



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“CÉLULAS TRONCALES TUMORALES COMO BLANCOS
TERAPÉUTICOS PARA EL DESARROLLO DE TERAPIAS
EFICACES CONTRA EL CÁNCER”.**

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

JEANNIE JIMÉNEZ LÓPEZ

TUTORA

NOHEMÍ SALINAS JAZMÍN



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: PEREZ MUÑOZ CARLOS
VOCAL: Profesor: DE LA ROSA LARA ITZEL SUSANA
SECRETARIO: Profesor: SALINAS JAZMIN NOHEMI
1er. SUPLENTE: Profesor: VASQUEZ BOCHM LUZ XOCHIQUETZALLI
2° SUPLENTE: Profesor: HERAS CHAVARRIA MONICA BERENICE

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**LABORATORIO DE FARMACOLOGÍA, FACULTAD DE MEDICINA, CIUDAD
UNIVERSITARIA.**

ASESOR DEL TEMA:



NOHEMÍ SALINAS JAZMÍN

SUSTENTANTE (S):



JEANNIE JIMÉNEZ LÓPEZ

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Conacyt (Proyecto No. A1-S-18285) y al programa DGAPA-UNAM-PAPIIT (IA205421), por el apoyo para realizar este trabajo de investigación.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química por ser mi casa de estudios y haberme brindado lo necesario para mi formación profesional.

A cada uno de los profesores que me brindaron su tiempo y conocimientos a lo largo de la carrera, por sus enseñanzas.

Al Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina por abrirme las puertas para realizar el servicio social, una estancia estudiantil y este trabajo de titulación. A los doctores y estudiantes que lo conforman, por sus enseñanzas y consejos.

A la Dra. Nohemí Salinas por darme la oportunidad de trabajar con ella. Por sus enseñanzas, su tiempo y paciencia para guiarme a través de este proceso. Su ayuda y consejos fueron indispensables para realizar diferentes actividades académicas, así como para mi crecimiento profesional. Gracias por su dedicación y por brindar críticas constructivas en todo momento.

Al profesor Carlos Pérez y la profesora Itzel De la Rosa por su tiempo y sus comentarios para mejorar este trabajo.

ÍNDICE

Resumen.....	- 5 -
1. Introducción	- 6 -
Planteamiento del problema	- 6 -
Objetivo	- 7 -
Hipótesis.....	- 7 -
2. Modelo de origen de las células troncales tumorales (CTT)	- 8 -
2.1. Papel del microambiente tumoral en las CTT	- 10 -
3. Caracterización de CTT.....	- 12 -
3.1. Principales características funcionales de CTT	- 12 -
3.2. Marcadores de superficie e intracelulares.....	- 17 -
3.3. Vías de señalización	- 25 -
3.4. Factores de transcripción de CTT	- 31 -
3.5. Estrategias de caracterización o estudio de CTT	- 34 -
3.5.1. Estrategias experimentales.....	- 36 -
4. Relevancia de las CTT en cáncer	- 40 -
4.1. CTT asociadas a resistencia terapéutica, metástasis o recaídas.....	- 40 -
4.2. Expresión diferencial de CTT en diferentes tipos de cáncer e impacto en el pronóstico de los pacientes	- 41 -
4.3. Farmacorresistencia debida a CTT	- 44 -
4.3.1. Mecanismos reportados.....	- 44 -
5. Tipos de cáncer relevantes para el estudio de CTT	- 50 -
6. Tratamientos dirigidos contra CTT	- 58 -
6.1. Estrategias farmacológicas empleadas.....	- 58 -
6.2. Tratamientos en desarrollo	- 60 -
6.3. Reposicionamiento de fármacos aprobados por la FDA.....	- 63 -
7. Discusión.....	- 75 -
8. Conclusiones	- 85 -
Abreviaturas	- 87 -
Listado de tablas y figuras	- 92 -
Referencias.....	- 93 -

Resumen

Las células troncales tumorales (CTT) son una población de células cancerosas dentro de un tumor que tienen las propiedades de células troncales de autorrenovación y la capacidad de generar una progenie heterogénea diferenciada. El porcentaje de CTT dentro de un tumor puede variar del 0.1% al 20% dependiendo del tipo de tumor, encontrándose en proporciones más altas en tumores indiferenciados, lo que al mismo tiempo se relaciona con un peor pronóstico clínico. Aun después del tratamiento del cáncer con los esquemas convencionales, pueden existir cuerpos residuales enriquecidos en CTT que conducen a una disminución en las tasas de supervivencia de los pacientes tratados. La identificación y aislamiento de CTT de tumores mediante el uso de marcadores superficiales y funcionales ha permitido su estudio y conocer algunos de sus mecanismos de farmacorresistencia. Las CTT resultan ser posibles dianas de la terapia contra el cáncer debido a su papel en el inicio, progresión, metástasis y recaída del tumor, así como en la quimio y radiorresistencia en los pacientes. El presente TMA proporciona información reciente sobre los métodos de análisis empleados para la identificación y estudio de las CTT. Así como una actualización bibliográfica del desarrollo de estrategias farmacológicas que tienen como blanco terapéutico a las CTT, destacando el uso de inmunoterapias, y del reposicionamiento de fármacos que se dirijan contra esta población celular, como lo son disulfiram y metformina, para su implementación en los esquemas terapéuticos de pacientes con cáncer de mama, colorrectal, de hígado, ovario, glioblastoma y leucemias, con el objetivo de mejorar su pronóstico clínico.

1. Introducción

Planteamiento del problema

A pesar de los avances en los últimos años para mejorar la eficacia de los tratamientos de los pacientes con cáncer a través de mejores terapias y tratamientos combinados, aún quedan obstáculos debido al desarrollo de resistencia terapéutica, las metástasis y la recurrencia del cáncer. La evidencia tanto de modelos experimentales como de estudios clínicos señala que las células troncales tumorales (CTT), un subconjunto de células dentro de los tumores, son las responsables en gran parte del desarrollo de estas complicaciones en los pacientes. Por lo que estudios recientes indican que la estrategia terapéutica más prometedora contra el cáncer es la de dirigirse contra las CTT. La capacidad para dirigirse a las CTT como blanco terapéutico depende en gran medida de la evidencia y caracterización profunda de esta población celular. Debido a esto es primordial reconocer los cambios fenotípicos y genotípicos de estas células, así como los componentes del microambiente que favorecen sus características de troncalidad y malignidad. Como consecuencia de la relevancia de las CTT en el cáncer, los esfuerzos actuales están enfocados al desarrollo de nuevas terapias, incluidas inmunoterapias y fármacos; los cuales están dirigidos a diversas vías de señalización, factores de transcripción y marcadores de superficie, que afecten las funciones específicas de esta población. Por esta razón resulta de gran importancia recopilar la información más reciente sobre los nuevos enfoques farmacológicos centrados en eliminar a las CTT con el objetivo de proporcionar un panorama que permita identificar los puntos que podrían conducir a mejorar la eficacia de las terapias contra el cáncer y con ello la calidad de vida de los pacientes. La información organizada en este TMA será una importante herramienta y fuente de apoyo dentro del campo de la medicina y ciencias de la salud; para aquellos que estén interesados en el estudio y conocimiento de las CTT en el cáncer, así como en el desarrollo de nuevas estrategias eficaces que pudieran eliminar a esta población.

Objetivo

Realizar una revisión detallada y actualizada sobre la caracterización de las CTT y los nuevos enfoques terapéuticos dirigidos hacia blancos farmacológicos en esta población tumoral en diferentes tipos de cáncer.

Hipótesis

La adecuada caracterización de las CTT proporcionará bases sólidas que guiarán el desarrollo de estrategias farmacológicas dirigidas contra blancos moleculares en las CTT, lo que mejorará la eficacia de los esquemas terapéuticos actuales contra el cáncer, reflejado en una mayor supervivencia y/o una mayor cantidad de pacientes recuperados.

2. Modelo de origen de las células troncales tumorales (CTT)

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo, este abarca más de 100 distintas enfermedades con diversos factores de riesgo y epidemiología, teniendo en común el crecimiento anormal celular en múltiples partes del organismo con el potencial de invadir otros órganos. El desarrollo de cáncer es el resultado de la interacción entre los factores genéticos y factores ambientales. El cáncer es de origen monoclonal y resulta de la transformación de una célula normal en una tumoral en un proceso llamado carcinogénesis, este consiste en la transformación de una lesión precancerosa a un tumor maligno en etapas; iniciación, promoción, conversión y progresión (Bajaj et al., 2020; Niederhuber et al., 2020).

Se han propuesto dos modelos de carcinogénesis que permiten explicar la presencia de diferentes células tumorales que muestran características fenotípicas y genotípicas distintas dentro del mismo tumor: el modelo estocástico y el modelo jerárquico, los cuales se describen a continuación (**Figura 1**).

En el modelo estocástico o de evolución clonal todas las células tumorales tienen potencial tumorigénico, por lo que todas pueden tener la capacidad de autorrenovarse y diferenciarse (**Figura 1a**). Estas células tumorales se derivan de células normales que adquieren una serie de mutaciones que conducen a la transformación maligna de una célula que se expande clonalmente y permite la formación del tumor con una población diversa de células tumorales, incluyendo a las CTT. El modelo jerárquico o de CTT propone que los tumores son tejidos organizados jerárquicamente con las CTT en la cima de esta jerarquía celular. Este sugiere que el origen del cáncer son las CTT, las cuales poseen características que les permiten generar células progenitoras que dan lugar a todos los tipos de células dentro de un tumor e impulsan el crecimiento tumoral, por lo que también son conocidas como células iniciadoras de tumores (Moharil et al., 2017; Steinbichler et al., 2018). Estos modelos no son exclusivos y ambos podrían contribuir a la heterogeneidad intrínseca del tumor.

Dentro de la heterogeneidad del cáncer, las CTT son una pequeña población de células tumorales que presentan propiedades de células troncales adultas y embrionarias, incluidas la autorrenovación y la capacidad de generar una progenie heterogénea diferenciada (Toledo et al., 2018). Adicionalmente, muestran plasticidad celular al realizar una transición reversible entre los estados de células troncales y no troncales (Najafi et al., 2019).

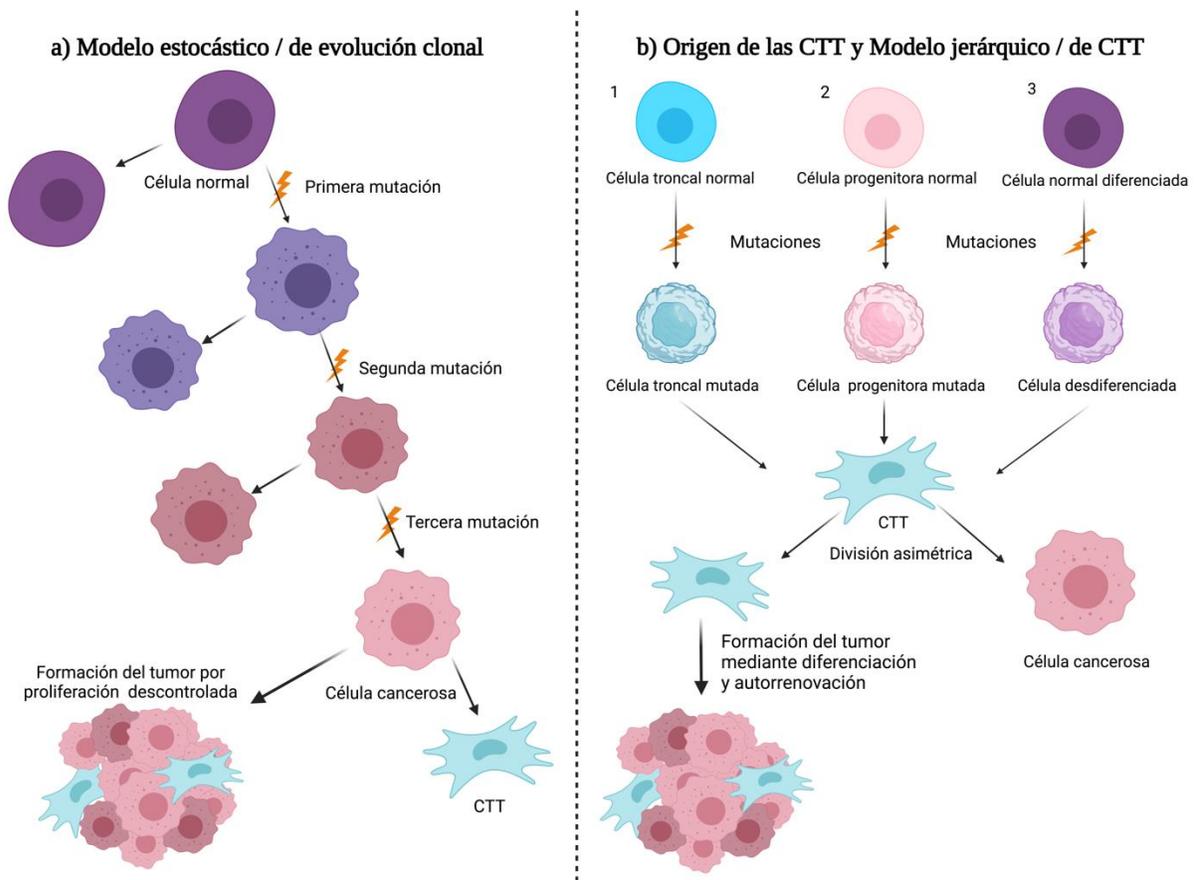


Figura 1. Modelos de carcinogénesis y origen de CTT. a) Modelo estocástico o de evolución clonal. b) El modelo jerárquico o de CTT y las posibles rutas del origen de las CTT. (Creado con BioRender).

Dentro de los procesos de carcinogénesis, el modelo jerárquico ha sugerido tres teorías sobre el origen de las CTT; la primera postula la transformación oncogénica de las células troncales adultas presentes en el tejido humano normal como fuente de CTT, la segunda plantea que las CTT podrían desarrollarse a partir de células progenitoras y la tercera sugiere que las células tumorales diferenciadas pueden reprogramarse para convertirse en CTT (**Figura 1b**) (Eun et al., 2017; Moharil et al., 2017).

En la primera teoría, la generación de las CTT a partir de células troncales se basa en que estas células sobreviven el suficiente tiempo para adquirir las mutaciones necesarias para desarrollar un fenotipo maligno, transformándose así en CTT mediante la alteración de las vías reguladoras de células troncales existentes para promover su autorrenovación. En las CTT hay una mayor regulación positiva de las señales que promueven la proliferación en comparación con las señales que inhiben este proceso, lo cual puede ocurrir como consecuencia de la desregulación del nicho de las células troncales (Moharil et al., 2017; Saygin et al., 2019).

En la segunda teoría, las CTT podrían desarrollarse a partir de células progenitoras. El hecho de que este tipo de células sea más abundante en el tejido adulto que las células troncales hace que sea más probable su transformación oncogénica (Moharil et al., 2017). De acuerdo con esta idea, estudios recientes reconocieron un conjunto de células intermedias en la jerarquía celular, llamadas “células amplificadoras transitorias”, que son mitóticamente activas y acumulan mutaciones para desdiferenciarse y mantener a la población de CTT (Saygin et al., 2019).

En la tercera teoría, las CTT se podrían desarrollar a partir de células diferenciadas mediante desdiferenciación, dado que las mutaciones oncogénicas pueden impulsar el proceso de desdiferenciación y la subsecuente autorrenovación de las células en el tejido. Este proceso de reprogramación está correlacionado con la inducción de la transición epitelial-mesenquimal (EMT) en células diferenciadas, conduciendo a la adquisición de fenotipos similares a células troncales y con ello la formación de CTT. Esta teoría es la más estudiada y aceptada en la actualidad (Moharil et al., 2017; Saygin et al., 2019; Steinbichler et al., 2018)

Recientemente, se han identificado alteraciones metabólicas asociadas a la adquisición de características similares a las de las células troncales como resultado de cambios epigenéticos en las células troncales adultas y en las células tumorales (Dzobo et al., 2020). Por lo que las mutaciones en los reguladores epigenéticos pueden contribuir en la formación de la CTT fundadora en las neoplasias malignas. Una consecuencia común de esas alteraciones es una reorganización del epigenoma y la consecuente interrupción de los procesos de diferenciación. Si las mutaciones ocurren en las células troncales normales, se altera el equilibrio entre la autorrenovación y la diferenciación, mientras que, en las células tumorales se induce un proceso de reprogramación que les da la capacidad de autorrenovación de *novo*. En ambos casos, las limitaciones epigenéticas que mantienen la plasticidad celular bajo control se interrumpen y las células se transforman a un fenotipo similar al de las CTT (Wainwright & Scaffidi, 2017; Z. Liu et al., 2021).

2.1. Papel del microambiente tumoral en las CTT

Además del papel de los factores genéticos y epigenéticos en el fenotipo de las CTT, el microambiente tumoral (TME) dentro del cual se encuentran las células tumorales tiene una gran influencia en el comportamiento de las CTT (Dzobo et al., 2020). Estos nichos tumorales consisten en células endoteliales, células del sistema inmunológico, fibroblastos, componentes de la matriz extracelular (MEC) y moléculas secretadas, como lo son factores de crecimiento y

citocinas (Eun et al., 2017). Las células pueden responder a los cambios en las condiciones de su entorno modificando su epigenoma. Se ha descrito que las alteraciones en las concentraciones de oxígeno y nutrientes pueden ser causantes de variación fenotípica dentro de los tumores, como ejemplo de esto, los complejos modificadores de histonas y los patrones de metilación del ADN se ven afectados por estos cambios en el entorno (Wainwright & Scaffidi, 2017). El microambiente proporciona señales de célula a célula que modulan la expresión génica en las células tumorales afectando, por consiguiente, el número, el fenotipo y la función de las CTT.

Estudios recientes han sugerido que el TME es importante tanto para el mantenimiento de las CTT como para la reprogramación celular en CTT. La plasticidad de las células tumorales parece estar regulada por el TME y está relacionada con la EMT, mediante la regulación de vías de señalización conocidas por promover propiedades de las CTT y la metástasis (Eun et al., 2017). Como ejemplo de estas interacciones, se ha descrito que las células supresoras derivadas de mieloides (MDSC) que se encuentran dentro del TME conducen a la inmunosupresión asociada al tumor y promueven la EMT en las células tumorales mediante la activación de STAT3, lo que dirige la promoción de las CTT y las metástasis en diferentes tipos de cáncer incluyendo mama, ovario, páncreas, colorrectal y mieloma (P. Chen et al., 2021). Por otra parte, se ha sugerido que los factores inflamatorios pueden activar los mecanismos de reprogramación que conducen a la generación de CTT. Los macrófagos asociados a tumores (TAM) de fenotipo M2 promueven la EMT y las características de troncalidad al secretar citocinas como TNF- α , IL-6, TGF- β e IL-10 (Y. Chen et al., 2019). No obstante, TNF- α es una de las citocinas proinflamatorias más importantes que se encuentran en el TME y es secretada tanto por células estromales como por las propias células tumorales, incluidas las CTT. Se ha determinado que TNF- α favorece la generación de CTT mediante la expresión de factores de transcripción Oct4 y Sox2, a través de la activación de la vía Wnt / β -catenina en células de carcinoma hepatocelular (Y. Chen et al., 2019). De forma similar, en el CM se ha reportado que el TNF- α induce la EMT mediante el eje de los factores de transcripción NF κ B/Twist o tras regular al alza SLUG, un mediador del proceso de EMT, con una dependencia de la señalización canónica NF κ B/HIF1 α , favoreciendo la adquisición de un fenotipo de células troncales, promoviendo la proliferación y supervivencia de las células tumorales (Cruceiru et al., 2020; Eun et al., 2017).

Adicional a esto, investigaciones recientes indican que los macrófagos presentes en el TME aumentan la población de CTT al promover la plasticidad fenotípica y la adquisición *de novo* de propiedades de troncalidad en células tumorales no troncales (no-CTT) o diferenciadas tras su contacto directo a través de la vía de señalización Notch-Jagged (Sharma et al., 2021). Por lo

tanto, el microambiente tumoral resulta de gran importancia para mantener las propiedades principales de las CTT; para preservar su plasticidad fenotípica, facilitar su potencial metastásico y favorecer la evasión del sistema inmunológico.

3. Caracterización de CTT

3.1. Principales características funcionales de CTT

Las CTT son capaces de reproducir la heterogeneidad del tumor primario, así como generar metástasis en órganos distantes (Dzobo et al., 2020). Estas se distribuyen dentro del tumor residiendo preferentemente en nichos de hipoxia, bajo pH y con menores concentraciones de nutrientes (Mondal et al., 2018). Las CTT presentan algunas características funcionales de las células troncales normales, como la autorrenovación y pluripotencia (Steinbichler et al., 2018). Adicionalmente, existen características distintivas de las CTT que incluyen la plasticidad, latencia celular, mayor capacidad de reparación del daño al ADN promoviendo su supervivencia, resistencia intrínseca a las terapias, elevado potencial tumorigénico, la capacidad de crecer como esferas, baja inmunogenicidad, un ciclo celular desregulado, tienen la capacidad de someterse a EMT y desarrollar metástasis, angiogénesis y recientemente se ha demostrado que se someten a una reprogramación epigenética, como se mencionó anteriormente en el origen de las CTT, lo que las hace muy difíciles de erradicar en cualquier tipo de cáncer (Z. Liu et al., 2021; Najafi et al., 2019). A continuación, se describen estas características y los procesos relacionados con las propiedades funcionales de las CTT.

Autorrenovación

La autorrenovación es un tipo de división celular propia de las células troncales y se refiere a que una célula puede dividirse de forma ilimitada para dar lugar a más células del mismo tipo celular conservando el potencial de diferenciación. Estas células se pueden dividir de forma simétrica o asimétrica. En la división celular simétrica se producen dos nuevas células troncales capaces de dividirse ilimitadamente o dos células diferenciadas iguales con potencial de proliferación limitado. En la división asimétrica una célula sigue siendo troncal, mientras que la otra es una célula diferenciada. La capacidad de autorrenovación de las células troncales resulta de la expresión de la enzima telomerasa, que impide el acortamiento de los telómeros del ADN durante la división celular promoviendo una proliferación ilimitada. La sobreexpresión de telomerasa en

CTT aumenta la movilidad y la proliferación celular independientemente de su función de alargamiento de los telómeros mediante la vía de señalización de Wnt / β -catenina, además de promover la EMT (Steinbichler et al., 2018).

Pluripotencia

Desde un punto de vista jerárquico, las células troncales embrionarias son las células más primitivas dentro de un sistema biológico y se consideran pluripotentes porque son capaces de diferenciarse en cualquier tipo de célula del organismo. Debajo de ellas, en esta jerarquía celular, están las células progenitoras que son multipotentes y tienen una capacidad de diferenciación de linaje más restringido. Por último, existen otras células con un menor potencial de diferenciación (Bradshaw et al., 2016). Esta propiedad es mantenida por la expresión de factores de transcripción de troncalidad (Ej. Sox2, Oct4, Nanog, etc.) que, a su vez, regulan la expresión de genes diana que tienen funciones relevantes en la pluripotencia de las células. Entre las características que las CTT comparten con las células troncales normales está la capacidad de generar progenie de múltiples linajes. Esto permite que las CTT sean capaces de dar origen a diferentes tipos de células tumorales, incluyendo no-CTT, dentro de la masa tumoral (Moharil et al., 2017).

Plasticidad

Las CTT son células altamente plásticas que pueden adquirir diferentes fenotipos (troncal / no troncal) y estados celulares (quiescencia / proliferación), lo cual les permite desempeñar funciones importantes en el inicio, propagación, metástasis y la recaída del cáncer, teniendo un papel fundamental en la resistencia a la terapia. La plasticidad fenotípica de las CTT implica una transición reversible entre un fenotipo EMT (relacionado con la adquisición de propiedades de CTT) y un fenotipo de transición mesenquimatoso-epitelial (presentando características de no-CTT); así como una transición entre un estado de quiescencia (favoreciendo la resistencia a los fármacos) y un estado proliferativo (el cual favorece la sensibilidad a los fármacos) (Atkins et al., 2019; Prager et al., 2019; M. Wang et al., 2017). La plasticidad celular es promovida por cambios epigenéticos que surgen como respuesta a alteraciones en el TME, incluido el resultado de la exposición a fármacos citotóxicos y dirigidos y condiciones de hipoxia. Las CTT y las no-CTT se pueden distinguir mediante marcadores superficiales y funcionales y por su capacidad de autorrenovación. Aunado a esto, las CTT pueden presentar una reprogramación o plasticidad metabólica, una serie de cambios en la bioenergética celular dentro de los tumores (Fekir et al.,

2019). Por lo tanto, la plasticidad celular permite la generación de una población heterogénea de células dentro de un tumor capaces de adaptarse fácilmente a los cambios en el TME.

Latencia celular

Esta es una característica necesaria para mantener la homeostasis tisular. Se refiere al estado quiescente en que las células entran interrumpiendo su ciclo proliferativo (fase G0 del ciclo celular) y manteniendo la capacidad de dividirse en respuesta a la estimulación mitótica (Steinbichler et al., 2018). La exposición a malas condiciones induce un estado latente que permite que las células sobrevivan hasta que haya un entorno favorable. En condiciones de estrés nutricional las células tumorales secretan factores que inhiben la vía PI3K, lo que resulta en la inducción de la latencia y la autofagia (Alvarez-Meythaler et al., 2020). Siendo este un mecanismo de supervivencia, lo que permite que las CTT mantengan la aptitud metabólica. En el cáncer de mama, colorrectal y mieloma múltiple esta latencia está inducida por el nicho de CTT promoviendo la inactividad y la resistencia a los fármacos (Sistigu et al., 2020). El sistema inmunológico también puede promover la latencia ya que las células T inhiben la progresión del ciclo celular en las células tumorales a través de la señalización mediada por IFN- γ y TNF- α . La presencia de estas células inactivas puede ser la causa de la recurrencia de los tumores y el desarrollo de metástasis (Gomatou et al., 2021).

