

LAS CÉLULAS MADRE DEL CÁNCER COMO CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE LA INMUNOTERAPIA

LUIS FERNANDO TUME FARFÁN

LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR, DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA, PERÚ.

RESUMEN

Evidencias apoyan la hipótesis de células madre del cáncer, donde postulan que son responsables de la iniciación, recurrencia, metástasis, resistencia a tratamientos, creando la necesidad de terapias que se dirijan específicamente a estas subpoblaciones de células, con características de células madre dentro de la mayor parte de tumores malignos heterogéneos. Dentro de los tumores subconjuntos de células transformadas neoplásicamente muestran expresión en su superficie de moléculas que no están típicamente presentes en la superficie de células normales vecinas. En algunos casos, especialmente melanomas malignos, los linfocitos T citotóxicos dirigidos contra tales antígenos asociados a tumores se han aislado para crear anticuerpos y de alguna forma reducir la enfermedad. El enfoque de vacuna contra el cáncer a la terapia se basa en la idea de que el sistema inmune podría montar una respuesta de rechazo a la fuerza contra el conglomerado de células transformadas neoplásicamente. Actualmente se buscan nuevos marcadores que sean seguros y permitan dirigir la inmunoterapia para erradicación del tumor, con la combinación de muchas terapias, y así tener un resultado eficiente en el tratamiento de esta enfermedad.

PALABRAS CLAVE: Cáncer, anticuerpos, inmunoterapia, células madre.

SUMMARY

The evidence supports the hypothesis of the cancer stem cells, which postulate that they are responsible for the initiation, the recurrence, metastasis and the resistance to anti neoplasia treatments, creating the need for therapies aimed specifically at these subpopulations of cells with characteristics of stem cells within the most heterogeneous malignant tumors. Within tumors subsets of the cells transformed in neoplasia show the expression on its surface of molecules that are not typically present on the surface of the surrounding normal cells. In some cases, especially in the malignant melanomas, the lymphocytes T cytotoxic directed against these antigens associated with tumors have been isolated to create antibodies and somehow reduce the disease. The approach to vaccine against cancer therapy is based on the idea that the immune system could saddle a rejection response force against the conglomerate of the cells transformed neoplasia. The new markers that are safe and allow direct immunotherapy for eradication of the tumor, with the combination of many therapies, and thus have an efficient outcome in the treatment of this disease is currently looking for.

KEY WORDS: Cancer, antibodies, immunotherapy, stem cells.

INTRODUCCIÓN

E

¿Por qué los cánceres no responden a los tratamientos convencionales?, ¿Por qué los tumores vuelven a aparecer? ¿Por qué las células cancerosas desarrollan resistencia al tratamiento? Estas y muchas otras

Recibido: 21/02/2014 Revisado: 12/05/2014

Aceptado para publicación: 20/06/2014

Correspondencia: Dr. Luis F Tume F. Universidad Nacional de Piura, Perú. Tel:9680079018.

E-mail: luisferscr@gmail.com

cuestiones planteadas pueden ser respondidas por el nuevo concepto de "células madre del cáncer" ⁽¹⁾. Las células madre de cáncer se pueden definir como células que están en el crecimiento del tumor con la capacidad de generar nuevos tumores, estas células al igual que las células normales tienen la capacidad de perpetuarse para generar células maduras a través de la diferenciación. En comparación con las células madre normales, se cree que las células madre de cáncer no tienen ningún control en su proliferación. Estas células madre de cáncer están en números muy pequeños en el crecimiento del tumor ^(1,2).

Hay evidencia de que la mayoría de los cánceres son clones y que las células cancerosas representan a la progenie de una sola célula, sin embargo, queda mucho por conocer de qué manera estas células tienen la capacidad de "células iniciadoras de tumor" (CIT) y como se reconocerían ⁽³⁾, porque las células madre de cáncer están en los tumores sólidos tales como cáncer de mama y los tumores cerebrales ^(1,4), entre otros ⁽⁵⁻¹⁸⁾.

La inmunoterapia es un término médico definido como "tratamiento de la enfermedad mediante la inducción, la mejora, o suprimir una respuesta inmune". La historia de la inmunoterapia del cáncer tiene una duración de más de 120 años. En 1891 William B. Coley inyectó bacterias en cáncer inoperable (sarcoma óseo) y se observó la reducción del tumor. A Coley se le reconoce como el "padre de la inmunoterapia". La inmunoterapia del cáncer se basa en la capacidad del sistema inmunitario para reconocer las células cancerosas afectando su crecimiento y expansión. Aparte del hecho de que, las células tumorales son genéticamente distintas de sus homólogos normales, deberían ser reconocidos y eliminados por el sistema inmune. Los antígenos asociados a tumores (TAA) son a menudo poco inmunogénicos debido a la inmunomodificación. Este proceso permite al tumor evolucionar durante

las interacciones continuas con el sistema inmune del huésped, y finalmente, escapar de la vigilancia inmune. Tales mecanismos son: la liberación de inmunosupresores como, IL-6, IL-10, IDO (indolamina 2,3-dioxigenasa), TGF (factor de crecimiento transformante) o VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular). Las interacciones entre el cáncer y las células del estroma crean la red de vías de inmunosupresores, mientras que la activación de la defensa inmune se inhibe. Una clave para el éxito de la inmunoterapia es superar la inmunosupresión local dentro de microambiente tumoral y activar los mecanismos que conducen a la erradicación del tumor. Hay dos enfoques clínicos de la inmunoterapia: activa y pasiva. Inmunoterapia activa implica la estimulación de la respuesta inmune a antígenos asociados a tumores (TAA), ya sea de forma no específica a través de agentes inmunomoduladores o específicamente el empleo de vacunas contra el cáncer ^(6,14).

En este artículo se discute acerca de los antígenos específicos que poseen las células madre del cáncer, que son de importancia para el tratamiento de la enfermedad con la inmunoterapia. Mostraremos además algunas diferencias notorias en cuanto a la expresión de determinados marcadores en algunos tipos de cáncer.

LAS CÉLULAS MADRE DEL CÁNCER (CSCS)

Las células madre son un componente integral de la fisiología normal de los mamíferos y se han estudiado intensivamente en muchos sistemas ^(5,6). El concepto de que solo una subpoblación de células madre de cáncer (CSC) son las responsables del mantenimiento de la neoplasia surgió hace casi 50 años, pero se obtuvieron pruebas concluyentes de la existencia de las CSCs muy recientemente. La focalización ineficiente de las células madre leucémica (LSC) se considera responsable de

la recaída en los pacientes después de algún tratamiento terapéutico⁽⁷⁾, las células iniciadoras de leucemia (LICs) o células madre de la leucemia (CML) forman tumores después del xenotrasplante en ratones inmuno-deficientes y parecen ser poco frecuentes en la mayoría de las leucemias en humanos, debido a que estas pequeñas subpoblaciones de células pueden transferir la enfermedad en el trasplante dentro de ratones NOD/SCID, ya se han identificado marcadores que distinguen a las células de cáncer de leucemógenas de las poblaciones mayoritarias de células no leucemógenas. Sin embargo, el fenotipo de las LICs es heterogéneo, es decir variable para los diferentes tipos de leucemias mieloides agudas; células con diferente fenotipo de membrana pueden actuar como LIC en cada leucemia aguda linfóide B. Las LICs cambian su fenotipo durante la evolución de la leucemia mielóide crónica a la crónica a la fase aguda^(5,6,8,9).

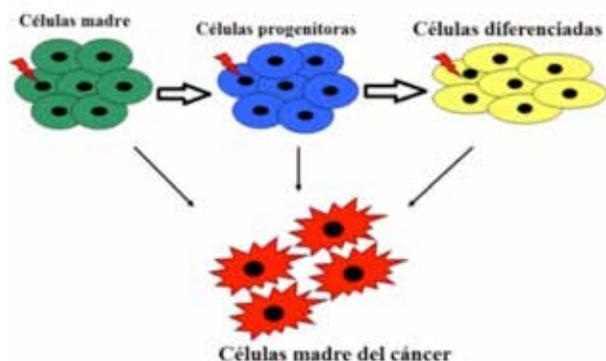


Figura 1. Modelo del origen de las células madre de cáncer. Las mutaciones en las células madre, células progenitoras o células diferenciadas pueden dar lugar a células madre del cáncer. El cáncer de células madre resultante ha perdido la capacidad de regular su propia división celular. Estas células representan una población rara responsable de la iniciación, el crecimiento invasivo del tumor y posiblemente difusión en órganos distantes.

Otro punto importante es la interacción mutua y la interdependencia entre el tumor y su microambiente. Recientemente, se ha informado que la orientación de los eventos del estroma podría mejorar eficacias de la terapéutica actuales y prevenir diseminación metastásica. El microambiente tumoral es una “red compleja” de diferentes tipos de células, factores solubles, moléculas de señalización y los componentes de la matriz extracelular, que orquestan el destino de la progresión del tumor. Las CSCs están expuestas a factores de estrés ambientales, incluidas las especies reactivas de oxígeno (ROS), en donde para esto las CSCs han desarrollado un sistema antioxidante para mejorar la capacidad de defensa y adquirir un fenotipo maligno⁽¹⁰⁾.

