷⁸. Estos factores similares a la transferrina son probablemente utilizados como factores estimuladores de crecimiento en órganos tales como pulmón, hueso y cerebro. Por ejemplo, Rossi y Zetter⁷⁹ encontraron que un factor similar a la transferrina juega un papel importante en carcinoma de próstata metastásico a hueso. Un factor similar a la transferrina derivado de un medio condicionado de pulmón fue el primer factor de crecimiento purificado con homogeneidad. Estos estudios se basaron en la capacidad de estimular diferencialmente el crecimiento de células altamente metastásicas a un órgano en particular⁷⁷. Estos factores similares a la transferrina probablemente utilizan el receptor dimerico de la transferrina (180kDa). Cuando nosotros estudiamos la correlación entre las propiedades de acoplamiento de la transferrina marcada con ¹²⁵I y la respuesta de crecimiento de diferentes líneas de melanoma con diferentes potenciales de metástasis, encontramos que las líneas que colonizan el cerebro exhiben una mayor respuesta de crecimiento a la transferrina.

El orden de acoplamiento de la transferrina marcada a las líneas celulares de melanoma es paralelo a sus respuestas de crecimiento a la transferrina⁸⁰. Resultados similares fueron obtenidos con un sistema murino de adenocarcinoma de mama metastásico. Las líneas celulares de adenocarcinoma mamario de rata con mayor tendencia a colonizar el cerebro, mostraron el mayor acoplamiento a la transferrina marcada con ¹²⁵I y la mejor respuesta de crecimiento a la transferrina⁸¹. Al utilizar unas líneas celulares derivadas de cáncer de mama (MCF-7), seleccionadas por su capacidad invasiva en ratones desnudos (nude), encontramos por análisis gráfico de Scatchard, que las líneas más invasivas y metastásicas acoplan más moléculas de transferrina ¹²⁵I⁸¹.

La expresión aumentada de un factor de crecimiento en particular puede ser importante en la respuesta de crecimiento de células metastásicas en ciertas localizaciones o en sitios con trauma o inflamación. Las células tumorales que expresan un alto número de receptores para la transferrina, deben ser capaces de responder a concentraciones limitadas de transferrina que existen en algunos compartimientos tisulares como el cerebro. En el cerebro, los factores similares a transferrina son probablemente utilizados como factores paracrinos de crecimiento durante el desarrollo fetal⁸². Con la posible excepción del plexo coroide, el cerebro humano adulto no sintetiza grandes cantidades de transferrina. La transferrina está presente normalmente en cantidades limitadas probablemente debido a su pobre penetración de la barrera hemato-encefálica. Para que una célula maligna pueda metastatizar a cerebro, puede ser ventajoso expresar grandes cantidades de receptores de la transferrina y así poder responder a las bajas concentraciones de estos factores. Otra explicación para este fenómeno es que los factores similares a la transferrina sintetizados por el cerebro no se acoplan eficientemente al receptor de la transferrina. Recientemente, nosotros hemos encontrado que el cerebro fetal sintetiza cantidades relativamente altas de un factor similar a la transferrina que ha sido llamado TFLF-3⁸³. Es muy probable que el TFLF-3 sea uno de la serie de factores estimuladores e inhibitorios de crecimiento, importantes en la preferencia de células metastásicas por el cerebro⁶.

Factores paracrinos de inhibición de crecimiento y la preferencia de órganos por la célula metastásica

Señales tanto positivas como negativas en localizaciones secundarias son importantes en las metástasis. Pocas moléculas inhibitorias de crecimiento paracrinas derivadas de órganos han sido identificadas y la mayor parte de las cue

han sido identificadas han resultado ser factores de inhibición conocidos, tales como la familia de citocinas del factor de transformación de crecimiento beta (TGF- β)⁸⁴. Los tejidos pueden secretar potentes inhibidores de crecimiento que, en conjunto con factores positivos de crecimiento probablemente determinan la proliferación de células metastásicas en diferentes compartimientos. Por ejemplo, un medio condicionado derivado del riñón es particularmente inhibitorio en muchos sistemas metastásicos. Estos sistemas metastáticos no colonizan en riñón por la presencia de TGF- β ⁸⁵.

El factor TGF- β 1 inhibe algunas, pero no todas las células metastásicas. Por ejemplo, la mayoría de las líneas celulares de melanoma maligno son inhibidas en su crecimiento pero otras no son afectadas por la presencia de TGF-

β 1 en el medio de cultivo⁸⁴. Ocasionalmente, células altamente metastásicas son estimuladas en su crecimiento por estas citocinas⁸⁶. Recientemente, líneas celulares de carcinoma colorectal y renal establecidas de tumores individuales exhiben estimulación/inhibición clonal de crecimiento, independientemente del potencial metastático de las clonas celulares⁸⁷. Por lo tanto, la heterogeneidad en la respuesta de células metastásicas al TGF- β 1 sugiere que no hay una relación sencilla entre las respuestas de las células malignas a un factor de crecimiento positivo o negativo y el potencial metastático⁶.