Supervivencia y autosuficiencia

Las CTT tienen sistemas de reparación de ADN más eficientes, alteran los puntos de control del ciclo celular, muestran menos eventos apoptóticos y eliminan eficazmente las especies reactivas de oxígeno (ROS) por lo que pueden combatir los daños que se puedan generar. La preferencia de la reparación del ADN sobre la apoptosis dirige las respuestas de resistencia de las CTT a diversas terapias (Das et al., 2020; Najafi et al., 2019). Las CTT tienen alterada su respuesta al daño del ADN y presentan vías de reparación de ADN similares a las de las células troncales normales. La vía de reparación homóloga (HR) del daño del ADN es un proceso menos propenso a errores para la reparación del ADN por lo que es uno de los más importantes para las CTT. Además de que presentan una sobreexpresión de las proteínas de reparación del ADN, los genes que inducen la muerte celular también suelen estar desregulados en las CTT. Un ejemplo es p53, un gen que da origen a una proteína supresora de tumores, que a menudo se encuentra mutado o regulado a la baja en las CTT (T. Huang et al., 2020)

Por otra parte, los niveles elevados de ROS provocan una diferenciación anormal, apoptosis o senescencia de las células. Las CTT evitan estos efectos manteniendo bajas concentraciones intracelulares de ROS, donde participan varias familias de enzimas. Estas enzimas incluyen superóxido dismutasa, superóxido reductasa, catalasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa y la proteína multifuncional endonucleasa apurínica/apirimidínica/factor redox (Ape1 / Ref-1) (Steinbichler et al., 2018; H. R. Sun et al., 2019).

Adicionalmente, las vías de señalización apoptóticas están desreguladas en las CTT. Varios mecanismos incluidos una deficiencia en la apoptosis mediada por mitocondrias, una regulación a la baja de los receptores de muerte, la expresión de la proteína de dominio de muerte TRADD (que activa a la principal vía de supervivencia en las CTT [NF-κB]), una disminución de la expresión de marcadores proapoptóticos como la caspasa 3, sobreexpresión de la proteína antiapoptótica c-FLIP y de miembros antiapoptóticos de la familia de proteínas Bcl-2 (incluyen a Bcl-2, Bcl-xL, BCL2L2 y Mcl-1) e inhibidores de proteínas de apoptosis (XIAP, cIAP1, cIAP2, survivina) mejoran la supervivencia de las CTT en varios cánceres (Safa, 2016; H. R. Sun et al., 2019)

Resistencia intrínseca a las terapias

Las CTT se consideran naturalmente resistentes a la quimio y la radioterapia, por lo que al sobrevivir a estas terapias permiten la recurrencia del tumor. Este fenómeno podría asociarse a varios factores como lo es el estado de latencia en el que pueden entrar las CTT que les permite evadir los efectos de estas terapias que se dirigen principalmente a células en división celular (Steinbichler et al., 2018). Por otra parte, la quimiorresistencia puede asociarse a que las CTT tienen una mayor capacidad de salida de fármacos debido a una mayor expresión de transportadores de resistencia a múltiples fármacos (MDR), como los transportadores de membrana ABC que reducen la concentración intracelular de los quimioterapéuticos, aunado a una mayor expresión de enzimas de detoxificación y metabolizadoras de fármacos, como lo es la familia de ALDH que regulan el estrés oxidativo celular (Begicevic & Falasca, 2017; Mohan et al., 2021). Adicionalmente, su capacidad de reparación del ADN eficaz y una mayor resistencia a la apoptosis también favorecen la supervivencia de las células ante las terapias.

Potencial tumorigénico

Previo al reconocimiento de las CTT se consideraba que la mayoría de las células tumorales tenían la capacidad de proliferar ilimitadamente formando nuevas células tumorales, sin embargo, se requerían grandes cantidades de células cancerosas para iniciar un tumor *in vivo* y había una baja frecuencia de colonias cuando las células cancerosas se sembraban *in vitro*. La identificación de células troncales tumorales por primera vez en la leucemia mieloide aguda demostró que los tumores son heterogéneos y tienen una subpoblación específica con el potencial de impulsar el crecimiento del cáncer *in vivo*. Esta pequeña población de células dentro del tumor primario con potencial tumorigénico también se identificó en cánceres de mama y de cerebro donde dieron lugar a tumores en ratones inmunodeficientes y estos pueden reestablecerse fielmente con trasplantes en serie (Bajaj et al., 2020).

Crecimiento en esferas (Autorrenovación y clonogenicidad)

Las CTT forman esferas *in vitro* que se mantienen a través de pases seriados, mientras que las células progenitoras o diferenciadas carecen de esta capacidad. La formación de este tipo de colonias se debe a que las CTT pueden sobrevivir en condiciones independientes de anclaje a la MEC, probablemente debido a la activación constitutiva de la cinasa de adhesión focal (FAK) en estas células, proliferando en suspensión; para el resto de las células esto llevaría a una apoptosis inducida por la pérdida de anclaje. La formación de estas colonias enriquecidas en CTT prueba tanto la capacidad de proliferación como la de autorrenovación de las células (Y. C. Chen et al., 2016; T. Huang et al., 2020).

Metástasis

La metástasis es un proceso que involucra la intravasación de células cancerosas en el torrente sanguíneo, la diseminación a sitios distantes y la siembra en nuevos órganos. Recientemente se ha indicado que las CTT de mama representan alrededor del 1% del tumor primario, alrededor del 60% de las células tumorales circulantes (CTC) y más del 70% de la población tumoral en las lesiones metastásicas tempranas en el pulmón, lo que demuestra su participación en el desarrollo de metástasis (Sharma et al., 2021). En la metástasis, las CTT se someten a EMT, proceso mediante el cual las células epiteliales pierden sus características diferenciadas y adquieren propiedades mesenquimales, lo que implica la pérdida de cohesión intracelular, alteraciones en la MEC, modificaciones del citoesqueleto y aumento de la motilidad celular. Esta transición está involucrada en la invasión tumoral, ya que las células de tipo mesenquimatoso facilitan la migración y movilidad celular a través de la MEC. Este proceso se identifica por la pérdida de la

expresión de moléculas de adhesión como E-cadherina y la β -catenina, citoqueratina 18, y un aumento en la expresión de marcadores mesenquimales, incluyendo la vimentina, N-cadherina y fibronectina (L. Yang et al., 2020; Zheng et al., 2021). Por lo que, se ha propuesto que hay dos tipos de CTT: las estacionarias (sCTT) que se encuentran en el epitelio y no son móviles; y las migratorias (mCTT) que median la metástasis del tumor, y se tiene como hipótesis que las sCTT que se sometieron a EMT originaron a las mCTT con la capacidad de migrar e invadir formando colonias metastásicas (Moharil et al., 2017; Steinbichler et al., 2018).

Inmunogenicidad

Las CTT se consideran poco inmunogénicas a causa de tres mecanismos principales: pueden producir moléculas inmunosupresoras que regulan al sistema inmunológico; reclutan células que inhiben al sistema inmunológico; y generan tolerancia inmunológica debido a la pérdida de expresión de antígenos tumorales, disminuyendo la expresión de moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC-I) e inhibiendo la expresión de moléculas coestimuladoras o de MHC-II en células presentadoras de antígenos (Steinbichler et al., 2018)

Angiogénesis

Durante la formación del tumor, se altera el equilibrio de la angiogénesis generando nuevos vasos sanguíneos a partir de los preexistentes alrededor de este, lo que impulsa el crecimiento tumoral (Hida et al., 2016). El rápido crecimiento del tumor da como resultado condiciones hipóxicas dentro de este, sin embargo, las CTT son capaces de sobrevivir en estas condiciones ya que liberan factores como el factor 1 inducible por hipoxia (HIF-1), que a su vez induce la liberación de factores proangiogénicos (Dzobo et al., 2020). En consecuencia, la hipoxia promueve el mantenimiento de CTT en varios cánceres a través de la regulación positiva de programas transcripcionales adaptativos, así como su capacidad de autorrenovación, lo que permite que sobrevivan, desarrollen metástasis e incluso les permite permanecer en lugares inaccesibles para los medicamentos (Najafi et al., 2019).

3.2. Marcadores de superficie e intracelulares

Las CTT expresan marcadores que varían según el tipo de tumor o tejido de origen. Se ha demostrado que algunos de estos marcadores celulares tienen roles funcionales que afectan las características de las CTT. Además, algunos de estos pueden regular la interacción de las CTT

con su nicho, por lo que es imperativo identificar y comprender la función de los antígenos tumorales que expresan (Alvarado et al., 2017).

La mayoría de los marcadores de superficie de CTT descritos actualmente también se expresan en células troncales embrionarias o adultas normales y una minoría se expresa considerablemente en células de tejido normal (Kim & Ryu, 2017). De tal manera, resulta de suma importancia la elección de los marcadores adecuados que permitan distinguir una CTT de una célula sana. Se han descrito alrededor de 50 marcadores de superficie e intracelulares que permiten la caracterización de CTT en diferentes tumores, los cuales han sido recopilados junto con las funciones relacionadas con la progresión tumoral y el mal pronóstico que se les han atribuido al estar sobreexpresadas en las CTT (**Tabla 1**).

Tabla 1. Marcadores de CTT en diferentes tipos de cáncer.

Tipo	Marcador	Cáncer	Función / efecto	Expresión en tejido sano	Referencias
S U P E R F I C I E	CD9 (MRP-1)	Leucemia linfoblástica aguda B	Adhesión celular y quimiorresistencia	En células troncales y en muchos tejidos normales	(Kim & Ryu, 2017; H. R. Sun et al., 2019)
	CD10 (neprisilina)	Mama, cabeza y cuello	Progresión tumoral, invasión y metástasis	En células troncales embrionarias	(Kim & Ryu, 2017; Mishra et al., 2016)
	CD13	Hígado	Tumorigenicidad, quimiorresistencia, autorrenovación, invasión y metástasis	En células troncales adultas mesenquimales	(Kim & Ryu, 2017; L. Liu & Borlak, 2021)
	CD20	Melanoma	Metástasis	En linfocitos B	(Kim & Ryu, 2017)
	CD24	Gástrico, páncreas e hígado	Interacciones célula- célula y célula-matriz, diferenciación, progresión tumoral y metástasis	En células troncales embrionarias y linfocitos B	(Kim & Ryu, 2017; Steinbichler et al., 2018)

CD26 (DPP-4)	Colorrectal y leucemia	Metástasis, tumorigenicidad y quimiorresistencia	En células troncales y algunas células normales	
CD29 (Integrina B1)	Mama y colorrectal	Adhesión celular a la MEC, autorrenovación y quimiorresistencia	En células troncales y ubicuamente en tejido normal	(H. R. Sun et al., 2019)
CD34	Leucemia y carcinoma de células escamosas	Adhesión celular	En células troncales adultas hematopoyéticas	(Steinbichler et al., 2018)
CD44 (subtipos CD44V1-V10)	Cabeza y cuello, gástrico, colorrectal, mama, pulmón, colon, hígado, ovario, glioblastoma, páncreas y próstata	Adhesión, migración celular, proliferación, progresión tumoral, metástasis, angiogénesis y propiedades EMT	En células troncales adultas mesenquimales, hematopoyéticas y de tejido adiposo	(Steinbichler et al., 2018; H. R. Sun et al., 2019; Toledo-Guzmán et al., 2018)
CD49f	Pulmón, gástrico, colon, próstata, mama (CMTN) y glioma	Adhesión celular, proliferación, supervivencia, autorrenovación y crecimiento tumoral	En células troncales y cerebro	(Kim & Ryu, 2017; Toledo Guzmán et al., 2018; Ye et al., 2017)
CD54 (ICAM-1)	Gástrico	Adhesión celular	En leucocitos, células dendríticas y células epiteliales	(Kim & Ryu, 2017)
CD55 (DAF)	Mama, gástrico y pulmón	Inhibe al complemento. Autorrenovación y quimiorresistencia	En algunas células linfoides	(Kim & Ryu, 2017; Saygin et al., 2017)
CD56 (NCAM)	Pulmón	Adhesión celular	En células troncales	(Steinbichler et al., 2018)

			adultas mesenquimales	
CD66	Cervical	Metástasis	En células plasmáticas	(Mohan et al., 2021)
CD90 (THY-1)	Cerebro y hígado	Transducción de señales y adhesión celular. Tumorigenicidad, invasión y metástasis	En células troncales embrionarias, células T y neuronas	(Kim & Ryu, 2017; Steinbichler et al., 2018)
CD96	Leucemia	Receptor de células T. Posiblemente implicado en adhesión célula-matriz	En células T y NK	(Kim & Ryu, 2017)
CD105 (endoglina)	Riñón	Correceptor de TGF- β . Angiogénesis, metástasis, autorrenovación y quimiorresistencia	En células troncales adultas mesenquimales	(Steinbichler et al., 2018; Zanjani et al., 2018)
CD106 (VCAM-1)	Ovario	Adhesión celular. Asociado con invasión y metástasis	En algunas células normales y troncales adultas mesenquimales	(Scalici et al., 2017)
CD114 (CSF3R)	Neuroblastoma	Tumorigenicidad y metástasis	En células troncales adultas de la cresta neural	(Karagiannidis et al., 2021; Kim & Ryu, 2017)
CD123 (IL-3R)	Leucemia mieloide aguda	Quimiorresistencia	Ubicuamente en tejido normal	(Steinbichler et al., 2018; Yan et al., 2018)
CD133	Mama, próstata, colon, hígado, pulmón, ovario,	Diferenciación celular, EMT, proliferación, mantenimiento de	En células troncales embrionarias y	(Schmohl & Vallera, 2016; Steinbichler

	páncreas, cerebro, colorrectal, osteosarcoma, cabeza y cuello	CTT, invasión y metástasis.	otras células proliferativas	et al., 2018; H. R. Sun et al., 2019)
CD146 (MCAM)	Tumor rabdoide maligno y el sarcoma primario	Adhesión celular. Asociado con elevada tumorigenicidad	En células troncales embrionarias, endoteliales y ganglionares	(Kim & Ryu, 2017)
CD166 (ALCAM)	Colorrectal y pulmón	Interacción célula-célula / célula-matriz	En células epiteliales y troncales adultas de intestino y tejido adiposo.	(Kim & Ryu, 2017; H. R. Sun et al., 2019)
CD271	Melanoma de cabeza y cuello, carcinoma de células escamosas de esófago	Receptor del factor de crecimiento nervioso. Diferenciación celular y tumorigénesis	En células troncales adultas mesenquimales y de la cresta neural	(Kim & Ryu, 2017)
CD326 (EpCAM)	Hígado, páncreas, adenocarcinomas, colon y mama	Adhesión celular, progresión del tumor, quimiorresistencia, invasión, metástasis y dediferenciación a fenotipo de CTT	En células epiteliales y células troncales embrionarias	(Steinbichler et al., 2018; H. R. Sun et al., 2019)
P-gp	Mama, páncreas y pulmón	Transportador ABC. Resistencia terapéutica	En algunos tejidos y células troncales adultas neurales	(Gzil et al., 2019)
ABCG2	Pulmón, mama, cerebro y colon	Transportador ABC. Resistencia terapéutica y tumorigenicidad	En células troncales embrionarias y adultas	(Kim & Ryu, 2017; Mohan et al., 2021)
ABCB5	Ocular y melanoma	Transportador ABC. quimiorresistencia, progresión tumoral y metástasis.	En la mayoría de las células de tejidos normales	(Kim & Ryu, 2017; H. R. Sun et al., 2019)

SSEA1	Teratocarcinoma, riñón, pulmón, ovario y cerebro	Progresión tumoral y diferenciación celular	En células troncales adultas cardíacas	(Davidson et al., 2020; Kim & Ryu, 2017)
SSEA3	Teratocarcinoma, mama y colorrectal	Proliferación celular, tumorigenicidad y desdiferenciación	En células troncales embrionarias y mesenquimales	(Steinbichler et al., 2018)
SSEA4	Teratocarcinoma y mama	Invasión, migración y desdiferenciación celular	En células troncales embrionarias, mesenquimales y cardíacas	
TRA-1-60	Teratocarcinoma, mama y próstata	Quimiorresistencia, tumorigenicidad y desdiferenciación celular	En células troncales embrionarias	(Kim & Ryu, 2017)
TRA-1-81	Teratocarcinoma y mama	Desdiferenciación celular	En células troncales embrionarias	
PODXL-1	Leucemia, mama, páncreas, pulmón, testículo y colon	Adhesión celular. Regula la EMT, migración e invasión celular	En células troncales embrionarias y endotelio vascular	(Kim & Ryu, 2017; Lee et al., 2017)
CD117 (C-KIT)	Ovario	Receptor transmembranal. Supervivencia y autorrenovación	En células troncales embrionarias	
CRIPTO-1 (TDGF1)	Mama, colon y pulmón	Activa vía nodal. Asociado con autorrenovación	En células troncales embrionarias	(Kim & Ryu, 2017)
CXCR1,2	Mama y páncreas	Receptor de quimiocinas. Inmunosupresión y clonogenicidad	En células troncales adultas mesenquimales	

SEÑALIZACIÓN	CXCR4	Mama, cerebro, páncreas, leucemia, ovario, pulmón, próstata, colon	Receptor de quimiocinas. Promueve metástasis y crecimiento tumoral	En células troncales adultas neurales	(Gzil et al., 2019; Kim & Ryu, 2017)
	DLL4	Colorrectal y ovárica	Ligando de NOTCH. Promueve metástasis, angiogénesis y el fenotipo desdiferenciado de CTT	En células troncales adultas de intestino y otras células normales	(Kim & Ryu, 2017; Mendonça et al., 2019)
	LGR5	Intestinal y colorrectal	Adhesión celular. Activa la vía Wnt	En células troncales adultas de intestino, riñón, estómago y folículo piloso	(Kim & Ryu, 2017)
	Notch1 (receptor)	Mama, próstata, esófago, glioblastoma y astrocitoma	Induce EMT, progresión tumoral, metástasis y mantenimiento de CTT	Ubicuamente en tejido normal	(Alvarez-Trotta et al., 2021; Zhdanovskaya et al., 2021)
	Notch2 (receptor)	Mama, páncreas, pulmón y hígado	Fenotipo EMT, metástasis y mantenimiento de CTT	En células troncales embrionarias	(Kim & Ryu, 2017; Mollen et al., 2018)
	Notch3 (receptor)	Páncreas, mama, pulmón, ovario, glioma, gástrico y colorrectal	Quimiorresistencia, invasividad y metástasis	En varios tejidos normales y células troncales adultas neurales	(Kim & Ryu, 2017; Zhdanovskaya et al., 2021)
	INTRACELULAR	NESTINA	Glioblastoma, páncreas y próstata	Diferenciación celular y proliferación	En células progenitoras neuronales

FUNCIONAL	ALDH1	Mama, próstata, pulmón, colorrectal, riñón, cabeza y cuello, leucemia, páncreas, esófago, estómago, hueso, piel, boca, ovario	Regula autorrenovación, diferenciación, resistencia a terapias, tumorigenicidad y metástasis	En células troncales, progenitoras y otros tejidos	(Dzobo et al., 2020; Sun et al., 2019; Steinbichler et al., 2018; Vassalli, 2019)
-----------	-------	---	--	--	---

Aunque no existe un marcador universal de CTT que aplique a todos los tipos de cáncer, hay algunos marcadores que se encuentran expresados con mayor frecuencia en ciertos tipos de tumores. Por ejemplo, la glicoproteína transmembranal pentaspán CD133 es un marcador utilizado ampliamente para identificar CTT en diferentes tipos de cáncer, principalmente en tumores sólidos. CD133 promueve la proliferación celular mediante la vía Wnt y su expresión en tumores está relacionada negativamente con la supervivencia de los pacientes (Schmohl & Vallera, 2016). Sin embargo, este se expresa de manera ubicua en células sanas diferenciadas, por lo que se utiliza junto con otras moléculas dentro de un panel de marcadores para diferenciar a las CTT de las células sanas (H. R. Sun et al., 2019).

De manera similar, la molécula de adhesión celular epitelial (EpCAM) se expresa en células epiteliales normales y se ha usado como un marcador de CTT al expresarse en la mayoría de los adenocarcinomas. Se ha considerado que tiene un papel en la progresión del tumor y metástasis. Además, su alta expresión se asocia con la desdiferenciación de las células tumorales a un fenotipo CTT (Kim & Ryu, 2017). Por lo que su recurrencia como marcador de CTT en diferentes tumores y su papel en estas células lo convierten en una molécula relevante.

CD44 es el receptor del glicosaminoglicano hialuronano (HA), esta es una glicoproteína transmembranal que se encuentra en varios tejidos y se expresa en el epitelio embrionario durante el desarrollo. Esta molécula se ha usado como marcador de CTT en varios tipos de cáncer y la interacción con su ligando ha demostrado tener un papel en la agresividad y crecimiento del tumor. Se ha demostrado que CD44 activa Nanog en cánceres de mama y ovario (Bradshaw et al., 2016).

El transductor de señales CD24 se expresa en gran medida en células troncales embrionarias y linfocitos B modulando señales de crecimiento y diferenciación para estas células, mientras que también se ha detectado en varios tumores donde usualmente se correlaciona una baja expresión con una baja diferenciación (Steinbichler et al., 2018). Comúnmente las células CD24-

se asocian con fenotipos de CTT en CM, sin embargo, se ha reportado que CD24⁺ también puede ser marcador de CTT en algunos tumores, como en el cáncer gástrico (Toledo-Guzmán et al., 2018).

Los transportadores del casete de unión a ATP (ABC) son una familia de 49 proteínas de membrana que contribuyen al mantenimiento de la homeostasis química y la defensa contra alteraciones ambientales en varios tejidos normales (Cojoc et al., 2015). Sin embargo, estos transportadores también participan en la salida de los fármacos de la célula y contribuyen a la resistencia terapéutica en diferentes cánceres ya que suelen estar sobreexpresados en CTT, ayudando a mantener la concentración del fármaco dentro de las células por debajo del nivel tóxico. Se ha reportado que las CTT hepáticas con fenotipo CD133⁺/ CD44⁺ son más resistentes a los agentes quimioterapéuticos como consecuencia a una mayor expresión de los transportadores ABC (ABCB1, ABCC1 y ABCG2) (N. Wang et al., 2018).

Aldehído deshidrogenasa (ALDH) es una familia de enzimas intracelulares que previenen el estrés oxidativo de la célula. Además de expresarse en células normales, usualmente en el hígado, son un marcador funcional de CTT ampliamente usado en diversos tumores (Dzobo et al., 2020). Se ha descrito que una alta actividad de ALDH enriquece las células con mayores propiedades similares a las de CTT en neoplasias malignas sólidas y se asocia con radio y quimiorresistencia (Moharil et al., 2017; Toledo-Guzmán et al., 2018). Esta familia de enzimas participa en el metabolismo de agentes quimioterapéuticos y protege a las células al neutralizar los efectos tóxicos de los mismos y de sus metabolitos, como es el caso de la ciclofosfamida (Tamayo-Chuc & Garza-González, 2015).

3.3. Vías de señalización

Varias vías de señalización se activan o inhiben de forma anormal en las CTT, estas son conocidas porque contribuyen a las propiedades de supervivencia, proliferación, autorrenovación y diferenciación en células troncales normales (Espinosa-Sánchez et al., 2020). Estas vías de desarrollo pueden ser reguladas por genes y microARN e inducir la expresión de genes relacionados con factores de crecimiento, citocinas, apoptosis y proliferación. Por tanto, la desregulación de estas vías y la diafonía entre ellas influyen en el mantenimiento, la supervivencia, la capacidad de iniciar tumores y la promoción de metástasis de las CTT (L. Yang et al., 2020). Resultando de gran importancia comprender el papel de estas vías y la interacción

entre ellas para ayudar al desarrollo de terapias dirigidas a la señalización en CTT y así mejorar la eficacia de las terapias contra el cáncer.

Notch

La actividad desregulada de esta vía se ha observado en varios cánceres, incluidos leucemia, glioblastoma, mama, pulmón, páncreas y colon (Espinosa-Sánchez et al., 2020). La señalización de Notch participa en la comunicación entre células adyacentes a través de la interacción del ligando en una célula con el receptor transmembranal en la célula vecina, esto inicia la escisión proteolítica del dominio citoplásmico del receptor primero por una desintegrina y metaloproteinasas (ADAM 10 o ADAM 17) y posteriormente por la γ -secretasa. Tras el desprendimiento del dominio intracelular, este se transloca al núcleo e induce la transcripción de genes diana al interactuar con factores nucleares (Saygin et al., 2019). Notch consta de cinco ligandos: ligando tipo Delta 1 (DLL 1), DLL3, DLL4, Jagged1 y Jagged2; y cuatro receptores de notch: Notch1, Notch2, Notch3 y Notch4 (Iqbal et al., 2016). La expresión de receptores y ligandos Notch varía en diferentes tumores, por ejemplo, se ha reportado que la alta expresión de Notch1 y Jag1 se asocia con una supervivencia general (SG) deficiente en el CM, lo que destaca la importancia de esta vía de señalización en el cáncer (Sharma et al., 2021). Se ha propuesto que esta vía puede ser necesaria para mantener el estado indiferenciado de las CTT, al promover la EMT, y se ha demostrado que promueve la supervivencia celular, la autorrenovación, la metástasis, inhibe la apoptosis y está asociada con la inmunosupresión favoreciendo la progresión del cáncer (Yang et al., 2020). La señalización de Notch activada puede actuar como un promotor o supresor de tumores en diferentes tejidos, según el contexto (Espinosa-Sánchez et al., 2020; Matsui, 2016).