Sin embargo, la progresión del tumor depende de la remodelación de la matriz extracelular, fibroblastos y la activación de los macrófagos en respuesta al estrés oxidativo, así como la transición epitelial mesenquimal, señales que inducen a muchos cambios a beneficio de la progresión tumoral y resistencia a las terapias convencionales porque se ha demostrado que los nichos de células secretan factores que apoyan auto renovación de las CSCs⁽¹¹⁾. Por lo tanto, como punto focal para los esfuerzos terapéuticos en cáncer a la sangre, las células madre leucémicas (LSC) representan un área importante de investigación. Debido a que las LSCs parecen retener muchas de las características de las células madre hematopoyéticas normales (HSC) como se evidencia por un modelo jerárquico de desarrollo, un perfil del ciclo celular principalmente en reposo, y un inmunofenotipo muy similar a las HSCs. En consecuencia, la definición de las propiedades únicas de las LSCs sigue siendo una alta prioridad con el fin de dilucidar los mecanismos moleculares que conducen a la transformación de las células madre a la malignidad⁽¹²⁾.

Esta hipótesis de que el cáncer es impulsado por las células iniciadoras de tumores (popularmente

conocidas como células madre de cáncer) ha atraído recientemente mucha atención, debido a la promesa de una diana celular novedosa para el tratamiento de tumores malignos hematopoyéticos y sólidos. Además, parece que las células iniciadoras del tumor pueden ser resistentes a muchas de las terapias convencionales contra el cáncer, lo que podría explicar las limitaciones de estos agentes en la curación de enfermedades malignas humanas. Aunque gran parte del trabajo sigue siendo necesario para identificar y caracterizar las células iniciadoras del tumor, los esfuerzos están siendo dirigidos hacia la identificación de las estrategias terapéuticas que se dirigen a estas células ⁽¹³⁾.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE LAS CSCs

1. Solo una pequeña porción de las células tumorales en un tumor tiene potencial tumorigénico cuando se trasplantan en ratones inmunodeficiente.
2. La subpoblación CSC se pueden separar de otro tumor células por clasificación con marcadores de superficie celular distintivos.
3. Los tumores que resultan de células madre cancerosas contienen una combinación de células tumorigénicas y no tumorigénicas del tumor original.
4. La subpoblación de CSCs pueden ser trasplantadas en serie a través múltiples generaciones, mostrando que se trata de una población auto-renovación.
5. Las células madre cancerosas tienden a ser resistentes a las terapias convencionales, tales como radiación, hormonas, citoquinas y a la quimioterapia, debido a la señalización y las diferencias de expresión génica ⁽¹⁴⁾.

Los estudios sobre diversos tipos de cáncer, incluyendo melanoma, han indicado que solamente las células cancerosas humanas (0,1 %-0,0001 %) forman tumores cuando se trasplantan a ratones diabéticos no obesos con inmunodeficiencia combinada severa (NOD/SCID) que tienen mutaciones en la cadena gamma

del receptor de IL-2 ((IL2rg -/)), este modelo murino se ha convertido en el más adecuado para aumentar la detección de células de melanoma tumorigénicas in vivo ⁽¹⁵⁾.

MARCADORES ESPECÍFICOS DE LAS CSCs

En diferentes tipos de cáncer se ha evidenciado diferencias en los perfiles de expresión de blancos que son para la inmunoterapia. La expresión de los epítomos (determinante antigénico es la porción de una macromolécula que es reconocida por el sistema inmunitario) de CD133 (Figura 2), AC133 y AC141, se ha demostrado que definen una subpoblación de células tumorales cerebrales significativamente, conjuntamente con el aumento de capacidad para la iniciación del tumor en modelos de xenoinjerto. Tras el descubrimiento de la población AC133/AC141 + de las células madre tumorales cerebrales, los epítomos AC133 y AC141 han sido ampliamente utilizadas como marcadores para la purificación

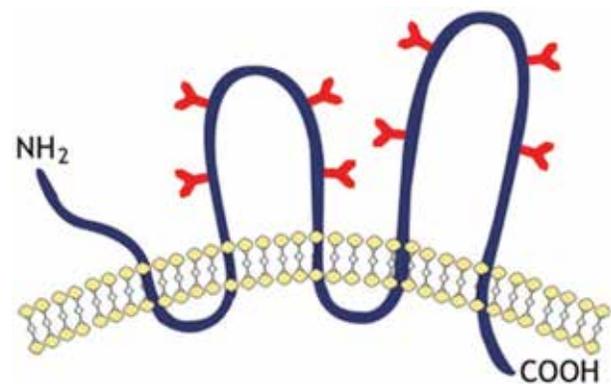


Figura 2. Representación esquemática de la glicoproteína transmembrana, CD133. Un modelo de estructura de CD133 propuesto por Miraglia y col.,. Esta proteína tiene un extremo N-terminal extracelular, un C-terminal citoplasmática, 2 pequeños bucles ricos en cisteína citoplásmicos y 2 muy grandes bucles extracelulares cada uno que contiene 4 sitios potenciales para la glicosilación N-enlazada.

de células madre cancerosas en otros tumores sólidos. Hay, sin embargo, varios problemas asociados con el uso de los epítomos AC133 y AC141 CD133 como marcadores de células madre cancerosas. Los anticuerpos utilizados habitualmente para la purificación de las células AC133 y AC141 positivas. Los epítomos pueden estar ausentes a pesar de la presencia de la proteína CD133. Además, la expresión de CD133 se ha demostrado recientemente que es modulada por los niveles de oxígeno. Estos factores, en combinación con el papel biológico incierto de CD133, sugieren que el uso de la expresión de CD133 como marcador de células madre cancerosa, se debe evaluar críticamente en cada nuevo sistema experimental y ponen de relieve la necesidad de marcadores de superficie CSC adicionales que están directamente involucrados en el mantenimiento de CSC propiedades ⁽¹⁶⁾. CD133 también es un marcador de células madre cancerosas en GBM (glioblastoma multiforme), aunque también CSCs CD133- tumorigénicas

han sido aisladas. Esto quiere decir que las CSC de GBM presentan diferentes fenotipos y niveles variables de expresión de CD133 ^(17,18-97).

La heterogeneidad intratumoral en el cáncer de mama está bien documentada. Aunque los mecanismos que conducen a esta heterogeneidad no se comprenden del todo, pero se sabe que una subpoblación de células cancerosas, las CSC, tienen algunas similitudes fenotípicas con las células madre de tejidos adultos. Se ha postulado que estas células madre cancerosas son inactivas, y en virtud de su baja actividad proliferativa y la capacidad para excluir las toxinas intracelulares, son resistentes a la quimioterapia y la terapia de radiación. Estas células se aislaron inicialmente sobre la base de la presencia de marcadores tales como CD44, CD24, y ALDH1, con una caracterización adicional usando el trasplante en ratones inmunodeficientes. Pero como es que surge el cáncer en las células madre mamarias normales o es realmente que algunas células malignas adquieren un fenotipo de CSC

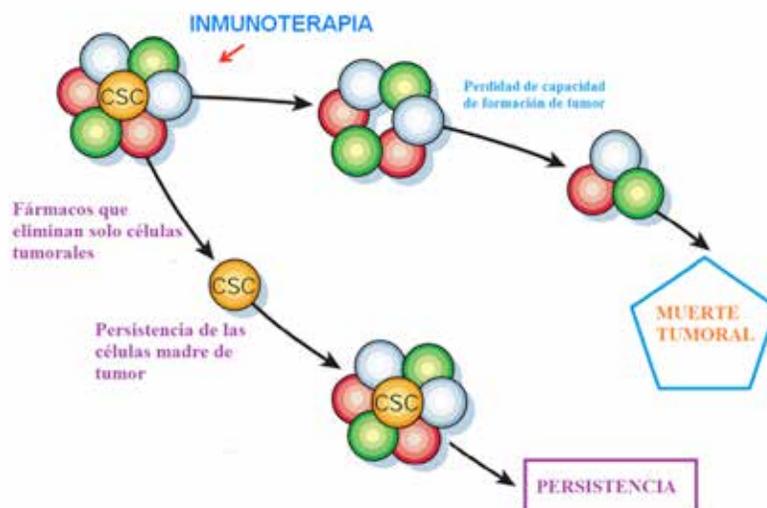


Figura 3. Se muestra las células madre de cáncer (CSC) que se encuentran en su “nicho” en donde proliferan y mantienen la estabilidad del tumor, independientemente de los tratamientos que se usen, pero uno de los grandes objetivos de la inmunoterapia es diseñar anticuerpos específicos hacia estas células, para así evitar la reaparición de varios tipos de cáncer.

a través de la evolución clonal. La evidencia muestra que las células madre cancerosas se encuentran en diferentes subtipos moleculares según el tipo de cancer haciendo que tengan propiedades distintas en función del subtipo, el fenotipo de CSCs refleja además la plasticidad y la naturaleza dinámica de algunas células cancerosas, pero ¿Cómo estas células adquieren comportamiento invasivo, ya que pasan de la transición de epitelial a mesenquimal y luego vuelven a su fenotipo epitelial en los sitios de metástasis en respuesta a señales específicas?⁽¹⁹⁾. Esta interrogante es uno de los puntos clave para aplicar inmunoterapia, ya que se requiere saber específicamente que marcadores expresan en estas transacciones para que así puedan diseñarse anticuerpos monoclonales que disminuyan la enfermedad de manera no invasiva⁽⁷⁷⁾.

