

## Células madre mesenquimales y su relación con el cáncer de pulmón

**Autores:** Felipe de Lara Janz<sup>1</sup>, Graciela Cruz Rico<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de San Pablo (USP), San Pablo, Brasil

<sup>2</sup>Laboratorio de Oncología Experimental, Instituto Nacional de Cancerología de México, Ciudad de México, México

**Correspondencia:**

Felipe de Lara Janz

Domicilio postal: Av. Professor Luciano Gualberto, 403 – Ciudad Universitaria – San Pablo, Brasil. Universidad de San Pablo (USP).

E-mail: fljanz@usp.br

Recibido: 30.01.2015

Aceptado: 23.05.2015

### Resumen

Recientemente, para explicar la heterogeneidad del tumor y los procesos de carcinogénesis, se ha propuesto la teoría de la “célula madre del cáncer” (CSC). Según esta teoría, el tumor puede ser originado por un anormal organogénesis ocasionado en la CSC, que deriva de las mutaciones de la célula madre adulta “normal”. Las mutaciones en la CSC se transmiten a cada célula hija la cual puede detenerse en cualquiera de los numerosos puntos antes de la maduración completa. Bien, independientemente de su origen, estas células poseen varias propiedades de las células madre normales, incluyendo auto-renovación, un potencial de proliferación ilimitada para producir los linajes heterogéneos de células del cáncer que componen el crecimiento del tumor y las metástasis, además de que son altamente resistentes a la quimioterapia convencional. Estas características son las que las hacen como posibles causas de recurrencia de la enfermedad y la metástasis. La existencia de CSC se demostró por primera vez en la leucemia aguda mieloide y más recientemente en otras leucemias, glioblastoma, melanoma y tumores sólidos de origen epitelial. En esta revisión estudiaremos las células madre de pulmón y su posible relación con el cáncer de pulmón.

**Palabras clave:** células madre, células madre de cáncer, cáncer de pulmón

### Abstract

#### Relationship between Mesenchymal Stem Cells and Lung Cancer

Recently, the theory of “cancer stem cells” (CSC) was proposed to explain tumor heterogeneity and carcinogenesis processes. According to this theory, tumors may be caused by an abnormal organogenesis caused by CSC, which derives from mutations of “normal” adult stem cells. Mutations into CSC are transmitted to each daughter cell; transmission can stop at any of several points before full maturity. Whatever their origin, these cells possess several properties of normal stem cells, including self-renewal, unlimited proliferation potential to produce heterogeneous lineages of cancer cells including tumor growth and metastasis, and high resistance to conventional chemotherapy. These characteristics make them possible causes of disease relapse and metastasis. The existence of CSC was first demonstrated in acute myeloid leukemia and more recently in other leukemias, glioblastoma, melanoma and solid tumors of epithelial origin. In this work, our aim is to demonstrate the possible relationship between stem cells and lung cancer.

**Key-words:** stem cells, cancer stem cells and lung cancer

### CSC- pulmón

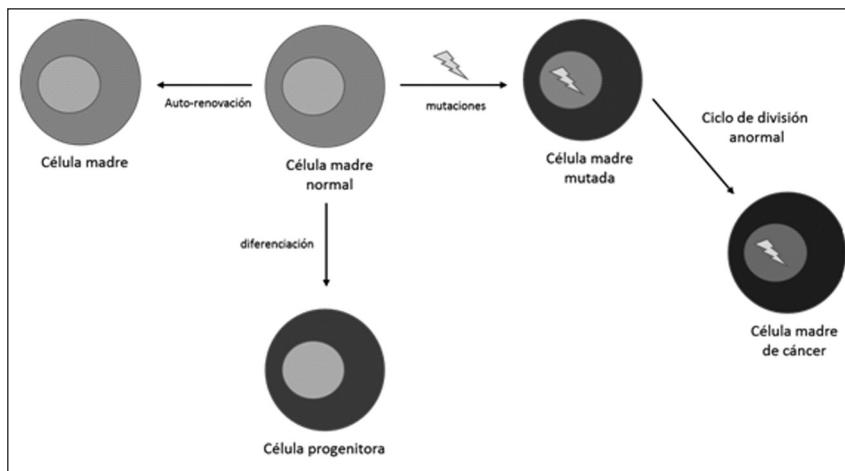
Las células madre de pulmón se encuentran dentro de microambientes específicos (nichos) del tejido. Ray Schofield propuso por primera vez la

hipótesis de la existencia *in vivo* de un limitado lugar dentro del microambiente, en el cual un número de células madre normales residen de forma estable y dan lugar a los procesos de auto-renovación, proliferación y diferenciación celular<sup>1</sup>. Bien, cualquier

