

LABORATORIO DE PATOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA MOLECULAR

El sistema eph/ephrin, un ejemplo de versatilidad y diversidad funcional en biología molecular del cáncer y la angiogénesis

The eph/ephrin system, an example of versatility and functional diversity in molecular biology of cancer and angiogenesis

O sistema eph/ephrin, um exemplo de versatilidade e diversidade funcional em biologia molecular do câncer e a angiogênese

Martín C. Gómez, Gabriela B. Bravo,
Carla Gatto Cáceres, Adrián Góngora, Alberto Baldi

Resumen

Los receptores Eph y Ephrin son moléculas altamente versátiles, reguladoras de procesos tan diversos como la guía de axones, la modulación de plasticidad sináptica, la morfogénesis del sistema vascular y el tamaño y organización de órganos. Los receptores Eph comprenden la familia más numerosa de receptores de tirosina quinasa y sus ligandos Ephrin están anclados o atraviesan la membrana plasmática. El sistema Eph/Ephrin se caracteriza por desencadenar vías de señalización bi-direccional, tanto a través del receptor como a través del ligando. Mediante contacto célula-célula, y dependiendo del repertorio de receptores expresados, del tipo y el contexto celular, pueden controlar respuestas celulares muy diversas como la adhesión, morfología, proliferación y migración. Estos roles no están confinados a procesos fisiológicos, sino su importancia resalta aún más en una variedad de patologías humanas y, en particular, en cáncer. El receptor EphB4 está sobre-expresado en varios tipos tumorales y, con respecto a su funcionamiento, diversos artículos publicados muestran discrepancias, ya que su activación puede desencadenar señales pro- o anti-tumorales según la naturaleza del contexto celular. La expresión de su ligando EphrinB2, tanto en las células tumorales como en el endotelio asociado, está relacionado a su alta vascularización. Entender los mecanismos que controlan la función del sistema Eph/Ephrin proporcionaría conocimientos profundos para comprender los principios biológicos y permitir el desarrollo de nuevas drogas terapéuticas. Por ejemplo, mientras que anticuerpos contra VEGF ya son utilizados para el tratamiento del cáncer, la interferencia simultánea

del sistema EphB4/EphrinB2 sería útil para actuar durante la angiogénesis tumoral y la progresión del cáncer.

Palabras clave: Eph/Ephrin * angiogénesis

Summary

Eph receptors and Ephrins are highly versatile regulators of processes as diverse as axon guidance, modulation of synaptic plasticity, morphogenesis of the vascular system or the patterning of organs. The Eph receptors are the largest family of receptor tyrosine kinases and their Ephrin ligands are bound to the plasmatic membrane or are transmembrane. The Eph/Ephrin system is characterized by activating bi-directional signals, throughout both the receptor and the ligand. By cell-cell contact, and depending on the expressed receptors set, cell type and context, it can trigger a wide array of cellular responses like cell adhesion, morphology, proliferation and migration. These roles are not confined to physiological processes, but are highly relevant for a variety of human pathologies and, in particular, cancer. EphB4 receptor is overexpressed in various tumor types and with respect to its function, several published articles have shown discrepancies, since its activation can trigger pro- or anti-tumoral signals. The expression of its EphrinB2 ligand in both tumor cells and in the associated endothelium is related to its high vascularity. Thus, understanding the key mechanisms controlling Eph/Ephrin function would not only provide deeper insight into interesting biological principles, but it might also enable the development of new therapeutic reagents. For example, while antibodies against VEGF are already used for the treatment of cancer, inhibition of ephrin-B2 might be useful to simultaneously interfere with the function of VEGFR2 and VEGFR3, which act together during angiogenesis.