Pero a pesar de que el estudio de la expresión de CD44/CD24 y ALDH1 es el método más preciso para identificar CSC a partir de poblaciones de cáncer de mama, la superposición entre CSCs con fenotipo CD44 (+) CD24 (- / bajo) y ALDH1 (alta) en el cáncer de mama parece ser muy pequeño, así como su distribución entre subtipos de cáncer de mama. CD44 (+) CD24 (- / bajo) y ALDH1 (+) fenotipos parecen identificar las CSCs con distintos niveles de diferenciación, y esto hace que el método y los biomarcadores es de suma importancia para la identificación de las células madre del cáncer de mama⁽²⁰⁾.

Se ha identificado una subpoblación de células iniciadoras de melanoma maligno de humanos definidos por la expresión del mediador de quimiorresistencia ABCB5, y que una orientación específica a esta población minoritaria tumorigénica inhibe el crecimiento del tumor. En experimentos de xenotrasplante en serie de humano a ratón, las células de melanoma ABCB5+ poseen más capacidad tumorigénica que las poblaciones ABCB5(-), a pesar de que en seguimientos in vivo las subpoblaciones ABCB5+ generan tanto progenie ABCB5(+) y ABCB5(-). El diseño de un anticuerpo monoclonal dirigido a

ABCB5, muestra efectos inhibitorios contra estos tumores (Schatton y col.). Las células madre del cáncer de mama expresan niveles elevados de la aldehído deshidrogenasa 1 (ALDH1) también se describen subpoblaciones CSCs con ALDH1 + / CD44 + / CD24-s en donde muestran un alto potencial tumorigénico en ratones NOD / SCID. La hipótesis de CSC para la heterogeneidad tumoral plantea tres preguntas importantes. En primer lugar, en los estudios de expresión de genes no relacionados, los cánceres de mama se han clasificado cinco subtipos intrínsecos; tipo luminal A, luminal B tipo, tipo basal, ErbB2/HER2-positivo y similar al normal. En segundo lugar las CSCs ALDH1 + o CD44 + / CD24- se originan en las células normales del mismo fenotipo o las células cancerosas diferenciadas pueden adquirir el estado ALDH1 o CD44 + / CD24- debido a los eventos mutagénicos. En tercer lugar, las CSCs con perfil ALDH1 +, ALDH1-, CD44 + / CD24- y no CD44 + / CD24- difieren en su capacidad de hacer metástasis y responder a la quimioterapia⁽²¹⁾.

En otros tumores, un subconjunto único de CSCs con capacidad de metástasis muestran ser CD133 + CXCR4 + (no en las células CD133+ CXCR4-). En este marco, la inhibición de la señalización CXCR4 profundamente reduce el potencial metastásico en el cáncer de páncreas sin alterar su potencial tumorigénico. Estas CSCs metastásicas pueden haber evolucionado a partir del tumor primario alternativamente. La delimitación de grupos funcionalmente distintos de células madre cancerosas en última instancia, requerirán un rastreo celular en los estudios in vivo, a través de modelos de ratón correspondientes a enfermedades humanas. El seguimiento de las células tumorales en la circulación también proporcionan información sobre las CSCs metastásicas⁽²²⁾. En el carcinoma hepatocelular (HCC) CD133 ha llamado la atención significativa como marcador de CSCs donde también tiene implicaciones para el pronóstico⁽²³⁾.

La expresión de nueve marcadores de CSC de tiroides (CD13, CD15, CD24, CD44, CD90, CD117, CD133, CD166, y CD326) y actividad ALDH, se han encontrado en líneas celulares (FRO, KTC1/2/3, TPC1, WRO, ACT1, y 8505C). Pero a pesar de que son muy buenos indicadores de neoplasia no son universales del todo, otros marcadores tales como CD326 que regulan las propiedades diferentes de las CSCs de tiroides pueden existir ⁽²⁴⁾.

CÁNCER DE PULMÓN

Las células CD133 positivas actúan como iniciadoras de tumor, aumentan notablemente cuando las células, aisladas a partir de muestras de NSCLC (cáncer de pulmón no microcítico), se cultivan en forma de esferas en condiciones de cultivo no adherentes ⁽²⁵⁾. La expresión elevada de CD133 se asocia con la etapa, el tamaño del tumor y la diferenciación de NSCLC, además otros marcadores como OCT4A (factor de transcripción de unión a octámero 4), NANOG y MDR1 también se pueden encontrar ⁽²⁶⁾. Marcadores tales como la ESA, CXCR4, ALDH y ABCG2 se han utilizado con CD133 para el aislamiento de CSCs en este tipo de cáncer ^(27,28).

CÁNCER DE MAMA

La expresión de CD44/CD24 y ALDH1 es el método más preciso para identificar CSC a partir de poblaciones de cáncer de mama. Sin embargo, la superposición entre CSCs con fenotipo CD44 (+) CD24 (- / bajo) y ALDH1 (alta) en el cáncer de mama puede darse. Los fenotipos CD44 (+) CD24 (- / bajo) y ALDH1 (+) parecen también identificar CSCs con distintos niveles de diferenciación ⁽²⁰⁾ y también muestran un potencial tumorigénico más alto en ratones NOD / SCID ⁽²¹⁾. La evidencia reciente sugiere que la actividad de aldehído deshidrogenasa (ALDH) es una característica de las CSC medibles mediante el ensayo de aldefluor. ALDH1A1 y ALDH1A3 unas de las 19 ALDH isoformas expresadas en los seres humanos, se cree que son

responsables de la actividad de las CSCs ⁽²⁹⁾. El fenotipo comúnmente encontrado en las CSCs de este tipo de cáncer es CD44 + / CD24-, estas células expresan niveles elevados de factores pro-angiogénicos en comparación con las células CD44 + / CD24+ ⁽³⁰⁾. Aunque anteriormente Liu y col. ⁽³¹⁾, caracterizaron a las CSCs de mama por la presencia de los marcadores ESA y CD44 y la ausencia de la expresión del marcador CD24.

La transición epitelio-mesenquimal (EMT) se da por la interconversión regulada por microARN. Las CSCs similares a las del EMT están en gran parte en reposo, de forma invasiva y caracterizadas por la expresión de los marcadores de CSCs CD24 (-) CD44 (+) CD49f (+) y son EpCAM (-), teniendo en cuenta que en la transición epitelio mesenquimal se caracteriza por activa auto-renovación y la expresión de marcadores de las CSCs ALDH, EpCAM (+), D49f (+). Una subpoblación de células que expresan tanto CD24 (-) CD44 (+) y ALDH puede representar las células en la transición entre estos estados ⁽³¹⁾.

CÁNCER COLORRECTAL

En el cáncer colorrectal, un subconjunto de células CD26 + residentes en tumores primarios y tumores metastásicos mostraron la propagación del tumor, quimio-resistencia, lo que sugiere que la presencia el marcador CD26 + en tumores primarios también se podría usar para predecir la metástasis en pacientes con cáncer en diferentes etapas ⁽³²⁾. Aunque la mayoría de las células de cáncer de colon expresan niveles moderados de CD133, CD44 y CD166 ⁽³³⁻³⁵⁾. Las células CD133 + tienen un contenido de ADN mayor ⁽³⁶⁾, y llegan a convertirse en CD133-durante la metástasis, pero tanto las CSCs CD133+ y CD133- inician tumores en ratones NOD / SCID ⁽³⁷⁾.

CÁNCER GÁSTRICO

A pesar de que CD133 (+) y CD133 (+)

/ CD44 (+) se detectan en GC primarios no poseen propiedades de células madre ni exhiben propiedades de células iniciadoras de tumores en experimentos de trasplante de xenoinjertos ⁽³⁸⁾. Aunque otros estudios indican que pacientes CD133-positivos de cáncer gástrico tienen peor pronóstico ⁽⁴⁰⁾.

CÁNCER DE PRÓSTATA

Se prevé que las CSCs pueden representar también las “semillas” letales para una posterior metástasis ⁽³⁹⁾. Subconjuntos con capacidades de diferenciación distintas dentro del epitelio basal (CD49f (+) Trop-2 (+) CD24 (-) y CD49f (+) Trop-2 (+) CD24 (+)) se pueden distinguir en la próstata humana. CD24 es un marcador expresado sobre las células de transición y puede desempeñar un papel en la diferenciación y migración de las CSCs a la capa luminal ⁽⁴⁰⁾. Aunque las CSCs con fenotipo CD133 (alto)/CD44 (alto) tiene capacidad de iniciar tumores en ratones NOD/SCID ⁽⁴¹⁾.

CÁNCER DE HÍGADO

CD133 está presente en las CSCs de hígado ⁽⁴²⁾, aunque también es posible encontrar el fenotipo CD133 (+) / ALDH (+) ⁽⁴³⁾ y dado que el virus de la hepatitis puede promover la expresión de CD133 en las CSCs del carcinoma hepatocelular, CD133 + puede estar junto a los marcadores EpCAM, CD24, CD44, CD90 y OV6 en etapas tempranas o en metástasis ⁽⁴⁴⁻⁴⁷⁾.

CÁNCER DE CUELLO UTERINO

Varios antígenos de superficie celular tales como CD44, CD117, CD133 y MYD88 se han utilizado para aislar células madre de cáncer de ovario ⁽⁴⁸⁾.