En melanomas humanos, las respuestas a varias citocinas que afectan el crecimiento celular positiva o negativamente indican que las células de melanomas en etapas avanzadas no son capaces de responder a citocinas de crecimiento nega-

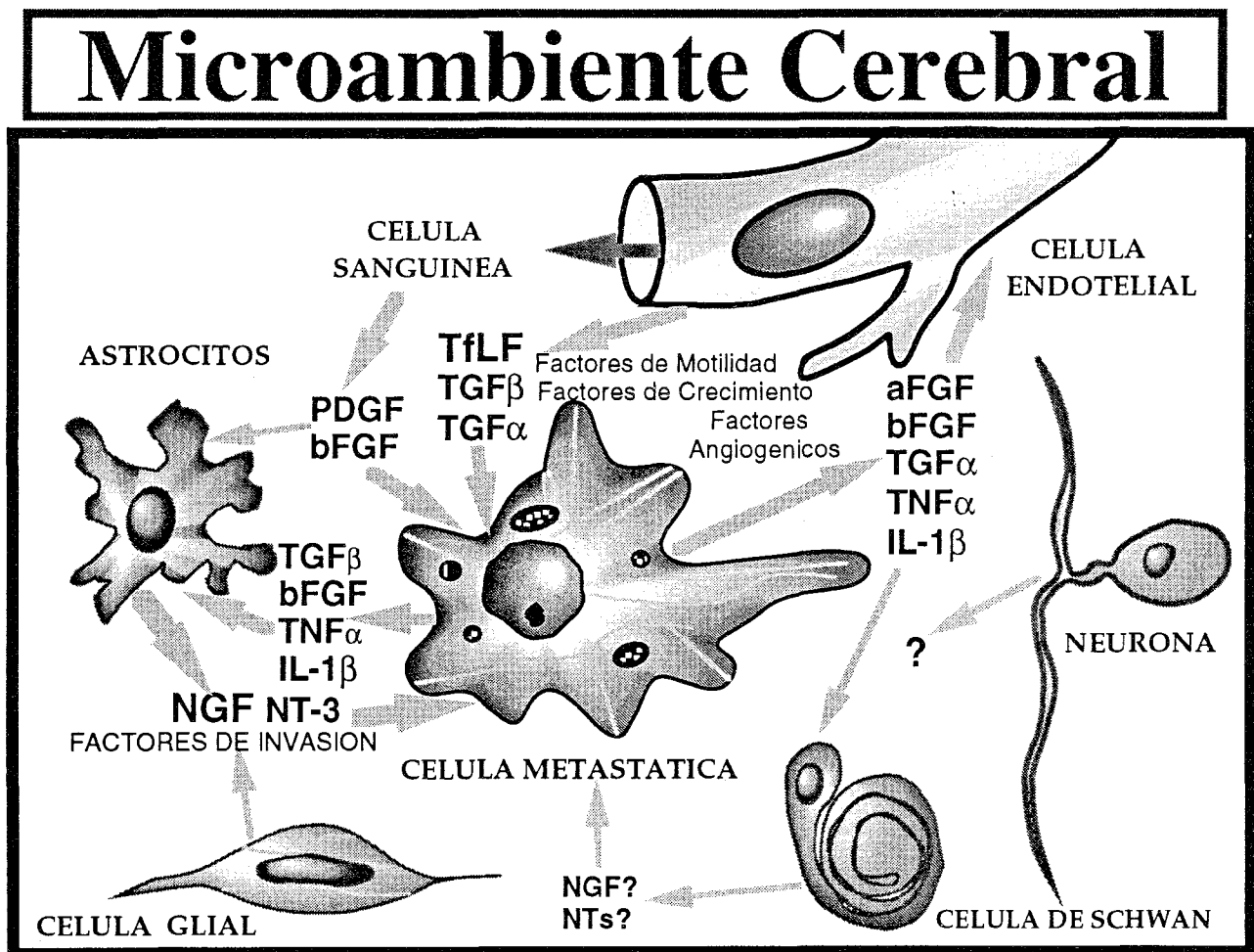


Fig. 2. Interacciones bidireccionales entre las células malignas y el microambiente del cerebro. Las células del tumor secretan citocinas que pueden afectar las células de Schwann y matriz extracelular del cerebro. En cambio, las células y matriz del huésped secretan factores que estimulan/inhiben la motilidad celular y proliferación del tumor⁵⁰.