Key words: Eph/Ephrin * angiogenesis

Resumo

Os receptores Eph e Ephrin são moléculas altamente versáteis, reguladoras de processos tão diversos como guia de axônios, modulação de plasticidade sináptica, morfogênese do sistema vascular e o tamanho e organização de órgãos. Os receptores Eph compreendem a família mais numerosa de receptores de tirosina quinase e seus ligandos Ephrin estão ancorados ou atravessam a membrana plasmática. O sistema Eph/Ephrin se caracteriza por desencadear vias de sinalização bidireccional, tanto através do receptor quanto através do ligando. Mediante contato célula-célula, e dependendo do repertório de receptores expressos, do tipo e o contexto celular, podem controlar respostas celulares muito diversas como a adesão, morfologia, proliferação e migração. Estes papéis não estão confinados a processos fisiológicos, mas sua importância salienta mais ainda numa variedade de patologias humanas e, em particular, em câncer. O receptor EphB4 está sobre-expresso em vários tipos tumorais e, com relação a seu funcionamento, diversos artigos publicados mostram divergências, visto que sua ativação pode desencadear sinais pró ou anti-tumorais conforme a natureza do contexto celular. A

expressão de seu ligando EphrinB2, tanto nas células tumorais quanto no endotélio associado, está relacionada com sua alta vascularização. Entender os mecanismos que controlam a função do sistema Eph/Ephrin proporcionaria conhecimentos profundos para compreender os princípios biológicos e permitir também o desenvolvimento de novas drogas terapêuticas. Por exemplo, enquanto anticorpos contra VEGF já são utilizados para o tratamento do câncer, a interferência simultânea do sistema EphB4/EphrinB2 seria útil para atuar durante a angiogênese tumoral e a progressão do câncer.

Palavras chave: Eph/Ephrin * angiogênese

Familias de Eph y Ephrin

Los receptores denominados Eph (*erythropoietin-producing hepatocellular carcinoma*) comprenden la familia más numerosa de receptores de tirosina quinasa del reino animal y están presentes en la mayoría de los tipos celulares. Los receptores Eph han sido subdivididos en dos clases, EphA y EphB, basándose en la homología de sus secuencias y en las propiedades de sus ligandos Ephrins (*Eph receptor interacting protein*). Estos ligandos se dividen en EphrinA, los cuales se encuentran anclados a la membrana plasmática por glucosil-fosfatidil-inositol (GPI), y EphrinB, caracterizados por ser proteínas transmembrana. A diferencia de los clásicos receptores de factores de crecimiento, la unión del receptor/ligando Eph/Ephrin desencadena transducciones de señales bidireccionales, tanto en las células que presentan el receptor (proceso denominado “señalización *forward*”) como también en las células que presentan el ligando (“señalización *reverse*”) (1). La interacción del receptor Eph con su ligando Ephrin conduce a la regulación de la morfología, adhesión y migración a través de la modificación de la organización del citoesqueleto e influenciando las actividades de moléculas de adhesión intercelular. Recientes trabajos han mostrado que además participan en el control de la proliferación y la supervivencia, como también en otras funciones celulares específicas tales como plasticidad neuronal, secreción de insulina, remodelación del hueso y regulación inmunológica (2).

En humanos, nueve receptores EphA (EphA1-EphA9) se unen en forma promiscua a cinco EphrinA (EphrinA1-EphrinA5), y cinco receptores de la subclase EphB (EphB1-B4 y EphB6) se unen a tres ligandos EphrinB (EphrinB1-EphrinB3), con la única excepción que EphB4 sólo es activado por EphrinB2. La parte extracelular de los receptores Eph incluye un dominio de unión a Ephrin N-terminal que es necesario y suficiente para el reconocimiento y la unión al ligando, una región rica en cisteína y dos repeticiones similares a fibronectina tipo III las cuales podrían estar involucradas en las interacciones de dimerización receptor-receptor (3). Separado por un dominio transmembrana, el dominio citoplasmático incluye un segmento yuxtamembrana, un

dominio tirosina quinasa y un dominio SAM. Los ligandos de Ephrin están caracterizados por la presencia de un único dominio de unión al receptor en el extremo N-terminal separado de la membrana por un segmento de 40 aminoácidos. Las moléculas de la subclase EphrinA, ancladas a la célula por GPI, se encuentran agrupadas en dominios de membrana tipo *lipid rafts*, las cuales estarían asociadas con proteínas citoplasmáticas. Los ligandos de EphrinB atraviesan la membrana y poseen un dominio citoplasmático que incluye un motivo PDZ C-terminal, capaz de activar la vía de la familia de quinasa Src (2).