Wnt

La vía Wnt incluye 19 ligandos y más de 15 receptores. La vía de señalización se puede dividir en señalización Wnt canónica: involucra al regulador transcripcional β -catenina, el factor de transcripción específico de células T (TCF) y el factor de unión al potenciador linfóide (LEF), que se ha implicado en la tumorigénesis; y señalización Wnt no canónica: una vía de señalización de la polaridad celular plana que regula el citoesqueleto y la vía de señalización Wnt/calció, que participa en la regulación del calcio intracelular, ambas independientes de β -catenina (L. Yang et al., 2020). La señalización canónica activa de Wnt permite la acumulación y translocación de β -catenina al núcleo, donde activa la expresión de los genes diana de Wnt junto con los factores

de transcripción TCF-LEF (Saygin et al., 2019). Esta señalización participa en el mantenimiento de las CTT y en la carcinogénesis en varios tumores, incluyendo de intestino, pulmón, mama, sistema nervioso, piel, tracto urinario y leucemias (Matsui, 2016). Varios estudios han demostrado que la activación de Wnt en CTT es importante para la autorrenovación, la tumorigénesis, la desdiferenciación, la inhibición de la apoptosis, la metástasis, la quimiorresistencia e induce la transformación de CTT latentes en activas para promover la progresión del ciclo celular a través de β -catenina (Matsui, 2016; Mohan et al., 2021).

Hedgehog (Hh)

Esta vía incluye 3 ligandos Hedgehog secretados (Sonic, Desert e Indian), su receptor análogo Patched, la proteína transmembrana Smoothened y 3 factores de transcripción Gli que activan (Gli1 o 2) o reprimen la vía (Gli3 o 2). El receptor Patched es un inhibidor constitutivo de Smoothened. En este estado, la transcripción del gen diana es reprimida por Gli3 y Gli2-R. Al unirse el ligando a Patched, se deja de inhibir Smoothened, lo que permite que los activadores transcripcionales Gli1 y Gli2-A faciliten la transcripción de genes diana que están implicados en la supervivencia, la proliferación y la angiogénesis (Matsui, 2016). Esta señalización involucra vías canónicas (PTCH1-SMO-GLI) y no canónicas (independientes de SMO). Se ha observado que las mutaciones en la vía de Hh conducen a la tumorigénesis y la proliferación de tumores. (Iqbal et al., 2016). El papel de la vía Hh en CTT ha sido reportado en varios cánceres, incluido el carcinoma de células basales (BCC), el mieloma múltiple, el glioblastoma, la leucemia mieloide crónica (LMC) y el cáncer de colon (Matsui, 2016). La vía Hh participa en el mantenimiento de la troncalidad, la autorrenovación, la tumorigenicidad y la regeneración de CTT, por lo que su activación desencadena respuestas celulares, como la supervivencia, proliferación, metástasis y diferenciación celular (L. Yang et al., 2020). Se informó que la señalización de Hh no canónica es un regulador positivo de la señalización de Wnt en las CTT de colon (Regan et al., 2017).

NF- κ B

El factor nuclear κ B (NF- κ B) es un factor de transcripción rápidamente inducible que consta de 5 proteínas que funcionan como dímeros (p65, RelB, c-Rel, NF- κ B1 y NF- κ B2) y se inactivan en el citoplasma al estar unidas a proteínas I κ B inhibitoras de NF- κ B. En la vía canónica de transducción de señales de NF- κ B, la activación se da tras la unión de ligandos, como TNF- α o IL-1 β , a sus respectivos receptores. Posteriormente se reclutan proteínas adaptadoras que

activan a las IKK que dirigen a las proteínas I κ B a su degradación, lo que libera al NF- κ B (dímero p65/p50) permitiendo su translocación al núcleo para activar la transcripción de genes diana (Espinosa-Sánchez et al., 2020; Matsui, 2016). Por otra parte, existe una vía NF- κ B no canónica que es activada por diferentes receptores, como RANK y CD40, señalizando mediante la cinasa NIK que activa a IKK α . En esta vía el dímero p100/RelB se procesa en dímero p52/RelB que se transloca al núcleo y activa la transcripción (Matsui, 2016). A comparación de otras vías de señalización no se ha establecido que la vía NF- κ B participe en las funciones de células troncales normales, esta vía es de importancia para las respuestas inmunes e inflamatorias. Sin embargo, se ha descrito que regula la autorrenovación de las CTT y tiene un papel en el desarrollo del cáncer mediante su contribución inflamatoria y al regular genes implicados en la supervivencia, proliferación, metástasis y tumorigénesis. Se ha informado la sobreactivación de la vía NF- κ B en tumores y líneas celulares gastrointestinales, genitourinarias, torácicas, de cabeza y cuello, de mama y en neoplasias hematológicas (L. Yang et al., 2020).

JAK/STAT

Esta es una vía de transducción de señales que se activa por la unión de diversos ligandos, como interleucinas, interferones, hormonas y factores de crecimiento, a sus respectivos receptores. Al unirse el ligando, se promueve la oligomerización del receptor y la agregación de las proteínas JAK (JAK1-3 y TYK2) para su activación alrededor del dominio citoplásmico del receptor, promoviendo la fosforilación de este dominio y el reclutamiento de la familia STAT (STAT1-4, STAT5a, STAT5b, STAT6). En este punto las STAT se fosforilan al asociarse con las JAK, resultando en la dimerización y la translocación al núcleo para iniciar la transcripción de los genes diana (Matsui, 2016). Esta vía promueve la supervivencia, la autorrenovación, la hematopoyesis y la neurogénesis de las células troncales embrionarias. Adicionalmente, participa en procesos biológicos importantes, como la proliferación celular, la diferenciación, la apoptosis y la regulación inmunológica. Se han encontrado mutaciones en JAK y la activación aberrante de STAT (STAT3 y STAT5 entre los más reportados) en neoplasias hematológicas y cánceres de cabeza y cuello, endometrio, mama, colorrectal y glioma. Finalmente, se ha informado el papel de la señalización JAK/STAT en la supervivencia, autorrenovación y metástasis de CTT. Por ejemplo, la activación persistente de STAT3 promueve la supervivencia y el mantenimiento de la troncalidad en CTT de mama (Yang et al., 2020).

TGF- β

Los ligandos de la superfamilia de TGF- β (Proteínas morfogenéticas óseas [BMP], factores de crecimiento y diferenciación [GDF], hormona anti-Mulleriana [AMH], activina, proteínas Nodal y TGF- β .) se unen a un receptor de tipo II, que recluta y fosforila a un receptor de tipo I, este a su vez fosforila a los Smad regulados por el receptor (R-Smad), que se unen a la vía común Smad (co-Smad). Este complejo formado R-Smad/co-Smad actúa como factor de transcripción acumulándose en el núcleo para regular la expresión de genes diana. La vía de señalización del TGF- β está involucrada en muchos procesos celulares asociados con el desarrollo de organismos y embriones, incluida la proliferación celular, diferenciación, apoptosis y homeostasis (L. Yang et al., 2020). Estudios han demostrado que la activación de la señalización de TGF/SMAD participa en la EMT, la proliferación, la autorrenovación en CTT de diferentes cánceres humanos, incluyendo cáncer de próstata, pulmón, hígado, colorrectal, glioma, mama y gástrico (Heise & Sommer, 2021; L. Yang et al., 2020). Se ha reportado que SMAD4 tiene un papel principal en la EMT inducida por TGF- β como factor clave en la obtención de características de CTT y agresividad tumoral (Rasti et al., 2021).

Fosfatidilinositol 3- cinasa (PI3K)

En respuesta a la unión del ligando al receptor tirosina cinasa, PI3K intracelular fosforila el lípido de membrana PIP2 para convertirlo en PIP3, funcionando como un sitio de acoplamiento para la proteína cinasa B (PKB o AKT). Esta unión permite que la PKB se active mediante varias cinasas, incluida mTOR y la proteína cinasa dependiente de ADN, promoviendo la fosforilación mediada por PKB y la activación o represión de mediadores posteriores. La señalización de PI3K participa en la regulación de varios procesos celulares, incluidos el crecimiento y la supervivencia en respuesta a la activación por factores de crecimiento, integrinas y citocinas, entre otros ligandos (Matsui, 2016; J. H. Park et al., 2020). Se ha observado la activación de PKB o inactivación de la fosfatasa PTEN (regulador negativo de la vía) en tumores sólidos, leucemias y neoplasias mieloproliferativas. Como ejemplo, se ha reportado que la señalización de PTEN desempeña un papel supresor en el mantenimiento de la troncalidad de CTT de mama (Bahena-Ocampo et al., 2016). Se ha informado que el eje PI3K/AKT regula al alza la expresión de Sox2 promoviendo la generación de CTT colorrectales radiorresistentes (J.-H. Park et al., 2021). Recientemente se han descrito anomalías de la vía PI3K/ AKT en diversos tipos de cáncer humano los cuales están estrechamente relacionados con tumorigénesis, proliferación, crecimiento, apoptosis, invasión, metástasis, EMT, fenotipo tipo CTT, microambiente inmunológico y farmacorresistencia de las células cancerosas (N. Jiang et al., 2020). Como ejemplo de ello, la señalización de PI3K/AKT en cánceres del tracto gastrointestinal regula el crecimiento del tumor facilitando la expresión de

factores relacionados con la pluripotencia, la capacidad migratoria y la resistencia a la radiación (S.-R. Park et al., 2020).

Hippo

El principal objetivo de la vía Hippo es YAP y su coactivador transcripcional TAZ. En el núcleo, YAP / TAZ pueden unirse y regular una familia de factores de transcripción específicos de secuencia llamados proteínas de unión al ADN de TEA (TEAD1-4) que modulan genes y regulan procesos biológicos involucrados en la proliferación, supervivencia, la diferenciación celular y la homeostasis tisular (Espinosa-Sánchez et al., 2020). Esta vía se puede desregular y conducir a la oncogénesis y, posteriormente, favorecer la metástasis y farmacorresistencia de las células tumorales (Calses et al., 2019). Se ha demostrado que los efectores de la vía Hippo activados por YAP/TAZ inducen las propiedades de las CTT, incluidas el fenotipo EMT, el desarrollo de metástasis, quimiorresistencia y supervivencia tras daño al ADN, en varios cánceres humanos, incluidos el osteosarcoma, el glioblastoma, de mama y melanoma (Espinosa-Sánchez et al., 2020).

ERK

Las vías de señalización de proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK) son importantes en la regulación de la proliferación, supervivencia y diferenciación celular normal. La regulación aberrante de las vías MAPK favorecen el desarrollo del cáncer; en particular, la cinasa regulada por señales extracelulares (ERK). ERK consta de p44 ERK1 y p42 ERK2. MEK1 / 2 activa ERK a través de la fosforilación dual de tirosina y treonina. La inhibición de la vía ERK es un mecanismo eficaz para promover la muerte celular y suprimir la expresión de marcadores de CTT de CM. Se ha descrito que la señalización de ERK activada de forma aberrante tiene un papel importante en la proliferación, la supervivencia, la metástasis y la inducción del fenotipo EMT de las células cancerosas, además se ha estudiado su participación en la resistencia a la radioterapia y en el mantenimiento de la troncalidad del cáncer (Paramanatham et al., 2021).

Adicional al papel que tienen cada una de estas vías de señalización existen interacciones entre estas que permiten la regulación de las CTT. Por ejemplo, la vía de señalización de Wnt/ β -catenina y NF- κ B trabajan juntas para promover la supervivencia celular y la proliferación de CTT. La señalización de IL-6/JAK/STAT3 y TGF β /SMAD inducen la proliferación y metástasis de las CTT pulmonares. Además, las no-CTT pueden activar las vías NF- κ B y JAK / STAT3 en las CTT

para promover la proliferación y mantener la autorrenovación en carcinoma hepatocelular. Por otra parte, las vías Notch e IKK / NF- κ B en conjunto pueden regular la proliferación y metástasis de las CTT cutáneas. Finalmente, la señalización de PI3K / mTOR regula al alza la expresión de la proteína STAT3 para promover la supervivencia y la proliferación de las CTT mamarias (L. Yang et al., 2020). Todas estas vías y las interacciones entre ellas dirigen las respuestas celulares de las CTT dentro de los tumores.

3.4. Factores de transcripción de CTT

Las CTT también expresan algunos factores de transcripción (FT) críticos que tienen un papel clave en la inducción de pluripotencia y autorrenovación en las células. Los FT asociados a la troncalidad, Pou5f1 (también conocido como Oct4), Sox2, Nanog, c-Myc, Klf4 y SALL4, se expresan tanto en las CTT de diversos tumores como en las células troncales adultas y embrionarias, pero con distintas funciones mecanicistas entre ellas. La expresión aberrante de estos FT se asocia con el inicio del tumor, la progresión y la resistencia a la terapia (Mohiuddin et al., 2020; Villodre et al., 2016). La sobreexpresión de estos FT en las CTT regula vías de señalización, como Wnt, STAT3 y NF- κ B, para promover la tumorigenicidad y la supervivencia celular en respuesta a los tratamientos del cáncer (Cheng et al., 2018; T. Huang et al., 2020).

Pou5f1 (Oct4) está implicado en múltiples procesos, incluido el mantenimiento de células troncales y la embriogénesis, sin embargo, la expresión aberrante del gen *POU5F1* en tejidos adultos se asocia con tumorigénesis (T. Huang et al., 2020). Este FT suele sobreexpresarse en CTT de varios tipos de cáncer humanos como mama, páncreas, pulmón y glioma, y está asociado con la resistencia a la terapia, un mal pronóstico clínico y una menor supervivencia (Villodre et al., 2016). Este factor puede regular la expresión de varios genes, por ejemplo, los relacionados con la EMT y CXCR4, promoviendo el crecimiento tumoral y la metástasis (Mohiuddin et al., 2020). Además, Oct4 puede ser activado por el factor inducible por hipoxia 2 α (HIF-2 α) regulando la autorrenovación de las CTT y aumentando el potencial maligno de los tumores (H. R. Sun et al., 2019).

Sox2 participa en el desarrollo embrionario y el mantenimiento de la troncalidad en células troncales embrionarias y adultas, mientras que en CTT participa en la regulación de la autorrenovación, el crecimiento tumoral y la respuesta a la terapia. La expresión desregulada de Sox2 se asocia con proliferación, la EMT, el desarrollo de CTT, la resistencia a la apoptosis y a la quimioterapia (T. Huang et al., 2020). En glioblastoma, el silenciamiento de *SOX2* se asoció

con un aumento de la senescencia celular y una reducción en sus capacidades de crecimiento celular, migración, invasión y tumorigenicidad (Garros-Regulez et al., 2016). Adicionalmente, Sox2 es capaz de modular la expresión de Oct4 en las CTT (H. R. Sun et al., 2019).

Nanog tiene una participación fundamental en el desarrollo embrionario y la reprogramación celular. Las CTT sobreexpresan este FT en diferentes tipos de cáncer incluidos el de hígado, próstata, colorrectal y cerebral, mientras que está regulado a la baja en tejidos sanos diferenciados (Najafzadeh et al., 2021). Nanog regula las propiedades fundamentales de las CTT como la proliferación celular, el ciclo celular, la autorrenovación ilimitada, EMT, metástasis, invasividad, angiogénesis, tumorigenicidad, reprime la apoptosis y conduce a la farmacoresistencia; con la ayuda de Oct4, Sox2 regula las vías de señalización Wnt, Notch, Hedgehog, TGF- β y otros (Grubelnik et al., 2020; T. Huang et al., 2020).

La familia de protooncogenes **MYC** (c-Myc, N-Myc y L-Myc) codifican para la síntesis de factores de transcripción que se unen al ADN para regular la expresión de múltiples genes y tienen funciones importantes en la tumorigénesis y la resistencia terapéutica. c-Myc es la proteína desregulada con más frecuencia en los tumores y la evidencia sugiere que regula varias funciones celulares del cáncer, incluidas el ciclo celular, la supervivencia, la proliferación, la reprogramación metabólica (T. Huang et al., 2020; Yoshida, 2018). Se ha demostrado que la reprogramación oncogénica y epigenética inducida por c-Myc conduce a la adquisición de un fenotipo CTT y como resultado favorece la heterogeneidad intratumoral y contribuye a la progresión del tumor (Lee et al., 2017; Yoshida, 2018). Además, se ha sugerido que c-Myc es importante para la respuesta de reparación del ADN (H. R. Sun et al., 2019).

Klf4 es un factor de transcripción con dedos de zinc que participa en la regulación del ciclo celular y el mantenimiento de la pluripotencia celular (T. Huang et al., 2020). La sobreexpresión de este factor se ha descrito en varios tipos de cáncer entre los que están mama, glioma, osteosarcoma, colorrectal, páncreas e hígado. En un estudio se demostró que la regulación recíproca entre Klf4 y la integrina β 4 (ITGB4) promovió la autorrenovación, la migración y la proliferación de las CTT de glioma (Ma et al., 2019). Se ha demostrado que Klf4 mejora la capacidad de formación de esferas, la resistencia a los fármacos y el potencial metastásico en las CTT de osteosarcoma mediante la activación de la vía de señalización de MAPK (Qi et al., 2019). Por otra parte, Klf4 puede inducir un fenotipo similar a CTT en no-CTT de hígado mediante la regulación positiva de la expresión de las moléculas EpCAM y E-Cadherina (Karagonlar et al., 2020).

SALL4 es un factor de transcripción de dedos de zinc que se expresa en las células troncales embrionarias que se ha descrito que puede regular la expresión de otros factores de transcripción, como lo es Nanog. SALL4 se ha reportado en varios tipos de cáncer, incluyendo glioblastomas, pulmonar, mama y hepático, teniendo una participación en la proliferación celular. El uso de SALL4 como marcador de CTT ha sido reportado en GBM (Bradshaw et al., 2016).

La complejidad alrededor de las CTT, descrita en este segundo capítulo, se puede resumir en la **Figura 2**.

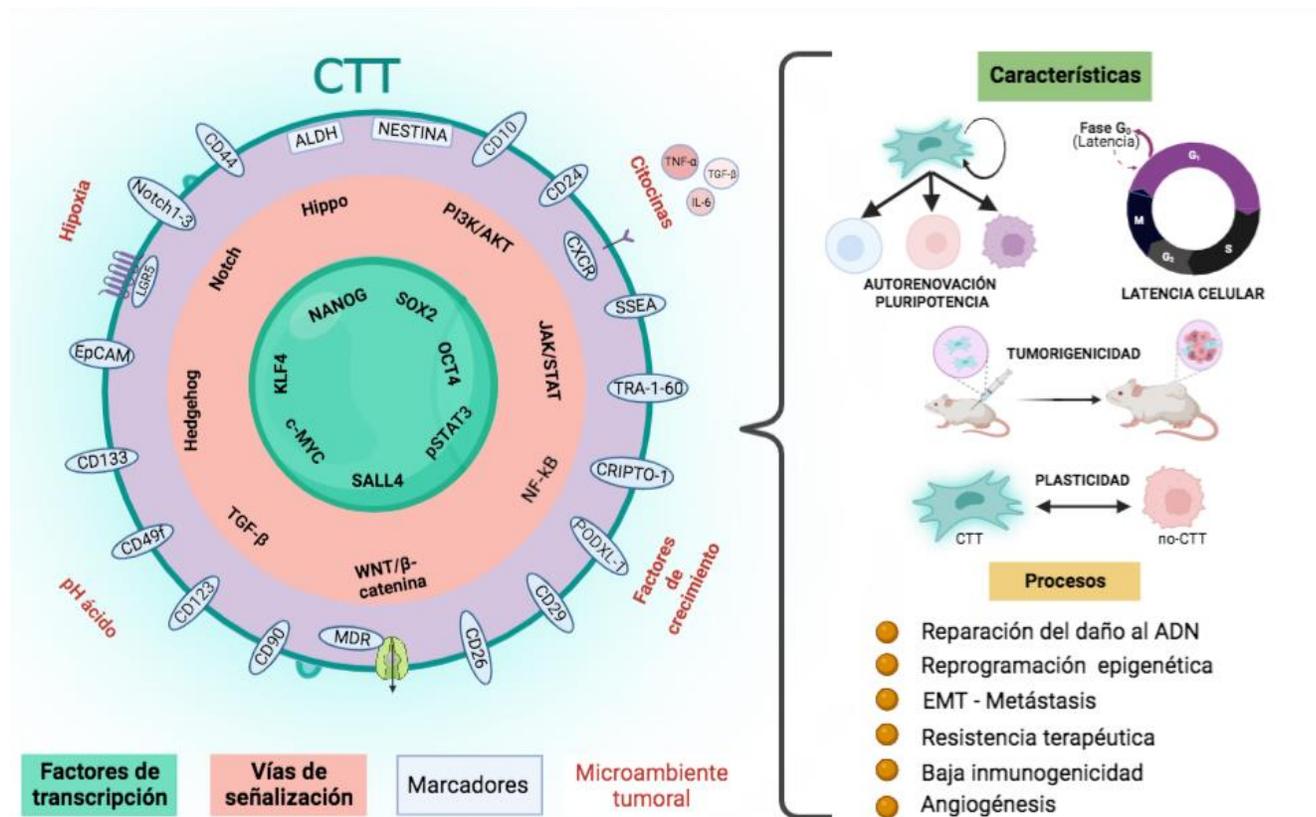


Figura 2. Representación de la complejidad de las CTT. Conjunto de marcadores, vías de señalización y factores de transcripción que regulan las características y procesos asociados a CTT. (Creado con BioRender).

3.5. Estrategias de caracterización o estudio de CTT

Los marcadores celulares de superficie y funcionales han sido herramientas fundamentales para identificar fenotípicamente a las CTT y distinguirlas de otras células tumorales. Dado que no existe un marcador universal para las CTT, ya que expresan marcadores específicos según el tipo de tumor o tejido de origen, resulta de gran importancia usar combinaciones adecuadas de marcadores de superficie y funcionales para su identificación. A continuación, se recopilan el conjunto de marcadores empleados para identificar CTT según el tipo de cáncer (**Tabla 2**).

Tabla 2. Conjunto de marcadores empleados para identificación de CTT tumor específico.

Tumor	Marcadores CTT	Referencias
Cabeza y cuello	CD44+ , CD133+ , Nanog , Oct4 , ALDH1+, SSEA1+,	(Dzobo et al., 2020; Najafzadeh et al., 2021; Turdo et al., 2019)
Colorrectal	CD44 + , CD133 + , CD166+ , ALDH1A1 + , Lgr5+, CD24 +, CD26+, EpCAM+, Nanog,	(Dzobo et al., 2020; Najafzadeh et al., 2021; Turdo et al., 2019)
Esofágico	CD44+ , Integrina $\alpha 7$ + , ALDH1A1+	(Dzobo et al., 2020)
Gástrico	CD44+ , CD24+ , CD133+ , Nanog, Oct4, Sox2 Lgr5	(Dzobo et al., 2020; Najafzadeh et al., 2021)
Glioblastoma múltiple	CD133+ , CD24+ , CD44+ , BMI-1 , CD15, GFAP, SSEE-1, IL13R α 2, A2B5+, Nanog, Sox2, SALL4, STAT3, Nestina, c-Myc, KLF4	(Bradshaw et al., 2016; Dzobo et al., 2020; Wen et al., 2019)
Glioma	CD133+ , CD44+ , A2B5+ , Klf4, BCRP1+, SSEA-1+	(Dzobo et al., 2020; Ma et al., 2019)
Hígado	CD24+ , CD44+ , CD90+ , CD133+ , ALDH+ , CD13+, EpCAM +, ABCG2+, Klf4, CD49f+	(Karagonlar et al., 2020; Turdo et al., 2019)

Leucemia mieloide aguda	CD34 +, CD38-, CD123 + , CD47+, Oct4, ALDHA1, CLL-1, Nanog	(Moharil et al., 2017; Najafzadeh et al., 2021)
Leucemia mieloide crónica	CD26+, ALDHA1+ , CD25+, CD44+, CD93+, IL1RAP+, Sox2, Nanog	(Dzobo et al., 2020; Mohan et al., 2021)
Mama	CD24-/low, CD44+, CD133+, ALDH1A1/1A3 + , CD49f, Nanog, Oct4, Sox2, EpCAM+, CD20+, LGR5+	(Mohan et al., 2021; Najafzadeh et al., 2021; Ye et al., 2017)
Melanoma	ABCB5+, CD20+, CD133 , ALDH+, CD271+, ABCG2+	(Kumar et al., 2017)
Oral de células escamosas	CD24-, CD44+, CD133+ , ALDH+, Oct4, Nanog, Sox2	(L. H. Wang et al., 2018)
Ovario	CD44+, CD117+, CD133+, ALDH1+ , CD24-, CXCR4+, CD105+, CD106+, Oct4, Nanog, Sox2, Klf4	(Dzobo et al., 2020; Mohan et al., 2021; Najafzadeh et al., 2021)
Páncreas	CD24+, CD44 +, CD133 +, EpCAM + ALDH3A1+, ABCG2, ABCB1, Nestina, CXCR4, Oct4, Nanog, Sox2	(Dzobo et al., 2020; Gzil et al., 2019; Mohan et al., 2021)
Próstata	CD44+, CD133 +, $\alpha 2\beta 1+$, CD24-, CD49f, ALDH+, ABCG2+, ABCB1+, ABCC1+, CXCR4, Oct4, Sox2, Nanog	(Dzobo et al., 2020; Mohan et al., 2021; Najafzadeh et al., 2021)
Pulmón	CD44+, CD133+, ABCG2+, ALDH1+ , CD90+, CD117+, CD87+, Nanog, Oct4, SSEA-1	(Dzobo et al., 2020; Najafzadeh et al., 2021)
Riñón	CD44 +, CD105+, CD133+ , CD24-, CD29+, CD90+, CXCR4+, ALDH, Nanog, Oct4, Nestina	
Sarcoma	CD44+, CD133+, ALDH1+ , CD29+, CD117+, Nestina+, Stro-1+	(Dzobo et al., 2020)
Testicular	CD44+, Nanog, Oct4, Sox2	(Najafzadeh et al., 2021)
Útero	CD133+, CD49f+, CK-17+, ALDH1+ , CD44+, BMI1, ABCG2, Nanog, Oct4, Sox2	(Gao et al., 2021; R. Huang et al., 2016)

NEGRITAS: panel de marcadores frecuentemente usados.