SENSIBILIDAD A CITOQUINAS DURANTE LA PROGRESION TUMORAL

RESPUESTA A FACTORES DE CRECIMIENTO E INHIBITORIOS ENDOCRINOS, PARACRINOS Y AUTOCRINOS

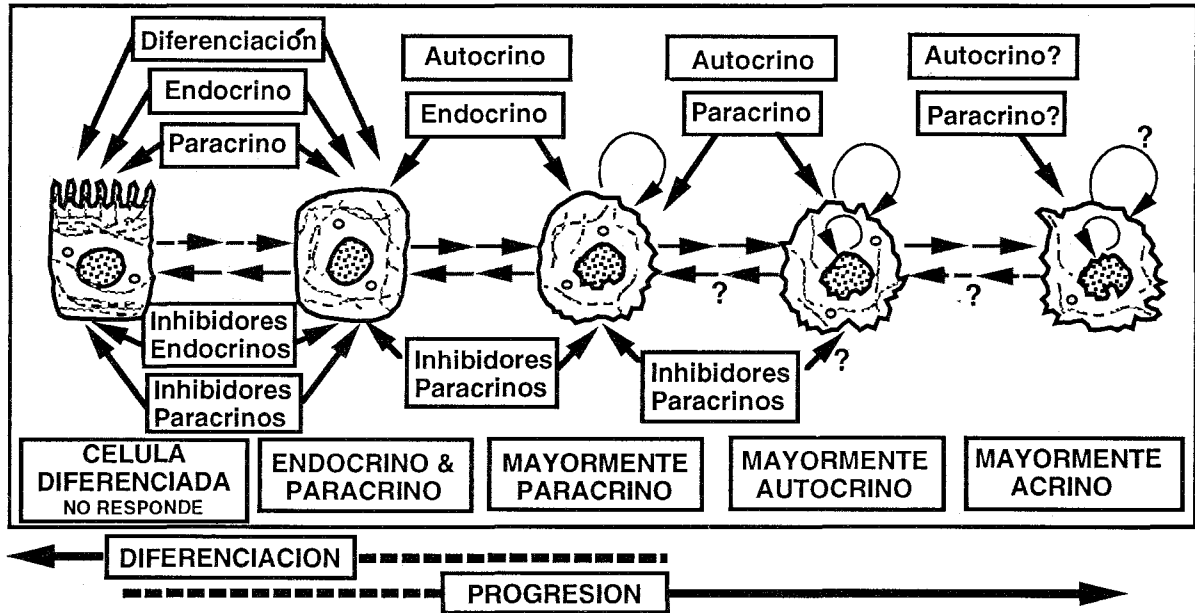


Fig.3. La progresión de las células malignas cancerosas conlleva la alteración de su respuesta a moléculas estimuladoras e inhibitorias derivadas del hùesped y síntesis de factores de crecimiento autocrinos. La "diferenciación" del tumor a estados de menos malignidad se demuestra como un proceso posible hacia la izquierda y la progresión del tumor a un estado de malignidad más avanzada se demuestra a la derecha. La progresión del tumor puede resultar en cambios en la regulación de factores paracrinos y autocrinos de crecimiento. En las etapas iniciales de crecimiento de las células tumorales metastásicas, se espera que éstas sean reguladas por factores de crecimiento paracrinos, como en el caso de colonización específica de órgano por células metastásicas y regulación de crecimiento por factores paracrinos de crecimiento/inhibitorios derivados de órganos. Mientras la progresión del tumor continúa, sin embargo, hay una pérdida de la respuesta a factores paracrinos estimuladores/inhibitorios del crecimiento y un aumento en la producción de factores autocrinos de crecimiento. Esto se hace evidente con la colonización metastásica a diferentes tejidos. Finalmente, la progresión del tumor resulta en la pérdida completa de la respuesta a factores estimuladores/inhibitorios de crecimiento (estado de acrino) dando como resultado la colonización metastásica de virtualmente cualquier microambiente tisular⁶.

tivas, lo cual sugiere una pérdida de la capacidad de responder a factores de crecimiento paracrinos con la progresión del tumor⁸⁸. Una de las moléculas responsables de la inhibición diferencial del crecimiento vertical de células de melanoma fué purificado y demostró ser la IL-6. En 1992 Lu et al.⁸⁸ establecieron que las células metastásicas más avanzadas han perdido su capacidad de responder a inhibidores de crecimiento lo cual sugiere que una de las propiedades más importantes de las células altamente malignas es la pérdida de la respuesta a inhibidores paracrinos de crecimiento.

Los tejidos y células de origen de la mayoría de los factores paracrinos estimuladores/inhibitorios de crecimiento son desconocidas. Las fuentes más probables de dichos factores en la mayoría de los tejidos son las células paréquitomas, fibroblastos, células endoteliales, mastoci-

tos, y macrófagos. Las fuentes no celulares de dichos factores incluyen la matriz intersticial extracelular y la membrana basal. En el cerebro, las fuentes de factores paracrinos incluyen los astrocitos, células gliales y células de Schwann (fig. 2).

La mayoría de los tejidos secretan factores solubles de crecimiento e inhibición. En 1993 Okumura et al.⁹⁰ encontró que medio condicionado de cultivos a corto plazo pero no de cultivos a largo plazo de fibroblastos de órganos particulares estimulan el crecimiento de clones de células altamente metastásicas de carcinoma de mama. La mayor estimulación del crecimiento se obtuvo del medio derivado de fibroblastos aisladas de pulmón o glándula mamaria, las localizaciones más comunes de células metastásicas de carcinoma mamario⁹⁰. En 1991 Gleave et al.⁹¹ encontraron estimulación de crecimiento

bidireccional cuando el medio condicionado derivado de células de carcinoma de próstata fué sustituido por medio condicionado derivado de fibroblastos de hueso. Como el hueso es una localización común para el carcinoma de próstata, estos resultados sugieren que las células de carcinoma de próstata estimulan y son estimuladas por los fibroblastos de hueso. En 1992 Hamada et al.⁸⁹ utilizando células murinas de linfoma de células grandes colonizadoras de pulmón o hígado, encontró que el medio condicionado de células endoteliales singénicas derivadas de órganos específicos, podía sustituir al medio condicionado derivado del órgano específico en ensayos de proliferación de células tumorales. En estos estudios, las células de linfoma colonizadoras de hígado responden mejor al medio condicionado de células endoteliales sinusoidales; las células de linfoma colonizadoras del pulmón respondieron mejor al medio condicionado derivado de células endoteliales de la microvasculatura del pulmón. La eliminación de factores similares a la transferrina del medio condicionado de células endoteliales del pulmón, reduce la actividad mitogénica, pero siempre queda alguna actividad residual. Estos resultados sugieren que hay múltiples factores de crecimiento tumoral secretados por las células endoteliales.

Dado que las células endoteliales responden a factores angiogénicos secretados por las células tumorales, una relación bidireccional o recíproca debe existir entre la célula tumoral y las células endoteliales específicas de la localización secundaria (fig.3). Este *crecimiento recíproco regulado por citocinas*^{6,7} probablemente se aplica tanto a diferentes tipos de células parenquimatosas como a la matriz extracelular. La explosión de crecimiento metastásico en ciertos órganos puede ser explicada fácilmente por la estimulación de la motilidad, invasión y crecimiento del tumor y células del huesped derivadas de la secreción recíproca de citocinas y otros factores por células tumorales y del huesped^{6,7}.