Recientes estudios estructurales y biofísicos sugieren que el mecanismo para la iniciación de la señalización bidireccional involucra inicialmente un contacto célula-célula y posteriormente la unión de ligandos y receptores en una relación estequiométrica de 1:1. Estos complejos de heterodímeros Eph-Ephrin crean superficies de interacción que juntan pares de dímeros en estructuras tetraméricas desencadenando la señalización “*forward*” y “*reverse*”. Aunque la formación de estos complejos de tetrámeros Eph-Ephrin es suficiente para la fosforilación del receptor, la agregación de varios de estos tetrámeros y el tamaño de estos agregados serían absolutamente esenciales para determinar la intensidad de la señal y su naturaleza fisiológica. Sin embargo, se ha descrito que existen otros mecanismos que definen la señalización del sistema Eph/Ephrin, como la activación en *cis* entre moléculas receptor y ligando de una misma célula, la interacción con otros receptores (por ejemplo: Erb2, E-cadherina) (4) y la trans-endocitosis, haciendo que el estudio de este sistema sea un tanto complejo.

Si bien los receptores Eph y sus ligandos Ephrin están presentes en la mayoría de los tipos celulares, sus actividades se encuentran mejor caracterizadas en el sistema nervioso central y en el desarrollo embrionario del sistema circulatorio. En el sistema nervioso central regulan varios procesos tales como guía de direccionamiento de axones, la migración de células de la cresta neural y la sinaptogénesis. La activación de receptores Eph en las células de la cresta neural o en los conos de crecimiento axonal dispara la retracción ante los tejidos que expresan las moléculas de ligando Ephrin complementarias a los mismos (5).

El corte enzimático de las moléculas de Ephrin por la metaloproteasa ADAM10 unida a membrana presenta otra posible explicación molecular para cambiar entre adhesión y repulsión. Se ha mostrado que la unión de EphA3 con EphrinA5 expone un motivo de reconocimiento de metaloproteasas y dispara el corte de EphrinA5 por ADAM10. Esta liberación de Ephrin de la superficie del axón conduce a la retracción de las células que expresan EphA5, mientras que el bloqueo de la escisión conduce a una interacción adhesiva extensa (6).

Otro mecanismo que media la conversión de interacciones adhesivas en señales repulsivas consiste en re-

tirar el complejo Eph-Ephrin de la superficie celular por endocitosis. Durante este proceso denominado *trans endocitosis*, el complejo receptor-ligando intacto, y posiblemente las proteínas citoplasmáticas asociadas, junto con la membrana circundante son endocitados por la célula que expresa Eph o Ephrin. Estructuras intracelulares revestidas por doble membrana fueron observadas por microscopía electrónica en hipocampo de rata (7). La *trans endocitosis* cesa la adhesión y permite la retracción celular. Este proceso de despegado de células que requiere tanto de la activación de Eph (vía *forward*) como de la internalización del complejo de señalización, depende de la polimerización de moléculas de actina y de la actividad de la GTPasa pequeña Rac1.