cambio o alteración en el nicho causada por alguna lesión de la mucosa o la exposición al humo del cigarrillo podría facilitar un estado de activación de las células madre en el intento de reparar el daño tisular y, por consiguiente, ocasionar cambios genéticos en las células y la incapacidad de regresar a un estado de reposo, lo que tendría como resultado que la célula madre somática avance a una CSC<sup>2</sup> (Figura 1). Aunque las células madre en el pulmón en un sentido estricto no han sido identificadas, hay evidencias que apoyan que su existencia puede explicar por qué el actual tratamiento no siempre erradica el tejido maligno y, por lo tanto, las CSC pulmonar residuales pueden generar una población de células cancerosas, dando lugar a la recidiva tumoral después del tratamiento<sup>3-4</sup>. Las CSC de cáncer de pulmón se puede considerar que se originan ya sea a partir de células madre de la vía aérea que no han sido identificadas aún, o bien de las células progenitoras respectivamente comprometidas como son las células progenitoras bronquio alveolar, las células progenitoras neuroendocrinas y las células progenitoras de la secreción basal de la mucosa<sup>5</sup>. Los modelos experimentales han identificado varios tipos de células madre residentes en el pulmón normal con potencial proliferativo. En el modelo de ratón, las células madre oscilan entre 0.03- 0.07% de la población celular, expresan marcadores de superficie como SCA1 +/Lin-, de la población CD45 y expresan antígenos vasculares CD31. Otro informe sugiere que las células del pulmón de ratón tienen unos fenotipos similares a las células neuro epiteliales asociado a las células de Clara. Las células de Clara son una variante de

células con capacidad de diferenciación y resistentes a la contaminación. Además, estudios recientes realizados en un modelo de ratón transgénico, con células del conducto bronquio alveolar que expresa condicionalmente K-ras, generan una población celular con propiedades y características de las células madre, lo que sugiere que estas células son precursoras de adenocarcinoma de pulmón<sup>6</sup>.

Al igual que en otros tumores, identificar con un solo marcador la presencia de las sub-poblaciones de células dotadas con propiedades de CSC es una cuestión de cierta controversia, probablemente por la enorme heterogeneidad de los cánceres de pulmón en términos de la célula de origen, la patología, la biología, la etiología y de los mecanismos molecular/genéticos<sup>7-8</sup>. Por ejemplo, en el trabajo de Watkins et al.<sup>9</sup> informaron de la importancia de la señalización de Hedgehog en un subgrupo de cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC, en inglés: small cell lung cancer). Yagui-Beltrán et al.<sup>10</sup> y Peacock<sup>11</sup> destacaban la importancia del microambiente pulmonar de las células normales y su implicación en el desarrollo del cáncer de pulmón, así como de revisar los resultados de los estudios sobre los marcadores de las CSC y las vías de señalización en la carcinogénesis pulmonar con especial atención a las diferencias entre SCLC y el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC, en inglés: no small cell lung cancer). Ambos artículos destacaban la importancia de las vías de señalización de Wnt y Hedgehog en SCLC y NSCLC. Probablemente, una aproximación alternativa para identificar a la CSC del pulmón es la medición por citometría de flujo del colorante Hoechst 33342<sup>12-13</sup>. Las células teñidas con colorante



**Figura 1.** El modelo de la célula madre de cáncer: características similares entre una célula normal y una célula tumoral condujeron al desarrollo de la teoría de las células madre de cáncer.

Hoechst 33342 pueden ser identificadas como una población de células inmaduras que nos indica la actividad de los distintos miembros de la familia de transportadores de la familia ABC, que catalizan adenosin trifosfato (ATP); estos transportadores (ABCC1, ABCG2) activan el flujo (transmembrana) de las células, y las protegen así de agentes citotóxicos<sup>14</sup>. En algunos estudios, se informa que las células teñidas con Hoeschst 33342 representan un grupo de células madre normales, mientras que en otros estudios este grupo de células son caracterizadas como CSC que varía el porcentaje de expresión con el tipo de cáncer humano. En cáncer de pulmón, la fracción de células teñidas con colorante Hoeschst 33342 es de 0,023-1,08% y de 1,5-6,1% en líneas celulares de cáncer de pulmón humanas. La mayoría de estas células tienen menor expresión de MCM7, un componente esencial del complejo de la helicasa necesario para la replicación del ADN<sup>15</sup>. Estas CSC en líneas de cáncer de pulmón humano presentan mayor resistencia a los fármacos quimioterapéuticos como el cisplatino. El aumento de la resistencia a los medicamentos, en parte se debe a la expresión elevada de diferentes transportadores ABC con resistencia a múltiples fármacos y a su menor ritmo en la proliferación. Además estas CSC positivas a Hoeschst 33342 cuando se inyectan a ratones NOD/ SCID tienen una mayor capacidad para la regeneración de los tumores *in vivo*<sup>16-17</sup>. Resultados similares se han obtenido con la expresión de la glicoproteína de superficie CD133 (prominin-1), vinculada inicialmente a células progenitoras hematopoyéticas CD34+ humanas, a células madre normales neurales, epiteliales y de los linajes endoteliales<sup>18-19</sup>, además fue descrito como un marcador de células iniciadoras de cáncer de diversos tipos de tumores. Estos datos son controversiales ya que algunos estudios han demostrado que las células de algunos tumores CD133 negativas también poseen una actividad tumorigénica.

Las CSC de diferentes tumores primarios o de líneas celulares cultivadas de forma rutinaria expresan otros marcadores de células madre del tejido normal como Nestin, c-Kit, Sox2, Oct4, y Musashi-1<sup>20</sup>. En el trabajo publicado por Bertolini G y cols (2009) utilizan tanto sistemas *in vitro* como modelos *in vivo* para proporcionar pruebas de que la expresión positiva del antígeno CD133 se incrementa en la población de NSCLC, en comparación con el tejido pulmonar normal, lo que indica que tienen un mayor potencial oncogénico en ratones SCID, así

como la expresión de genes implicados en procesos de adherencia y motilidad. Estas células CD133+ presentan características *in vitro* de la CSC, es decir, capacidad para la proliferación, auto-renovación y diferenciación, además de ser más resistentes al tratamiento con cisplatino. Sin embargo, aun es un tema de debate si las células CD133 representan realmente una población tumorigénica, en particular en el cáncer de colon y el cerebro. Eramo et al.<sup>21</sup> reportaron que CD133 es un marcador útil para identificar a la CSC tanto para SCLC y NSCLC.