El crecimiento de las células metastásicas puede ser estimulado por células que son específicamente atraídas al tumor por la circulación, además de las células parenquimatosas, las células endoteliales, los astrocitos y las células gliales. Por ejemplo, los mastocitos pueden ser atraídos a la periferia del tumor y proveer otra fuente de mitógenos y factores de motilidad. Al igual que el proceso de inflamación, los mastocitos son atraídos al tumor debido a la secreción de factores mitogénicos y de motilidad secretados por mastocitos en la periferia del tumor. En 1992 Dabbous et al.⁹² utilizando células de adenocarcinoma de mama, encontraron que solamente las células altamente

metastáticas eran capaces de atraer un gran número de mastocitos en la periferia del tumor. Los mastocitos aislados secretaron factores que diferencialmente estimularon el crecimiento de las células altamente metastásicas pero no de las células con pobre potencial metastásico.

Mecanismos Autocrinos y Metastasis.

Las células metastásicas pueden producir múltiples factores motilidad y crecimiento que pueden actuar como factores autocrinos. Células tumorales que puedan condicionar su microambiente con la secreción de factores de motilidad, factores de crecimiento y citocinas también pueden producir efectos en células vecinas que no secretan factores similares. Este mecanismo de señal paracrino entre poblaciones tumorales se piensa que juega un papel en el movimiento, crecimiento y otras propiedades biológicas de la célula metastásica^{93,94}. Uno de los efectos de las interacciones interclonales de las células tumorales es el cambio en la expresión y despliegue de receptores para factores de crecimiento en la superficie celular. Por ejemplo, interacciones interclonales entre células de melanoma murino colonizadoras de cerebro alteran la expresión de un receptor de superficie⁹⁵ que finalmente fué identificado como un receptor de transferrina⁹⁶. En este caso, los interacciones interclonales estabilizaron la expresión de receptores de transferrina concomitantemente con las propiedades de colonización de cerebro de las clonas celulares⁹⁵.

Los factores autocrinos de crecimiento aparentemente aumentan en importancia durante el progreso de la célula tumoral a estados más avanzados de malignidad. Las células tumorales más avanzadas en el proceso tumoral generalmente son menos dependientes de factores de crecimiento derivados del suero para su crecimiento in vitro^{97,98}. La pérdida de ciertas respuestas a factores de crecimiento y factores inhibitorios en células altamente metastásicas y la habilidad de esos cánceres de colonizar y crecer en localizaciones secundarias distantes se puede explicar al considerar las propiedades de crecimiento de los cánceres durante las diferentes etapas de progresión. Cuando los cánceres progresan a las etapas tempranas de metástasis, usualmente demuestran una distribución restringida de metástasis o de especificidad de órgano de metástasis, mientras que en los estadios finales de la progresión cancerosa cerca de la muerte del huesped, pueden colonizar múltiples órganos y tejidos. La explicación más razonable para este fenómeno es que la célula cancerosa progresa de unos mecanismos paracrinos estimuladores/inhibitorios en las etapas iniciales de la progresión metastá-

sica a unos mecanismos mayormente autocrinos o hasta la pérdida de todos los mecanismos de

regulación de crecimiento en las etapas finales de la progresión metastásica (acrino)^{6,7}.

REFERENCIAS

- ¹ Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Lancet* 1989 1: 571-573.
- ² Kiernan MW, Longenecker BM. Organ specific metastasis with special reference to avian systems. *Cancer Metastasis Rev* 1983 2: 165-182.
- ³ Nicolson GL. Organ specificity of tumor metastasis: role of preferential adhesion, invasion, and growth of malignant cells at specific secondary sites. *Cancer Metastasis Rev* 1988 7: 143-188.
- ⁴ Nicolson GL. Cancer metastasis: tumor cell and host organ properties important in metastasis to specific secondary sites. *Biochim Biophys Acta* 1988 948: 175-224.
- ⁵ Nicolson GL. Molecular mechanisms of cancer metastasis: Tumor and host properties and the role of oncogenes and suppressor genes. *Curr Opin Oncol* 1991 3: 75-92.
- ⁶ Nicolson GL. Cancer progression and growth: Relationship of paracrine and autocrine growth mechanisms to organ preference metastasis. *Exp Cell Res* 1993 204: 171-180.
- ⁷ Nicolson GL. Paracrine/autocrine growth mechanisms in tumor metastasis. *Oncol Res* 1993 4: 389-399.
- ⁸ Zetter BR. The cellular basis of site-specific tumor metastasis. *New Engl J Med* 1992 322: 605-612.
- ⁹ Nicolson GL. Paracrine and autocrine growth mechanisms in tumor metastasis to specific sites with particular emphasis on brain and lung metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 1993 12: 325-343.
- ¹⁰ Steck PA, Nicolson GL. Metastases to the central nervous system. In: *Molecular Genetics of Nervous System Tumors*. 1993 pp 371-379 (Levine, A. and H. Schmidek, Eds.). Wiley & Sons, New York.
- ¹¹ Wright DC, Delaney TF. Treatment of metastatic cancer to the brain In: *Cancer: principles and practice in oncology*. 1989 pp. 2245-2261 (De Vita, V. T., S. Hellman, and S. A. Rosenberg, Eds.). J. B. Lippincott Co., New York.
- ¹² Posner JB, Chernik NL. Intracranial metastases from systemic cancer. *Adv Neurol* 1978 19: 575-587.
- ¹³ Updyke TV, Nicolson GL. Malignant melanoma cell lines selected in vitro for increased homotypic adhesion properties have increased experimental metastatic potential. *Clin Exp Metastasis* 1986 4: 273-284.
- ¹⁴ Fidler IJ. Biological behavior of malignant melanoma cells correlated to their survival in vivo. *Cancer Res* 1975 35: 218-224.
- ¹⁵ Weiss L, Orr F W, Honn KV. Interaction of cancer cells with the microvasculature during metastasis. *FASEB J* 1988 2: 12-21.
- ¹⁶ Auerbach R, Lu WC, Pardon E, Gumkowski F, Daminska G, Daminska M. Specificity of adhesion between murine tumor cells and capillary endothelium: An in vitro correlate of preferential metastasis in vivo. *Cancer Res* 1987 47: 1492-1497.
- ¹⁷ Lichtner RB, Belloni PN, Nicolson GL. Differential adhesion of metastatic rat mammary carcinoma cells to organ-derived microvessel endothelial cells and subendothelial matrix. *Exp Cell Biol* 1989 57: 146-152.
- ¹⁸ Nicolson GL. Metastatic tumor cell interactions with endothelium, basement membrane and tissue. *Curr Opin Cell Biol* 1989 1: 1009-1019.
- ¹⁹ Liotta L A, Rao CN, Wewer UM. Biochemical interactions of tumor cells with the basement membrane. *Annu Rev Biochem* 1986 55: 1037-1057.
- ²⁰ Nicolson GL. Metastatic tumor cell attachment and invasion assay utilizing vascular endothelial cell monolayers. *J Histochem Cytochem* 1982 30: 214-220.
- ²¹ Nicolson GL, Poste G. Tumor implantation and invasion at metastatic sites. *Int Rev Exp Pathol* 1983 25: 77-181.
- ²² Nicolson GL, Menter D, Herrman J, Cavanaugh P, Jin L, Hamada J, Yun Z, Marchetti D. Tumor metastasis to brain: role of endothelial cells, neurotrophins, and paracrine growth factors. *Crit Rev Oncogen en prensa* (1994).
- ²³ Belloni PN, Nicolson GL. Differential expression of cell surface glycoproteins on organ-derived murine vascular endothelia and endothelial cells. *J Cell Physiol* 1988 136: 398-410.
- ²⁴ Belloni PN, Carney DH, Nicolson GL. Organ-derived endothelial cells exhibit differential responsiveness to thrombin and other growth factors. *Microvasc Res* 1992 43: 20-45.
- ²⁵ Behrens J, Frixen U, Schipper J, Weidner M, Birchmeier W. Cell adhesion in invasion and metastasis. *Semin Cell Biol* 1992 3: 169-178.
- ²⁶ Tressler RJ, Nicolson GL. Butanol extractable and detergent solubilized cell surface components