Recientes descubrimientos han evidenciado que la interacción Eph-Ephrin no está confinada a la zona de contacto entre dos células adyacentes, sino que además se han reportado interacciones en *cis* entre receptores y ligandos expresados en la misma célula. Mientras las interacciones convencionales en *trans* entre células distintas involucran el dominio de Ephrin y el correspondiente dominio de unión a ligando del receptor, EphrinA5 puede unirse en *cis* al dominio extracelular de fibronectina tipo III del receptor EphA3 en la misma célula, bloqueando la activación del mismo y contrarrestando la señalización *forward* desencadenada por el contacto célula-célula. Este modelo de inhibición en *cis* podría explicar cómo se generan gradientes de receptores activos parcialmente solapados durante el desarrollo del sistema visual (8).

Eph y ephrin en el sistema cardiovascular

El posicionamiento espacial y temporal apropiado de células endoteliales durante el nacimiento de los vasos es un requerimiento necesario para la formación de anastomosis y redes diferenciadas de vasos sanguíneos que eventualmente permitirían la dirección del flujo sanguíneo. Diversas moléculas Eph-Ephrin son expresadas en el sistema cardiovascular, sin embargo EphB4 y su ligando EphrinB2 han atraído mayor interés. EphrinB2 es expresada principalmente en el endotelio arterial, mientras que EphB4 es específica del endotelio venoso. Por esto, se ha propuesto a estas dos moléculas como marcadores candidatos para la diferenciación arterio-venosa (9). La relevancia del funcionamiento de EphB4 y EphrinB2 durante la vasculogénesis es indiscutida, dado que ratones transgénicos *knockout* para EphB4 o EphrinB2 mueren en estadios embrionarios tempranos por una desorganización de vasos sanguíneos. Recientemente se demostró que el calibre de arterias y venas y la localización de células endoteliales cuyo destino es la aorta o las venas cardinales está finamente regulado por un balance entre Notch y el sistema EphB4/EphrinB2 (10).

Durante etapas tardías del desarrollo embrionario y en el adulto, la formación regenerativa o patológica de nuevos vasos se caracteriza por el remodelamiento y la generación de nuevos capilares por brotación de la vasculatura existente, proceso denominado angiogénesis. La expresión de EphrinB2 está aumentada durante el remodelamiento activo de vasos, sin embargo su rol durante la angiogénesis no es tan claro. La activación de EphB4 en células endoteliales en cultivo y en la córnea de ratón induce la proliferación, la migración, la formación de túbulos y la angiogénesis (9) lo que indicaría que la vía *forward* puede promover la brotación de nuevos vasos. En modelos de isquemia cardíaca se observó que EphrinB2 señalizando a través de EphB4 es capaz de estimular la mitosis de cardiomiocitos, aumentar la densidad de capilares y el desarrollo de vasos colaterales funcionales (11), sugiriendo a EphrinB2 como un candidato potencial para la terapia angiogénica en enfermedades de isquemia de corazón.

Eph y Ephrin en cáncer

EphA1 fue el primer miembro de la familia de receptores Eph en ser clonado a partir de una línea celular de carcinoma hepatocelular humano productor de eritropoyetina. EphA1 se encuentra sobre-expresado en esta línea celular en niveles relativamente elevados, lo que sugirió a esta nueva familia de tirosina quinasa un rol en la tumorigénesis (12). Desde entonces, cada miembro de la familia Eph ha sido identificado por sus características de expresión o desregulación en diferentes tipos de tumores humanos (13). Entre los receptores EphA, EphA2 ha sido el más intensamente estudiado en oncología y sus altos niveles de expresión están correlacionados con el estadio y la progresión del tumor. Además, la sobre-expresión de EphA2 en células epiteliales no transformadas de mama induce transformación maligna y confiere potencial tumorigénico (14).