Otro de los marcadores asociados a la presencia de CSC con expresión positiva para CD133 es la actividad elevada de aldehído deshidrogenasa 1 (ALDH1). El acetaldehído deshidrogenasa (ALDH) representa una familia de isoenzimas citosólicas, responsables de oxidar aldehídos endógenos y exógenos, lo que contribuye así a la oxidación del retinol en ácido retinoico, un modulador de la proliferación celular y diferenciación de células madre<sup>22</sup>. En cáncer de pulmón la expresión de ALDH1 ha sido observada en algunas líneas celulares, asociando que el aumento de expresión de ALDH1 podría resultar de fumar cigarrillos y puede contribuir a la transformación maligna de las células del pulmón. Sin embargo, las células madre relacionadas con la función y la importancia clínica de la ALDH1 en el cáncer de pulmón aún no han sido investigadas, pese a que algunos trabajos correlacionan la actividad con el grado de los tumores de pulmón, lo que es de mal pronóstico en estadio temprano de pacientes con cáncer de pulmón<sup>23</sup>. Patel et al.<sup>24</sup> fundamentan en sus análisis por inmunohistoquímica que las isoenzimas de la ALDH 1A1 y 3A1 se expresan en niveles más altos en NSCLC, pero no en SCLC. Finalmente, el microambiente (nicho) también puede desempeñar un papel importante en el mantenimiento de las CSC de los cánceres de pulmón, Hilbe et al. demostraron por tinción inmunohistoquímica, un incremento en CD133 positivo en células endoteliales de pacientes con NSCLC y proponen una participación de las células progenitoras endoteliales en la vasculatura y crecimiento del tumor, así como posiblemente en el mantenimiento y la activación de CSC<sup>25</sup>. Claramente, identificar con un solo marcador la presencia de las CSC en cáncer de pulmón resulta complicado. Técnicas con tinción de Bromodeoxiuridina 3 H-timidina han demostrado que las CSC de pulmón se encuentran en el nicho para continuar su replicación en la vida adulta. En ratones en

las vías respiratorias proximales y distales se han identificado varios nichos de CSC que son claves para el mantenimiento y el revestimiento epitelial de los tejidos del pulmón<sup>26</sup>. Por lo tanto, es cada vez más claro que las CSC necesitan del soporte de un estroma tumoral no epitelial que den forma a un microambiente tumoral determinado.

### Nicho tumoral: células madre mesenquimales en el estroma tumoral del cáncer de pulmón

El papel del estroma, recientemente, ha ganado amplia aceptación para el crecimiento tumoral. Stephen Paget, en 1889, postuló la hipótesis “Las semillas y del suelo” para describir un microambiente permisivo en pacientes con cáncer de mama<sup>27</sup>. Por lo tanto, el microambiente del tumor proporciona un lugar o nicho preferencial para la movilización y supervivencia de las CSC<sup>28</sup>. El microambiente tumoral es un sistema complejo constituido por una variedad de células no epiteliales: las células endoteliales de la sangre y los vasos linfáticos, matriz extracelular, proteínas solubles (citocinas, proteasas), de hormonas, células perivasculares (pericitos), fibroblastos del tejido y fibroblastos asociados al tumor (TAF). Se piensa que estos TAF activan la migración de las células del cáncer a los tejidos circundantes y que producen varios factores de crecimiento y proteínas de matriz extracelular que sirven de apoyo para el crecimiento del tumor<sup>29</sup>.

### Células madre mesenquimales

El estudio de las células madre mesenquimales (MSC, por sus siglas en inglés) comenzó a finales de los años 60's y se extendió durante la década de los 70's, con los trabajos realizados por Friedenstein, et al.<sup>30</sup>. Este grupo, utilizando ratones y cobayos, describió por primera vez una población de células adherentes de médula ósea que formaban parte del estroma medular y que daban origen al microambiente hematopoyético. Dichas células fueron denominadas como unidades formadoras de colonias de fibroblastos (CFU-F, por sus siglas en inglés). Las células MSC residen en la médula ósea y otros tejidos en cantidades de 0.001-0.01%, las MSCs muestran la multipotencia clásica de las células madres adultas siendo capaces de diferenciarse *in vitro* e *in vivo* a las líneas mesenquimales: del tejido adiposo, hueso, cartílago, músculo y células estromales<sup>31</sup>. Las MSCs se pueden aislar rutinariamente

de varios órganos, como la médula ósea<sup>32</sup>, del tejido adiposo<sup>33</sup>, del músculo esquelético, de la membrana sinovial y de otros tipos de tejido conectivo tanto de adulto como de cordón umbilical y placenta<sup>34</sup>. Recientemente, tales células han sido aisladas de la submucosa bronquial, siendo la médula ósea la principal fuente de obtención de MSC, por lo que existe la creciente evidencia de que las MSC de médula ósea pueden ser movilizadas a la periferia y servir como células madre de regeneración en los sitios de la lesión y la inflamación<sup>35</sup>.