from murine large cell lymphoma cells associated with adhesion to organ microvessel endothelial cells. *J Cell Biochem* 1992 148: 162-171.

²⁷ Tressler RJ, Belloni PN, Nicolson GL. Correlation of inhibition of adhesion of large cell lymphoma and hepatic sinusoidal endothelial cells by RGD containing peptide polymers with metastatic potential: Role of integrin-dependent and independent adhesion mechanisms. *Cancer Commun* 1989 1: 55-63.

²⁸ Tressler RJ, Updyke TV, Yeatman T, Nicolson GL. Extracellular annexin II is associated with divalent cation-dependent tumor endothelial cell adhesion of metastatic RAW117 large cell lymphoma cells. *J Cell Biochem* 1993 53: 265-276.

²⁹ Zhu D, Cheg CF, Pauli BU. Blocking of lung endothelial cell adhesion molecule-1 Lu-ECAM-1 inhibits murine melanoma lung metastasis. *J Clin Invest* 1992 89: 1718-1724.

³⁰ Vestweber D. Selectins: cell surface lectins which mediate the binding of leukocytes to endothelial cells. *Semin Cell Biol* 1992 3: 211-220.

³¹ Zocchi MF, Vidal M, Poggi A. Involvement of the CD56/N-CAM molecule in the adhesion of human solid tumor cell lines to endothelial cells. *Exp Cell Res* 1993 204: 130-135.

³² Paulus W, Baur I, Schuppan D, Roggendorf W. Characterization of integrin receptors in normal and neoplastic human brain. *Am J Pathol* 1993 143: 154-163.

³³ Baron JL, Madri JA, Ruddle NH, Hashim G, Janeway Jr C A. Surface expression of alpha-4 integrin by CDD4 T cells is required for their entry into brain parenchyma. *J Exp Med* 1993 177: 57-68.

³⁴ Varani J. Chemotaxis of metastatic tumor cells. *Cancer Metastasis Rev* 1982 1: 17-28.

³⁵ Liotta LA, Stracke ML, Aznavoorian SA, Becker ME, Schiffman E. Tumor cell motility. *Semin Cancer Biol* 1991 2: 111-114.

³⁶ Orr FW, Varani J, Gondek MD, Ward PA, Mundy GR. Partial characterization of a bone-derived chemotactic factor from tumor cells. *Am J Pathol* 1980 99: 43-52.

³⁷ Hujanen ES, Terranova VP. Migration of tumor cells to organ-derived chemoattractants. *Cancer Res* 1985 45: 3517-3521.

³⁸ Gherandi E, Gray J, Stoker M, Peeryman M, Furlong R. Purification of scatter factor, a fibroblast derived basic protein that modulates epithelial interactions and movement. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 86: 5844-5848.

³⁹ Hamada J, Cavanaugh PG, Lotan O, Nicolson GL. Separable growth and migration factors for

large-cells derived from target organs for metastasis. *Br J Cancer* 1992. 66: 349-354.

⁴⁰ Hamada JI, Cavanaugh PG, Miki K, Nicolson GL. A metastatic tumor cell paracrine migration-stimulating factor secreted by mouse hepatic sinusoidal endothelial cells: Identification as complement component 3b. *Cancer Res* 1993 53: 4418-4423.

⁴¹ Snyderman R, Shin HS, Philips JK, Gewurz H, Mergenhagen SE. A neutrophil chemotactic factor derived from C'5 upon interaction of guinea pig serum with endotoxin. *J Immunol* 1969 103: 413-422.