Las funciones durante la tumorigénesis de los receptores y ligandos de la clase B parecen más complejas. La sobre-expresión de EphrinB2 en células de cáncer parece estar correlacionada con un aumento de invasión y una alta vascularización de tumores humanos conduciendo a un pobre pronóstico. El receptor EphB4 se encuentra sobre-expresado en diversos tumores humanos y con respecto a su funcionamiento, diversos artículos publicados muestran discrepancias, ya que su activación puede desencadenar tanto señales pro-oncogénicas como también señales anti-tumorales, según la naturaleza del contexto celular. EphB4 incrementa el crecimiento tumoral, la motilidad de células cancerosas y la metástasis en la próstata, mesotelio y útero. Por otra parte, también parece actuar como supresor de tumores en cáncer de mama y colon. Diversas estrategias han sido exploradas para evidenciar el funcionamiento de EphB4. Mediante

la inhibición de la señalización por EphB4 utilizando receptores EphB4 truncados solubles, sobre-expresando un dominante negativo del receptor, o bien mediante técnicas de interferencia de ARN se observó una disminución de la proliferación, migración y del crecimiento tumoral en modelos de melanoma y de próstata (15)(16). Hemos observado en nuestro modelo de células de melanoma humano que el estímulo con moléculas solubles de EphrinB2 activa el receptor EphB4 e induce la proliferación y migración (datos aun no publicados). En células de cáncer de mama, sorpresivamente se observó que a pesar de los niveles de expresión de EphB4, la fosforilación en tirosinas es mucho más baja comparada con células epiteliales MCF-10A no transformadas (17), y la activación del receptor EphB4 y señalización mediante la vía Abl-Crk inhibe la capacidad tumoral de células de cáncer de mama.

El efecto promotor de tumores durante el crecimiento de un tumor de mama podría no depender exclusivamente de la señalización *forward* de EphB4. Se observó que la expresión de un receptor EphB4 con su dominio citoplasmático defectivo resultó en un incremento del crecimiento del tumor y un fuerte desarrollo de la angiogénesis tumoral (18). Este descubrimiento resalta a la señalización *reverse* mediante la molécula de EphrinB2 e implica la participación de interacciones EphB4/EphrinB2 entre células tumorales y células del estroma. Además, la señalización por EphrinB2 también promueve la interacción entre células endoteliales, pericitos y células de la musculatura lisa vascular (19), sugiriendo que la regulación por EphrinB2 podría estabilizar los vasos de los tumores recurrentes después de una terapia anti-angiogénica utilizando anticuerpos contra el factor de crecimiento endotelio vascular (VEGF). Siguiendo este razonamiento, inhibir el sistema de Eph podría ser particularmente útil para terapias anti-angiogénicas, y posiblemente lograría superar la resistencia a las terapias anti VEGF.

Hasta la actualidad, se han identificado moléculas pequeñas que inhiben la actividad del dominio quinasa de Eph y dos de ellas, dasatinib y XL647, han sido evaluadas en ensayos clínicos. Dasatinib es un potente inhibidor de EphA2, estudiado hasta fase II en leucemia mieloide crónica y en tumores sólidos, mientras que XL647, probado en cáncer de pulmón, es un inhibidor de EphB4 y de los receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGF) y VEGF (<http://clinicaltrials.gov>). Otra estrategia de terapia anti-angiogénica para el cáncer ha consistido en inhibir las interacciones Eph/Ephrin y la señalización bidireccional. Para esto se han desarrollado moléculas pequeñas, péptidos, receptores solubles y anticuerpos monoclonales antagonistas (20) que han sido capaces de disminuir con el crecimiento tumoral y la angiogénesis asociada en diferentes modelos *in vitro* y en ratón. De manera interesante, existen también anticuerpos agonistas y ligandos que han sido utilizados exitosamente para re-

ducir la progresión tumoral, a pesar de ser activadores de la señalización de Eph/Ephrin (17). La respuesta ante una terapia particular contra el sistema Eph/Ephrin dependerá del tipo de tumor, del estadio de avance y del microambiente tumoral. Seleccionar la estrategia óptima enfocada en interferir con las funciones de Eph como terapia contra el cáncer requiere un mejor entendimiento de los mecanismos de señalización en los diferentes compartimientos celulares del tumor.