En cultivo, MSC humanas (hMSC) constituyen una población heterogénea de células de morfología fibroblástica en diferentes estados de diferenciación hacia distintas líneas. Poco se conoce sobre los factores que promueven y regulan su proliferación y diferenciación<sup>36</sup>. Los datos existentes en la bibliografía acerca de su caracterización inmunofenotípica indican que las MSCs no poseen un fenotipo específico, sino que comparten características fenotípicas con células endoteliales, epiteliales y musculares, lo que ejemplifica su naturaleza heterogénea<sup>37</sup>. No obstante, las MSC expresan constitutivamente CD73, CD90, CD105 (endoglina), CD106 (VCAM-1) y STRO-1. A diferencia las MSC, se caracterizan por la falta de expresión de marcadores de linaje hematopoyético y de células endoteliales, y son generalmente negativas para CD34<sup>38</sup>. La gran variedad de citocinas que secretan tanto en reposo como tras estimulación sugiere que las MSC contribuyen dentro del estroma medular en el desarrollo de las células hematopoyéticas y de las propias células del estroma, incluida la célula mesenquimal en sí misma, a través de señales tanto inductivas como regulatorias<sup>39</sup>.

Aunque el análisis *in vitro* ha facilitado la caracterización de las MSC, el papel fisiológico de las MSC en el mantenimiento y la reparación tisular se ha convertido en una necesidad primordial en el campo de la investigación. Es importante resumir que estas células se caracterizan por tres propiedades: auto-renovación, capacidad de desarrollarse en múltiples líneas celulares y el potencial de proliferar sin límite. Además, las MSC poseen considerables propiedades inmunosupresoras que pueden influir positivamente durante la regeneración del tejido circundante. Estas propiedades regenerativas, que las hacen tan valiosas, también las convierten en un enemigo poderoso debido a que las aproximan al concepto y fenotipo de célula tumoral. Aunque la biología *in vivo* de las MSC es difícil de entender,

recientes estudios han demostrado que la MSC tiene capacidad de emigrar y de incorporarse dentro del estroma tumoral y adquieren un fenotipo activado similar a los fibroblastos asociados al tumor. Es así que los estudios realizados por el grupo de Weinberg han demostrado que las MSC en cáncer de mama ponen en marcha la metástasis, proceso por el que un cáncer se extiende a otros órganos y en el que reside la clave para reducir la mortalidad de la enfermedad. Además, el grupo de Houghton y colegas mostraron que las MSC residentes de la médula progresan en carcinomas gástricos en respuesta a la infección de *H. pylori* en ratones. Por lo tanto, las MSC pueden ayudar a la progresión del tumor después de adquirir características de fibroblastos asociados al tumor.

Datos experimentales con animales y ensayos clínicos han indicado que las MSC migran a tumores en respuesta a las quimosinas, como es el factor derivado de células estromales (SDF-1), el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y el factor de crecimiento endotelial (VEGF) producido por las células tumorales. Ello parece indicar que el crecimiento del tumor requiere del crecimiento de estroma que se caracteriza por la gran proliferación de células mesenquimales, proceso similar a la remodelación del tejido durante la cicatrización de una herida<sup>40</sup>. Las MSC tienen un mayor potencial y capacidad para contribuir a la población de fibroblastos que las células estromales totalmente diferenciadas. Se requiere de la expansión *in vivo* para obtener un número suficiente de células mesenquimales para protocolos clínicos, aunque existen controversias sobre la estabilidad de las hMSC para estos fines ya que es escaso el conocimiento y el desarrollo en cuanto a técnicas de laboratorio que nos ayuden a mantener la estabilidad genética de las hMSC en cultivo a largo plazo antes del uso clínico.

### Destino de las MSC *in vivo*

Experimentos de radio-marcaje en ratas han mostrado que tras su infusión por vía intraarterial o intravenosa, las MSC se localizan en pulmón, y secundariamente en hígado y otros órganos. El “homing” activo de las MSCs hacia médula ósea es muy frecuente debido a la interacción del SDF-1 con su receptor CXCR4 (Quimiocina-4). Similar mecanismo de “homing” ocurre en los islotes pancreáticos y en el tejido isquémico. Si

realmente se produce este “homing” activo de las MSC hacia tejido inflamatorio e isquémico, esto facilitaría mucho su uso en el tratamiento de enfermedades autoinmunes ya que se facilitaría el acceso a las células diana sin necesitar grandes concentraciones de MSC. En algunos casos se han tratado de modificar las proteínas de superficie de las MSC para conseguir un “homing” activo hacia determinados tejidos diana como el hueso. También se ha intentado el “homing” de las MSC hacia células tumorales.

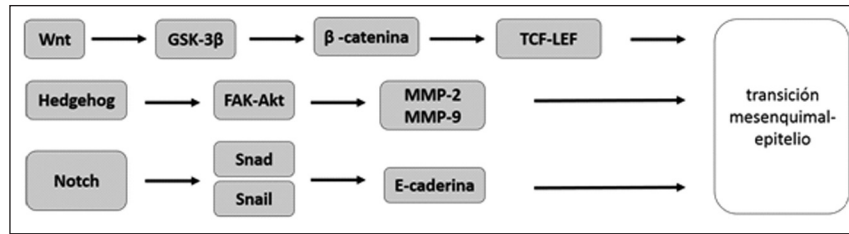
### Contacto con células tumorales (el peligro del efecto reparador)

Ese preciado tesoro biológico en el que se fundamenta la nueva medicina regenerativa posee también su lado oscuro. Las células mesenquimales circulan por el sistema sanguíneo, como “sanitarios” que esperan una señal para acudir con rapidez y reparar el daño. El problema surge cuando la llamada procede de un tumor, ya que en el interior del estroma -el almacén celular- del tumor es donde entran en contacto las células madre mesenquimales con las cancerosas y donde se desencadena la metástasis.