⁴² Orr W, Phan SH, Varani J, Ward PA, Keutzer DL, Webster RG, Henson PM. Chemotactic factor for tumor cells derived from the C5s fragment of the complement component C5. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979 76: 1986-1989.

⁴³ Bokisch VA, Muller-Eberhard HJ, Cochrane CG. Isolation of a fragment (C3a) of the third component of human complement containing anaphylatoxin and chemotactic activity and description of an anaphylatoxin inactivator of human serum. *J Exp Med* 1969 129: 1109-1130.

⁴⁴ Cerra, RF, Nathanson SD. Organ-specific chemotactic factors present in lung extracellular matrix. *J Surg Res* 1989 46: 422-426.

⁴⁵ Cerra RF, Nathanson SD. Chemotactic activity present in liver extracellular matrix. *Clin Exp Metastasis* 1991 9: 39-49.

⁴⁶ Liotta LA. Tumor invasion and metastasis: role of extracellular matrix. *Cancer Res* 1986 46: 1-7.

⁴⁷ Atnip KD, Carter LM, Nicolson GL, Dabbous K. Chemotactic response of rat mammary adenocarcinoma cell clones to tumor-derived cytokines. *Biochem Biophys Res Commun* 1987 146: 996-1002.

⁴⁸ Liotta LA, Mandler R, Murano G, Katz DA, Gordon RK, Chiang PK, Schiffman E. Tumor cell autocrine motility factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986 83: 3302-3306.

⁴⁹ Watanabe H, Carmi P, Hogan V, Raz T, Silletti S, Nabi IR, Raz A. Purification of human tumor cell autocrine motility factor and molecular cloning of its receptor. *J Biol Chem* 1991 266: 13442-13448.

⁵⁰ Nicolson GL, Nakijama M, Herrmann JL, Menter DG, Cavanaugh PG, Park JS, Marchetti D. Malignant melanoma metastasis to brain: role of degradative enzymes and responses to paracrine growth factors. *J. Neuro-Oncol. En prensa* (1984)

⁵¹ Herrman JL, Mnter DG, Hamada J-I, Marchetti D, Nakijama M, Nicolson GL. Mediation of NGF-stimulated extracellular matrix invasion by the human melanoma low-affinity p75 neurotrophin receptor: Melanoma p75 functions independent of trkA. *Mol Biol Cell* 1993 4: 1205-1216.

- ⁵² Marchetti D, Herrman JH, Menter D, Nicolson GL. Neurotrophin-3 effects on human melanoma cell invasion *Mol Biol Cell Suppl* 1993; 4: 297.
- ⁵³ Levi-Montalcini R. The nerve growth factor 35 years later. *Science* 1987 237: 1154-1164.
- ⁵⁴ Herly M, Thurin JL, Balaban G, Bennicelli JL, Herly D, Elder DE, Bondi E, Guerry D, Nowell P, Clark WH, Kaprowski H. Characteristics of cultured human melanocytes isolated from different stages of tumor progression *Cancer Res* 1985 45: 5670-5676.
- ⁵⁵ Ross AH, Grob p, Bothwell M, Elder DE, Ernst CS, Marano N, Ghrist BF, Slemp CC, Herlyn M, Atkinson B, Kaprowsky H. Characterization of nerve growth factor receptor in neural crest tumors using monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1984 81: 6681-6685.
- ⁵⁶ Marchetti D, Kapoor R, Nakajima M, Nicolson GL. Nerve growth factor induces specific degradation of heparan sulfate proteoglycan in human melanoma cells. *Proc Amer Assoc Cancer Res* 1993 34: 65.
- ⁵⁷ Hempstead BL, Martin ZD, Kaplan DR, Parada LF, Chao MV. High-affinity NGF binding requires coexpression of the *trk* proto-oncogene and the low-affinity NGF receptor. *Nature* 1991 350: 678-683.
- ⁵⁸ Kaplan DR, Hempstead BL, Martin ZD, Charo MV, Parada LF. The *trk* proto-oncogene product: a signal transducing receptor for nerve growth factor. *Science* 1991 232: 554-58.
- ⁵⁹ Marchetti D, Menter D, Jin L, Nakajima M, Nicolson GL. Nerve growth factor effects on human and mouse melanoma cell invasion and heparanase production. *Int J Cancer*. 1993 55: 693-699.
- ⁶⁰ Wyatt S, Shooter EM, Davies AM. Expression of the NGF receptor gene in sensory neurons and their cutaneous targets prior to and during innervation. *Neuron* 1990 4: 421-427.
- ⁶¹ Sariola H, Saarana M, Saino K, Arume U, Palgi J, Veehtokari A, Thesleff I, Karavanov A. Dependence of kidney morphogenesis on the expression of nerve growth factor receptor. *Science* 1991 254: 571-573.
- ⁶² Nieto-Sampedro M, Lewis ER, Lotman CW, Manthorpe M, Skafer SD, Barbin G, Longo FM, Varon S. Brain injury causes time-dependent increase in neurotrophic activity at the lesion site. *Science* 1982 217: 860-861.
- ⁶³ Messing EM. Clinical implications of the expression of epidermal growth factor receptors in human transitional cell carcinoma. *Cancer Res* 1990 50: 2530-2537.
- ⁶⁴ Smith K, Fennelly JA, Neal DE, Hall RR, Harris AL. Characterization and quantitation of the epidermal growth factor receptor in invasive and superficial bladder tumors. *Cancer Res* 1989 49: 5810-5815.
- ⁶⁵ Ozawa S, Ueda M, Ando N, Abe O. Prognostic significance of epidermal growth factor receptor in esophageal squamous cell carcinomas. *Cancer* 1989 63: 2169-2173.
- ⁶⁶ Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, Ulrich A, McGuire, WL. HER-2/Neu oncogene protein and prognosis in breast cancer. *J Clin Oncol* 1989 7: 1120-1128.
- ⁶⁷ McCann AH, Dervan PA, O'Regan M, Codd MB, Gullick WJ, Tobin MJ, Carney DN. Prognostic significance of c-erb-2 and estrogen receptor status in human breast cancer. *Cancer Res* 1991 51: 3296-3303.
- ⁶⁸ Wada T, Quian X, Greene MI. Intermolecular association of the p185 neu protein and EGF receptor modulates EGF receptor function. *Cell* 1990 61: 1339-1347.
- ⁶⁹ Hung MC, Zhang X, Yen D-Z, He G-P, Zhang T-Q, Shi D-R. Aberrant expression of the c-erbB-2/neu protooncogene in ovarian cancer. *Cancer Lett* 1982 61: 95-103.
- ⁷⁰ Yu D, Hamada J-I, Zhang H, Nicolson GL, Hung MC. Suppression of neu oncogene-induced metastatic properties by adenovirus 5 E1A gene products. *Oncogene* 1992 7: 2263-2270.
- ⁷¹ Nicolson GL, Dulski KM. Organ specificity of metastatic tumor colonization is related to organ selective growth properties of malignant cells. *Int J Cancer* 1986 38: 289-294.
- ⁷² Horak E, Darling DL, Tarin D. Analysis of organ-specific effects on metastatic tumor formation by studies in vitro. *J Natl Cancer Inst* 1986 76: 913-922.
- ⁷³ Nicolson GL. Differential growth properties of metastatic large cell lymphoma cells in target organ-conditioned medium. *Exp Cell Res* 1987 168: 572-577.
- ⁷⁴ Nicolson GL. Differential organ tissue adhesion, invasion, and growth properties of metastatic rat mammary adenocarcinoma cells. *Breast Cancer Res Treat* 1988 12: 167-176.
- ⁷⁵ Chakal-Roy RM, Niemeyer C, More M, Zetter BR. Simulation of human prostatic carcinoma cell growth by factors present in human bone marrow. *J Clin Invest* 1989 84: 43-50.
- ⁷⁶ Price JE, Naito S, Filder IJ. Growth in an organ microenvironment as a selective process in metastasis. *Clin Exp Metastasis* 1988 6: 91-102.
- ⁷⁷ Cavanaugh PG, Nicolson GL. Purification and some properties of lung-derived growth factor that differentially stimulates the growth of tumor cells metastatic to lung. *Cancer Res* 1989 49: 3928-3933.
- ⁷⁸ Cavanaugh PG, Nicolson GL. Lung-derived growth factor from lung-metastasizing tumor cells:

identification as a transferrin. *J Cell Biochem* 1991 47: 261-267.

⁷⁹ Rossi MC, Zetter BR. Selective stimulation of prostatic carcinoma cell proliferation by transferrin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 89: 6197-6201.

⁸⁰ Nicolson GL, Inoue T, Van Pelt C, Cavanaugh PG. Differential expression of a MT 90,000 cell surface transferrin receptor-related glycoprotein on murine B16 metastatic melanoma sublines related for enhanced brain or ovary colonization. *Cancer Res* 1990 50: 515-520.

⁸¹ Inoue t, Cavanaugh PG, Steck P, Brunner N, Nicolson GG. Differences in transferrin response and numbers of transferrin receptors on rat and human mammary carcinoma lines of different metastatic potentials. *J Cell Physiol* 1993 156:212-217.

⁸² Meshner AL, Muniam SI. Transferrin and growth-promoting effect of nerves. *Int Rev Cytol* 1988 110: 1-26.

⁸³ Jia LB, Cavanaugh PG, Nicolson GL. Paracrine growth factors for metastatic breast cancer cells: cloning of three new transferrin-like growth factors cDNAs that may be involved in the growth stimulation of breast cancer cells at secondary sites. *Proc Ame Assoc cancer Res* 1994 35: 44.

⁸⁴ Roberts AB, Anzano MA, Wakerfield LM, Roche NS, Stern DF, Sporn MB. Type beta transforming growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985 82: 119-123.

⁸⁵ Tucker RF, Shipley GD, Moses HL, Holley RW. Growth inhibitor from BSC-1 cells closely related to platelet type beta transforming growth factor *Science* 1984 226: 705-707.

⁸⁶ Mooradian DL, Purchio AF, Furcht LT. Differential effects of transforming growth factor B1 on growth of poorly highly metastatic murine melanoma cells.

⁸⁷ Fan d, Chakrabarty S, Seid C, Bell CW, Schackert H, Morikowa K, Fidler I. Clonal stimulation of inhibition of human colon carcinomas and human renal carcinomas mediated by transforming growth factor B1. *Cancer Commun* 1989 1: 117-126.

⁸⁸ Lu C, Vickers MF, Kerbel R. Interleukin 6: a fibroblast-derived growth inhibitor of human melanoma cells from early but not advanced stages of tumor progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 89: 9215-9219.

⁸⁹ Cornil L, Theodorescu D, Man S, Herlyn M, Jambrosic J, Kerbel RS. Fibroblast interactions with human melanoma cells affect tumor cell growth as a function of tumor progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 88: 6028-6032.

⁹⁰ Okumura Y, Hamada J, Cavanaugh PG, Nicolson GL. Preferential growth stimulation of metastatic rat mammary adenocarcinoma cells by organ derived

syngeneic fibroblasts in vitro. *Invasion Metastasis* 1993 12: 275-283.