La nestina es una proteína de filamento intermedio expresado en la proliferación de células durante el desarrollo embrionario del sistema nervioso central (CNS) y se considera marcador de células madres neuronales. Ya se ha

investigado la diferencia de expresión de nestina entre el pre-cáncer y el cáncer de cuello uterino invasivo, en donde la expresión de la nestina parece participar en el paso de la iniciación del cáncer y potencialmente podría ser un marcador útil en la detección temprana de cáncer de cuello uterino ⁽⁴⁹⁾.

MELANOMA

Aldehído deshidrogenasa 1 (ALDH1, ALDH1A1), una enzima responsable de la oxidación de aldehídos intracelulares, ha demostrado tener una función en la diferenciación temprana de las células madre. Su actividad muestra un potencial prometedor como unos marcadores universales para la identificación y el aislamiento de las células madre normales y células madre de cáncer de múltiples fuentes en una variedad de tipos de tejidos ⁽⁵⁰⁾. A pesar de todos los esfuerzos, una población pura CSC no se ha aislado y actualmente in vivo se encuentran varias poblaciones de células en marcadores contradictorios de superficie ⁽⁵¹⁾.

En el adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC) tiene como marcadores específicos de CSCs, como CD133, CD24, CD44, CXCR4, EpCAM, ABCG2, c-Met, ALDH-1, y nestina ⁽⁵²⁾.

SEÑALIZACIÓN EN LAS CSCS

En las células madre de melanoma (MSC) CD133 + la resistencia a la apoptosis inducida por “taxol” es notoria, a diferencia de las células CD133-, en donde no se muestra resistencia ⁽⁵³⁾. Las vías IL-8 ⁽⁵⁴⁾, mTOR, PI3K y MAPK se activan preferentemente en las células CD133 + ⁽⁵⁵⁾.

Los factores de troncalidad Sox2, Oct3 / 4 y Nanog además de estar relacionados con las células madre pluripotentes inducidas, también tienen un papel muy importante en el mantenimiento de células madre del cáncer ⁽⁵⁶⁾. Pero, además la inducción aberrante por *Helicobacter pylori* ⁽⁵⁷⁾ con los factores de transcripción, CDX1 y CDX2, también juega

un papel importante en esta modificación. Hay algunos genes que se activan directamente por CDX1 en el cáncer gástrico y factores de reprogramación relacionados, tales como SALL4 y KLF5⁽⁵⁸⁾.

Un número de marcadores de superficie celular tales como CD44, CD24, CD133 se utilizan a menudo para identificar y enriquecer las células madre cancerosas. Una red de regulación que consiste en microRNAs y Wnt / β -catenina, Notch y Hedgehog vías de señalización controla las propiedades de CSC⁽⁵⁹⁾.

La señalización de Wnt desempeña un papel crítico en la regulación de las células madre / progenitoras en la glándula mamaria, así como otros compartimentos de tejido. Por otra parte, existe una fuerte evidencia que sugiere que la activación defectuosa de la señalización de Wnt induce tumores de mama a partir de células madre / progenitoras, y que ejerce sus efectos oncogénicos a través de la activación mediada por LRP5/6 de la beta-catenina y las vías de mTOR. Los retrovirus aviar se ha demostrado que introducen oncogenes en un pequeño subconjunto de células mamarias somáticas, transformando preferentemente a las células madre / progenitoras, lo que sugiere que las células madre / progenitoras en la glándula mamaria pueden ser especialmente susceptibles a la transformación oncogénica⁽⁶⁰⁾.

Las β -catenina también desempeñan papeles importantes en el desarrollo y la tumorigénesis mamaria a través de sus funciones en la adhesión celular, la transducción de señales y regulación de contexto de células específicas de la expresión génica. Los estudios en ratones han puesto de relieve el papel fundamental de la señalización de β -catenina en la biología de células madre en varias etapas de desarrollo mamario, esta expresión desregularizada de la señalización β -catenina perturba la dinámica de las células madre y células progenitoras induciendo a tumores mamarios tanto en ratones como en humanos⁽⁶¹⁾.

La activación constitutiva de la vía Wnt conduce a la formación de adenoma, un paso necesario hacia el cáncer intestinal. En vista del papel establecido de Wnt en la regulación de la troncalidad, se han aislado células madre del cáncer (CSCs) de tumores intestinales mutantes Apc y Apc/KRAS. Mientras que las CSCs están presentes en tumores KRAS/Apc, parecen ser muy raras (<10⁻⁶) en los adenomas mutantes Apc. En contraste, la subpoblación de células de adenocarcinoma Lin (-) CD24 (alta) CD29 (+) parece ser enriquecida en las células madre cancerosas con el aumento de los niveles de β -catenina activa⁽⁶²⁾.

Las CSCs expresan CD133 y transportadores de casete de unión a ATP, por el cual las células pueden bombear colorantes específicos de fluorescencia, tales como Hoechst33342⁽⁶³⁾.

La señalización de Notch se ha destacado como una vía implicada en el desarrollo de la mama y frecuentemente se desregula en el cáncer de mama invasivo, lo que podría representar nuevas dianas terapéuticas para prevenir la recurrencia del cáncer de mama pre-invasivo e invasivo^(45-49,64).

La vía de señalización Notch es una cascada de señalización intercelular conservada evolutivamente⁽⁶³⁾. Se propone que la vía de señalización Notch puede representar nueva diana para el cáncer. Desempeña un papel importante en el desarrollo y la determinación del destino celular, y está desregulado en malignidades hematológicas y tumores sólidos humanos. Ya se han probado anticuerpos monoclonales (mAbs) que interfieren con la interacción ligando-receptor. Los mAbs ya están siendo probados en los ensayos clínicos de varios tipos de cáncer⁽⁶⁵⁾.

Piwil2, un miembro de la familia de genes Ago/ Piwi, se ha demostrado que se expresa en diferentes células de cáncer, en especial su notable expresión en las CSC, y también se sabe que es esencial para auto-renovación de las células madre de la línea germinal en diversos

organismos ⁽⁶⁶⁾.

La expresión de Jagged2 y Notch3 contribuyen al desarrollo de cáncer gástrico ⁽⁶⁷⁾ y otros tipos de tumores ^(67,68).

Las fibulinas (FBLNs), son una familia de proteínas de la matriz extracelular, actúan como supresores de tumor o activadores en diferentes tipos de cáncer, y los mecanismos moleculares subyacentes de su acción en el cáncer siguen sin estar claros. La expresión de FBLN3 es suprimida por promotores de hipermetilación asociada con la invasividad y agresividad en el cáncer de pulmón no microcítico. En este estudio se evaluaron las funciones y mecanismos de señalización de FBLN3 en las CSC de pulmón. La expresión forzada de FBLN3 suprime la invasión y la migración de las células de adenocarcinoma de pulmón y la disminución de la expresión de los activadores de la transición epitelio-mesenquimal (EMT), incluyendo N-cadherina, factor de crecimiento similar a la insulina (IGF1R) y los factores de troncalidad (propiedad de dar origen a otras células, actuando como células madre) Sox2 y β -catenina ⁽⁶⁹⁾.

La EMT desempeña un papel crítico en la invasión y la metástasis de cáncer y por estar asociado con las propiedades de las CSCs. Esta transición es dada por SAIL en una línea celular de cáncer de tiroides de tipo epitelial ACT-1, mejorando el triple su capacidad de formación de tumores in vitro, teniendo quimio-sensibilidad ⁽⁷⁰⁾.

La regulación epigenética por la modificación de las histonas, específicamente a través de las proteínas del grupo Polycomb (PCG) como EZH2 y el BMI-1 son el motor importante en la biología de células madre, a su vez se correlaciona con mal pronóstico en muchos tipos de tumores, ayudando a mantener su fenotipo. En líneas celulares de cáncer de páncreas y de mama hay elevado niveles de EZH2 en comparación con las células no-CSC y que cuando se interrumpen, se reduce significativamente la frecuencia de células madre cancerosas ⁽⁷¹⁾. Esta regulación

negativa de BMI-1 se da con el uso del regulador Mel-18 ⁽⁷²⁾.

ANTÍGENOS DE LAS CSCS COMO BLANCOS EN LA INMUNOTERAPIA

Hay varias inmunoterapias dirigidas a un número de antígenos de tumor de próstata que están actualmente en desarrollo. Sin embargo, las respuestas clínicas en este entorno son inconsistentes, y se cree que el fracaso para lograr la erradicación del tumor completo y permanente se debe a las CSCs ⁽⁷³⁾.

Muchos antígenos asociados a tumores humanos (TAA) Recientemente se han identificado y caracterizado molecularmente. Cuando se une a moléculas del complejo principal de histocompatibilidad, péptido de TAA son reconocidos por las células T. Por lo tanto, los estudios clínicos han sido iniciados para evaluar el potencial terapéutico de la inmunización activa o la vacunación con péptidos de TAA en los pacientes con cáncer metastásico. Hasta el momento, solo un número limitado de péptidos de TAA, en su mayoría los reconocidos por las células T CD8 (+) en pacientes con melanoma, han sido clínicamente probados. En algunos ensayos clínicos, se ha observado la regresión del tumor parcial o completa en aproximadamente 10 % -30 % de los pacientes. No se han reportado efectos secundarios graves ⁽⁷⁴⁾.