Por ejemplo, las MSC pueden aumentar el crecimiento del tumor mediante la producción paracrina de interleucina-6 (IL-6) y por lo tanto hay un efecto inmunosupresor antitumoral que puede interferir con la vigilancia inmunológica<sup>41</sup>. La iniciación y progresión del tumor es cada vez más vinculada al microambiente y por lo tanto hay una mejor comprensión de cómo se regulan las células madre del cáncer en cuanto a la proliferación y auto-renovación. Estos datos ilustran la necesidad de comprender mejor las consecuencias biológicas de las MSC con las interacciones del tumor antes de utilizar a las MSC como terapias en el ámbito clínico.

En el NSCLC, la infiltración tumoral comúnmente se asume a una invasión en un estroma de reciente creación, que contiene fibroblastos asociados al tumor (FAT) en proliferación acelerada, secreción de colágeno, vimentina y elastina, proceso llamado “desmoplásico”. De manera resumida, en cáncer de pulmón al igual que en otros tumores, el nicho de la CSC desempeña múltiples funciones, mediado por el contacto directo y/o indirecto de factores extracelulares. Las vías de Notch, Wnt, Hedgehog y Bmi-1 (Figura 2) pueden ser impor-





**Figura 2.** Vías de señalización implicadas en la transición epitelio mesenquimal: Wnt, Hedgehog y Notch.

tantes, ya que estas vías de señalización regulan la proliferación y auto-renovación de las CSC, al igual que varios otros mediadores de la comunicación intercelular como el factor de crecimiento transformante (TGF- $\beta$ ) y las proteínas morfogenéticas óseas (BMP) pueden ser producidas por el estroma tumoral<sup>42</sup>. La activación ectópica o la expresión anormalmente elevada de estas moléculas de la señalización puede llevar al cáncer, mientras que su inhibición puede ser responsable de anomalías de desarrollo en una variedad de tejidos<sup>43</sup>. En adenocarcinoma de pulmón, la inhibición de la señalización mediada por Wnt-2 induce inactivación y por lo tanto apoptosis<sup>44</sup>. La caracterización de las células inflamatorias dentro de los tumores ha revelado las células implicadas en la regulación de la respuesta inmune, por ejemplo, las células dendríticas en el microambiente presentan antígenos del tumor a los linfocitos (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> y natural Killer), para promover una respuesta antitumor. Las quimiocinas, citocinas, e interleucinas (que son expresadas por los leucocitos), las células endoteliales, los fibroblastos, las células del tumor y otros tipos de células regulan el tráfico de leucocitos y de células endoteliales a los sitios de la infección, de la inflamación y del crecimiento anormal. Consistente con su capacidad de responder a las señales ambientales locales proinflamatorias, las quimiocinas y las interleucinas están presentes en altos niveles en el microambiente de tumores epiteliales. Sin embargo, el papel de estos y de otras citocinas es una red compleja en la que no quedan muy claras las interacciones que existen en el contacto de célula-célula en el microambiente del tumor.

En el microambiente también se llevan procesos de señalización a través de la familia de integrinas con sus receptores de la célula, como sugiere la expresión en el CSC de próstata y la expresión con AC133 (CD133). Hilbe y cols. han demostrado por

inmunohistoquímica, un aumento significativo en CD133-positivo en células del endotelio vascular de pacientes con CPNM, por lo que se propuso una participación de las células progenitoras endoteliales en la vasculatura y al crecimiento del tumor, así como posiblemente, en el mantenimiento y la activación de la CSC. Las investigaciones realizadas por Kaplan y cols. en relación al estudio en la formación de nichos y procesos de metástasis muestra que la comunicación entre CSC y el microambiente del tejido son sitios distantes que se producen antes de que las células cancerosas lleguen a formar la metástasis. El tumor está alimentado y sostenido por un grupo inicial de CSC que secretan factores que constituyen a la formación del nicho pre-metastático distintos al sitio de origen<sup>45</sup>.

Actualmente, se habla de la función en la comunicación célula a célula de las microvesículas o exosomas (VM) que se desprenden de las membranas celulares de varios tipos de células. Trabajos realizados con líneas celulares de cáncer de pulmón humanas y ratón han observado que ambas líneas secretan grandes cantidades de VM en respuesta a la irradiación e hipoxia. Estas VM derivadas de los tumores activan a las células endoteliales y a los fibroblastos del estroma. Además inducen la expresión de algunos factores pro-angiogénicos en células estromales, como la IL-8, el VEGF, IL-11, LIF y MMP-9. Por lo tanto, en dichos trabajos postulan que las MV derivadas de tumores son componentes del microambiente tumoral que desempeñan un papel en la progresión del tumor, la metástasis y la angiogénesis<sup>46</sup>.