Se ha observado que muchos de estos paneles de marcadores, a pesar de utilizarse para tipos de cáncer con el mismo tejido de origen, pudieran ser útiles solo para ciertos modelos de estudio y no para todos. Debido a esto solo puede utilizarse un panel de marcadores para aquellos modelos de cáncer donde se haya validado previamente que el fenotipo molecular distingue células con características de CTT, o en su defecto realizar dicha validación (Velasco-Velázquez et al., 2019).

3.5.1. Estrategias experimentales

Los métodos experimentales utilizados para identificar a las CTT incluyen desde su aislamiento basado en inmunofluorescencia y el uso de sistemas reporteros, hasta el empleo de ensayos funcionales, incluyendo la formación de esferas tumorales, la formación de tumores *in vivo* y la clasificación de poblaciones laterales. Estos métodos no son específicos ni totalmente eficientes de manera individual por lo que es necesario su uso combinado para obtener una población celular con un alto contenido de CTT (**Figura 3**) (Dzobo et al., 2020). Por lo tanto, un estudio adecuado de CTT debe complementar el uso de diferentes técnicas de identificación y/o cuantificación más ensayos funcionales de CTT, es decir, las técnicas de análisis de marcadores, como lo son la inmunofenotipificación y el uso de sistemas de genes reporteros, deberían realizarse seguidos de ensayos funcionales con el fin de explorar los cambios funcionales en esta población celular.

Un método experimental ampliamente utilizado es la cuantificación de la fracción de CTT mediante citometría de flujo usando marcadores de superficie celular de CTT o midiendo la fluorescencia de la actividad de ALDH. En este caso las células se tiñen con anticuerpos marcados con fluorescencia contra moléculas de superficie específicas lo que permite identificar a las células que expresan los marcadores de las que no. Para identificar a las CTT basados en la actividad de ALDH se usa el sustrato BODIPY-aminoacetaldehído (BAAA) que es convertido en BODIPY-aminoacetato (BAA-) por la ALDH, siendo este un producto fluorescente que puede ser detectado por citometría de flujo, el cual es el fundamento del producto comercial ALDEFLUOR® (Velasco-Velázquez et al., 2019). Las células teñidas podrían purificarse o aislarse usando clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS) o clasificación de células activadas magnéticamente (MACS) para su posterior uso en los ensayos funcionales, considerando que deben analizarse en un periodo corto de tiempo para evitar que las CTT

pierdan su fenotipo y restauren la heterogeneidad del tumor original (L. Liu & Borlak, 2021; Steinbichler et al., 2018)

Una de las técnicas de estudio prometedoras ha sido el desarrollo de sistemas reporteros que permiten monitorear en tiempo real ciertos marcadores intracelulares de CTT. Estos sistemas pueden definir funcionalmente a las CTT con base en su expresión de genes centrales de pluripotencia (*nanog*, *sox2*, *oct4*) o por la activación de vías de señalización (Vía Wnt, Notch, etc) teniendo como resultado la expresión de alguna molécula reportera (Saygin et al., 2019). Entre los sistemas de genes reporteros que han sido desarrollados basándose en los promotores de estos marcadores de CTT están NANOG-GFP, SOX2-EGFP, OCT4-EGFP, SORE6 (basado en OCT4 y SOX2), NOTCH-GFP, hTERT-GFP, s-SHIP-GFP, AFP-EGFP, ABCG2-Luciferasa, ALDH1A1-DsRed2 (Mohan et al., 2021; Saygin et al., 2016). Estos sistemas, junto con los ensayos funcionales *in vitro* e *in vivo*, pueden evaluar los cambios en la población de CTT, incluyendo procesos de diferenciación celular. Para este fin, deben incluirse ensayos de viabilidad y confirmar el subtipo celular que se está monitoreando (Salinas-Jazmín et al., 2021).

Dentro de los ensayos funcionales, el ensayo de xenotrasplante es considerado como el estándar de oro para la identificación de CTT ya que evalúa su potencial tumorigénico y de autorrenovación mediante la formación de nuevos tumores en ratones. Este consiste en inyectar CTT en ratones inmunodeficientes y analizar el crecimiento macroscópico del tumor (Dzobo et al., 2020; Moharil et al., 2017; Steinbichler et al., 2018). Los ensayos de formación de tumores *in vivo* son esenciales para afirmar la presencia de CTT, que además pueden ser usados para estudiar su potencial metastásico. La formación del tumor permite estudiar la frecuencia de las células troncales cuando se realiza en un formato de trasplante por dilución limitante (LDT), donde se utilizan entre cuatro y diez ratones. Adicionalmente, se puede evaluar la preservación del potencial tumorigénico en un formato de pases seriados de células con el mismo formato de LDT. Algunas desventajas de este ensayo es que requiere mucho tiempo para evaluar el efecto, resulta metódicamente complejo y se puede llegar a utilizar una cantidad considerable de animales (Velasco-Velázquez et al., 2019).

Los ensayos de formación de colonias y esferas miden el potencial tumorigénico, de autorrenovación y la capacidad metastásica de CTT mediante su capacidad para formar colonias en agar blando o en esferas flotantes en el medio (Steinbichler et al., 2018). En el segundo caso, las células se cultivan en medio sin suero que contiene factores de crecimiento, como el factor de crecimiento epidérmico y glutamina. Estas condiciones permiten que únicamente las CTT

prolifere en esferas densas no-adherentes y permanezcan indiferenciadas, mientras que las no-CTT solo pueden crecer lentamente y de forma adherente (L. Liu & Borlak, 2021). Este ensayo permite estimar la fracción de células con fenotipo troncal dentro de la masa tumoral. En formato de pasajes seriados de células derivadas de esferas se podrían evaluar cambios en el potencial de autorrenovación. Adicionalmente, este también es un método utilizado para el enriquecimiento de la población de CTT sin necesidad de separarlos físicamente del resto de células tumorales para su uso posterior en otros ensayos (Velasco-Velázquez et al., 2019).

Otra forma de identificar funcionalmente a las CTT es el ensayo de exclusión de colorante de la población lateral (SP). Este se basa en la actividad de las proteínas transportadoras ABC altamente expresadas en las CTT, ya que al exportar al colorante no permite que se tiñan las células y al analizarlas aparecen en una población lateral sin teñir (L. Liu & Borlak, 2021). Para las tinciones puede utilizarse PKH26 y colorantes de Hoechst (bis-benzimidazoles), estos últimos son colorantes azules que tiñen el ADN, entre los que está Hoechst33342. Una limitante de este ensayo es que algunas no-CTT también expresan ABCG2 y ABCB1 complicando su uso en esos casos (Steinbichler et al., 2018).

Finalmente, un ensayo de citotoxicidad de quimioterapéuticos puede reforzar la identificación de las CTT debido a la resistencia intrínseca que presentan a estos agentes farmacológicos. De tal forma, numerosos estudios han caracterizado a las poblaciones de CTT como células resistentes a diferentes terapias convencionales, como ha sido descrito anteriormente en las características generales de CTT. Por otra parte, estos ensayos también se realizan al momento de evaluar si una nueva molécula o fármaco es eficaz eliminando a esta población.

Estos métodos también resultan útiles para evaluar la eficacia de nuevas terapias en la inhibición funcional de las CTT. Se han considerado tres ensayos estándares en evaluaciones preclínicas de fármacos anti-CTT: cuantificación de la fracción de CTT mediante inmunofenotipificación, la habilidad de formación de esferas *in vitro* y la capacidad tumorigénica *in vivo*. El ensayo de dilución limitante *in vivo* es el estándar de oro para evaluar los agentes que se dirigen al potencial tumorigénico de las CTT. Varias investigaciones preclínicas han basado la selección de potenciales fármacos capaces de disminuir la fracción de CTT mediante la inhibición de la formación de esferas (Velasco-Velázquez et al., 2019).

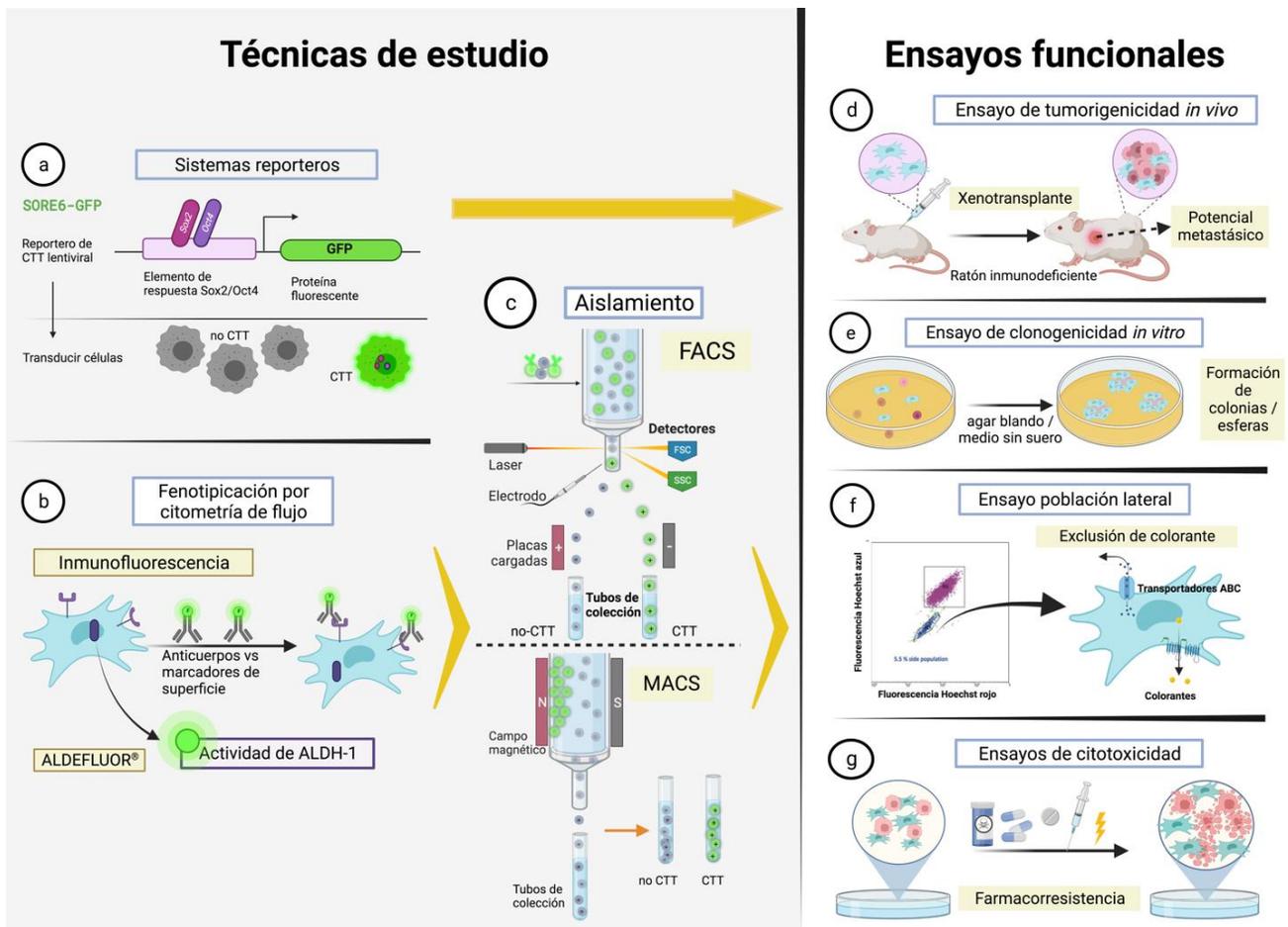


Figura 3. Estrategias experimentales para el estudio de las CTT. Técnicas de estudio: a) Seguimiento mediante sistemas reporteros, ejemplo de SORE6-GFP, b) Fenotipificación mediante uso de anticuerpos y fluorocromos para marcadores de superficie o funcionales, c) Aislamiento o purificación de las CTT marcadas mediante MACS o FACS. Ensayos funcionales: d) Evaluación de tumorigénesis y potencial metastásico mediante xenotrasplante en ratones inmunodeficientes, e) Ensayos de clonogenicidad mediante formación de colonias y esferas *in vitro*, f) Ensayo de población lateral por exclusión de colorante, g) Ensayos de citotoxicidad para evaluar farmacorresistencia. (Creado con BioRender)

4. Relevancia de las CTT en cáncer

4.1. CTT asociadas a resistencia terapéutica, metástasis o recaídas

La recurrencia del tumor tras la quimioterapia o la terapia dirigida resulta en tumores más agresivos con una capacidad metastásica mejorada. Las CTT se consideran las responsables del inicio, la progresión, la recaída metastásica del tumor, el fracaso de la terapia y resultados clínicos desfavorables (Sistigu et al., 2020). La evidencia tanto de modelos experimentales como de estudios clínicos indica un enriquecimiento de CTT en los tumores después del tratamiento del cáncer, evidenciando su participación en la resistencia a la terapia (Miyoshi et al., 2018; Toh et al., 2017). Se sabe que las CTT poseen una resistencia intrínseca a la quimio y radioterapia, por lo que una vez persistiendo al tratamiento son capaces de acelerar el crecimiento tumoral. Por otro lado, su capacidad de autorrenovación ilimitada permite que la presencia de una CTT en el sitio del tumor pueda impulsar la recurrencia y, en un sitio distante, pueda crecer un tumor metastásico.

La importancia de las CTT también ha sido reconocida en pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA) mediante la asociación entre la presencia de CTT y el resultado clínico en 92 pacientes. Un alto porcentaje de CTT al inicio del estudio se correlacionó con una alta frecuencia de enfermedad residual mínima después del tratamiento, identificando una pequeña cantidad de células tumorales que permanecen en el cuerpo. La enfermedad residual mínima se enriqueció con CTT, lo que evidencia su papel en las recaídas y la resistencia a la quimioterapia (Dzobo et al., 2016). En otro estudio de pacientes con LMA se demostró que el origen de la recaída era una subpoblación celular con un fenotipo de células troncales leucémicas (LSC) que estaban presentes previo al tratamiento (Shlush et al., 2017). De manera similar, en otro estudio se evaluó la población de CTT en biopsias tumorales previas al tratamiento y las correspondientes muestras posteriores a la quimio-radioterapia de 126 pacientes con cáncer de recto. La población de CTT aumentó significativamente después de la terapia y los pacientes con esta fracción aumentada tuvieron una supervivencia libre de enfermedad (SSE) y una supervivencia general (SG) significativamente más bajas. Por otra parte, se reportó que, tras la recaída del cáncer en la LMA, las CTT se enriquecen aumentando en número de 9-90 veces, además de presentar una mayor variabilidad fenotípica y plasticidad metabólica (Michelozzi et al., 2021). La evidencia sugiere que las CTT pueden persistir a terapias dirigidas o no dirigidas y responder ya sea aumentando en cantidad o adoptando un fenotipo más agresivo, además de que las no-CTT se pueden reprogramar en CTT para mantener la tumorigénesis (Saygin et al., 2019). Ya que las

CTT pueden causar la recurrencia de los tumores y metástasis deben ser eliminadas para poder proporcionar una SSE mayor en los pacientes con cáncer (Shlush et al., 2017).

4.2. Expresión diferencial de CTT en diferentes tipos de cáncer e impacto en el pronóstico de los pacientes

El aumento en la firma de CTT de un tumor indica un peor pronóstico que los tumores que presentan una población de CTT menor (Najafi et al., 2019). Inicialmente se identificó la presencia de CTT en cánceres hematopoyéticos, sin embargo, actualmente se ha reconocido en muchos otros tumores sólidos, como lo es en cerebro, colon, mama, piel, próstata, ovario, pulmón y páncreas (Dzobo et al., 2020; Iqbal et al., 2016). Las CTT se describen como una pequeña población celular dentro de un tumor que constituyen del 0.1% al 20% dependiendo del tipo de tumor (Schmohl & Vallera, 2016). Se han reportado porcentajes más altos de CTT en modelos de ratón, leucemias y linfomas, mientras que se presentan porcentajes más bajos en tumores sólidos (Toledo et al., 2018). Como ejemplo, se ha encontrado aproximadamente el 1% de CTT en tumores sólidos, alrededor del 0.1% al 1% en osteosarcoma y aproximadamente del 2% para el cáncer de colon (Najafi et al., 2019; Yu et al., 2016). Sin embargo, tras la progresión del tumor, esta proporción puede aumentar hasta un 30% y este aumento se correlaciona con la resistencia a las terapias, como ya se ha mencionado (Najafi et al., 2019). Además, se demostró que los tumores sólidos de mayor grado o poco diferenciados tienen un mayor contenido de CTT que sus iguales diferenciados. En un estudio, la fracción de CTT colorrectal aumentó durante el desarrollo del tumor como resultado de mutaciones genéticas y condiciones de estrés, lo que promovió el desarrollo de CTT metastásicas en estadios avanzados (Saygin et al., 2019). Esto asocia un alto contenido de CTT en el momento del diagnóstico con las características clínicas adversas del cáncer.

Un estudio enfocado en correlacionar la presencia de CTT, mediante el uso de marcadores de superficie y funcionales, con la supervivencia de los pacientes informó que el 82% de los análisis de supervivencia identificados evidenciaron que una alta expresión de estos marcadores de CTT resultó en una SG y/o una SSE menor en comparación con una baja o nula expresión del marcador. Adicionalmente, los niveles elevados de los marcadores se asociaron con una diferenciación tumoral disminuida, un estadio TNM (Tamaño-Nódulos-Metástasis) alterado y un aumento de la metástasis (Lathia et al., 2020). Esto sugiere que las CTT tienen un impacto clínico en los pacientes y debería considerarse el uso de terapias dirigidas a CTT.

Por otra parte, los FT de pluripotencia de CTT están altamente expresados y correlacionados con el estadio avanzado de la enfermedad en varios cánceres en estudios clínicos. Esto se ha confirmado en varios reportes donde Oct4, Sox2 y Nanog contribuyen a una diferenciación patológica deficiente, un tamaño tumoral más grande y un estadio TNM elevado en pacientes con cáncer de mama HER2⁺. En el mismo estudio, la expresión de Oct4 y Nanog se asoció con una peor SG en comparación con la expresión negativa de los mismos en los pacientes. De igual forma, los pacientes con los tres marcadores positivos tuvieron un tiempo de SG reducido en comparación con los pacientes con dos o menos marcadores positivos. Sugiriendo que la coexpresión de los tres FT tenían un mejor valor predictivo para un peor pronóstico (F. Yang et al., 2018). Esta asociación entre la alta expresión de estos FT de pluripotencia en tejidos tumorales y una SG más corta o peores características clínico-patológicas también se ha reportado en pacientes con otros tipos de cáncer, incluidos colorrectal y gástrico (Basati et al., 2019; You et al., 2018). Otro estudio reportó que en pacientes con cáncer de mama triple negativo (CMTN), la SG media fue de 32.1 ± 19.7 meses en el grupo que coexpresaba Oct4 y Sox2, que fue menor a la del grupo que expresaba uno o ninguno de los factores con una SG media de 102.6 ± 9.5 meses (J.-M. Zhang et al., 2018)

De manera complementaria, se recurrió a la plataforma Kaplan-Meier Plotter (<https://kmplot.com/analysis/>) para analizar la influencia de la expresión de los FT de pluripotencia (Nanog, Sox2, Oct4) sobre la SG de pacientes con los tipos de cáncer descritos en la **Tabla 3**. Encontrando que, en el caso del cáncer de recto, la cohorte de alta expresión de Oct4 tenía una SG de 39.5 meses contra 52.2 meses de la cohorte de baja expresión de Oct4; mientras que, para el cáncer de mama (RH+), la cohorte de alta expresión de Oct4 tenía una SG de 169.2 meses contra 191.2 meses de la cohorte de baja expresión de este (Lánczky & Györffy, 2021). Estos datos en conjunto sugieren que la presencia de CTT, identificada mediante diversos marcadores en diferentes tumores, influye en el mal pronóstico de los pacientes como se describe en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Marcadores de CTT en diferentes tumores asociados a pronósticos clínicos en función de la expresión de factores de transcripción de pluripotencia.

Cáncer	Factores de transcripción	Características clínico-patológicas	Pronóstico clínico	Ref.
Mama (RH+)	Oct4	- Expresión de ALDH1 - Resistencia a tamoxifeno - Alto grado histológico - Alto Ki-67	Oct4 ⁺ disminuye la SSE vs Oct4 ⁻ (P <0.001)	(Gwak et al., 2017)
	Sox2	- Alto grado histológico - Alto Ki-67 - Sobreexpresión de p53		
	Nanog	- Metástasis ganglionar		
Mama (HER2+)	Oct4	- Diferenciación patológica deficiente	Nanog ⁺ / Oct4 ⁺ reduce la SG vs Nanog ⁻ / Oct4 ⁻ (P <0.001)	(F. Yang et al., 2018)
	Sox2	- Tamaño tumoral mayor - Estadio TNM elevado		
	Nanog		Oct4 ⁺ / Sox2 ⁺ / Nanog ⁺ reduce la SG vs ≤ 2 FT ⁺ (P <0.001)	
Mama (CMTN)	Oct4	- Mayor grado histológico - Tamaño tumoral mayor - Estadio TNM - Estadio N	Oct4 ⁺ disminuye la SG vs. Oct4 ⁻ (P <0.001)	(J.-M. Zhang et al., 2018)
	Sox2	- Mayor grado histológico - Tamaño tumoral mayor - Expresión de Ki-67		
Gástrico	Oct4		Oct4 ⁺ / Sox2 ⁺ / Nanog ⁺ tiempo de SG reducido vs niveles de expresión bajos (P = 0.0001)	(Basati et al., 2019)
	Sox2	- Mayor grado histológico - Tamaño tumoral mayor - Estadio TNM elevado		
	Nanog			
Recto	Oct4	- Mayor grado patológico - Tamaño tumoral mayor - Estadio N	Oct4 ⁺ tiempo de SG reducido vs Oct4 ⁻ (P <0.001)	(You et al., 2018)
	Nanog	- Tamaño tumoral mayor	Oct4 ⁺ / Sox2 ⁺ / Nanog ⁺ tiempo de SG menor vs ≤ 2 FT ⁺ (P <0.001)	
	Sox2			

Supervivencia libre de enfermedad (SSE); supervivencia general (SG), factores de transcripción (FT).

4.3. Farmacorresistencia debida a CTT

Las estrategias convencionales de tratamiento del cáncer se dirigen a las células tumorales en proliferación sin considerar al TME y la presencia de CTT, las cuales están en su mayoría inactivas y poco diferenciadas, por lo que pueden resistir al tratamiento y promover de la recaída del tumor (Das et al., 2020). Se considera que las CTT tienen una resistencia intrínseca a la quimio y la radioterapia, sin embargo, también se puede hablar de una resistencia adquirida como resultado de mutaciones por la exposición a la terapia. Se ha demostrado que las CTT son capaces de someterse a una reprogramación epigenética que puede desencadenar cambios en múltiples vías de señalización permitiéndoles adaptarse a diversas condiciones, lo que las hace difíciles de erradicar en los tumores (Steinbichler et al., 2018). Dada la heterogeneidad genética existente, diferentes clonas celulares pueden presentar distintos mecanismos de resistencia terapéutica dentro del mismo tumor. La capacidad de resistir las terapias se atribuye a muchas propiedades incluyendo la sobreexpresión de transportadores de fármacos ABC, el estado latente, su plasticidad celular, aumento de la expresión de las enzimas antioxidantes, mecanismos eficientes de reparación del ADN, la activación de las vías de supervivencia y una mayor adaptación a condiciones estresantes en el TME como la hipoxia, un pH bajo, escasez de nutrientes e inflamación, como se resume en la **Figura 4** (Cojoc et al., 2015; Dzobo et al., 2020). Por tanto, la resistencia intrínseca de las CTT a la terapia contra el cáncer, junto con su adaptación y plasticidad epigenética, las señala como la fuente de las recaídas y la progresión de la enfermedad.