Mucha atención se ha centrado en CD133 como marcador de células cancerosas en varios neoplasias humanas; su expresión parece predecir el pronóstico desfavorable. Con base en sus características que poseen, es concebible que solo la erradicación de células madre cancerosas puede conducir a la cura del cáncer ⁽⁷⁵⁾. Este marcador ha sido identificado en tumores cerebrales malignos ⁽⁷⁶⁾. Sin embargo, CD133 se expresa en las células epiteliales diferenciadas en varios órganos y las células CD133- también se encuentran en los tumores ^(77,78). Es por eso que las células CD133 + podrían ser objetivos potenciales de la terapia antitumoral en el futuro ⁽⁷⁹⁾.

Dado que CD133 es un marcador de las CSCs, también ha sido relacionado con la regresión de carcinoma de cabeza y cuello de células escamosas (HNSCC) *in vivo*. Ya se ha caracterizado una toxina biespecífica compuesta de dos fragmentos de anticuerpo y una toxina de proteína catalítica lo que permite que se una a dos marcadores de las CSCs, eliminando subpoblaciones resistentes. Este biespecífico inhibe potentemente la traducción de proteínas y la proliferación *in vitro* en tres tipos diferentes de carcinoma, garantizando una terapia eficaz para el carcinoma ⁽⁸⁰⁾.

En una población de CSCs y en una población de no-CSCs derivadas de adenocarcinoma de pulmón LHK2, células de adenocarcinoma de colon SW480 y células de adenocarcinoma de mama MCF-7, usando RT-PCR y PCR en tiempo real, los genes (MAGEA2, MAGEA3, MAGEA4, MAGEA6, MAGEA12, MAGEB2, GAGE1, GAGE8, SPANXA1, SPANXB1, SPANXC, XAGE2, SPA17, BORIS, PLU-1, SGY-1, TEX15 y CT45A1) mostraron mayores niveles de expresión en la población con CSCs y diez genes (BAGE1, BAGE2, BAGE4, BAGE5, XAGE1, LIP1, D40, HCA661, TDRD1 y TPTE) mostraron similar expresión en ambos grupos ⁽⁸¹⁾.

Las células normales apenas sufren mitosis, mientras que las células cancerosas se dividen con frecuencia y crecen bien. Por lo tanto, los antígenos relacionados con el ciclo G2/M (Birc5, Aurka, Nke2 y Plk1) en células del cáncer específicas se consideran candidatos adecuados como dianas de la inmunoterapia del cáncer. Esta expresión de antígenos relacionados con este ciclo de la mitosis se ha investigado en CSCs / (CIC) para verificar la diferencia en el efecto anti-tumoral. Se aislaron las CSCs utilizando colorante Hoechst 33342 a partir de líneas de células CT 26. Se ha encontrado que Birc5 y Aurka se expresan tanto en células madre cancerosas / CIC y en no-CSCs/CICs, mientras que Nek2 y Plk1 se expresan preferentemente en no-CSCs/CICs (antígenos no CSC) ⁽⁸²⁾.

El anticuerpo TAB 004 puede ser explorado como un agente diana terapéutico para las CSCs en PC. El TAB 004 EIA detecta MUC1 circulantes de una manera dependiente de la fase en pacientes con PC y por lo tanto puede ser explorado como un biomarcador de diagnóstico etapa PC ⁽⁸³⁾.

Las proteínas de choque térmico (HSP) son normalmente inducidas bajo estrés ambiental, para servir como chaperonas para el mantenimiento de plegamiento de las proteínas correctas pero a menudo se sobre expresan en muchos tipos de cáncer, incluyendo el cáncer de mama. La expresión de Hsp27, una pequeña HSP independiente de ATP, se asocia con la migración celular y la resistencia a fármacos de las células de cáncer de mama. Hsp27 regula el proceso de la EMT y la actividad de NF-kB (factor nuclear kappa B) para contribuir al mantenimiento de las CSCs de mama, considerándose como una nueva estrategia en la terapia del cáncer de mama ⁽⁸⁴⁾. Aunque hay ensayos clínicos de inhibidores de Hsp90 en la terapia del cáncer de mama que están en curso, el efecto de focalización de las CSCs de mama de ellos sigue siendo poco clara. La geldanamycin (GA), es un inhibidor de Hsp90, podría suprimir células de cáncer de mama ALDH (+) de una manera dependiente de la dosis. En combinación con quercetina o KNK437 BCSCs potenciadas sirve como una solución potencial para prevenir la resistencia a los fármacos y evitar la toxicidad de altas dosis de inhibidores de Hsp90 en la aplicación clínica ⁽⁸⁵⁾.

TERAPIA COMBINADA

Una de las razones principales de los tratamientos contra el cáncer ineficaces es la falta de eficiencia en la eliminación de las CSC. Por lo tanto, la combinación de varios agentes contra las CSCs puede ofrecer mejores beneficios terapéuticos. Varias moléculas contra las CSC han sido objeto de evaluaciones preclínicas. Sin embargo, su baja solubilidad y toxicidad no específica limitan su traducción clínica ⁽⁸⁶⁾. Pero

además de los antígenos específicos de estas CSCs que pueden ser blanco de anticuerpos que se diseñen para aplicarse en vacunas o algún otro método inmunoterapéutico se plantea que la radioterapia, quimioterapia, podría tener un bajo porcentaje de recaídas en los pacientes.

Dentro los blancos más conocidos de las CSCs es el CD133+, receptor de endotelina-A (ETRA) que juega un papel importante en la migración de las células del tumor, la metástasis, y la proliferación. El receptor de la endotelina B (ETRB) está relacionado con la angiogénesis y la inhibición del reclutamiento de células inmunitarias anti-tumorales. Así el doble bloqueo de tanto ETRA y ETRB podría tener efectos antitumorales significativos. El bloqueo de estos receptores se ha dado en combinación con la quimioterapia y ha tenido resultados significativos ⁽⁸⁷⁾. Pero como se sabe que los cánceres pueden escapar al reconocimiento inmune por medio de evasión de complejo de complejo mayor de histocompatibilidad clase I (MHC) mediado por el reconocimiento por los linfocitos T citotóxicos, queda mucho por investigar las estrategias de inmunización dirigidos a antígenos específicos asociados a tumores no se han caracterizado extensamente en modelos murinos de cáncer de varios tipos de cáncer ⁽⁸⁸⁾.

No solo los clústeres de diferenciación son muy buenos blancos, en cáncer de pulmón los ensayos clínicos recientes han proporcionado pruebas de los beneficios de ciertas formas de inmunoterapia. Las células T $\gamma\delta$ constituyen 2% -10% de los linfocitos T en la sangre humana y juegan un papel en la vigilancia inmune contra los patógenos microbianos y posiblemente cáncer. Estas células T reconocen fosfo-antígenos través de los receptores polimórficos $\gamma\delta$ de células T receptoras (TCR), así como el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase I ⁽⁸¹⁾.

De acuerdo con la teoría de las CSCs, las terapias que no están orientadas a las CSC. Teniendo en cuenta que los linfocitos T citotóxicos

(CTL) tienen el potencial de reconocer y destruir las células neoplásicas individuales dentro de un tejido, ya sea mediante la vacunación con CSCs u algún otro mecanismo inmune no está comprendido del todo, pero existe evidencia experimental que muestra que las líneas de CSCs establecidas a partir de la próstata de un adenocarcinoma transgénico de la próstata de ratón (TRAMP) expresan antígenos asociados con el cáncer, las moléculas de MHC de clase I y II, así como ligandos para los receptores de las células NK. En efecto las CSCs son objetivos para la citotoxicidad mediada tanto por las células NK y CTL, tanto *in vitro* como *in vivo*. La administración de células dendríticas pulsadas con CSCs irradiadas induce a una respuesta inmune específica de tumor que es más notoria que la inducida por las células dendríticas pulsadas con células tumorales diferenciadas, retrasando el crecimiento del tumor en ratones expuestos con células madre cancerosas de próstata y causa la regresión del tumor en ratones TRAMP. Por lo tanto, las CSCs son el blanco de la respuesta inmune innata y adaptativa ⁽⁸⁹⁾.

Existe una gran necesidad insatisfecha de agentes rentables y ampliamente disponibles antineoplásicos inmuno-terapéuticos con buenos resultados. Los microARN (miARN) que regulan la inmunosupresión mediada por tumores o los puestos de control inmunes pueden inducir fuertes respuestas inmunes terapéuticas, lo que indica que los miRNAs en última instancia, pueden formar parte de las múltiples opciones para reforzar la inmunoterapia contra el cáncer ⁽⁹⁰⁾. Por ejemplo en los gliomas, a pesar de todos los esfuerzos de la cirugía citoreductora en combinación con la quimioterapia intensa, el glioblastoma multiforme (GBM, glioma de grado IV) todavía tiene un pronóstico sombrío. La investigación actual se centra en la orientación molecular para superar la resistencia a la terapia convencional. Los miRNA, han atraído a intensos esfuerzos de investigación que apuntan hacia el potencial terapéutico potencial, con el objetivo de sensibilizar a las células de glioma

a la quimioterapia y / o radioterapia ⁽⁹¹⁾.