Los procesos de migración de las células tumorales y la metástasis comparten muchas similitudes con el tráfico de leucocitos, ambos son regulados por receptores de quimiocinas y moléculas de adhesión. Las células de SCLC expresan altos niveles de CXCR4 (CD184), mientras que las células del estroma secretan factor derivado-1 (CXCL12), que

es el ligando de CXCR4. La activación de CXCR4 induce la migración celular de SCLC y adhesión a las células del estroma que secretan CXCL12<sup>47</sup>. Las quimocinas son pequeñas (8- 10 KDa) citocinas secretadas quimioatrayentes (CXC o quimocinas) que se unen a proteínas transmembranales. Son secretadas prácticamente por todos los tipos de células, pero las cantidades y sus combinaciones a menudo son moduladas por citocinas inflamatorias, factores de crecimiento y las células tumorales. Cuando las quimocinas se unen a sus receptores, activan diferentes vías de señalización. Esto incluye los receptores de tirosin-cinasa o proteína cinasa C<sup>48</sup>. La capacidad de una quimocina específica para actuar con el receptor que expresan las células tumorales requiere que la quimocina celular sea inducida por cambios en la motilidad celular en respuesta directa a gradientes de quimocinas específicas, el ejemplo mejor estudiado son las quimocinas (CXC) CXCL12 y su receptor análogo CXCR4 en el cáncer de mama metastásico. Se sabe que CXCL12 induce la migración de la célula madre hematopoyética a través de CXCR4, además se expresa constitutivamente en sitios metastásicos de carcinoma de mama, como la médula ósea, de pulmón, el hígado y en los ganglios linfáticos<sup>49</sup>. Esto indica que las células tumorales migran como las células hematopoyéticas. Hasta la fecha, el CXCL12/CXCR4 se ha implicado en casi todos los tumores malignos estudiados incluyendo tumores sólidos y cánceres de origen hematopoyéticos. Sin embargo, los estudios con ratones inmunodepletados con células de tumores humanos, para generar metástasis óseas, han generado dudas sobre el papel de CXCL12/CXCR4<sup>50</sup>, esto puede ser debido a la limitada capacidad de las células tumorales humanas para adaptarse al crecimiento en un medio del ratón. Aunque muchas células tumorales expresan CXCR4, no todos generan metástasis a los sitios que están enriquecidos por CXCL12<sup>51</sup>, sin embargo la unión entre CXCL12/CXCR4 es un blanco importante regulador del proceso de la metástasis, pero no puede ser el único mediador. En teoría, los inhibidores de la unión de CXCR4-SDF-1 podrían ser utilizados contra la metástasis. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el SDF-1 $\alpha$  juega un papel clave en la señalización de las células madre “sanas”, por lo que cualquier tratamiento clínicamente útil debe ser selectivo en la unión SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 de señalización en las células malignas y preservar el buen funcionamiento de homeostasis de la célula

de madre “sana”. Otros pares de quimocinas con su receptor son CCR7/CCL21 y CCR10/CCL27 que también ayudan a la formación de metástasis en sitios específicos<sup>51</sup>.

Finalmente, uno de los procesos importantes que ha surgido no sólo en el desarrollo embrionario, sino también como un mecanismo potencial para la progresión de tumores sólidos, es la transformación o transición de las células epiteliales a células mesenquimales. La transición epitelio mesenquimal (ETM) es un proceso en el que las células sufren un cambio de fenotipo epitelial a un fenotipo mesenquimal. Este consiste en la pérdida de marcadores epiteliales, tales como citoqueratinas específicas del tejido y las moléculas de adhesión, como la E-caderina, y la adquisición de marcadores típicos de las células mesenquimales, como la vimentina y la N-caderina<sup>52</sup>. En este proceso además se ha descrito la participación de varios factores de transcripción como Twist, Slung, Snail y proteínas secretoras de la familia del factor de crecimiento transformante (TGF- $\beta$ ), así como una mayor activación de los receptores de tirosina cinasas, como es el factor de crecimiento epidérmico (EGFR), el receptor del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR) y el receptor del factor crecimiento ligado a insulina (IGFR), que pueden inducir el programa de la ETM. Las células mesenquimales derivadas a través de la ETM contribuyen significativamente a la formación de fibrosis y al proceso de invasión celular tumoral a sitios distantes y generar la metástasis, y una vez generado el nuevo tumor, las células EMT pueden volver más o menos a su fenotipo epitelial a través del proceso de transición mesenquimal-epitelio (MET)<sup>53</sup>.

En el trabajo publicado por el grupo de Prudkin L y cols. analizaron por inmunohistoquímica la expresión de E-caderina y N-caderina, integrina, vimentina y metaloproteínasa de matrix-9, en tejidos de tumor primario, metástasis cerebral y muestras bronquiales epiteliales de cáncer de pulmón. Los resultados fueron comparados con las características clínico patológicas de los pacientes y encontraron que la mayoría de los tumores de pulmón examinados y el patrón de expresión variaban de acuerdo con el tipo histológico del tumor, el fenotipo de transición epitelio-mesenquimal es comúnmente expresado en carcinoma de células escamosas y el adenocarcinoma de pulmón; esta expresión se produce a principios de la patogénesis

del carcinoma de células escamosas. Las metástasis cerebrales mostraron características inversas de transición, es decir de células mesenquimales a células epiteliales. Por lo que en este trabajo concluyeron que la transición epitelio-mesenquimal es un blanco potencial para la quimioprevención y la terapia del cáncer de pulmón<sup>54</sup>. Es importante mencionar que en el proceso inverso de la ETM, es decir, los mecanismos necesarios para que las células mesenquimales modifiquen su fenotipo a células epiteliales siguen siendo desconocidos.