4.3.1. Mecanismos reportados

Detoxificación

Las CTT puede escapar de los efectos de los compuestos citotóxicos mediante un aumento de la salida de los fármacos a través de transportadores de eflujo, que tienen una mayor expresión en CTT en comparación con las no-CTT y el tejido sano normal (Begicevic & Falasca, 2017). Entre los transportadores de la familia ABC sobreexpresados en CTT están ABCB1 y ABCB5, que son asociados con resistencia a doxorubicina en CM y células de melanoma circulantes, respectivamente; el ABCG2 está relacionado con resistencia a cisplatino y 5-fluorouracilo en células de carcinoma hepatocelular (Dzobo et al., 2020). Estos transportadores tienen un amplio espectro de sustratos lo que facilita la resistencia a los principales tipos de fármacos quimioterapéuticos, incluidos taxanos, antimetabolitos, inhibidores de la topoisomerasa, así

como algunas terapias dirigidas (Cojoc et al., 2015). Además de su participación en la resistencia a terapias, se ha considerado que estas proteínas pueden tener otras funciones, como se ha descrito que la sobreexpresión de ABCB5 en CTT puede favorecer la progresión tumoral y la metástasis (H. R. Sun et al., 2019).

Por otra parte, las CTT presentan una eliminación eficaz de ROS y, por tanto, tienen un nivel más bajo de ROS generadas por las terapias. Se ha demostrado que la alta expresión de la enzima ALDH1, que permite la detoxificación de fármacos y ROS, permite que las CTT resistan la terapia convencional, incluidos los fármacos ciclofosfamida, cisplatino, paclitaxel, docetaxel, doxorubicina y gemcitabina en leucemia, meduloblastoma, adenocarcinoma, cáncer de colon y de mama (Dzobo et al., 2020; Turdo et al., 2019). Adicionalmente, la actividad de ALDH se ha correlacionado con la activación de vías de señalización que favorecen la supervivencia, incluidas Notch, PI3K / AKT y MAPK / ERK. Por otro lado, las CTT también reducen el daño al ADN debido al estrés oxidativo como consecuencia de la irradiación mediante el aumento de la expresión de captadores de ROS como el superóxido dismutasa ½ (SOD), superóxido reductasa, catalasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa y Ape1 / Ref-1 (Steinbichler et al., 2018)

Evasión de efectos farmacológicos / reparación y supervivencia

Los CTT sobreviven a las quimio-radioterapias escapando al daño del ADN mediado por la terapia mediante varios mecanismos que incluyen la regulación del estado del ciclo celular mediante la alteración de los puntos de control y la mejora de la capacidad de reparación del ADN. Además de la activación de procesos de reparación del ADN, el daño del ADN induce mecanismos de puntos de control que incluyen dos vías de señalización de cinasas, las vías ATM-Chk2 y ATR-Chk1, que son activadas por roturas de doble hebra del ADN (DSB) y roturas de ADN de una sola hebra, respectivamente. La señalización del punto de control del daño del ADN inhibe la progresión del ciclo celular permitiendo la reparación del ADN, por lo que la activación incontrolada de las cinasas de punto de control puede inducir la resistencia a la terapia en las CTT, como ha sido reportado que sucede en respuesta al estrés genotóxico inducido por la radiación en CTT de glioblastoma, próstata y CM (Cojoc et al., 2015). También pueden aumentar la expresión de genes de reparación del ADN, como la *O (6)-metilguanina-ADN metiltransferasa*, aumentando la eficiencia del proceso (Das et al., 2020).

Por otra parte, la quimioterapia y la radioterapia son eficaces contra células en proliferación, sin embargo, las CTT pueden entrar en un estado latente y así evadir estos tratamientos

convencionales (Dzobo et al., 2021). Incluso la quimioterapia puede provocar la formación de nichos que inducen la latencia de las CTT. La latencia se caracteriza por una expresión diferente de citocinas, como una mayor expresión de BMP7, TGF- β 2 y VCAM-1, y una disminución del índice de proliferación de Ki-67 (Van der Toom et al., 2016). La autofagia podría permitir que la CTT latente mantenga la aptitud metabólica y podría ser un mecanismo de supervivencia durante la latencia (Steinbichler et al., 2018). Finalmente, la capacidad de reentrada del ciclo celular de las CTT puede acelerar la regeneración tumoral después del tratamiento (Das et al., 2020). Por tanto, la autofagia tiene un efecto citoprotector sobre las CTT importante para la resistencia a la terapia.

Adicionalmente, las vías apoptóticas extrínsecas e intrínsecas están desreguladas en las CTT, y estas células juegan un papel importante en la resistencia a la muerte celular, en la quimio y radiorresistencia y la recurrencia del tumor. Las CTT son capaces de regular la apoptosis con la disminución de la expresión de factores proapoptóticos y el aumento de la expresión de proteínas antiapoptóticas (Hu et al., 2018; Steinbichler et al., 2018). Las CTT dependen de vías de señalización que contribuyen a prevenir su apoptosis, como ocurre en la resistencia adquirida a docetaxel en cáncer de próstata donde las células sobreexpresan moléculas de las vías de señalización Notch y Sonic Hedgehog, donde la inhibición de estas vías resulta en la eliminación de esta población resistente a través de la regulación a la baja de Akt y aumento de la expresión de Bcl-2 (Murayama & Gotoh, 2019). Además, los genes que inducen la muerte celular a menudo están desregulados en las CTT, como es el caso de una regulación a la baja o una mutación de p53, lo que conduce a una mala regulación de la muerte celular.

Promoción de la plasticidad

Las agresiones terapéuticas pueden inducir adaptaciones metabólicas en las células, lo que resulta en la reducción de la eficacia del fármaco. Entre los fenómenos metabólicos relacionados con la quimiorresistencia están: el aumento de los niveles de fosforilación oxidativa como principal fuente de energía en CTT, la adaptación de las CTT a un nicho de tejido adiposo y actividades mitocondriales relacionadas con la energía celular y la homeostasis del metabolismo en CTT con el fin de proporcionar una ventaja en su crecimiento (Skoda et al., 2019; Thankamony et al., 2020). Se ha descrito que la inducción de la fosforilación oxidativa permite que las CTT se vuelvan resistentes a los fármacos de quimioterapia (Das et al., 2020).

Con respecto a la plasticidad celular, se han investigado varios mecanismos involucrados en el desarrollo de resistencia. Se ha informado una alta expresión de marcadores de CTT (CD44 y Oct $3/4$) y del fenotipo EMT (N-cadherina y β -catenina) regulado por la vía ERK en células de CM resistentes a la radioterapia, donde se ha investigado que su regulación a la baja revierte la radioresistencia (Paramanatham et al., 2021). Por otra parte, las células que se someten a EMT pueden entrar en un estado latente, mecanismo que contribuye a generar resistencia a la terapia (Murayama & Gotoh, 2019).

Influencia del TME

Se ha demostrado que los factores y células del TME ayudan a las CTT a sobrevivir a la quimioterapia mediante la activación de varias vías de supervivencia, como lo es TGF- β (Senthebane et al., 2017). Además, la hipoxia, los fibroblastos asociados al cáncer (CAF) y los macrófagos asociados al cáncer (TAM) mantienen a las CTT induciendo genes relacionados a la troncalidad (Dzobo et al., 2021). Se ha informado que la hipoxia mantiene a las CTT en un estado indiferenciado como resultado de la inducción de un fenotipo EMT y la regulación al alza de genes relacionados con la troncalidad, como *Notch*, mientras que los marcadores diferenciados están regulados a la baja. Los HIF son factores que correlacionan la hipoxia y la troncalidad del cáncer. Entre los miembros de la familia HIF, HIF1 α activa genes de supervivencia en condiciones de bajo oxígeno mientras que HIF2 α se une al promotor de genes relacionados con la troncalidad como *Pou1f5* y *Nanog* (Murayama & Gotoh, 2019).

Se ha demostrado que diversos factores de crecimiento y citocinas producidos por células del TME participan en la regulación de la sensibilidad de las CTT a la radiación y los fármacos citotóxicos. Por ejemplo, se ha descrito que la activación de la vía de señalización de IL-6, que a su vez activa las vías STAT3 / NF- κ B, en las CTT de CM HER2+ media la resistencia a trastuzumab. Por otra parte, paclitaxel aumentó la señalización autocrina de TGF- β y la expresión de IL-8 conduciendo a la expansión de las CTT en líneas celulares de CMTN y tumores de xenoinjerto (Cojoc et al., 2015). Otro ejemplo es TNF- α que puede promover la sobreexpresión de las quimiocinas CXCL1 y CXCL2 al activar la vía NF- κ β , las cuales median la metástasis y la quimiorresistencia. La secreción de CXCL1 / 2 en el TME atrae células mieloides específicas hacia la masa tumoral, que a su vez producen otras quimiocinas que estimulan la supervivencia de las células tumorales. Adicionalmente, las citocinas pueden promover los mecanismos de resistencia ya descritos, tal es el caso de la sobreexpresión del transportador ABCG2 en CTT como resultado de la activación de NF- κ β tras la estimulación de TNF- α , asociado con el

desarrollo de quimiorresistencia (Cruceiru et al., 2020). También se ha descrito que el receptor TNFR2 en CTT promueve la progresión del CM y su expresión se ha relacionado con resistencia a doxorubicina mediante la activación de AKT (F. Yang et al., 2017).

El nicho también protege a las CTT del tratamiento antineoplásico mediante la inducción de la latencia. Los nichos de CTT se describen como hipóxicos, ácidos y contienen niveles bajos de glucosa, por lo que este entorno desfavorable induce un estado latente en las CTT. El pH extracelular bajo en un tumor se asocia con mal pronóstico y resistencia a la quimiorradioterapia (Steinbichler et al., 2018).

La matriz extracelular (MEC) es el componente no celular crucial del TME y regula el comportamiento celular directa e indirectamente. La remodelación de la MEC promueve la farmacoresistencia actuando como una barrera física que retrasa la difusión del fármaco. De igual forma, estos cambios en la elasticidad y rigidez de la MEC pueden provocar la evasión de la apoptosis por las CTT. Adicionalmente, varias proteínas de la MEC, incluyendo laminina, colágeno, fibronectina y periostina, se han asociado con resistencia a varios agentes quimioterapéuticos. Se ha considerado que la interacción de la MEC con las células promueve la quimiorresistencia mediante la activación aberrante de las vías de señalización de crecimiento y supervivencia en las CTT (Senthebane et al., 2017). Las vías Wnt / β -catenina, Notch, Hh, PI3K / AKT e Hippo/YAP están implicadas en la autorrenovación excesiva y la resistencia a la terapia en CTT colorrectales. Por ejemplo, la expresión de GLI-1, componente de la señalización de Hh, aumentó en células cancerosas resistentes al 5-fluorouracilo en cáncer de (Das et al., 2020). Por otra parte, se ha demostrado la influencia de la actividad de ERK en la regulación del fenotipo de CTT en células pancreáticas resistentes a gemcitabina, en células de CM radio-resistentes, en células de cáncer de pulmón resistentes a cisplatino y células de cáncer de ovario resistentes a docetaxel y carboplatino (Paramanatham et al., 2021).

Otros

Los microRNA (miRNA) desempeñan un papel clave en la regulación de las células cancerosas con resistencia intrínseca / adquirida a fármacos mediante varios mecanismos. El tratamiento convencional, como lo es doxorubicina, cisplatino, 5-fluorouracilo y sorafenib, a largo plazo puede promover la generación de miRNAs alterados y provocar el desarrollo de resistencia adquirida en los pacientes con cáncer (Devan et al., 2021; Dzobo et al., 2021). La expresión alterada de miRNA en las células resulta de modificaciones epigenéticas, alteraciones en la secuencia de genes, factores de transcripción desregulados y biogénesis, entre otros. Los

miRNA se dirigen genes de vías de señalización, factores de transcripción, proteínas asociadas con el ciclo celular, el eflujo de fármacos, la apoptosis, proliferación celular, autofagia, desacetilación de histonas, EMT, entre otros, regulando la sensibilidad de las CTT a las terapias (Das et al., 2020). Como ejemplo, se ha asociado la expresión aberrante de miR-494, el cual es regulado epigenéticamente, con el fenotipo de troncalidad y la resistencia a sorafenib en el carcinoma hepatocelular mediado por la activación de la vía mTOR (Pollutri et al., 2018). De forma contraria, se ha estudiado la regulación al alza de miR-124 en CTT de CM para revertir la resistencia a doxorrubicina al modular las vías de señalización STAT3 y HIF-1 (C. Liu et al., 2019).

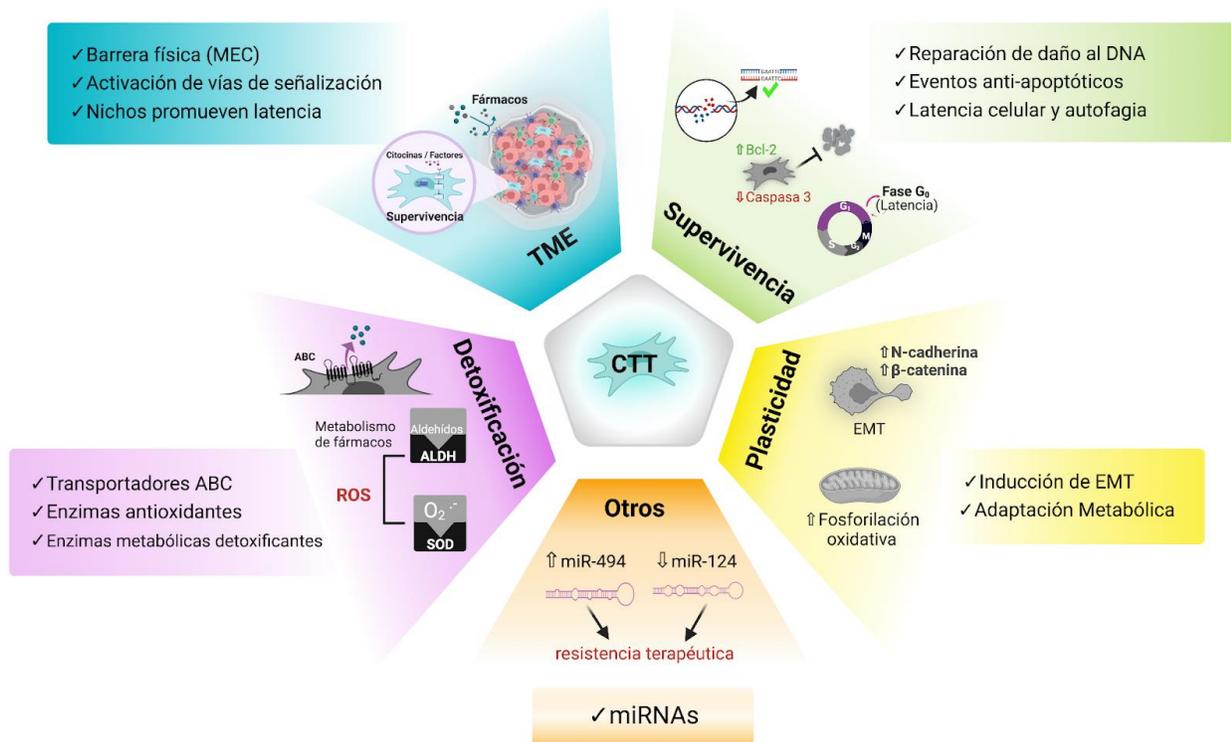


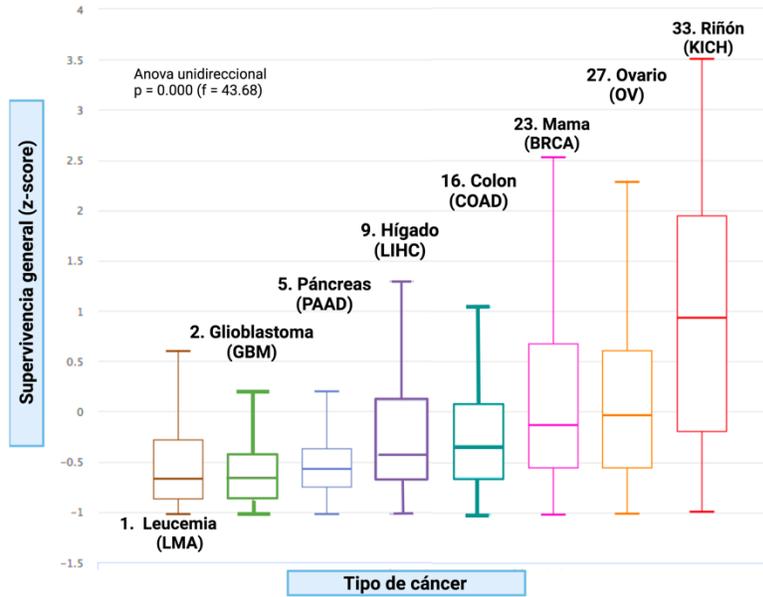
Figura 4. Mecanismos de resistencia terapéutica de las CTT. Conjunto algunos de los principales mecanismos conocidos como responsables de la farmacoresistencia de las CTT.

5. Tipos de cáncer relevantes para el estudio de CTT

Se recurrió al navegador de genómica del cáncer de la Universidad de California, Santa Cruz (UCSC) Xena (<http://xena.ucsc.edu/>) para analizar la supervivencia general de los 33 tipos de cáncer más prevalentes según el estudio de TCGA Pan-Cancer (12,839 muestras), el cual tiene el análisis de cáncer más completo hasta la fecha. La plataforma Xena muestra los datos clínicos y genómicos generados por los grupos de trabajo del consorcio Pan-Cancer Atlas. Se utilizó Xena para recopilar los datos respecto al tiempo de supervivencia general (SG) de los 33 tipos de cáncer y con esta información se posicionaron según su pronóstico, siendo la Leucemia mieloide aguda la del peor pronóstico, como se muestra en la **Figura 5** (Goldman et al., 2020). Adicionalmente, se recurrió a los datos proporcionados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para obtener el top 15 de los cánceres con mayor mortalidad e incidencia en el mundo y en México en el 2020 (Ferlay et al., 2020) como se muestra en la **Figura 5 y 6**. Partiendo de esta información, se identificaron algunos tipos de cáncer que presentan características clínicas desfavorables y en los cuales se ha estudiado ampliamente la presencia de CTT, lo que los hace modelos de interés para el desarrollo de los fármacos anti-CTT.

a

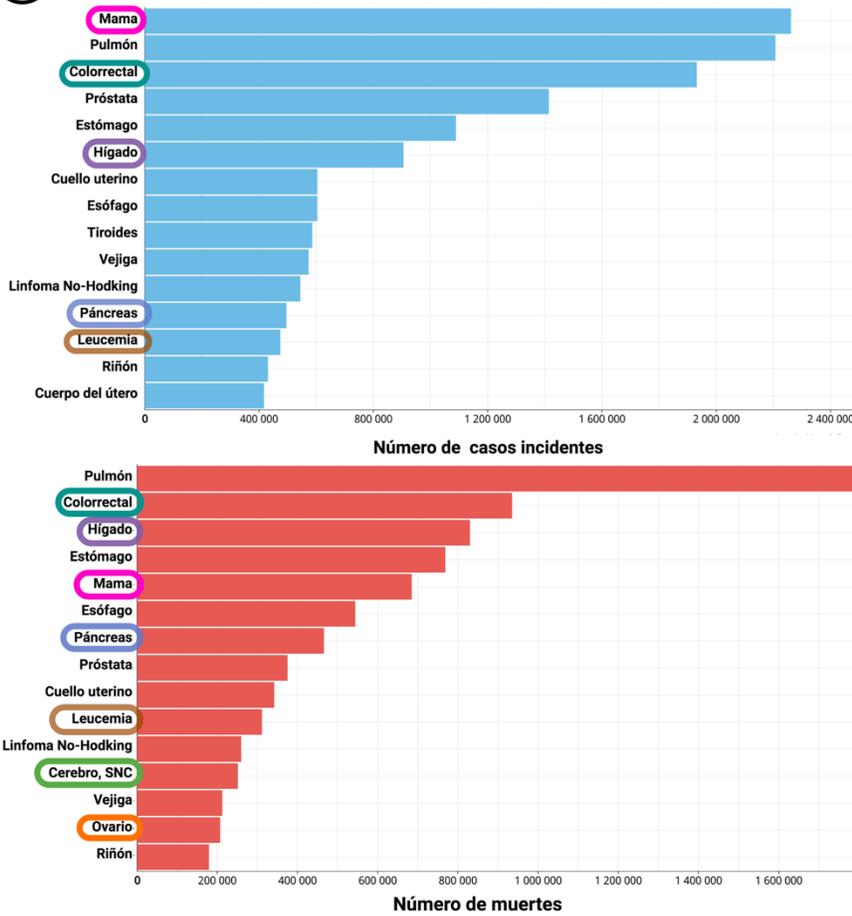
Ranking de supervivencia general en XENA



Cohorte:
TCGA Pan-
Cancer
(PANCAN)
(n=12839)

b

Incidencia y mortalidad de cáncer en el mundo



Número
estimado
de casos
en el
mundo,
ambos
sexos,
todas las
edades

Figura 5. Estadísticas de los tipos de cáncer de interés. A) Gráfico de Supervivencia General promedio del estudio "TCGA Pan-Cancer" en XENA (<https://xenabrowser.net/>) según el tipo de cáncer. Datos de SG representados con z-score. **B)** Top 15 de incidencia y mortalidad del cáncer en el mundo, obtenido de GLOBOCAN 2020 (<https://gco.iarc.fr/today/home>). LMA, Leucemia mieloide aguda; BRCA, Carcinoma invasivo de mama; COAD, Adenocarcinoma de colon; GBM, Glioblastoma multiforme; KICH, Cromóforo de riñón; LIHC, Carcinoma hepatocelular; OV, Cistoadenocarcinoma seroso de ovario; PAAD, Adenocarcinoma de páncreas; READ, Adenocarcinoma de recto; SNC, sistema nervioso central.

Se consideró al carcinoma de células renales cromóforo (KICH) como punto de comparación para los tipos de cáncer de interés por presentar la mayor SG dentro del estudio seleccionado. Este tipo de cáncer de riñón es el menos frecuente y presenta un buen pronóstico clínico: se reportó en un estudio que las tasas de supervivencia libre de recurrencia a 5 y 10 años fueron del 94.3% y el 89.2%, donde solo 17 pacientes (5,7%) desarrollaron enfermedad recurrente y 13 de ellos desarrollaron metástasis. Por lo tanto, la recurrencia y la muerte después la extirpación quirúrgica de este tipo de tumor resultan poco frecuentes (Neves et al., 2021). Por otra parte, los limitados estudios sobre la presencia de CTT en este tipo de cáncer indican que KICH tiene una baja expresión de un marcador de CTT renales (CD105) a comparación de otros 2 subtipos de carcinoma de células renales más comunes en donde este marcador se asocia con un comportamiento más agresivo, estadios avanzados y una pobre SG (Zanjani et al., 2018).

Dentro de estos tipos de cáncer resaltan algunos donde la población de CTT ha sido ampliamente estudiada, por lo que podrían ser de interés para el desarrollo de fármacos anti-CTT. A continuación, se describen los tipos de cáncer de acuerdo con el lugar que ocuparon en mortalidad en México en el 2020, como se muestra en la **Figura 6**.

Incidencia y mortalidad de cáncer en México

Número estimado de casos, ambos sexos, todas las edades

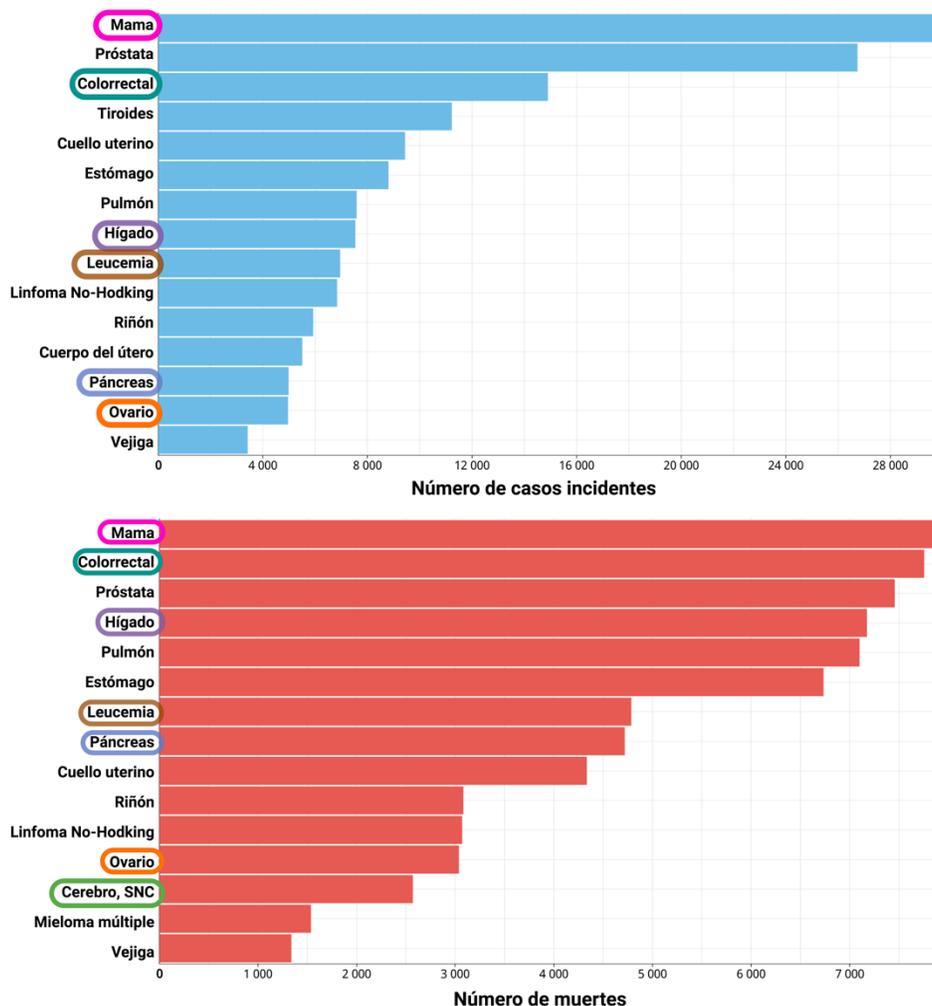


Figura 6. Top 15 de Incidencia y mortalidad del cáncer en México. Datos presentados como número estimado de casos en México, ambos sexos y todas las edades, obtenido de GLOBOCAN 2020 (<https://gco.iarc.fr/today/home>). SNC: sistema nervioso central. Modificado con BioRender.