⁹¹ Gleave M, Hsieh JT, Gao C, von Eschenbach AC, Chung LWK. Acceleration of human prostate cancer growth in vivo by factors produced by prostate and bone fibroblasts. *Cancer Res* 1991 51: 3753-3761.

⁹² Dabbous MK, Haney L, Nicolson GL, Eckley D, Wooley DE. Mast cell modulation of tumor cell proliferation in rat mammary adenocarcinoma 13762NF. *Br J Cancer* 1992 63: 873-878.

⁹³ Nicolson GL. Tumor cell instability, diversification and progression to the metastatic phenotype: from oncogene to oncofetal expression. *Cancer Res* 1987 47: 1473-1487.

⁹⁴ Nicolson GL, Cowley Gavilondo FJV. Mecanismos de la progresion tumoral y la evolución de la diversidad fenotípica de las neoplasias malignas. *Interferon Biotechnol* 1986 3: 1-19.

⁹⁵ Miner KM, Kawaguchi T, Uba GW, Nicolson GL. Clonal drift of cell surface, melanogenic and experimental metastatic properties of in vivo-selected, brain meninges-colonizing murine B16 melanoma. *Cancer Res* 1982 42:4631-4638.

⁹⁶ Nicolson GH, Kawaguchi T, Kawaguchi M, Van Pelt C. Brain surface invasion and metastasis of murine malignant melanoma. *J Neuro-Oncol* 1986 4:209-218.

⁹⁷ Rodeck U, Herlyn M, Menssen HD, Furlanetto RW, Koprowski H. Metastatic but not primary melanoma cell lines grow in vitro independently of exogenous growth factors. *Int J Cancer* 1987 40: 687-690.

⁹⁸ Chadwich DE, Lagarde AE. Coincidental acquisition of growth anatomy and metastatic potential during the malignant transformation of factor-dependent CCL 39 lung fibroblasts. *J Natl Cancer Inst* 1988 80: 318-325.

⁹⁹ Tryggvason K, Hoyhtya M, Salo T. Proteolytic degradation of extracellular matrix in tumor invasion. *Biochim Biophys Acta* 1987 907: 191-217.

¹⁰⁰ Nicolson gL, Belloni PN, Tressler RJ, Dulski K, Inoue T, Cavanaugh PG. Adhesive, invasive, and growth properties of selected metastatic variants of a murine large-cell lymphoma. *Invasion Metastasis Rev* 1983 2: 239-256.

¹⁰¹ Frost P, Derbel RS. Immunology of metastasis: can the immune response cope with disseminated tumor? *Cancer Metastasis Rev* 1983 2: 239-256.

¹⁰² Ciancolo GJ, Snyderman R. Effects of tumor growth on host defenses. *Cancer Metastasis Rev* 1986 5:15-27.

¹⁰³ Herlyn M, Kath R, Williams N, Valyi-Nagy I, Rodeck U. Growth regulatory factors for normal,

pre-malignant and malignant human cells. *Adv Cancer Res* 1989 54: 213-234.

¹⁰⁴ Folkman J, Klagsburn M. Angiogenic factors *Science* 1987 235: 442-447.

¹⁰⁵ Belloni PN, Tressler RJ. Microvascular endothelial cell heterogeneity: Interactions with leukocytes and tumor cells. *Cancer Metastasis Rev* 1990 8: 353-390.

¹⁰⁶ Deorr R, Zvibel I, Chiuten D, D'Olimpio J, Reid LM. Clonal growth of tumors on tissue-specific biomatrices and correlation with organ site specificity of metastasis *Cancer Res* 1989 49: 384-392.

¹⁰⁷ Nabi IR, Watanabe H, Raz A. Autocrine motility factor and its receptor: role in cell locomotion and metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 1991 11: 5-20.

¹⁰⁸ Meyvisch C. Influence of implantation site on formation of metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 1983 2: 295-306.

¹⁰⁹ Pulford K, Souhami RL. The cytostatic activity of cultured Kupffer cells. *Br J Cancer* 1985 51: 31-36.

¹¹⁰ Li L, Nicolson GL, Fidler IJ. Direct in vitro lysis of tumor cells by cytokine-activated murine vascular endothelial cells *Cancer Res* 1991 51: 245-254.

¹¹¹ Aaronson SA. *Growth Factors and Cancer*. Science 1991 254: 1146-1153.

Agradecimientos

*a K. Duski, W. Spohn, N. Steward, C. Johnson,
D. Wynn y C. Custead por su experta asistencia
técnica.*



CONVOCATORIA

El Programa Universitario de Investigación en Salud de la Coordinación de la Investigación Científica y la Familia Flisser convocan a la comunidad académica a participar en el

PREMIO LOLA E IGO FLISSER-PUIS para el fomento de la investigación en parasitología

BASES

- 1.- Se convoca a los egresados de maestría y doctorado en el campo de la investigación científica relacionada con parasitología, a someter su trabajo de tesis realizado en México, que haya sido presentado y aprobado en los últimos 3 años.
- 2.- Deberá presentarse un ejemplar de la tesis y constancia de examen de grado en las oficinas del PUIS.
- 3.- La fecha límite de entrega de trabajos es el 9 de diciembre de 1994.
- 4.- El jurado estará integrado por dos miembros del Comité Técnico Asesor del PUIS y 3 especialistas en la materia. Su decisión será inapelable.
- 5.- El veredicto se dará a conocer durante el mes de febrero de 1995.

El Premio consiste en Diploma y un incentivo personal de N\$3.000.00 (tres mil nuevos pesos)

INFORMES Y ENTREGA DE TRABAJOS:

Dra. Claudia De León. Programa Universitario de Investigación en Salud, Edificio de la Coordinación de la Investigación, Ciudad Universitaria. Tels. 622 41 53, Fax:622 41 95.