Los pacientes con melanoma con frecuencia tienen niveles séricos elevados de interleucina-6 (IL-6), que se relacionan con un mal pronóstico. IL-6 activa la fosforilación de STAT3, la inducción de la transcripción de los genes que regulan la proliferación de células tumorales y anti-apoptóticas. Además, la evidencia reciente sugiere que la IL-6 induce la transición epitelial-mesenquimal y aumenta la invasividad de las células tumorales de origen epitelial. Sin embargo, se desconoce si la IL-6 afecta a las células tumorales mesenquimales. Se han examinado los efectos de la IL-6 en las células del melanoma encontrándose que la IL-6 puede aumentar su potencial metastásico mediante la regulación de la expresión de Twist y N-cadherina. Se confirma que los tejidos de melanoma humano expresan IL-6 (especialmente en el sitio de la lesión), el receptor de IL-6, N-cadherina y Twist nucleares. La IL-6 induce la fosforilación de STAT3 en células de melanoma humano WM-266-4, que resulta el alza transitoria de Twist, que es un regulador clave de la metástasis. Es importante destacar que la expresión de N-cadherina, una proteína de Twist, también se incrementa en la superficie celular después del tratamiento con IL-6. Estas células muestran una mayor invasividad formando nódulos más metastásicos en los pulmones de los ratones NOD-SCID después de una inyección intravenosa. Es importante destacar que las células del melanoma con eliminación de N-cadherina forman menos nódulos pulmonares en comparación con el control en el modelo ratón NOD-SCID. Estos datos sugieren que el aumento de IL-6 en suero en pacientes con cáncer podría aumentar la invasividad de las células de melanoma y acelerar la metástasis. El bloqueo de IL-6 en el microambiente del melanoma puede por lo tanto inhibir la progresión de la enfermedad ⁽⁹²⁾.

Diversos enfoques se han explorado que van desde el uso de la irradiación de las vacunas de

células enteras inactivadas derivadas de tumores tanto autólogos y alogénicos (incluso líneas celulares tumorales) y versiones modificadas genéticamente de tales vacunas celulares que tienen como objetivo la corrección de la disfunción co-estimuladora o en la alteración del ambiente humoral *in situ* para facilitar el reconocimiento inmune y la activación. Vacunas anti-idiotipo, basadas en idiotipos asociados a células de cáncer, también se han explorado que apuntan a aumentar la inmunogenicidad a través de la generación *in vivo* de la respuesta inmune. Las vacunas de células dendríticas (DC) tratan de mejorar la presentación de TAA a los linfocitos T vírgenes. Desafortunadamente, siempre existe la posibilidad de que la presentación defectuosa de antígenos dé como resultado la inducción de tolerancia a los antígenos contenidos en la vacuna, y la posterior progresión rápida del tumor. Los modelos animales, aunque muy artificiales, han dado resultados prometedores. Los ensayos clínicos en seres humanos, no han sido tan buenos. Aunque la activación inmunológica en general dirigido contra los antígenos diana contenidos dentro de la vacuna contra el cáncer ha sido documentada en la mayoría de los casos, la reducción en la carga tumoral no se ha observado con frecuencia, y la progresión tumoral y la metástasis generalmente perdura, posiblemente después de un período ligeramente prolongado de remisión. El fracaso de las vacunas contra el cáncer es debido a la misma relación entre el huésped y el tumor: a través de un proceso de selección natural el anfitrión conduce al enriquecimiento selectivo de clones de células transformadas neoplásicamente altamente agresivos, que aparentemente son tan indiferenciados que ya no expresan moléculas específicas de células cancerosas ⁽⁹³⁾.

El llamado “microambiente del tumor (TME)”, en la que existe asociación recíproca entre las células cancerosas, las células del sistema inmune y las células del estroma. TME como un intrincado ambiente también se compone de las CSC que pueden resistir

contra las quimioterapias. En tumores sólidos, el metabolismo y la vascularización parece ser aberrante y los fluidos intersticiales del tumoral (TIF) como barrera fisiológica. Por lo tanto, la quimioterapia, la inmunoterapia y la terapia génica a menudo no proporcionan resultados clínicos convincentes⁽⁶³⁾.

El uso de los genes asociados con el cáncer de próstata descubiertos a través de estudios de genética implica la construcción de vacunas con el uso de vectores recombinantes de virus de plásmidos que codifican estos nuevos antígenos asociados a tumores (TAA) para inducir respuestas inmunes específicas a TAA para la prevención o la terapia de cáncer de próstata⁽⁹⁴⁾.

En este sentido, las nanopartículas multifuncionales que pueden integrar diversos componentes clave, tales como medicamentos, genes, y ligandos dirigidos utilizando plataformas de entrega únicas serían más eficientes en el tratamiento de cánceres resistentes a múltiples fármacos⁽⁹⁵⁾.

La inyección de la proteína recombinante FBLN3 en xenoinjertos subcutáneos establecidos con CSCs ALDH + suprime significativamente el crecimiento y la progresión del tumor⁽⁶⁹⁾.

El antígeno NY-ESO – 1 es un objetivo de la vacuna en el cáncer epitelial de ovario (EOC), pero su expresión limitada es un obstáculo para la eficacia de la vacuna. Dado que NY-ESO-1 se regula por la metilación del ADN, la hipótesis de que los inhibidores de la ADN metiltransferasa (DNMT) podría aumentar la terapia con vacunas hacia este antígeno. En torno a esto la hipometilación global de ADN en EOC se asocia con la presencia de anticuerpos circulantes contra NY-ESO-1. En ensayos previos, la estabilización de la enfermedad o la respuesta clínica parcial ocurrieron en 6/10 pacientes evaluadas. Sobre la base de estos resultados alentadores, se justifica la evaluación de los regímenes de quimio-inmunoterapia combinatorios en EOC y otros tipos de tumores⁽⁹⁶⁾.

Como conclusión: la inmunoterapia del cáncer

es el uso del sistema inmune para tratar el cáncer. El objetivo de este tratamiento es atacar a las células tumorales malignas que son responsables de la enfermedad, pero específicamente los avances se centran en las CSCs donde ya se ha planteado la hipótesis que son responsables de la progresión de la enfermedad. Aunque las células cancerosas son menos inmunogénicas que los agentes patógenos, el sistema inmune es claramente capaz de reconocer y eliminar las células tumorales. El desafío para la inmunoterapia consiste en utilizar los avances en inmunología celular y molecular para desarrollar estrategias que con eficacia y seguridad aumentan la respuesta antitumoral. La existencia de múltiples estados de células madre sugiere la necesidad de desarrollar estrategias terapéuticas capaces de dirigir con eficacia CSC en todos estos estados. Utilizando la inmunoterapia junto con los miRNAs, radioterapia, quimioterapia, pueden reducir la enfermedad de manera no invasiva en modelos experimentales y humanos. Esta estrategia tiene muchos desafíos para tener posteriormente un tratamiento efectivo contra esta enfermedad.

REFERENCIAS

1. Sagar JI, Chaib B, Sales K, Winslet M, Seifalian A. Role of stem cells in cancer therapy and cancer stem cells: A review. *Cancer Cell Int.* 2007;7:9.
2. Bixby S, Kruger G, Mosher J, Joseph NM, Morrison SJ. Cell-intrinsic differences between stem cells from different regions of the peripheral nervous system regulate the generation of neural diversity. *Neuron.* 2002;35(4):643-656.
3. Hope K, Jin L, Dick J. Human acute myeloid leukemia stem cells. *Arch Med Res.* 2003;34(6):507-514.
4. Oliveira L, Jeffrey S, Ribeiro-Silva A. Stem cells in human breast cancer. *Histol Histopathol.* 2010;25(3):371-385.
5. Luo L, Han ZC. Leukemia stem cells. *Int J Hematol.* 2006;84(2):123-127.
6. Dick J. Acute myeloid leukemia stem cells. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1044:1-5.