Cáncer de mama

A pesar de los avances en la detección temprana y el tratamiento del cáncer de mama (CM), la SG es deficiente una vez que se desarrolla la enfermedad metastásica. En 2020, según el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) se atribuyeron 90,603 muertes a tumores malignos, es decir, 8% de mortalidad en la población general (Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), 2022). Dentro de estos, el CM en mujeres mexicanas representa la causa

más común de muerte desde 2006. La edad promedio al diagnóstico en México es de 53 años y mayoría de los casos se diagnostican en estadios avanzados (estadios clínicos II-b a IIIc) lo que aumenta la probabilidad de un pronóstico desfavorable (Ramos-Herrera et al., 2020). En un estudio realizado en población mexicana se reportaron los porcentajes de pacientes con los subtipos moleculares de la siguiente manera: 65.7% fueron subtipo luminal A, 10.9% luminal B (HER2 positivo), 8.7% solo HER2 positivo y 14.6% triple negativo (Maffuz-Aziz et al., 2017). Se ha descrito que entre los tipos de CM hay tumores con un alto potencial metastásico que contienen una mayor proporción de CTT que aquellos tumores con un menor potencial metastásico, siendo las CTT esenciales para la diseminación de los tumores (Velasco-Velázquez et al., 2019). De acuerdo con el estudio “TCGA Pan-Cancer” en plataforma XENA el CM presenta una elevada SG. Sin embargo, el CM ocupó el primer lugar en mortalidad e incidencia en México en el año 2020. Finalmente, el CM es el 3er tipo de cáncer con más fármacos aprobados por la FDA para su tratamiento, contando con un total de 27 fármacos, 14 dirigidos y 13 citotóxicos (J. Sun et al., 2017). Esta evidencia en conjunto sugiere al CM como un buen modelo para el estudio de las CTT y como una neoplasia en donde sería relevante el uso de terapias Anti-CTT para mejorar el pronóstico clínico de los pacientes.

Colorrectal

El cáncer colorrectal (COAD) tiene una alta incidencia en todo el mundo. Los pacientes suelen presentar recaídas del tumor y la aparición de metástasis farmacorresistentes, que parecen atribuirse a la presencia de CTT, como en otros tipos de cáncer. El diagnóstico tardío se asocia a tumores más agresivos y metastásicos que con frecuencia no responden a los tratamientos por resistencia intrínseca y adquirida a los medicamentos. La tasa de supervivencia a 5 años depende del estadio de la enfermedad en el momento del diagnóstico, siendo del 90% para enfermedad localizada y 14% para cáncer que ha realizado metástasis. Sin embargo, más de la mitad de los pacientes tratados sufren recaídas del cáncer independientemente del momento del diagnóstico y la mayoría de ellos presenta metástasis pulmonar y hepática (Andrade et al., 2021). Según la OMS, el COAD ocupó el 2º lugar en mortalidad y el 3º en incidencia en México en el año 2020. Por otra parte, es el octavo tipo de cáncer con mayor número de fármacos aprobados para su tratamiento, contando con alrededor de 10 (J. Sun et al., 2017). Finalmente, según el estudio “TCGA Pan-Cancer” en plataforma XENA, el cáncer de recto ocupa el 12º y el de colon el 16º lugar con la SG más baja entre todos los tipos de cáncer incluidos. Resultando de suma importancia desarrollar terapias nuevas y más eficientes para mejorar los resultados clínicos actuales.

Hígado

El aumento del cáncer de hígado en México podría estar relacionado principalmente con el aumento en la prevalencia de hepatitis B y C, cirrosis hepática por alcohol e hígado graso no asociado a alcoholismo (relacionado con obesidad) y, en el caso de cáncer de hígado secundario, podría deberse al aumento de la incidencia de CM y cáncer colorrectal. También se ha descrito que entre el 70 y el 90% de los cánceres primarios de hígado (PLC) corresponden a carcinoma hepatocelular (el cual tiene una media de supervivencia de 6 a 20 meses después del diagnóstico) y el 20% a colangiocarcinoma a nivel mundial (Sánchez-Barriga, 2021). La supervivencia de los pacientes se ve afectada por la alta recurrencia y la resistencia a los medicamentos, principalmente debido a la presencia de CTT de hígado. De acuerdo con el estudio en XENA el cáncer de hígado presenta una SG reducida, ocupando el 9º lugar de menor SG entre los tipos de cáncer contemplados. Por otra parte, el cáncer de hígado fue el 4º lugar con más casos de muertes y 8º lugar de incidencia en México en el año 2020. Finalmente, el cáncer de hígado ocupa el lugar 28 dentro de los tipos de cáncer con más fármacos aprobados por la FDA para su tratamiento, contando solo con un fármaco dirigido (J. Sun et al., 2017).

Leucemia

La leucemia mieloide aguda (LMA) es un cáncer hematológico caracterizado por la proliferación incontrolada de mieloblastos que se acumulan en la médula ósea y la sangre periférica. Esta principalmente afecta a la población adulta, siendo de 68 años la edad promedio de un paciente en el momento del diagnóstico (Michelozzi et al., 2021). El resultado del tratamiento actual es insatisfactorio y se caracteriza por altas tasas de recaída (hasta del 78%) y una SG deficiente, específicamente para las personas mayores de 65 años solo el 30% sobrevive más de 1 año después del diagnóstico (Oliva et al., 2018). La evidencia sugiere un papel crucial de las LSC en la evolución y la quimiorresistencia de la LMA. Por otra parte, las leucemias ocuparon el 9º lugar en incidencia y 7º en mortalidad en México en el año 2020. Adicionalmente, este es el tipo de cáncer con más fármacos aprobados por la FDA para su tratamiento, teniendo en total 40 fármacos entre citotóxicos y dirigidos (J. Sun et al., 2017). Finalmente, explorando en la plataforma XENA en el estudio “TCGA Pan-Cancer” la LMA es el primer tipo de cáncer con la SG más corta entre todos los tipos de cáncer incluidos el estudio.

Páncreas

El adenocarcinoma ductal de páncreas (PDAC) es el tumor maligno de páncreas más común. Usualmente se tiene un pronóstico desalentador en primer lugar porque la mayoría de los PDAC son irresecables cuando se diagnostican, a la mayoría de los pacientes se les diagnostica una enfermedad en estadio avanzado, ya sea cáncer metastásico (50%) o localmente avanzado (30%); y en segundo lugar por la falta de una terapia sistémica eficaz, ya que los regímenes como FOLFIRINOX solo extienden la supervivencia media en los pacientes en estadio IV de 6.8 a 11.1 meses, en comparación con el tratamiento con gemcitabina (Renz et al., 2017). Estas características desfavorables pueden justificarse por la presencia de CTT, en parte, por la susceptibilidad baja de PDAC a tratamientos quimioterapéuticos estándar y por el posible desarrollo de metástasis. Este tipo de cáncer presenta una supervivencia media de sólo 6 meses y una supervivencia relativa a 5 años del 8-9% (Siegel et al., 2016). Por lo tanto, se requieren enfoques novedosos tanto para el tratamiento como para el diagnóstico. De acuerdo con el estudio “TCGA Pan-Cancer” en la plataforma XENA, el cáncer de páncreas presenta una SG reducida, siendo el 5º lugar con la peor SG entre todos los tipos de cáncer incluidos. Por otra parte, de acuerdo con incidencia y mortalidad ocupó el 13º y 8º lugar en México en el año 2020, respectivamente. Finalmente, este tipo de cáncer cuenta solo con 8 fármacos aprobados por la FDA para su tratamiento (J. Sun et al., 2017).

Ovario

El cáncer de ovario (OV) es el tercer tumor ginecológico más frecuente a nivel mundial y afecta principalmente mujeres de edad avanzada (>63 años). El cáncer de ovario seroso de alto grado (HGSOC) es el subtipo más común y agresivo que representa la mayoría de los casos avanzados. Aproximadamente el 80% de los pacientes responden al tratamiento de primera línea, sin embargo, la recidiva del tumor y la resistencia a la quimioterapia ocurren en casi todos los pacientes dentro de un intervalo libre de progresión de 15 meses después del diagnóstico. Siendo la supervivencia a los 10 años menor al 30%. Particularmente en este tipo de cáncer la angiogénesis tiene un papel fundamental al promover el crecimiento y la progresión del tumor a través de la formación de ascitis y la diseminación metastásica (Annett et al., 2019). Actualmente, se reconoce que las CTT presentes pueden dirigir estas características clínicas desfavorables por lo que su eliminación es una estrategia terapéutica importante. De acuerdo con el estudio “TCGA Pan-Cancer”, el OV presenta una elevada SG entre todos los tipos de cáncer incluidos. De acuerdo con la mortalidad e incidencia, el OV ocupó el 12º y el 14º lugar, respectivamente,

en México en el año 2020. Finalmente, el OV solo cuenta con 1 fármaco dirigido aprobado por la FDA para su tratamiento (J. Sun et al., 2017).

Glioblastoma

El glioblastoma (GBM) es el tumor cerebral primario maligno más común y agresivo, se caracteriza por una proliferación aumentada, invasión del tejido normal circundante, angiogénesis y resistencia a las terapias convencionales. Por lo que los pacientes con GBM tienen un pronóstico clínico pobre: la tasa de supervivencia media es de solo 12-18 meses (Vázquez et al., 2021). La presencia de células troncales de glioma (GSC) en GBM se ha relacionado con resistencia terapéutica y se les considera responsables del inicio y mantenimiento del crecimiento maligno. Por lo tanto, apuntar a las GSC de neoplasias cerebrales es fundamental para mejorar las terapias antitumorales (W. Jiang et al., 2016; Shi et al., 2018). De acuerdo con el estudio “TCGA Pan-Cancer”, el GBM es el tipo de cáncer con la segunda SG más corta entre todos los tipos de cáncer incluidos. Por otra parte, los tipos de cáncer cerebrales ocuparon el 13º lugar en mortalidad en México en el año 2020, donde se debe destacar que estos tipos de tumores tienen una baja incidencia, estando en el lugar 17º de 32 tipos de cáncer. Adicionalmente, los tipos de cáncer cerebral cuentan con 8 fármacos, entre citotóxicos y dirigidos, aprobados por la FDA para su tratamiento (J. Sun et al., 2017). Estos datos sugieren la necesidad de encontrar una estrategia terapéutica eficiente para combatir estos tipos de cáncer.

6. Tratamientos dirigidos contra CTT

Las investigaciones recientes han proporcionado información sobre los mecanismos implicados en la progresión del cáncer y han reconocido blancos para desarrollar terapias de próxima generación contra esta enfermedad. Dado que las características intrínsecas de las CTT han demostrado modular las respuestas clínicas del cáncer, se espera que dirigirse a las CTT y/o modular el microambiente tumoral sea una estrategia prometedora para combinar con los enfoques existentes contra el cáncer (Dzobo et al., 2021). Se han informado una gran cantidad de potenciales blancos terapéuticos que pueden resultar efectivos en la eliminación de las CTT y los resultados experimentales sobre su relevancia en las funciones de las CTT sugieren que deben ser considerados en los nuevos enfoques del tratamiento del cáncer. Entre las estrategias más recurrentes están aquellas dirigidas a marcadores, vías de señalización, FT de CTT, así como a elementos claves del nicho de CTT, por lo que se han considerado enfoques duales (Duan et al., 2021).

6.1. Estrategias farmacológicas empleadas

Existen diferentes modalidades farmacológicas que han sido usadas para el desarrollo de fármacos anti-CTT: desde nuevas moléculas pequeñas en investigación, incluyendo inhibidores de blancos moleculares en CTT, hasta métodos más novedosos, como la inmunoterapia y la funcionalización de nanomateriales para mejorar la entrega y eficacia de los fármacos ya existentes.

La inmunoterapia es una estrategia de nueva generación prometedora para combatir el cáncer, así como para atacar inmunológica y específicamente a las CTT. Esto mediante diferentes enfoques que incluyen anticuerpos monoclonales diseñados para unirse a los antígenos de superficie de CTT para inhibir su función; conjugados de anticuerpo-fármaco, en los cuales el anticuerpo capaz de unirse al marcador de CTT se conjuga con un fármaco citotóxico (principalmente terapéuticos ya aprobados) para inducir su muerte de forma selectiva; anticuerpos biespecíficos, los cuales son capaces de reconocer tanto antígenos de CTT como CD3, promoviendo el acercamiento de las CTT a las células T para facilitar su reconocimiento y consiguiente eliminación. Algunos de estos anticuerpos también pueden dirigirse a células accesorias para promover la fagocitosis de las células tumorales o citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) (Saygin et al., 2019).

Dentro de estos enfoques inmunoterapéuticos, también se encuentran las terapias de células adoptivas (ACT), que contemplan la activación de células inmunes efectoras del paciente para destruir a las células tumorales. Esta consiste en cargar antígenos tumorales o citocinas en los linfocitos aislados del paciente, seguido de su expansión *ex vivo* y posterior reinfusión al paciente. Estas terapias incluyen cuatro subtipos: células T receptoras de antígenos quiméricos (CAR-T), células asesinas inducidas por citocinas (CIK), linfocitos infiltrantes de tumores (TIL) y células asesinas naturales (NK) (Galassi et al., 2021). En particular, la terapia con células CAR-T se realiza mediante la introducción del gen CAR mediada por virus a las células T obtenidas a partir de las muestras de sangre de los pacientes, seguida de expansión de colonias y reinfusión a los pacientes. Como tal, estas son células T modificadas genéticamente con un gen adicional para un receptor que puede reconocer a un antígeno específico del tumor y contienen un dominio proteico coestimulador intracelular para la activación de las células T (como CD3, CD28), sin requerir MHC e inmunización (a diferencia de una vacuna). Este enfoque ha tomado importancia en los recientes esfuerzos por combatir al cáncer debido a su eficacia probada en ensayos clínicos de linfoma (Devan et al., 2021). Sin embargo, también se han presentado reacciones adversas en los estudios clínicos, incluyendo toxicidad, por lo que debe ser evaluado el costo – beneficio de su uso.

La inmunoterapia con vacunas basada en células dendríticas (DC) usa a estas células presentadoras de antígeno para inducir o aumentar respuestas inmunitarias antitumorales. Se han probado diferentes enfoques en ensayos clínicos que incluyen la carga de DC con péptidos, proteínas y lisados tumorales, la transfección de ARNm, el suministro de ADN y el uso de vectores virales (Galassi et al., 2021). El objetivo de esta estrategia es activar al sistema inmunológico proporcionándole DC que maduraron *ex vivo*, estando activadas y cargadas con antígeno tumoral, con la capacidad de inducir respuestas antitumorales de células T. Se ha reportado que, con el uso de inhibidores de puntos de control inmunitarios para estimular la respuesta inmunitaria, el papel de la vacunación con DC se vuelve más importante porque induce células T específicas del tumor y dirige la respuesta inmunitaria hacia los antígenos de interés (Bol et al., 2016). Por otra parte, las vacunas de ADN basadas en antígenos tumorales pueden dirigirse a proteínas inmunogénicas expresadas en las CTT y así promover el desarrollo de una respuesta inmunitaria eficaz para destruir las células tumorales (Devan et al., 2021).

Finalmente, otras estrategias recurren a sistemas de administración de fármacos que se han utilizado recientemente en el entorno clínico para mejorar la farmacocinética de los fármacos y reducir la citotoxicidad fuera del objetivo, como es el uso de la nanotecnología como una

herramienta prometedora para la detección y eliminación de CTT. Los nanomateriales, incluyendo las micelas poliméricas, partículas de oro y liposomas, se pueden cargar con uno o más quimioterapéuticos o agentes eficaces contra las CTT. La funcionalización de estos sistemas de administración de fármacos de nanomateriales con moléculas de unión específicas a CTT es indispensable para conferir especificidad en la unión y focalización de CTT para su eliminación mediante esta estrategia (Saygin et al., 2019; Z. Zhang et al., 2022).

6.2. Tratamientos en desarrollo

Las terapias específicas de CTT se han propuesto y se están evaluando, algunas junto con el régimen quimioterapéutico tradicional para eliminar tanto a las poblaciones de CTT como al resto de células tumorales y así prevenir recaídas posteriores. Con tal objetivo, se recopilaron los ensayos clínicos que están en curso para determinar la eficacia de varios tratamientos dirigidos a las CTT y se clasificaron según el tipo de blanco molecular al cual están dirigidos (**Tabla 4**). Estos estudios fueron incluidos debido a que contenían información explícita de que las terapias evaluadas eran específicamente contra la población de CTT en los tipos de tumores previamente descritos en la sección 4. Se siguió este criterio de inclusión ya que la mayoría de los estudios que apuntan a posibles blancos de CTT no indican cómo se evaluaría su eficacia específicamente en esta población. Esto se debe principalmente a los objetivos planteados en estos ensayos clínicos, ya que buscan ver los resultados generales del tratamiento sobre toda la masa tumoral, reflejado en un aumento en la SG, SLP, entre otros parámetros que indican una mejora en el pronóstico de los pacientes con el nuevo tratamiento.

Tabla 4. Ensayos clínicos en curso de agentes dirigidos a CTT.

Tratamiento	Blanco	Estrategia / Mecanismo	Cáncer	Ensayo clínico*	Parámetro evaluado	Ref.
Respuesta inmune						
Vacuna CTT	Antígenos de CTT	Vacuna de DC autólogas pulsadas con lisado de CTT (ALDEFLUOR +)	Cáncer colorrectal, de páncreas, de hígado y de ovario metastásicos	NCT02176746 NCT02074046 NCT02089919 NCT02178670 (Fase 1/2, 2015)	✓ Inmunidad celular (células T citotóxicas) contra CTT (ALDH ^{high}) <i>in vitro</i> ✓ Unión específica y lisis de CTT por anticuerpos producidos por linfocitos B de pacientes <i>in vitro</i>	(Lin et al., 2020)
STEMVAC	CD105 / Yb-1 / SOX2 / CDH3 / MDM2	Vacuna basada en plásmidos de ADN multiantígeno	CM HER2 negativo en estadio III-IV	NCT02157051 (Fase 1, actual)	✓ Respuesta inmune (tipo Th1) a los antígenos CTT	(Masoumi et al., 2021)
Vacuna ICT-121	Péptidos de CD133	Vacuna de DC a partir de los linfocitos del paciente	Glioblastoma recidivante	NCT02049489 (Fase 1, 2017)	✓ CD133+ en biopsias y cultivo de neuroesferas ✓ Respuesta inmune (células T citotóxicas) a los epítomos de CD133	(Desai et al., 2019)
Vías de señalización						
MK-0752	γ-secretasa	Terapia combinada: inhibidor reversible de la vía Notch + Docetaxel + Pegfilgrastim	CM avanzado o metastásico	NCT00645333 (Fase 1/2, 2010)	✓ Expresión de marcadores de CTT en biopsias	(Zhdanovskaya et al., 2021)
Terapia con enfoques duales						
Células T multi-CAR	CLL-1 CD33	Terapia combinada: múltiples células CAR T contra CLL-1 (CTT) y CD33 (masa tumoral)	Neoplasias hematológicas de alto riesgo en recaída (LMA, LMC)	NCT03795779 (Fase 1, actual)	✓ Enfermedad residual por análisis de citometría de flujo y estudios moleculares	(Masoumi et al., 2021)
Vacuna ICT-107	MAGE-1, HER-2, AIM-2, TRP-2, gp100, IL13Rα2	Vacuna de DC autólogas pulsadas con epítomos de péptidos sintéticos dirigidos a antígenos asociados a células tumorales y CTT	Glioblastoma múltiple con terapia estándar previa	NCT02546102 (Fase 3, suspendido por recursos)	✓ Respuesta inmune a antígenos, la SG y la SLP ✓ Cambio en la expresión de CD133	(Desai et al., 2019; Wen et al., 2019)

Células dendríticas (DC), Supervivencia libre de progresión (SLP), supervivencia general (SG), leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia mieloide crónica (LMC)

*Identificador del ensayo clínico en <https://clinicaltrials.gov/>, fase en la que se encuentra y fecha en la que se completó o terminó el ensayo.

De acuerdo con lo descrito en los detalles de cada ensayo clínico en la base de datos de ClinicalTrials.gov, se evalúa la eficacia de las terapias sobre la población de CTT basándose principalmente en la medición de marcadores de CTT en las biopsias de los pacientes o en la evaluación de la respuesta inmune desarrollada a las CTT, según el tipo de terapia. En el caso de la vacuna de DC autólogas “ICT-121” para pacientes con glioblastoma multiforme que tiene como objetivo inducir una respuesta de células T citotóxicas a células CD133 positivas, se consideró evaluar la expresión de antígeno CD133, realizar de un cultivo de neuroesferas con células CD133+ y evaluar la respuesta inmune generada a epítomos tras la vacunación de los pacientes (NCT02049489). Por otra parte, la vacuna multiantígeno (STEMVAC) se dirige a proteínas inmunogénicas expresadas en las CTT del CM y pueden ayudar al desarrollo de una respuesta inmunitaria eficaz para destruir las células tumorales. Por lo que, en este estudio clínico se evalúa la respuesta inmune de memoria Th1 a los cinco antígenos de CTT a lo largo del tiempo (NCT02157051). De igual forma, un mismo patrocinador ha llevado a cabo distintos ensayos clínicos que comparten el objetivo de generar vacunas DC estimuladas con un lisado de CTT de cáncer colorrectal, de páncreas, de hígado y de ovario metastásicos (células ALDEFLUOR +) como estrategia de inmunoterapia activa. Para esta estrategia se recolectaron muestras de sangre periférica, con la finalidad de purificar los linfocitos T y B del paciente para la generación de las DC, y muestras de los tumores para aislar las CTT (fenotipo ALDH^{high}) de donde se obtuvo el lisado celular. En estudios preclínicos se demostró que los antígenos de las CTT enriquecidas eran capaces de inducir una mejor respuesta inmune antitumoral al observar una inhibición del crecimiento tumoral en comparación con el uso de antígenos de las células tumorales heterogéneas; observando una mayor cantidad de IgG anti-CTT, provocando la lisis de las CTT por activación de complemento, y una destrucción eficaz *in vitro* de CTT por linfocitos T citotóxicos obtenidos de los animales vacunados (Lin et al., 2020). Tal es el efecto que se esperaba en estos estudios clínicos, sin embargo, estos no han reportado resultados desde el 2015.

La evidencia preclínica indica que MK-0752, un conocido inhibidor de la γ -secretasa y de la vía Notch, puede dirigirse a las células troncales y prevenir la recurrencia del tumor cuando se combina con docetaxel para reducir la masa tumoral, un quimioterapéutico comúnmente utilizado para tratar el CM (Zhdanovskaya et al., 2021). Por lo que el ensayo clínico recopiló datos preliminares sobre la eficacia y seguridad de MK-0752 en combinación con docetaxel. Además, se evaluaron marcadores de CTT de CM en muestras de las biopsias de algunos pacientes para ayudar a determinar si las CTT están siendo destruidas por la combinación de medicamentos (NCT00645333). Los resultados del estudio fueron publicados desde el 2013 en donde se

observó una disminución tanto en la expresión de los marcadores CD44 + / CD24- , ALDH +, como en la eficiencia de formación de mamófera y el tamaño tumoral después de varios ciclos de tratamiento (Schott et al., 2013).

En el caso de los estudios clínicos con células CAR-T no se especifican los parámetros para evaluar la eficacia de la terapia en la población de LSC, sin embargo, reconocen que dirigirse a los antígenos de superficie CLL1 y CD33 de forma conjunta permite apuntar tanto a las LSC como al resto de la masa tumoral, previniendo las recaídas debido a poblaciones residuales (F. Liu et al., 2018). Este enfoque dual también se comparte con el estudio de ICT-107, donde evaluaron una vacuna autóloga de DC pulsada con seis epítopos de péptidos sintéticos dirigidos a antígenos asociados a CTT de GBM, la cual se basa en inducir una respuesta inmune contra CTT y el resto de la población tumoral. En este estudio principalmente se evalúa la respuesta inmune a los antígenos CTT, la SG y la SLP (NCT02546102) (Desai et al., 2019; Wen et al., 2019).

6.3. Reposicionamiento de fármacos aprobados por la FDA

Adicional a los nuevos tratamientos en ensayos clínicos, se ha considerado estudiar el uso extraoficial de tratamientos contra tipos de cáncer específicos o el reposicionamiento de otros fármacos para su uso anti-CTT. Se han centrado esfuerzos en encontrar fármacos ya aprobados, puesto que permitiría ahorrar tiempo y recursos en su desarrollo. Debido a esto, existe una amplia cantidad de potenciales fármacos anti-CTT en estudios preclínicos y clínicos donde se han observado resultados favorecedores o que son prometedores debido a su blanco o mecanismo de acción relacionado con las CTT. Algunos de estos se han recopilado y encuentran enlistados en la **Tabla 5**, siendo clasificados según el tipo de blanco molecular al cual estén dirigidos. Se incluyeron aquellos que indican cómo se evaluaría su eficacia específicamente en la población de CTT en los mismos tipos de cáncer de interés descritos anteriormente.