## Conclusiones

El cáncer sigue siendo una de las mayores causas de mortalidad y de morbilidad en todo el mundo. Actualmente la terapia se centra en diferentes combinaciones de cirugía, quimioterapia y radiación. Pese a las mejoras de salud, la enfermedad metastásica sigue siendo poco sensible a la terapia convencional y se necesita urgente una nueva modalidad de tratamiento. Las MSC representan una población de células relativamente bien definidas *ex vivo*, pero son muy complejas y poco se conoce sobre su biología *in vivo*. La hipótesis de la CSC ha provocado un enorme aumento en el interés científico, tanto en la jerarquía de organización de las células cancerosas, en el aislamiento de las subpoblaciones celulares que son responsables de los fracasos del tratamiento y el papel de los nichos en el microambiente para el mantenimiento de las poblaciones de CSC. Las células madre del cáncer son muy similares a una célula madre del tejido normal, en cuanto a las propiedades que comparten de mantenerse en estado de reposo, por las divisiones celulares frecuentes, la resistencia a las drogas o toxinas mediada por los transportadores ABC y a la activa vía de reparación de ADN, así como a la resistencia a la apoptosis. La hipótesis de la existencia de la CSC puede ayudar para describir cómo un cáncer se origina, cómo se sostiene y qué lo hace resistente a la quimioterapia convencional. La capacidad que presentan las CSC de auto-renovación, pluripotencia y la resistencia a los fármacos es el producto de una anomalía inestabilidad genética. Por lo tanto, es razonable considerar que el estudio de los mecanismos que regulan la supervivencia, la auto-renovación y diferenciación de las células madre normales podría conducir a enormes avances en la transformación.

En base a la información reciente, nos sumamos

a las preguntas que varios investigadores hoy en día nos exponen, por ejemplo: ¿la CSC podrá utilizar el nicho de una célula “normal”? o requiere del nicho para proporcionar señales y generar un nicho activado, o requiere del nicho para mantenerse en reposo o activación? y, ¿cuáles son las diferencias entre el nicho de células madre normal y el nicho del CSC?, además, ¿puede existir otro lugar que inhiba el crecimiento de CSC?

La gran mayoría de los artículos publicados hasta el momento nos describen la importancia que tienen la células madre mesenquimales en el microambiente tumoral, incluso algunos autores sugieren que las células mesenquimales cursan con periodos de transición epitelial lo cual puede favorecer el cáncer de tumores sólidos como es en cáncer de pulmón.

**Conflictos de interés:** Los autores declaran no tener conflictos de intereses relacionados con esta publicación.

## Bibliografía

1. Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells* 1978; 4: 7-25.
2. Beachy PA, Karhadkar SS, Berman DM. Tissue repair and stem cell renewal in carcinogenesis. *Nature* 2004; 432: 324-31.
3. Otto WR. Lung epithelial stem cells. *J Pathol* 2002; 197: 527-35.
4. Giangreco A, Groot KR, Janes SM. Lung cancer and lung stem cells: strange bedfellows? *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175: 547-53.
5. Giangreco A, Arwert EN, Rosewell IR, Snyder J, Watt FM, Stripp BR. Stem cells are dispensable for lung homeostasis but restore airways after injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 9286-91.
6. Giangreco A, Shen H, Reynolds SD, Stripp BR. Molecular phenotype of airway side population cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 286: L624-30.
7. Otto WR. Lung epithelial stem cells. *J Pathol* 2002; 197: 527-35.
8. Giangreco A, Groot KR, Janes SM. Lung cancer and lung stem cells: strange bedfellows? *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175: 547-53.
9. Watkins DN, Berman DM, Burkholder SG, Wang B, Beachy PA, Baylin SB. Hedgehog signalling within airway epithelial progenitors and in small-cell lung cancer. *Nature* 2003; 422: 313-7.
10. Yagui-Beltrán A, He B, Jablons DM. The role of cancer stem cells in neoplasia of the lung: past, present and future. *Clin Transl Oncol* 2008; 10: 719-25.
11. Watkins DN. Cancer stem cells and the ontogeny of lung cancer. *J. Clin Oncol* 2008; 26: 2883-9.
12. Hadnagy A, Gaboury L, Beaulieu R, Balicki D. SP analysis may be used to identify cancer stem cell populations. *Exp Cell Res* 2006; 312: 3701-10.
13. Ho MM, Ng AV, Lam S, Hung JY. Side population in human