7. Zheng X, Seshire A, Rüster B, Bug G, Beissert T, Puccetti E, et al. Arsenic but not all-trans retinoic acid overcomes the aberrant stem cell capacity of PML/RARalpha-positive leukemic stem cells. *Haematologica*. 2007;92(3):323-331.
8. Warner J, Wang J, Hope K, Jin L, Dick J. Concepts of human leukemic development. *Oncogene*. 2004;23(43):7164-7177.
9. Testa U. Leukemia stem cells. *Ann Hematol*. 2011;90(3):245-271.
10. Catalano V, Turdo A, Di Franco S, Dieli F, Todaro M, Stassi G. Tumor and its microenvironment: A synergistic interplay. *Semin Cancer Biol*. 2013;(6 Pt B):522-533.
11. Ailles E, Weissman I. Cancer stem cells in solid tumors. *Curr Opin Biotechnol*. 2007;18(5):460-466.
12. Jordan C, Guzman M, Noble M. Cancer stem cells. *N Engl J Med*. 2006; 355:1253-1261.
13. Zhou B, Zhang H, Damelin M, Geles K, Grindley J, Dirks P. Tumour-initiating cells: Challenges and opportunities for anticancer drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*. 2009;8(10):806-823.
14. Vaz AP, Ponnusamy MP, Batra SK. Cancer stem cells and therapeutic targets: An emerging field for cancer treatment. *Drug Deliv Transl Res*. 2013;3(2):113-120.
15. Quintana E, Shackleton M, Sabel MS, Fullen DR, Johnson TM, Morrison SJ. Efficient tumor formation by single human melanoma cells. *Nature*. 2008;456(7222):593-598.
16. Bidlingmaier S, Zhu X, Liu B. The utility and limitations of glycosylated human CD133 epitopes in defining cancer stem cells. *J Mol Med (Berl)*. 2008;86(9):1025-1032.
17. Gambelli F, Sasdelli F, Manini I, Gambarana C, Oliveri G, Miracco C, et al. Identification of cancer stem cells from human glioblastomas: Growth and differentiation capabilities and CD133/prominin-1 expression. *Cell Biol Int*. 2012;36(1):29-38.
18. Choy W, Nagasawa DT, Trang A, Thill K, Spasic M, Yang I. CD133 as a marker for regulation and potential for targeted therapies in glioblastoma multiforme. *Neurosurg Clin N Am*. 2012; 23(3):391-405.
19. Badve S, Nakshatri H. Breast-cancer stem cells-beyond semantics. *Lancet Oncol*. 2012;13(1):e43-48.
20. Ricardo S, Vieira A, Gerhard R, Leitão D, Pinto R, Cameselle-Teijeiro J, et al. Breast cancer stem cell markers CD44, CD24 and ALDH1: Expression distribution within intrinsic molecular subtype. *J Clin Pathol*. 2011;64(11):937-946.
21. Nakshatri H, Srour E, Badve S. Breast cancer stem cells and intrinsic subtypes: Controversies rage on. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2009;4(1):50-60.
22. Visvader E, Lindeman G. Cancer stem cells: Current status and evolving complexities. *Cell Stem Cell*. 2012;10(6):717-728.
23. Ma S. Biology and clinical implications of CD133(+) liver cancer stem cells. *Exp Cell Res*. 2013;319(2):126-132.
24. Shimamura M, Nagayama Y, Matsuse M, Yamashita S, Mitsutake N. Analysis of multiple markers for cancer stem-like cells in human thyroid carcinoma cell lines. *Endocr J*. 2014 Feb 15. [Epub ahead of print].
25. Tirino V, Camerlingo R, Franco R, Malanga D, La Rocca A, Viglietto G, et al. The role of CD133 in the identification and characterization of tumor-initiating cells in non-small-cell lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2009;36(3):446-453.
26. Le H, Zeng F, Xu L, Liu X, Huang Y. The role of CD133 expression in the carcinogenesis and prognosis of patients with lung cancer. *Mol Med Rep*. 2013;8(5):1511-1518.
27. Bertolini G, Roz L, Perego P, Tortoreto M, Fontanella E, Gatti L, et al. Highly tumorigenic lung cancer CD133+ cells display stem-like features and are spared by cisplatin treatment. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(38):16281-16286.
28. Jiang F, Qiu Q, Khanna A, Todd NW, Deepak J, Xing L, et al. Aldehyde dehydrogenase 1 is a tumor stem cell-associated marker in lung cancer. *Mol Cancer Res*. 2009;7(3):330-338.
29. Marcatò P, Dean CA, Giacomantonio CA, Lee PW. Aldehyde dehydrogenase: Its role as a cancer stem cell marker comes down to the specific isoform. *Cell Cycle*. 2011;10(9):1378-1384.
30. Sun H, Jib J, Wang X, Ma B, Di L, Song G. CD44+/CD24- breast cancer cells isolated from MCF-7 cultures exhibit enhanced angiogenic properties. *Clin Transl Oncol*. 2013;15(1):46-54.
31. Liu S, Clouthier SG, Wicha MS. Role of microRNAs in the regulation of breast cancer stem cells. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2012;17(1):15-21.
32. Mani S, Guo W, Liao M, Eaton E, Ayyanan A, Zhou A, et al. The epithelial mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell*. 2008;133(4):704-715..
33. Botchkina GI, Zuniga ES, Das M, Wang Y, Wang

- H, Zhu S, et al. New-generation taxoid SB-T-1214 inhibits stem cell-related gene expression in 3D cancer spheroids induced by purified colon tumor-initiating cells. *Mol Cancer*. 2010;9:192.
34. Chen S, Song X, Chen Z, Li X, Li M, Liu H, et al. CD133 expression and the prognosis of colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2013;8(2):e56380.
 35. Haraguchi N, Ohkuma M, Sakashita H, Matsuzaki S, Tanaka F, Mimori K, et al. CD133+CD44+ population efficiently enriches colon cancer initiating cells. *Ann Surg Oncol*. 2008;15(10):2927-2933.
 36. Jaksch M, Munera J, Bajpai R, Terskikh A, Oshima RG. Cell cycle dependent variation of a CD133 epitope in human embryonic stem cell, colon cancer, and melanoma cell lines. *Cancer Res*. 2008;68(19):7882-7886.
 37. Shmelkov SV, Butler JM, Hooper AT, Hormigo A, Kushner J, Milde T, et al. CD133 expression is not restricted to stem cells, and both CD133+ and CD133- metastatic colon cancer cells initiate tumors. *J Clin Invest*. 2008;118(6):2111-2120.
 38. Rocco A, Liguori E, Pirozzi G, Tirino V, Compare D, Franco R, et al. CD133 and CD44 cell surface markers do not identify cancer stem cells in primary human gastric tumors. *J Cell Physiol*. 2012;227(6):2686-2693.
 39. Li H, Tang DG. Prostate cancer stem cells and their potential roles in metastasis. *J Surg Oncol*. 2011; 103(6):558-562.
 40. Petkova N, Hennenlotter J, Sobiesiak M, Todenhöfer T, Scharpf M, Stenzl A, et al. Surface CD24 distinguishes between low differentiated and transit-amplifying cells in the basal layer of human prostate. *Prostate*. 2013;73(14):1576-1590.
 41. Botchkina GI, Zuniga ES, Rowehl RH, Park R, Bhalla R, Bialkowska AB, et al. Prostate cancer stem cell-targeted efficacy of a new-generation taxoid, SBT-1214 and novel polyenolic zinc-binding curcuminoid, CMC2.24. *PLoS One*. 2013;8(9):e69884.
 42. Li X, Luo Q, Song G. Novel therapeutic strategies for treatment of hepatocellular carcinoma: Targeting intervention on liver cancer stem cells. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*. 2013; 30(4):894-898.
 43. Lingala S, Cui YY, Chen X, Ruebner BH, Qian XF, Zern MA, et al. Immunohistochemical staining of cancer stem cell markers in hepatocellular carcinoma. *Exp Mol Pathol*. 2010;89(1):27-35.
 44. Ma Z, Swigut T, Valouev A, Rada-Iglesias A, Wysocka J. Sequence-specific regulator Prdm14 safeguards mouse ESCs from entering extra-embryonic endoderm fates. *Nat Struct Mol Biol*. 2011;18(2):120-127.
 45. Zeng Z, Ren J, O'Neil M, Zhao J, Bridges B, Cox J, et al. Impact of stem cell marker expression on recurrence of TACE-treated hepatocellular carcinoma post liver transplantation. *BMC Cancer*. 2012;12:584.
 46. Pang RW, Poon RT. Cancer stem cell as a potential therapeutic target in hepatocellular carcinoma. *Curr Cancer Drug Targets*. 2012;12(9):1081-1094.
 47. Ji J, Wang XW. Clinical implications of cancer stem cell biology in hepatocellular carcinoma. *Semin Oncol*. 2012;39(4):461-472.
 48. López J, Valdez-Morales FJ, Benítez-Bribiesca L, Cerbón M, Carrancá AG. Normal and cancer stem cells of the human female reproductive system. *Reprod Biol Endocrinol*. 2013;11:53.
 49. Bae HS, Chung YW, Lee JK, Lee NW, Yeom BW, Lee KW, et al. Nestin expression as an indicator of cervical cancer initiation. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2013;34(3):238-242.
 50. Han M, Wu C. Advancement of studies on ALDH1 as a universal marker of stem cells. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*. 2010;27(5):1183-1186.
 51. Fábíán Á, Vereb G, Szöllösi J. The hitchhikers guide to cancer stem cell theory: Markers, pathways and therapy. *Cytometry A*. 2013;83(1):62-71.
 52. Matsuda Y, Kure S, Ishiwata T. Nestin and other putative cancer stem cell markers in pancreatic cancer. *Med Mol Morphol*. 2012;45(2):59-65.
 53. El-Khattouti A, Selimovic D, Haikel Y, Megahed M, Gomez CR, Hassan M. Identification and analysis of CD133+ melanoma stem-like cells conferring resistance to taxol: An insight into the mechanisms of their resistance and response. *Cancer Lett*. 2014;343(1):123-133.
 54. Tang K, Ma S, Lee TK, Chan YP, Kwan PS, Tong CM, et al. CD133(+) liver tumor-initiating cells promote tumor angiogenesis, growth, and self-renewal through neurotensin/interleukin-8/CXCL1 signaling. *Hepatology*. 2012;55(3):807-820.
 55. Li Z. CD133: A stem cell biomarker and beyond. *Exp Hematol Oncol*. 2013;2(1):17.
 56. Matsuoka J, Yashiro M, Sakurai K, Kubo N, Tanaka H, Muguruma K, et al. Role of the stemness factors sox2, oct3/4, and NANOG in gastric carcinoma. *J Surg Res*. 2012;174(1):130-135.
 57. Zabaleta J. Multifactorial etiology of gastric cancer.