Tabla 5. Evaluación de fármacos aprobados por la FDA para su uso anti-CTT.

Fármaco	Indicación terapéutica	Blanco en CTT	Estrategia / Mecanismo	Relación con las CTT	Estudios preclínicos / clínicos*	Parámetro evaluado	Ref.
Marcadores de CTT							
Disulfiram + Cu	Alcoholismo crónico	ALDH1A1	Inhibidor irreversible de ALDH + quimioterapia	Se asocia con quimio/radiosensibilidad, inhibición de crecimiento, de la metástasis y autorrenovación, generación de ROS y citotoxicidad en CTT.	NCT04265274 (Fase 2, actual) CM	✓ SLP y SG relacionados con presencia de CTC o marcadores de EMT positivos en sangre periférica	(Shibata & Hoque, 2019)
					NCT01777919 (Fase 2, 2019) GMB	✓ SLP y SG relacionados con CTT (ALDH1A1+)	
Reparixina	Trasplante de islotes pancreáticos	CXCR1 y CXCR2	Inhibidor de CXCR1 y CXCR2	CXCR1 está sobreexpresado en CTT y es activado por la IL-8; su inhibición potencia el efecto de quimioterapéuticos, puede causar apoptosis e inhibir la progresión y metástasis.	NCT01861054 (Fase 2, 2015) CM temprano	✓ Caracterización molecular de CTT (ALDH1+) por ALDEFLUOR y por IHC; CD44+ / CD24- por citometría de flujo o RT-PCR y por IHC	(Desai et al., 2019; Goldstein et al., 2020, 2021)
					NCT02370238 (Fase 2, 2019) CMTN metastásico	✓ Conteo de CTC en sangre periférica ✓ Caracterización molecular de CTT en tejido metastásico (CD24- /CD44+, ALDH+)	
					NCT02001974 (Fase 1, 2015) CM HER2-	✓ Perfiles de marcadores de EMT ✓ Caracterización molecular de CTT (fenotipo CD24- / CD44 + / ALDH+) en tejido tumoral ✓ Cuantificación de CTC ✓ Perfiles de marcadores de EMT	
Vías de señalización							
Disulfiram + Cu	Alcoholismo crónico	NF-kB	Inhibidor de NF-kB + quimio / radioterapia (Fluorouracilo / FOLFIRINOX + IR)	El disulfiram / cobre se dirige preferiblemente a las CTT de páncreas favoreciendo la quimio/radiosensibilidad mediante NF-kB.	Estudios preclínicos de líneas celulares PDAC humanas <i>in vitro</i> y células PDAC de ratón <i>in vivo</i>	✓ Caracterización molecular de CTT por citometría: ALDEFLUOR (ALDH+), CD24+ / CD44+ / EpCAM+, CD133+ ✓ Ensayo clonogénico: formación y colonias y esferas ✓ Tumorigenicidad <i>in vivo</i>	(Cong et al., 2017)

Metformina	Diabetes tipo 2	Complejo I mitocondrial	inhibidor de la cadena respiratoria mitocondrial	La metformina tiene un efecto supresor de CTT ya sea por el metabolismo de la glutamina, la activación de AMPK o la inhibición de vías como PI3K/ Akt/ mTOR.	NCT01440127 (Fase 1, 2012) Cáncer colorrectal	✓	Detección de CTT (CD133+)	(Desai et al., 2019; B. Huang et al., 2021)
					NCT01579812 (Fase 2, 2017) Cáncer de ovario	✓	Caracterización molecular de CTT (fenotipo CD133+/ALDH+) mediante citometría de flujo	
Ruxolitinib	Mielofibrosis avanzada y policitemia vera	JAK1 y JAK2	Inhibidor de cinasas + quimioterapia (paclitaxel y carboplatino)	Ruxolitinib Inhibe la señalización JAK/STAT. Es un potencial quimiosensibilizante mediante inhibición de ABCB1.	NCT02713386 (Fase 1/2, 2021) Cáncer de ovario	✓	SLP asociada a presencia de CTT en tejido tumoral	(Saygin et al., 2019)
Vismodegib	Carcinoma de células basales en estadio avanzado	SMO	Inhibidor de vía Hh + quimioterapia (gemcitabina y nab-Paclitaxel)	La vía de señalización Hh está activada en CTT de diferentes tipos de cáncer.	Cáncer de páncreas metastásico NCT01195415 (Fase 2, 2013)	✓	Caracterización molecular de CTT (fenotipo CD44 + / CD24 + / EpCAM+) mediante FACS	(Annett & Robson, 2018)
					NCT01088815 (Fase 2, 2017)	✓	Número de CTT en tejido y sangre periférica	
Niclosamida (PM-N:Fab)	Antihelmíntico	Wnt / β -catenina / c-Myc	Micelas poliméricas cargadas y funcionalizadas con un fragmento de anticuerpo contra CD44v6	Niclosamida puede inhibir vías asociadas a la troncalidad, la proliferación y migración en las CTT.	Estudios preclínicos <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> en cáncer colorrectal y en OSCC	✓	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Detección de CD44V6+ por citometría de flujo. ✓ Análisis de qPCR de CD44v6/ CD44/ CD44v3/ALDH1A1/ CXCR4. ✓ Ensayos de clonogenicidad ✓ Migración celular ✓ Citotoxicidad 	(Pindiprolu & Pindiprolu, 2019; Andrade et al., 2021)
Ibrutinib	Linfoma de células del manto y LLC	BMX	Inhibidor de la cinasa BMX	Suprime la activación de STAT3 mediada por BMX inhibiendo el mantenimiento de CTT, el crecimiento tumoral en GBM y la radiorresistencia.	Estudios preclínicos en GBM	✓	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Crecimiento tumoral <i>in vivo</i> ✓ Inmunotinción de SOX2 ✓ Ensayo de dilución limitante <i>in vitro</i> ✓ Formación de tumoresferas 	(Shi et al., 2018)

Bromocriptina	Parkinson y Diabetes mellitus	Receptor a dopamina D4	Antagonista del receptor de dopamina D4	La inhibición de la señalización de la dopamina compromete la viabilidad de las CTT. Bromocriptina se dirige selectivamente a las CTT en LMA afectando su autorrenovación y favoreciendo la apoptosis y la diferenciación mieloide.	Estudios preclínicos en LMA	✓ ✓ ✓	Ensayos de citotoxicidad selectiva de CTT Inmunofenotipificación por citometría de flujo (CD34+ / CD38-) Ensayos de clonogenicidad <i>in vitro</i>	(Castillo et al., 2016; Grant et al., 2022)
Factores de transcripción								
Napabucasin / Amcasertib	Fármaco huérfano para el cáncer de páncreas y gástrico	STAT3	Inhibidor de STAT3 o Nanog + antineoplásico (Sorafenib)	STAT3 es relevante para las CTT en diferentes tipos de cáncer. Napabucasin promueve el agotamiento de las CTT al afectar la formación de esferoides <i>in vitro</i> , inhibir la autorrenovación de las CTT e inducir la muerte celular.	NCT0227971 (Fase 1/2, 2019) Carcinoma hepatocelular avanzado/metastásico	✓	Marcadores en histopatología y ensayos de CTT	(Annett & Robson, 2018)
Napabucasin (BBI608)		STAT3	Inhibidor de STAT3 + quimioterapia (FOLFIRI)		NCT0275312 (Fase 3, 2021) Cáncer colorrectal metastásico previamente tratado	✓	Evaluación de p-STAT3 / β -catenina nuclear positiva en la tinción inmunohistoquímica de tejido	(Desai et al., 2019)
TME								
Bevacizumab	Diferentes tipos de cáncer	VEGF	Anticuerpo monoclonal que se une e inhibe la actividad del VEGF	Las CTT expresan niveles elevados de factores proangiogénicos, incluido el VEGF, y el bevacizumab puede disminuir este efecto proangiogénico.	NCT01190345 (Fase 2, 2012) CM	✓	Detección de ALDH1+ por IHC	(Sabatier et al., 2019)
Otros								
Napabucasin + Ipilimumab / Nivolumab / Pembrolizumab	Fármaco huérfano para el cáncer de páncreas y gástrico	STAT3 CTLA-4 PD-1	Terapia dual: Inhibidor de STAT3 + mAb inhibidores de puntos de control inmunológico.	Las CTT pueden evadir el sistema inmunológico al expresar altos niveles de PD-L1, por lo que tratamientos combinados con inhibidores de puntos de control promoverían una respuesta antitumoral efectiva.	NCT02467361 (Fase 1/2, 2021) Cánceres sólidos avanzados	✓ ✓	Histopatología de biopsias Ensayos de CTT para informar biomarcadores presentes en tejido tumoral	(Turdo et al., 2019)

ALM201	Fármaco huérfano para cáncer de ovario	CD44, DLL4, Notch4	Péptidos basados en FKBPL	Tiene funciones anti-metastásicas y anti-angiogénicas. En combinación con tamoxifeno retrasa la iniciación de tumores y reduce la población de CTT farmacorresistentes en CM.	Estudios preclínicos en CM (CMTN y tumores RE+) resistentes a terapia endócrina	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Ensayos de clonogenicidad por mamíferas y formación de colonias ✓ Inmunofenotipificación (CD24- / CD44+) por citometría de flujo ✓ Tumorigenicidad en dilución limitante <i>in vivo</i>. 	(McClements et al., 2019)
				ALM201 se dirige a CTT de líneas celulares y muestras de pacientes de cáncer de ovario, reduce niveles de mRNA de SOX2 <i>in vitro</i> y la angiogénesis <i>in vivo</i> .	Estudios preclínicos en cáncer de ovario avanzado	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Ensayo de tumorigenicidad ✓ Dilución limitante <i>in vivo</i> ✓ Formación de tumoresferas ✓ Cuantificación de CTT por citometría de flujo (CD44+ / CD117+) y ALDEFLUOR (ALDH+) 	(Annett et al., 2019)
Fenformina	Diabetes tipo II	Complejo mitocondrial I	Inhibidor del complejo I de la cadena de transporte de electrones mitocondriales	La fenformina inhibe la autorrenovación y la troncalidad de CTT, inhibe el crecimiento tumoral y la angiogénesis, induce la apoptosis y aumenta la supervivencia global en xenoinjertos derivados de CTT de glioblastoma.	Estudios preclínicos en GBM (células trocales de glioma)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Ensayos de formación de neuroesferas ✓ Expresión de mRNA de SOX2, OCT4, CD44 ✓ Crecimiento tumoral <i>in vivo</i> ✓ Ensayos de citotoxicidad 	(W. Jiang et al., 2016)
ATRA/CPT-NP	Acné, leucemia promielocítica aguda y sarcoma de Kaposi.	RARs	Nanopartículas co-cargadas con un inductor de diferenciación celular (tretinoína) y un quimioterapéutico (Camptotecina)	La diferenciación celular reduce la proporción de CTT en varios tumores sólidos sensibilizando el tumor a las terapias convencionales.	Estudios preclínicos en CM	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Ensayo de población lateral ✓ Fenotipificación ALDH+, CD44+/CD24- ✓ Ensayo de dilución limitante <i>in vitro</i> ✓ Formación de esferas tumorales ✓ Expresión proteica de Oct4, Sox2 y Nanog ✓ Ensayo de citotoxicidad ✓ Tumorigenicidad y metástasis <i>in vivo</i> 	(Shen et al., 2021)

Oxígeno hiperbárico + Doxil /Ambraxane	Síndrome de descompresión, infecciones, intoxicación con CO	Hipoxia	Terapia combinada: nanomedicina con terapia de oxígeno hiperbárico	Modificar el nicho hipóxico de CTT puede mejorar la eficacia de los nanoterapéuticos al favorecer su acumulación tumoral por la remodelación de la MEC.	Estudios preclínicos de CMTN y PDAC	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Formación de esferas ✓ Porcentaje de CTT por citometría de flujo (CD44+/CD24-, CD133+, SP) ✓ Citotoxicidad ✓ Metástasis <i>in vivo</i> 	(X. Liu et al., 2021; Z. Zhang et al., 2022)
---	---	---------	--	---	-------------------------------------	---	--

Supervivencia libre de progresión (SLP), supervivencia general (SG), inmunohistoquímica (IHC), células tumorales circulantes (CTC), radiación (IR), Adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC), carcinoma oral de células escamosas (OSCC) glioblastoma múltiple (GBM), leucemia mieloide aguda (LMA), tirosina cinasa no receptora ligada al cromosoma X (BMX); Leucemia linfocítica crónica (LLC); Receptores a estrógeno (RE), receptores del ácido retinoico (RARs); población lateral (SP), matriz extracelular (MEC); *Identificador del ensayo clínico en <https://clinicaltrials.gov/>, fase en la que se encuentra y fecha en la que se completó o terminó el ensayo.

El disulfiram está indicado en el tratamiento del alcoholismo crónico y es un inhibidor de ALDH1A1, enzima altamente expresada en las CTT de diferentes tumores. La evidencia experimental ha demostrado que disulfiram se dirige a las CTT mediante diversos mecanismos incluidos la inhibición de ALDH, de NFκB y el incremento de ROS intracelular, dando como resultado la inhibición del crecimiento de células resistentes a temozolomida y bloqueando su autorrenovación en GBM (Karamanakos et al., 2017; Zhong et al., 2022). Como consecuencia, estudios clínicos evalúan su papel anti-CTT en glioblastoma multiforme donde se propone que la inhibición de ALDH1A1 haga a las CTT más sensibles a la radio/quimioterapia estándar y se evalúa la SLP y SG en pacientes ALDH1A1+ (NCT01777919). Por otra parte, se está estudiando la eficacia de disulfiram en combinación con cobre y quimioterapia (Vinorelbina + Cisplatino/ Temozolomida) para inhibir la ALDH en CTT (EMT+) en pacientes con CM metastásico o recurrente mediante la SLP y SG (NCT04265274). Finalmente, disulfiram + cobre también ha sido estudiado en ensayos preclínicos en combinación con el tratamiento convencional [Fluorouracilo (5-FU) / FOLFIRINOX + IR] en PDAC, los resultados sugieren que este fármaco se dirige preferentemente a las CTT *in vitro* (ALDH+, CD133+ o CD24+/CD44+/EpCAM+) favoreciendo la quimio/radiosensibilidad mediante la inhibición de la vía NF-κB y resulta más eficaz inhibiendo el crecimiento del tumor *in vivo* que la terapia convencional (Cong et al., 2017).

Otro de los fármacos en estudios para su reposicionamiento es la reparixina, indicado para la prevención del rechazo de injertos en trasplante de islotes pancreáticos. Se ha descrito que la inhibición de CXCR1 por reparixina previene la fosforilación de FAK y la señalización posterior, incluida la fosforilación de AKT en las CTT (Goldstein et al., 2020). El estudio clínico NCT01861054 tenía como objetivo evaluar los efectos de la reparixina administrada por vía oral en las CTT en el tumor primario y el TME en una población de CM temprano para lo cual midieron el cambio en los marcadores de CTT, definidas como ALDEFLUOR positivo (ALDH-1 +) y / o CD44^{alto} / CD24^{bajo}, en muestras del tejido mediante las siguientes técnicas: ALDH-1 por ALDEFLUOR y por inmunohistoquímica (IHC), CD44 / CD24 por citometría de flujo o RT-PCR y por IHC, marcadores EMT (Snail1, Twist,1 Notch) por IHC; los marcadores de la vía (AKT, FAK, PTEN y CXCR1) por IHC; marcadores de inflamación (IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α, GM-CSF, VEGF y FGF-β) y subconjuntos de leucocitos infiltrantes de tumores (CD4, CD8, NK y macrófagos) se midieron en muestras de sangre periférica; marcadores de angiogénesis (tinción de CD31) por IHC; marcadores de autofagia por IHC. Esta amplia evaluación permitiría tener información robusta respecto al efecto de reparixina en CM, específicamente en las CTT y su TME (Goldstein et al., 2020). De forma similar, un estudio clínico con reparixina en combinación con paclitaxel en CM negativo HER2 evaluó muestras de sangre periférica de los pacientes para el conteo de CTC,

la caracterización molecular de CTT y realizar perfiles de biomarcadores de EMT con el objetivo de evaluar el efecto de la terapia sobre los marcadores de CTT, el TME y los marcadores de inflamación de citocinas (NCT02001974). Por otra parte, en un estudio de Fase II (NCT02370238) de paclitaxel en combinación con reparixina en CMTN evaluaron la respuesta y / o progresión tumoral mediante el análisis de muestras de tejido metastásico para estudiar a las CTT con fenotipo CD24- /CD44 +/ ALDH + (Goldstein et al., 2021).

La mayoría de los estudios clínicos tienen como objetivo analizar los tumores en busca de CTT y luego determinar la diferencia entre tratar y no con el fármaco con respecto al cambio que se presente en las CTT. Tal es el caso del estudio NCT01440127, cuyo propósito es determinar el efecto de la metformina, fármaco empleado para la diabetes tipo II, en cáncer colorrectal mediante la expresión de CD133 en tumores de pacientes tratados o no tratados. De igual manera, otro estudio de cáncer de ovario (NCT01579812) tenía como objetivo comparar la cantidad de CTT, fenotipificadas como CD133+/ALDH+ mediante citometría de flujo, en muestras de tumores primarios en pacientes tratados con metformina neoadyuvante, cirugía citorreductora y quimioterapia adyuvante contra controles emparejados de su banco de tumores (Brown et al., 2020). Por otro lado, la fenformina es un fármaco análogo a la metformina, un inhibidor del complejo I mitocondrial, con una actividad antitumoral elevada que puede deberse a la inhibición de las vías NF- κ B y STAT3. En estudios preclínicos de glioblastoma la fenformina inhibió la formación de neuroesferas, indujo la apoptosis de las CTT tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*, disminuyó la expresión de marcadores mesenquimales (YKL40 y fibronectina) y de CTT (SOX2, OCT4, CD44) y aumentó la expresión de miR-124, miR-137 y let-7, relacionados con la autorrenovación de las células. Además, demostraron que la fenformina puede inhibir el crecimiento tumoral y prolongar la supervivencia general de los ratones trasplantados ortotópicamente con CTT (W. Jiang et al., 2016).

Ruxolitinib es una terapia dirigida que se une a los receptores de tirosinas cinasas e inhibe a las cinasas Janus asociadas (JAK1 y JAK2), esta también puede inhibir de manera competitiva la función de transporte de ABCB1 y ABCG2 favoreciendo la quimiosensibilización (Ebert et al., 2016). Por lo que se evaluó en un ensayo clínico la eficacia del ruxolitinib en combinación con quimioterapia (carboplatino y paclitaxel) con el objetivo de hacer un análisis de referencia para ver si los cambios observados en las CTT en el tejido tumoral están asociados con supervivencia libre de progresión (NCT02713386) (Saygin et al., 2019).

En el estudio clínico NCT01195415 se obtuvieron biopsias de tumores antes y después de la terapia con Vismodegib (GDC-0449) en combinación con clorhidrato de gemcitabina para evaluar el efecto de la inhibición de la señalización de hedgehog en las CTT del cáncer de páncreas; se calculó el porcentaje medio de células CD44 + / CD24 + / EpCAM + de la biopsia con aguja al inicio del estudio y a las 3 semanas usando FACS, se analizó la diferencia entre los dos puntos temporales. Otro estudio (NCT01088815) evaluó la eficacia de la combinación de vismodegib con gemcitabina y Nab-paclitaxel en cáncer de páncreas según los cambios en el número de CTT en la biopsia de tejido y en la sangre periférica, adicionalmente se analizó la regulación negativa de la vía de señalización de Hedgehog medida por Gli-1 y expresión de Patch (Annett & Robson, 2018).

La niclosamida es un fármaco antihelmíntico aprobado por la FDA y la EMA con potencial actividad anticancerosa contra las CTT y el desarrollo de metástasis en diferentes tipos de cáncer, incluidos mama, leucemias, melanoma cutáneo y carcinoma oral de células escamosas. Este fármaco lleva a cabo su actividad mediante la inhibición de la vía Wnt / β -catenina y moléculas río abajo como STAT3 y cMyc, siendo una vía constitutivamente activa hasta en el 90% de los casos de cáncer colorrectal (Pindiprolu & Pindiprolu, 2019; L. H. Wang et al., 2018). Debido a esto, diversos estudios preclínicos están enfocados en su uso anti-CTT, como lo es en el caso del cáncer colorrectal para el cual se está validando un sistema de administración de niclosamida basado en micelas poliméricas funcionalizadas con fragmentos de anticuerpos dirigidos a CD44v6, un marcador de CTT en cáncer colorrectal que además está asociado con la activación de PI3K-Akt y Wnt / β -catenina al regular la EMT. Las micelas poliméricas aumentaron la eficacia de la niclosamida y se dirigieron preferentemente a las CTT afectando su capacidad para formar colonias *in vitro*; mejoraron la seguridad del fármaco y redujeron las CTC *in vivo*. Esto lo convierte en una terapia anti-CTT prometedora ya que potencialmente previene las recaídas del cáncer colorrectal (Andrade et al., 2021).

Dirigirse a las CTT de glioma es una estrategia prometedora para mejorar el tratamiento de GBM, sin embargo, la similitud entre las CTT y las células progenitoras neurales (NPC) representa un desafío para desarrollar un tratamiento específico. Se ha descrito que la tirosina cinasa no receptora ligada al cromosoma X (BMX) de la médula ósea se expresa preferentemente en las CTT, pero no en las NPC. BMX participa en la hiperactivación de STAT3 que se requiere para la autorrenovación y el potencial tumorigénico de las CTT. Ibrutinib es un fármaco aprobado por la FDA para tratar el linfoma de células del manto y la leucemia linfocítica crónica (LLC) que inhibe a la tirosina cinasa de Bruton (BTK), sin embargo, también puede inhibir las actividades de cinasa

de BMX. Estudios preclínicos plantean que dirigirse a las CTT a través de la inhibición de BMX por ibrutinib suprime la activación de STAT3 afectando el mantenimiento de las CTT, el crecimiento tumoral y la radiorresistencia de GBM. Los resultados de estos estudios muestran que ibrutinib en combinación con radiación prolonga la supervivencia de los animales sin afectar a las células sanas del cerebro, que carecen de expresión de BMX y BTK (Shi et al., 2018).

La bromocriptina es un fármaco originalmente indicado para la enfermedad de Parkinson, la acromegalia, la hiperprolactinemia, la galactorrea y recientemente reposicionado para la diabetes mellitus. Este fue identificado en un cribado *in silico* para buscar moléculas pequeñas aprobadas por la FDA que indujeran la diferenciación de las células de LMA. Este fármaco se describió originalmente como un agonista del receptor de dopamina D2 y un antagonista del receptor de dopamina D4, sin embargo, su mecanismo de acción para cada enfermedad no está totalmente claro. El tratamiento con bromocriptina en ensayos preclínicos redujo la población de CTT en LMA, tanto en muestras pacientes como en líneas celulares, mediante la inducción de apoptosis y de la diferenciación mieloide. Además, bromocriptina disminuyó la clonogenicidad y la capacidad de autorrenovación de las CTT sin afectar a las células sanguíneas sanas. Se describe que el posible mecanismo citotóxico en LMA podría estar mediado por el antagonismo del receptor de dopamina D4, ya que las CTT dependen de la señalización de dopamina y su inhibición compromete su viabilidad (Grant et al., 2022; Lara Castillo et al., 2016)

Las CTT que secretan VEGF pueden estar en nichos proangiogénicos donde la combinación de quimioterapia citotóxica con tratamientos antiangiogénicos podría potenciar los efectos antitumorales. Modelos *in vitro* han sugerido que las CTT del CM sobreexpresan factores proangiogénicos, incluido VEGF. Bevacizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado que se une a VEGF para prevenir la formación de los vasos sanguíneos (Sabatier et al., 2019). Con tal objetivo, un estudio evaluó la actividad anticancerígena de bevacizumab preoperatorio en combinación con quimioterapia convencional en comparación con quimioterapia sola en CM; esto mediante el número de CTT presentes en el tumor (identificadas como ALDH1 + por IHC) antes y después del tratamiento. Este enfoque dual se basa, como la mayoría de los estudios descritos, en que las células tumorales diferenciadas deberían ser eliminadas con quimioterapia, mientras que el bevacizumab eliminaría a las CTT (NCT01190345).

Otro potencial agente anti-CTT es la napabucasin, un inhibidor de STAT3 que ha sido designado como fármaco huérfano para el tratamiento de páncreas y gástrico por la FDA. En el estudio NCT02279719 se administra napabucasin / amcasertib en combinación con sorafenib y se evalúa

su efectividad mediante una biopsia tumoral para proporcionar información de los marcadores presentes por histopatología y para la realización de ensayos de CTT, así como para determinar la concentración del fármaco de estudio en los tumores (Annett & Robson, 2018). En otro estudio de fase III se evalúa el efecto de napabucasin con FOLFIRI (ácido folínico, fluorouracilo y clorhidrato de irinotecán) sobre la SG de pacientes con cáncer colorrectal metastásico previamente tratados y con los biomarcadores p-STAT3 / β -catenina nuclear positivos en la tinción IHC de tejido (NCT02753127). Finalmente, un tercer estudio (NCT02467361) busca de evaluar la actividad de napabucasin administrada a pacientes adultos con cánceres sólidos avanzados en combinación con inhibidores de puntos de control inmunológico, los cuales actúan sobre las células T al unirse y bloquear la actividad de CTLA-4 o PD-1 (Ipilimumab / Nivolumab / Pembrolizumab) (Turdo et al., 2019). Para evaluar la eficacia se realizaron análisis por histopatología y ensayos de CTT para obtener información de los marcadores en el tejido tumoral del paciente sometido a biopsia. Este enfoque se basa en atacar a las CTT y al mismo tiempo favorecer la respuesta inmune antitumoral al evitar que esta se estimule de forma negativa por las propias células cancerosas.