Referencias bibliográficas

1. Wang HU., Chen Z.F., Anderson D.J. Molecular Wang HU, *et al.* Molecular distinction and angiogenic interaction between embryonic arteries and veins revealed by ephrinB2 and its receptor EphB4. *Cell* 1998; 93: 741–53.
2. Pasquale EB. Eph receptors and ephrins in cancer: bidirectional signaling and beyond. *Nat Rev Cancer* 2010; 10(3): 165–80.
3. Himanen JP, Nikolov DB. Eph signaling: a structural view. *Trends Neurosci* 2003; 26(1): 46–51.
4. Pasquale EB. Eph-ephrin bidirectional signaling in physiology and disease. *Cell* 2008; 133: 38–52.
5. Poliakov A, Cotrina M, Wilkinson DG. Diverse roles of eph receptors and ephrins in the regulation of cell migration and tissue assembly. *Dev Cell* 2004; 7: 465–80.
6. Hattori M, Osterfield M, Flanagan JG. Regulated cleavage of a contact-mediated axon repellent. *Science* 2000; 289: 1360–5.
7. Spacek J, Harris KM. Trans-endocytosis via spinules in adult rat hippocampus. *J Neurosci* 2004; 24: 4233–41.
8. Flanagan JG. Neural map specification by gradients. *Curr Opin Neurobiol* 2006; 16: 59–66.
9. Adams RH, Wilkinson GA, Weiss C, *et al.* Roles of ephrinB ligands and EphB receptors in cardiovascular development: Demarcation of arterial/venous domains, vascular morphogenesis, and sprouting angiogenesis. *Genes Dev* 1999; 13: 295–306.
10. Kim, Y. H., Hu H., *et al.* Artery and vein size is balanced by Notch and ephrin B2/EphB4 during angiogenesis. *Development* 2008; 135(22): 3755–64.
11. Katsu M. *et al.* *Ex vivo* gene delivery of ephrin-B2 induces development of functional vessels in a rabbit model of hind limb ischemia. *Vasc Surg* 2009; 49: 192.
12. Hirai H, Maru Y, Hagiwara K, Nishida J, Takaku F. A novel putative tyrosine kinase receptor encoded by the eph gene. *Science* 1987; 238: 1717–20.
13. Surawska, H., P. C. Ma, *et al.* (2004). The role of ephrins and Eph receptors in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 15(6): 419–33.
14. Zelinski DP, Zantek ND, Stewart JC, Irizarry AR, Kinch MS. EphA2 overexpression causes tumorigenesis of mammary epithelial cells. *Cancer Res* 2001; 61:2301–2306.
15. Martiny-Baron, G., T. Korff, *et al.* Inhibition of tumor growth and angiogenesis by soluble EphB4. *Neoplasia* 2004; 6(3): 248–57.

16. Kertesz, N., V. Krasnoperov, *et al.* The soluble extracellular domain of EphB4 (sEphB4) antagonizes EphB4-EphrinB2 interaction, modulates angiogenesis, and inhibits tumor growth. *Blood* 2006; 107(6): 2330-8.
17. Noren, N. K., G. Foos, *et al.* The EphB4 receptor suppresses breast cancer cell tumorigenicity through an Abl-Crk pathway. *Nat Cell Biol* 2006; 8(8): 815-25.
18. Noren, N. K., M. Lu, *et al.* "Interplay between EphB4 on tumor cells and vascular ephrin-B2 regulates tumor growth." *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(15): 5583-8.
19. Salvucci O, *et al.* EphrinB reverse signaling contributes to endothelial and mural cell assembly into vascular structures. *Blood* 2009; 114: 1707-16.
20. Krasnoperov V, Kumar SR, Ley EJ, Scehnet JS, Liu R, Zozulya S, *et al.* Novel EphB4 Monoclonal antibodies modulate angiogenesis and inhibit tumor growth. *Am J Pathol* 2010; 76(4): 2029-38.

LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA

Importancia de las Células Madre Mesenquimales en el desarrollo del cáncer de mama

Importance of mesenchymal stem cells in breast cancer development

Importância das Células Tronco Mesenquimais no desenvolvimento do câncer de mama

Valeria Fernández Vallone, Vivian Labovsky, Leandro Martinez, Norma Chasseing

Resumen

La mayoría de las pacientes con cáncer de mama (PCM) avanzado desarrollan metástasis óseas, de tipo osteolíticas, como resultado de un desbalance entre los procesos de osteogénesis, osteoclastogénesis y resorción ósea. Nosotros encontramos en la médula ósea (MO) de las PCM avanzado (carcinoma mamario ductal infiltrante, estadio clínico III y IV, sin metástasis en MO y hueso) una disminución de la eficiencia de clonado de las células madre mesenquimales (MSC), medida como el número de unidades formadoras de colonias fibroblásticas (CFU-F), así como una disminución en su capacidad de diferenciación osteogénica en comparación con las voluntarias sanas (VS). Además, observamos osteoclastogénesis espontánea en MO y sangre periférica de

las PCM, mientras que no lo hicimos en las VS. Por último, consideramos importante la evaluación de la diferenciación osteogénica de las MSC de MO y del potencial osteoclastogénico de los progenitores hematopoyéticos de MO y de los monocitos de sangre periférica, como posibles factores pronósticos de futuros desórdenes óseos que pueden favorecer la invasión de las células del CM en el hueso.

Palabras clave: células madre mesenquimales * cáncer de mama * médula ósea * hueso * osteogénesis * osteoclastogénesis

Summary

Most advanced breast cancer patients (BCP) develop osteolytic bone metastasis as a result of the imbalance between osteogenesis, osteoclastogenesis and bone resorption processes. In bone marrow (BM) aspirates of untreated BCP (infiltrative ductal breast carcinoma, clinical stage III and IV, without bone and BM metastasis), a decrease in cloning efficiency of BM-mesenchymal stem cells (MSC), measured as number of colony forming unit-fibroblasts (CFU-F), and a decrease in its osteogenic differentiation capacity compared to healthy volunteers (HV) were found. Moreover, spontaneous osteoclastogenesis (SpOC) in BM and peripheral blood of BCP were observed, while SpOC was not observed in BM of HV. Finally, evaluation of the osteogenic differentiation of BM-MSC and osteoclastogenic potential of BM-hematopoietic progenitors as well as peripheral blood-monocytes are considered important as possible prognostic factors for future bone disorders that may favor the invasion of BC cells into bone.

Key words: mesenchymal stem cell * breast cancer * bone marrow * bone * osteogenesis * osteoclastogenesis

Resumo

A maior parte das pacientes com câncer de mama (PCM) avançado desenvolve metástases ósseas, de tipo osteolíticas, como resultado de um desequilíbrio entre os processos de osteogênese, osteoclastogênese e resorção óssea. Nós encontramos na medula óssea (MO) das PCM avançado (carcinoma mamário ductal infiltrante, estágio clínico III e IV, sem metástase em MO e osso) uma diminuição da eficiência de clonagem das células tronco mesenquimais (MSC), medida como o número de unidades formadoras de colônias fibroblásticas (CFU-F), bem como uma diminuição em sua capacidade de diferenciação osteogênica em comparação com as voluntárias saudáveis (VS). Além disso, observamos osteoclastogênese espontânea em MO e sangue periférica das PCM, enquanto que não o fizemos nas VS. Por último, consideramos importante a avaliação da diferenciação osteogênica das MSC de MO e do potencial osteoclastogênico dos progenitores hematopoiéticos de MO e dos monócitos de sangue periférico, como possíveis fatores prognósticos de futuras desordens ósseas que possam favorecer a invasão das células do CM no osso.

Palavras chave: células tronco mesenquimais, câncer de mama, medula óssea, osso, osteogênese, osteoclastogênese