- lung cancer cell lines and tumors is enriched with stem-like cancer cells. *Cancer Res* 2007; 67: 4827-33.
14. Lou H, Dean M. Targeted therapy for cancer stem cells: the patched pathway and ABC transporters. *Oncogene* 2007; 26: 1357-1360.
  15. Ho MM, Ng AV, Lam S, Hung JY. Side population in human lung cancer cell lines and tumors is enriched with stem-like cancer cells. *Cancer Res* 2007; 67: 4827-33.
  16. Prince ME, Sivanandan R, Kaczorowski A et al. Identification of a subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head and neck squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 973-8.
  17. Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, Pilozzi E et al. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature* 2007; 445: 111-5.
  18. Yin AH, Miraglia S, Zanjani ED et al. AC133, a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 1997; 90: 5002-5012. 20.
  19. Miraglia S, Godfrey W, Yin AH et al. A novel five-transmembrane hematopoietic stem cell antigen: Isolation, characterization, and molecular cloning. *Blood* 1997; 90: 5013-5021.
  20. Collins AT, Berry PA, Hyde C, Stower MJ, Maitland NJ. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res* 2005; 65: 10946-10951.
  21. Eramo A, Lotti F, Sette G et al. Identification and expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population. *Cell Death Differ* 2008; 15: 504-14.
  22. Hess DA, Craft TP, Wirthlin L et al. Widespread non-hematopoietic tissue distribution by transplanted human progenitor cells with high aldehyde dehydrogenase activity. *Stem Cells* 2006; 26: 611-20.
  23. Jiang F, Qiu Q, Khanna A et al. Aldehyde dehydrogenase 1 is a tumor stem cell-associated marker in lung cancer. *Mol Cancer Res* 2009; 7(3): 330-8.
  24. Patel M, Lu L, Zander DS, Sreerama L, Coco D, Moreb JS. ALDH1A1 and ALDH3A1 expression in lung cancers: correlation with histologic type and potential precursors. *Lung Cancer* 2008; 59: 340-9.
  25. Hilbe W, Dirnhofer S, Oberwasserlechner F et al. CD133 positive endothelial progenitor cells contribute to the tumour vasculature in non-small cell lung cancer. *J Clin Pathol* 2004; 57: 965-9.
  26. Engelhardt JF. Stem cell niches in the mouse airway. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 649-52.
  27. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Lancet* 1889; 571-3.
  28. Studeny M, Marini, Frank C et al. Bone Marrow-derived mesenchymal stem cells as vehicles for interferon: Delivery into tumors. *Cancer Res* 2002; 62: 3603-3608.
  29. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70
  30. Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol* 1976; 4: 267-274.
  31. Keating A. Mesenchymal stromal cells. *Curr Opin Hematol* 2006; 13: 419-425.
  32. Jones EA, Kinsey SE, English A et al. Isolation and characterization of bone marrow multipotential mesenchymal progenitor cells. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 3349-3360.
  33. Zvaifler NJ, Marinova-Mutafchieva L, Adams G et al. Mesenchymal precursor cells in the blood of normal individuals. *Arthritis Res* 2002; 477-488.
  34. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 4279-4295.
  35. De Bari C, Dell'Accio F, Tylzanowski P, Luyten FP. Multipotent mesenchymal stem cells from adult human synovial membrane. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 1928-1942.
  36. Jankowski RJ, Deasy BM, Huard J. Muscle-derived stem cells. *Gene Ther* 2002; 9: 642-647.
  37. Haynesworth SE, Baber MA, Caplan AI. Cell surface antigens on human marrow-derived mesenchymal cells are detected by monoclonal antibodies. *Bone* 1992; 13: 69-80.
  38. Reger RL, Tucker AH, Wolfe MR. Differentiation and characterization of human MSCs. *Methods Mol Biol* 2008; 449: 93-107.
  39. Woodbury D, Reynolds K, Black IB. Adult bone marrow stromal stem cells express germline, ectodermal, endodermal, and mesodermal genes prior to neurogenesis. *J Neurosci Res* 2002; 69: 908-917.
  40. Direkze NC, Hodiava-Dilke K, Jeffery R et al. Bone marrow contribution to tumor-associated myofibroblasts and fibroblasts. *Cancer Res* 2004; 64: 8492-8495.
  41. Sasser AK, Sullivan NJ, Studebaker AW, Hendey LF, Axel AE, Hall BM. Interleukin-6 is a potent growth factor for ER-alpha-positive human breast cancer. *Faseb J* 2007; 21 (13): 3763-70.
  42. Yang ZJ, Wechsler-Reya RJ. Hit 'em where they live: targeting the cancer stem cell niche. *Cancer Cell* 2007; 11: 3-5.
  43. Gregorieff A, Clevers H. Wnt signaling in the intestinal epithelium: from endoderm to cancer. *Genes Dev* 2005; 19 (8): 877-90.
  44. You L, He B, Xu Z et al. Inhibition of Wnt-2-mediated signaling induces programmed cell death in non-small-cell lung cancer cells. *Oncogene* 2004; 23 (36): 6170.
  45. Kaplan RN, Riba RD, Zacharoulis S et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature* 2005; 438: 820-7.
  46. Wysoczynski M, Ratajczak MZ. Lung cancer secreted microvesicles: underappreciated modulators of microenvironment in expanding tumors. *Int J Cancer* 2009; 1;125(7): 1595-603.
  47. Wang J, Loberg R, Taichman R. The pivotal role of CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 axis in bone metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2006; 25: 573-87.
  48. Murphy PM. Chemokines and the molecular basis of cancer metastasis. *N Engl J Med* 2001; 345: 833-5.
  49. Ben-Baruch A. Organ selectivity in metastasis: regulation by chemokines and their receptors. *Clin Exp Metastasis* 2008; 25: 345 356.
  50. Kelly PN, Dakic A, Adams JM, Nutt SL, Strasser A. Tumor growth need not be driven by rare cancer stem cells. *Science* 2007; 317: 337.
  51. Karnoub AE, Dash AB, Vo AP et al. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis. *Nature* 2007; 449: 557 63.
  52. Peinado H, Olmeda D, Cano A. Snail, Zeb and bHLH factors in tumour progression: an alliance against the epithelial phenotype? *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 415-428.
  53. Yang J, Mani SA, Weinberg RA. Exploring a new twist on tumor metastasis. *Cancer Res* 2006; 4549-4552.
  54. Prudkin L, Liu DD, Ozburn NC et al. Epithelial-to-mesenchymal transition in the development and progression of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung. *Mod Pathol* 2009; 22: 668-78.