- Methods Mol Biol. 2012;863:411-435.
58. Akhavan-Niaki H, Samadani AA. Molecular insight in gastric cancer induction: An overview of cancer stemness genes. *Cell Biochem Biophys*. 2013. [Epub ahead of print]
 59. Yu Z, Pestell TG, Lisanti MP, Pestell RG. Cancer stem cells. *Int J Biochem Cell Biol*. 2012;44(12):2144-2151.
 60. Lindvall C, Bu W, Williams B, Li Y. Wnt signaling, stem cells, and the cellular origin of breast cancer. *Stem Cell Rev*. 2007;3(2):157-68.
 61. Incassati A, Chandramouli A, Eelkema, R, Cowin P. Key signaling nodes in mammary gland development and cancer: β -catenin. *Breast Cancer Res*. 2010;12(6):213.
 62. Kondo T. Stem cell-like cancer cells in cancer cell lines. *Cancer Biomark*. 2007;3(4-5):245-250.
 63. Barar J, Omidi Y. Targeted gene therapy of cancer: Second amendment toward holistic therapy. *Bioimpacts*. 2013;3(2):49-51.
 64. Shao H, Huang Q, Liu ZJ. Targeting notch signaling for cancer therapeutic intervention. *Adv Pharmacol*. 2012;65:191-234.
 65. Takebe N, Nguyen D, Yang SX. Targeting notch signaling pathway in cancer: Clinical development advances and challenges. *Pharmacol Ther*. 2014;141(2):140-149.
 66. Shahali M. A novel in vitro model for cancer stem cell culture using ectopically expressed piwil2 stable cell line. *Cell J*. 2013;15(3):250-257.
 67. Kang H, An HJ, Song JY, Kim TH, Heo JH, Ahn DH, et al. Notch3 and Jagged2 contribute to gastric cancer development and to glandular differentiation associated with MUC2 and MUC5AC expression. *Histopathology*. 2012;61(4):576-586.
 68. Vizio B, Mauri FA, Prati A, Trivedi P, Giacobino A, Novarino A, et al. Comparative evaluation of cancer stem cell markers in normal pancreas and pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncol Rep*. 2012;27(1):69-76.
 69. Kim IG, Kim SY, Choi SI, Lee JH, Kim KC, Cho EW. Fibulin-3-mediated inhibition of epithelial-to-mesenchymal transition and self-renewal of ALDH+ lung cancer stem cells through IGF1R signaling. *Oncogene*. 2013. [Epub ahead of print]
 70. Yasui K, Shimamura M, Mitsutake N, Nagayama Y. SNAIL Induces epithelial-to-mesenchymal transition and cancer stem cell-like properties in aldehyde dehydrogenase-negative thyroid cancer cells. *Thyroid*. 2013;23(8):989-996.
 71. van Vlerken LE, Kiefer CM, Morehouse C, Li Y, Groves C, Wilson SD, et al. EZH2 is required for breast and pancreatic cancer stem cell maintenance and can be used as a functional cancer stem cell reporter. *Stem Cells Transl Med*. 2013;2(1):43-52.
 72. Won HY, Lee JY, Shin DH, Park JH, Nam JS, Kim HC, et al. Loss of Mel-18 enhances breast cancer stem cell activity and tumorigenicity through activating Notch signaling mediated by the Wnt/TCF pathway. *FASEB J*. 2012;26(12):5002-5013.
 73. Dunning NL, Laversin SA, Miles AK, Rees RC. Immunotherapy of prostate cancer: Should we be targeting stem cells and EMT? *Cancer Immunol Immunother*. 2011;60(8):1181-1193.
 74. Parmiani G, Castelli C, Dalerba P, Mortarini R, Rivoltini L, Marincola FM, et al. Cancer immunotherapy with peptide-based vaccines: What have we achieved? Where are we going? *J Natl Cancer Inst*. 2002;94(11):805-818.
 75. Ferrandina G, Petrillo M, Bonanno G, Scambia G. Targeting CD133 antigen in cancer. *Expert Opin Ther Targets*. 2009;13(7):823-937.
 76. Wu Y, Wu P. CD133 as a marker for cancer stem cells: Progresses and concerns. *Stem Cells Dev*. 2009;18(8):1127-1134.
 77. Cheng JX, Liu BL, Zhang X. How powerful is CD133 as a cancer stem cell marker in brain tumors? *Cancer Treat Rev*. 2009;35(5):403-408.
 78. Rutella S, Bonanno G, Procoli A, Mariotti A, Corallo M, Prisco MG, et al. Cells with characteristics of cancer stem/progenitor cells express the CD133 antigen in human endometrial tumors. *Clin Cancer Res*. 2009;5(13):4299-4311.
 79. Zhang H, Li SY. Research progression of CD133 as a marker of cancer stem cells. *Chin J Cancer*. 2010;29(3):243-247.
 80. Waldron NN, Barsky SH, Dougherty PR, Vallera DA. A bispecific EpCAM/CD133-targeted toxin is effective against carcinoma. *Target Oncol*. 2013. [Epub ahead of print]
 81. Yoshida Y, Nakajima J, Wada H, Kakimi K: $\gamma\delta$ T-cell immunotherapy for lung cancer. *Surg Today*. 2011;41(5):606-611.
 82. Mori T, Nishizawa S, Hirohashi Y, Torigoe T, Tamura Y, Takahashi A, et al. Efficiency of G2/M-related tumor-associated antigen-targeting cancer immunotherapy depends on antigen expression in the cancer stem-like

- population. *Exp Mol Pathol*. 2012;92(1):27-32.
83. Curry JM, Thompson KJ, Rao SG, Besmer DM, Murphy AM, Grdzlishvili VZ, et al. The use of a novel MUC1 antibody to identify cancer stem cells and circulating MUC1 in mice and patients with pancreatic cancer. *J Surg Oncol*. 2013;107(7):713-722.
84. Wei L, Liu TT, Wang HH, Hong HM, Yu AL, Feng HP, et al. Hsp27 participates in the maintenance of breast cancer stem cells through regulation of epithelial-mesenchymal transition and nuclear factor- κ B. *Breast Cancer Res*. 2011;13(5):R101.
85. Lee CH, Hong HM, Chang YY, Chang WW. Inhibition of heat shock protein (Hsp) 27 potentiates the suppressive effect of Hsp90 inhibitors in targeting breast cancer stem-like cells. *Biochimie*. 2012;94(6):1382-1389.
86. Zhou Y, Yang J, Rhim JS, Kopeček J. HPMA copolymer-based combination therapy toxic to both prostate cancer stem/progenitor cells and differentiated cells induces durable anti-tumor effects. *J Control Release*. 2013 28;172(3):946-953.
87. Coffman L, Mooney C, Lim J, Bai S, Silva I, Gong Y, et al. Endothelin receptor-A is required for the recruitment of antitumor T cells and modulates chemotherapy induction of cancer stem cells. *Cancer Biol Ther*. 2013;14(2):184-92.
88. Neeley YC, McDonagh KT, Overwijk WW, Restifo N P, Sanda MG. Antigen-specific tumor vaccine efficacy in vivo against prostate cancer with low class I MHC requires competent class II MHC. *Prostate*. 2000;53(3):183-191.
89. Jachetti, E, Mazzoleni S, Grioni M, Ricupito A, Brambillasca C, Generoso L, et al. Prostate cancer stem cells are targets of both innate and adaptive immunity and elicit tumor-specific immune responses. *Oncoimmunology*. 2013;2(5):e24520.
90. Heimberger AB, Gilbert M, Rao G, Wei J. MicroRNAs as novel immunotherapeutics. *Oncoimmunology*. 2013;2(8):e25124.
91. Nikaki A, Piperi C, Papavassiliou AG. Role of microRNAs in gliomagenesis: Targeting miRNAs in glioblastoma multiforme therapy. *Expert Opin Investig Drugs*. 2012;21(10):1475-1488.
92. Na Y, Lee JS, Lee SJ, Seok SH. Interleukin-6-induced Twist and N-cadherin enhance melanoma cell metastasis. *Melanoma Res*. 2013;23(6):434-443.
93. Bodey B, Bodey B, Siegel SE, Kaiser E. Failure of cancer vaccines: The significant limitations of this approach to immunotherapy. *Anticancer Res*. 2000;20(4):2665-2676.
94. Charles LG, Xie YC, Restifo NP, Roessler B, Sanda MG. Antitumor efficacy of tumor-antigen-encoding recombinant poxvirus immunization in Dunning rat prostate cancer: Implications for clinical genetic vaccine development. *World J Urol*. 2000;18(2):136-142.
95. Iyer AK, Singh A, Ganta S, Amiji MM. Role of integrated cancer nanomedicine in overcoming drug resistance. *Adv Drug Deliv Rev*. 2013;65(13-14):1784-1802
96. Odunsi K, Matsuzaki J, James SR, Mhawech-Fauceglia P, Tsuji T, Miller A, et al. Epigenetic potentiation of NY-ESO-1 vaccine therapy in human ovarian cancer. *Cancer Immunol Res*. 2014;2(1):37-49.
97. Wen L, Chen XZ, Yang K, Chen ZX, Zhang B, Chen JP, et al. Prognostic value of cancer stem cell marker CD133 expression in gastric cancer: A systematic review. *PLoS One*. 2013;8(3):e59154.