ALM201, un péptido basado en la proteína de unión a FK506 (FKBPL) con funciones antiangiogénicas y anti-CTT, fue designado como medicamento huérfano por la FDA para el cáncer de ovario. Este fármaco ha sido evaluado en estudios preclínicos de cáncer de ovario seroso de alto grado (HGSOC), donde los resultados de los experimentos *in vitro* e *in vivo* indican que esta terapia basada en FKBPL puede dirigirse de forma dual a la angiogénesis y las CTT (CD44 + /CD117 + y ALDH +) mediante la vía CD44/STAT3 y resulta eficaz en los tumores HGSOC altamente vascularizados con niveles bajos de IL-6 (Annett et al., 2019). De igual forma, se ha estudiado su efecto anti-CTT en modelos de cáncer de mama *in vitro*, *in vivo* y *ex vivo* utilizando células ER+ MCF-7 y muestras de pacientes con CM metastásico. Se demostró que ALM201 inhibe las mamoesferas resistentes a tamoxifeno, mientras que en un ensayo de dilución limitante *in vivo* este fue muy eficaz para retrasar la recurrencia del tumor al reducir el número de CTT (CD44 +/CD24 -). El mecanismo de acción potencial, además del mediado por CD44, implica la regulación a la baja de DLL4 y Notch4 a nivel de proteína y/o ARNm (McClements et al., 2019).

Las estrategias nanoterapéuticas tienen un gran potencial para favorecer la reutilización de fármacos, por lo que hay varios ensayos preclínicos enfocados en estas. Tal es el caso del estudio de ATRA/CPT-NP en CMTN, las cuales son nanopartículas micelares co-cargadas con tretinoína (ATRA) y camptotecina (CPT) como un fármaco inductor de la diferenciación de CTT

y uno citotóxico, respectivamente. En esta estrategia, ATRA se libera primero del nanoportador en condiciones hipóxicas induciendo la diferenciación de las CTT mediante el receptor de ácido retinoico, que al presentar un fenotipo no-CTT aumenta su sensibilidad a los agentes quimioterapéuticos convencionales. Al diferenciarse las CTT, los niveles de ROS aumentan debido al aumento de la biogénesis mitocondrial, lo que provoca la liberación de CPT y la posterior muerte celular. El tratamiento con ATRA/CPT-NP en modelos de ratón con CM, suprimió el crecimiento tumoral y previno la metástasis y la recaída tras la extracción quirúrgica del tumor (Shen et al., 2021). Este tipo de estrategia dual basada en inducir la diferenciación celular mediante la liberación controlada del fármaco en las CTT permite reducir la resistencia terapéutica intrínseca relacionada con la troncalidad, mejorando así la respuesta quimioterapéutica. Por otra parte, se ha probado el uso combinado de nanomedicamentos comercializados con terapia de oxígeno hiperbárico (HBO), el cual es indicado para diversos padecimientos no relacionados al cáncer, con el fin de potenciar la eficacia antitumoral. Se ha observado en estudios preclínicos que el HBO mejoró la entrega, acumulación tumoral e internalización celular de Doxil y Ambraxane en tumores ortotópicos de CMTN (4T1) y PDAC (Panc02) al modificar la composición de la MEC disminuyendo el contenido de colágeno I y fibronectina, y con esto promover la perfusión sanguínea al tumor. Adicionalmente, la interrupción de la hipoxia por HBO promovió la eliminación de las CTT en tumores sólidos ricos en estroma y evitó el desarrollo de metástasis (Liu et al., 2021). Estos enfoques duales basados en el mejorar la eficacia de la nanomedicina mediante la regulación del microambiente tumoral han cobrado relevancia en los últimos años (Kutoka et al., 2022).

7. Discusión

El desarrollo de metástasis y resistencia a la quimio y radioterapia siguen siendo un obstáculo importante en la eficacia del tratamiento del cáncer, dando como resultado un desenlace fatal para los pacientes. Las investigaciones han señalado a una subpoblación de células cancerosas como principales responsables de estas complicaciones, por lo que estas han sido objeto de estudio en los últimos años con el fin de mejorar la eficacia de las estrategias terapéuticas en el cáncer. Las CTT son esta pequeña población tumoral con características distintivas al resto de la masa tumoral que les permiten adaptarse a condiciones adversas para favorecer la progresión del tumor. A pesar de que las investigaciones recientes se han centrado en realizar una amplia caracterización de estas células para poder entender cómo eliminarlas de manera eficaz, se siguen presentando complicaciones y una amplia variedad de aspectos a considerar en su estudio.

Las CTT han sido identificadas como una población minoritaria (~1%) en una amplia variedad de cánceres tanto hematológicos como sólidos (Najafi et al., 2019; Sharma et al., 2021; Toledo-Guzmán et al., 2018; Yu et al., 2016). En este trabajo se destacó que esta población aumenta en cánceres avanzados y metastásicos en comparación con el mismo tumor en estadios tempranos (Najafi et al., 2019; Saygin et al., 2019). Sin embargo, los datos existentes no son claros con respecto a la proporción de CTT presentes en los diferentes tipos de cáncer, lo cual sería relevante conocer para estudiar a esta población en los tipos de cáncer en donde sean más abundantes y su pronóstico clínico, así como para sugerir si una terapia dirigida a CTT podría ser útil de acuerdo con el porcentaje de CTT en las muestras de los pacientes. La recopilación de esta información se ha complicado debido a varios aspectos:

- ↳ Para poder realizar una correcta caracterización se requiere aislar a estas células del resto de la masa tumoral, sin embargo, esta población celular es diferente dependiendo del tejido de origen, por lo que se requieren marcadores de CTT específicos para cada tipo de cáncer y, adicional a esto, el estadio del cáncer también cambia el fenotipo y las características que tendrán las poblaciones de las CTT aún dentro del mismo tumor (Michelozzi et al., 2021). Si bien, todas las CTT comparten características generales, se ha descrito que su fenotipo puede variar incluso entre líneas celulares del mismo tipo de cáncer, debido a la plasticidad celular que presentan, lo que ha complicado su estudio pues se requiere primero identificar el fenotipo de las CTT de interés y un modelo de estudio adecuado para las mismas.

- II) El proceso de una selección adecuada de los marcadores de las CTT de interés resulta aún más complejo dado que la mayoría de estos se comparten con células sanas, incluyendo los tipos de células troncales, lo que podría afectar la especificidad de la identificación, como se hace notar en la **Tabla 1. Marcadores de CTT en diferentes tipos de cáncer**. Por otra parte, esto también representa un obstáculo en el desarrollo de terapias dirigidas a CTT, ya que podrían ser contraproducentes al atacar a células sanas. Tal es el caso de las leucemias, que dado su origen comparten marcadores con células sanguíneas sanas, y los cánceres cerebrales, donde adicional a la eficacia terapéutica anti-CTT se debe evaluar la afectación a las células sanas y con esto determinar si es un fármaco adecuado para su uso.
- III) En el estudio de las CTT se requieren metodologías experimentales eficientes para poder realizar su identificación, aislamiento y función. Las metodologías usadas de forma convencional no permiten el estudio espacial y dinámico de las CTT en su nicho, además, deben ser cuidadosamente seleccionadas para recuperar de forma eficiente a esta pequeña proporción de la población cancerosa. En este sentido, los sistemas reporteros han cobrado importancia cuando se considera usar marcadores intracelulares y FT para la identificación de las CTT, dado que las tinciones matan a las células imposibilitando su seguimiento posterior a su identificación. Estos sistemas han representado una herramienta experimental ampliamente utilizada en los últimos años ya que permiten estudiar a las células en tiempo real sin comprometer su viabilidad, además de que el seguimiento de las CTT no se ve afectado por la variabilidad en la expresión de marcadores de superficie que conlleva su alta plasticidad celular. Los esfuerzos actuales se centran en establecer un sistema de detección que permita la cuantificación directa de CTT capaz de evadir las complicaciones actuales, como lo es la necesidad de un enriquecimiento de la población y estudiarlas fuera de la influencia del TME, garantizando la identificación eficaz de las CTT. Tal es el caso de la metodología implementada por Sharma y colaboradores (2021) donde hacen uso del sistema reportero SORE6 junto con microscopía multifotónica mediante imágenes intravitalas en animales vivos, lo que les permitió estudiar las características espaciales y propiedades dinámicas de las CTT de mama en su nicho en tiempo real (Sharma et al., 2021). Estos avances experimentales en el estudio *in vivo* de las CTT también resultan importantes para la identificación de nuevos objetivos y potenciales fármacos anti-CTT.

La investigación sobre las CTT ha contribuido a su caracterización genética y fenotípica, mostrando que la naturaleza peculiar de las CTT, que incluye propiedades de autorrenovación,

pluripotencia y resistencia a la terapia, favorece la resistencia intrínseca a los tratamientos antitumorales convencionales y las hace capaces de escapar de la respuesta inmune, dictando la necesidad de generar nuevas intervenciones terapéuticas dirigidas a erradicar a esta población (Turdo et al., 2019). En este sentido, existen tres rutas a seguir:

- I) Buscar estrategias que evadan los mecanismos de resistencia terapéutica intrínseca ya conocidos de las CTT mediante la inhibición de las vías y/o moléculas responsables.
- II) Generar terapias que prevengan el desarrollo de resistencia, en el entendido de que muchas terapias convencionales inducen la generación de células con fenotipos de CTT. Esto mediante estrategias que sugieren “quitar” el estado de latencia celular y favorecer la diferenciación celular para eliminar a las CTT.
- III) Desarrollar nuevas estrategias que reviertan la farmacoresistencia adquirida, las cuales serían útiles como tratamiento de segunda línea tras comprobarse la existencia de resistencia a la terapia en pacientes cuyas opciones de tratamiento resultan escasas en ese punto.

Estas rutas resultan complejas puesto que se debe considerar el papel de la plasticidad celular en la eficacia de las terapias. Por lo que los enfoques terapéuticos duales cobran relevancia en este sentido: por una parte, los tratamientos convencionales son capaces de eliminar a gran parte de la masa tumoral, principalmente a las no-CTT, y debido a esto el esquema terapéutico se debe completar con agentes que permitan erradicar a las CTT, que usualmente resisten y adquieren un fenotipo más agresivo tras la terapia. Sin embargo, también es indispensable considerar el papel del microambiente tumoral tras los efectos de la terapia puesto que se ha descrito su influencia en la reprogramación de las células cancerosas a un fenotipo EMT (Senthebane et al., 2017). Esto conlleva a que las células no-CTT puedan adquirir fenotipos de CTT que les permitan resistir a la terapia o se favorezca el mantenimiento y/o adquisición de un fenotipo más agresivo de la población de CTT existente, en ambas situaciones se favorecería la recurrencia del cáncer y el desarrollo de metástasis. Debido a esto, la mayoría de las propuestas de las nuevas estrategias se centran en dirigirse a las moléculas y vías responsables del mantenimiento y supervivencia de las CTT, muchas de las cuales se comparten entre las que favorecen la resistencia intrínseca de las CTT y las que estimula el TME en el resto de las células cancerosas, en combinación con fármacos dirigidos a la masa tumoral general, lo cual podría ser una estrategia prometedora para mejorar los estudios clínicos futuros y los resultados de los pacientes.

Actualmente, en el proceso de identificación de nuevas estrategias dirigidas a CTT, muchos de los fármacos candidatos sólo han presentado los efectos anti-CTT en modelos *in*

vitro, por lo que aún se necesitan investigaciones para validar estos resultados *in vivo* y poder continuar con los ensayos clínicos para la evaluación de las tasas de supervivencia y el costo-beneficio de su uso en pacientes con cáncer. Pese a los grandes esfuerzos realizados actualmente, sólo se han identificado un número limitado de estrategias de terapéuticas para atacar específicamente a las CTT. Aunque la mayoría de los reportes han considerado cientos de estudios clínicos en curso como terapias anti-CTT, es importante hacer notar que muchos de estos no son específicos de CTT. Si bien, estos enfoques tienen como dianas terapéuticas moléculas o vías de señalización que son relevantes para las características funcionales de las CTT, los estudios clínicos no describen detalladamente cómo evaluarán la eficacia del tratamiento sobre esta población. Una de las razones de esto es la fase temprana en la que se encuentra el estudio clínico, por lo que se enfoca en evaluar la seguridad del tratamiento, incluyendo las reacciones secundarias o toxicidad que pueda presentarse, y la eficacia terapéutica la reportan basada en aspectos generales que indiquen la detención de la progresión de la enfermedad, como aquellos que se basan en la SG o SLP de los pacientes.

Otra de las razones es que algunos estudios clínicos basados en estrategias terapéuticas que inhiban a los marcadores de superficie que expresa el tumor (que también son marcadores de CTT) se enfocan en la evaluación de la eficacia contra la masa tumoral en su totalidad. En este caso, el hecho de que no evalúen de manera específica el efecto de la terapia en una población particular se debe principalmente a que las CTT pueden compartir la expresión de los marcadores con otras células cancerosas, en donde la diferencia radica en la cantidad en la que lo expresan. Tal es el caso de los estudios basados en cáncer de cerebro, donde se considera al tumor positivo a ciertos marcadores de superficie como lo son CD133 + o EpCAM +, sin considerar a las subpoblaciones celulares que tienen un alta o baja expresión del marcador (Bradshaw et al., 2016; Desai et al., 2019). En la mayoría de estos casos se trata de tumores en estadios avanzados, metastásicos, resistentes a terapias y recidivas, donde se puede intuir que existe una población enriquecida de CTT. Sin embargo, para poder ser claros con respecto a una terapia específica contra las CTT se requiere precisar el fenotipo que está siendo monitoreado para evaluar la eficacia de la estrategia. Debido a esto, muchos de los estudios clínicos en curso no han sido considerados en este trabajo enfocado en las CTT. Aunque se debe mencionar que varios de estos, principalmente estrategias de inmunoterapia y de optimización de compuestos antitumorales mediante nanotecnología, tendrían un alto potencial para mejorar el tratamiento del cáncer.

Como se ha mencionado anteriormente, la inmunoterapia es una de las estrategias más empleadas, como lo es el caso de las vacunas con DC. La vacuna ICT-107, la cual era evaluada en un estudio de Fase 3 en pacientes con glioblastoma múltiple, seguía una estrategia prometedora para eliminar al tumor en su totalidad y evitar la recurrencia al basarse en DC autólogas pulsadas con antígenos asociados tanto a CTT como al resto de células tumorales. Cabe mencionar que este estudio mostraba resultados alentadores desde la primera fase clínica ya que se obtuvo una SG media de 38.4 meses, sin embargo, la fase 3 del estudio clínico fue suspendido por falta de recursos (Desai et al., 2019; Wen et al., 2019). Esta estrategia también es seguida en la vacuna ICT-121 evaluada en el ensayo clínico de fase 1 NCT02049489 para glioma recidivante CD133+. El uso de vacunas de DC parece ser una estrategia ideal para el tratamiento de cáncer basado en antígenos específicos de CTT con el objetivo de mejorar la respuesta inmunológica antitumoral, la cual muchas veces se ve suprimida por las células cancerosas.

Una de las intervenciones terapéuticas en desarrollo más innovadoras es la inmunoterapia basada en células CAR-T ya que pueden dirigirse a cualquier molécula en una célula, independientemente de los MHC, e incluso a más de un antígeno presente en la misma o en diferentes células en un formato biespecífico, siendo una herramienta atractiva particularmente para las neoplasias malignas hematológicas. Tal es el caso de las células T multi-CAR que están siendo evaluadas en el estudio clínico de fase 1 (NCT03795779) para neoplasias hematológicas con alto riesgo de recaída, la cual resulta una estrategia dual prometedora para eliminar al cáncer en su totalidad al dirigir células CAR-T contra un antígeno de CTT (CLL-1) y otras contra un antígeno del resto de la masa tumoral (CD33) (Masoumi et al., 2021). Desafortunadamente, la mayoría de los ensayos clínicos que utilizan células CAR-T dirigidas contra marcadores de superficie de las CTT han presentado obstáculos, de los cuales se destacan:

- I) Las toxicidades dentro del tumor, incluidos síndromes de liberación de citocinas (SLC) y el síndrome de lisis tumoral, pueden causar alteraciones metabólicas sistémicas.
- II) Las toxicidades fuera del tumor, las cuales ocurren debido a la expresión compartida de los antígenos dirigidos de las CTT con las células normales.
- III) Las toxicidades "fuera del objetivo", desencadenadas por la interacción entre el fragmento cristalizante extracelular (Fc) de las CAR y el receptor Fc (FcR) expresado en las células inmunitarias innatas, lo que conduce a la activación independiente del antígeno.
- IV) La alteración o pérdida del antígeno diana en las células dada su variabilidad fenotípica y su consecuente escape inmunológico.

V) La inhibición de su actividad debido al TME (barreras físicas, citocinas y células inmunosupresoras).

Por lo anterior, la monoterapia con células CAR-T dirigidas a CTT no ha resultado totalmente eficaz, lo que destaca la importancia del uso de terapias combinadas para combatir al cáncer. En consecuencia, se han probado varias estrategias para superar estas complicaciones, por ejemplo, infundir las células CAR-T localmente en lugar de sistémicamente para mejorar la seguridad y minimizar los efectos adversos de las células CAR-T dentro / fuera del tumor, así como el uso de células CAR-T biespecíficas, que como ya se mencionó, pueden dirigirse a dos antígenos separados para que actúen solo cuando ambos se expresen en células tumorales (Galassi et al., 2021; Masoumi et al., 2021). El uso de las células T con CAR dirigidas a las CTT aún está en desarrollo y se requieren más investigaciones, tanto para identificar las dianas específicas de CTT, como para mejorar los regímenes de producción y administración de las células CAR-T.

El reposicionamiento de los fármacos existentes representa una reducción en la inversión de tiempo, recursos y esfuerzos en investigación, adicional a los bajos costos comerciales comparados con los de las nuevas terapias, siendo una estrategia altamente recurrida en la actualidad. Por lo que se está explorando el potencial de ampliar la indicación terapéutica de varios fármacos (reutilización o reposicionamiento), incluidos la metformina, disulfiram, reparixina, ALM201, entre otros, con posible actividad anti-CTT tanto en estudios preclínicos y clínicos en curso para diferentes tipos de cáncer.

Disulfiram es uno de los fármacos más estudiados con potencial efecto anti-CTT, actualmente al menos dos estudios clínicos en desarrollo lo están evaluando junto con cobre (Cu) para la inhibición de ALDH, que como ya se describió, es una enzima altamente expresada en CTT de varios tipos de cáncer y está relacionada con resistencia terapéutica. En el estudio de fase 2 NCT04265274 se está evaluando su uso junto con vinorelbina y cisplatino en pacientes con CM recidivante resistente a antraciclinas o taxanos. Por otra parte, el estudio NCT01777919 plantea la evaluación de la combinación de disulfiram/Cu con temozolomida en pacientes con glioblastoma multiforme recién diagnosticado. Este estudio sigue una estrategia prometedora para evitar el desarrollo de resistencia a temozolomida mediada por ALDH, así como favorecer la radiosensibilidad de las células, por lo que se administrará disulfiram/Cu previo a la radioquimioterapia para poder favorecer la eficacia terapéutica de la terapia convencional (Shibata & Hoque, 2019). Adicionalmente disulfiram también se encuentra en estudios preclínicos

para diferentes tipos de cáncer, tal es el caso de PDAC donde se estudia su efecto anti-CTT como inhibidor de la vía NF- κ B (Cong et al., 2017). Esto lo posiciona como un potencial agente anti-CTT para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer.

Dentro de los tratamientos con potencial anti-CTT también se encuentra la napabucasin, un inhibidor de STAT3, evaluada en al menos tres estudios clínicos relacionados con CTT. En el estudio de Fase 3 (NCT02753127) que recién finalizó en el 2021 se evaluó un esquema combinado de napabucasin con un régimen quimioterapéutico convencional (FOLFIRI) para combatir el cáncer colorrectal metastásico con tratamiento previo (diferente a FOLFIRI o radioterapia). Esta es una de las estrategias más prometedoras para el tratamiento del cáncer colorrectal pues se basa en la evasión de los mecanismos de resistencia intrínseca de las CTT, ya que STAT3 es un factor de transcripción altamente expresado en las CTT y ampliamente relacionado con la resistencia terapéutica a 5-fluorouracilo y leucovorina en cáncer colorrectal (Gargalionis et al., 2021). En otro estudio de fase 1 y 2 de cáncer de hígado avanzado o metastásico sin previo tratamiento se evalúa su combinación con sorafenib con el objetivo de evadir los mecanismos de resistencia puesto que se ha reportado que el eje IL-6/STAT3 participa en la resistencia a este anticanceroso por las CTT hepáticas (Li et al., 2020). El último estudio en fase 1 y 2 (NCT02467361) realizado en cánceres sólidos avanzados, evalúa una terapia combinada con este inhibidor de STAT3 y anticuerpos monoclonales inhibidores de puntos de control inmunológico, actuando tanto en CTT como en células del sistema inmune. Este fármaco es un tratamiento anti-CTT prometedor ya que su blanco molecular se encuentra altamente activo en CTT de varios tipos de tumores, respaldando su recurrente evaluación en diferentes ensayos clínicos y destacándolo como uno de los fármacos más avanzados en su estudio como agente anti-CTT.

Reparixina, un inhibidor alostérico de CXCR1, es otro posible agente anti-CTT que ha sido estudiado en ensayos clínicos de diferentes subtipos de CM. CXCR1 es uno de los receptores de IL-8 expresado en CTT (ALDH +) de CM que está involucrado en vías de señalización que favorecen la supervivencia celular (Goldstein et al., 2020). El estudio de fase 2 NCT01861054 investigó el uso de reparixina como agente único en el período entre el diagnóstico clínico y la cirugía en pacientes no tratados con CM temprano, evaluando su efecto sobre las CTT en el tumor primario y el TME. Esta estrategia se dirige a marcadores de superficie de CTT importantes en los mecanismos de supervivencia para poder erradicar a las CTT previo al tratamiento convencional. Los resultados de este estudio mostraron que la reparixina presentó un buen perfil de seguridad y tras su administración en los pacientes las CTT se redujeron en varios pacientes

según lo medido por citometría de flujo y se sugirió la posibilidad de que se induzca autofagia como respuesta al tratamiento (Goldstein et al., 2020). Otros dos estudios clínicos en fase 1 (NCT02001974) y fase 2 (NCT02370238) realizados por el mismo grupo de investigadores evaluaron el uso de la reparixina en combinación con paclitaxel en pacientes con CM metastásico HER 2 negativo y CMTN metastásico, respectivamente. En esta estrategia dual utilizaron un agente dirigido a CTT en combinación con quimioterapia para eliminar al resto de la población tumoral como terapia de primera línea en CM (Goldstein et al., 2021).

Otro de los potenciales fármacos para reposicionar es la metformina, un medicamento comercial económico para tratar la diabetes, el cual ha demostrado actividad anti-CTT *in vitro* y en modelos animales en diferentes tipos de cáncer, incluidos los de mama, páncreas, próstata y colon (Saini & Yang, 2018). Se han propuesto varios mecanismos sobre la actividad anti-CTT de la metformina, incluyendo la modulación de funciones metabólicas mediante la inhibición mitocondrial, la regulación de la vía de señalización de MAPK y la inhibición de la EMT (Brown et al., 2020). Por lo que, diversos estudios clínicos han evaluado su uso para el tratamiento de cáncer, en particular, se evaluó su efecto anti-CTT en el estudio de fase 1 NCT01440127 en pacientes con cáncer colorrectal. Este tenía como objetivo determinar la diferencia entre tratar o no con metformina con respecto al efecto en las CTT (CD133+) como monoterapia previa a la cirugía. Sin embargo, este finalizó en el año 2012 y no se han reportado sus resultados, por lo que aún no se puede concluir si su efecto anti-CTT persiste en tumores humanos. Por otra parte, también se ha evaluado el uso de metformina junto con quimioterapia, pues se ha descrito que la metformina suprime selectivamente a las CTT ováricas a través de la inhibición de la EMT (uno de los mecanismos conocidos por favorecer características funcionales de las CTT e implicado en la resistencia terapéutica) y con esto potencia el efecto de agentes quimioterapéuticos, incluyendo cisplatino y doxorubicina (Tang et al., 2020). Tal es el caso del estudio en fase 2 NCT01579812 realizado en pacientes no diabéticas con cáncer de ovario, los cuales recibieron metformina previa a la reducción quirúrgica y previa a la quimioterapia adyuvante o neoadyuvante tradicional (platino o taxanos). Los resultados de este estudio indicaron que los tumores tratados con metformina tuvieron una disminución de CTT (ALDH + / CD133 +) de 2.4 veces, una mayor sensibilidad al cisplatino *ex vivo* y una SG mejorada en pacientes en estadio II-III, lo que justifica el uso de metformina en estudios de fase 3 (Brown et al., 2020). De tal forma, esta estrategia resultaría eficaz en la prevención de recaídas de los pacientes al favorecer la quimiosensibilidad de las CTT previo al tratamiento, evitando que las CTT resistan a la terapia.

Las potenciales estrategias terapéuticas anti-CTT se dirigen esencialmente a un solo tipo de CTT dadas sus características particulares según el tipo de tumor, sin embargo, existe la posibilidad de que algunas terapias anti-CTT puedan ser estudiadas en diferentes cánceres. En el caso de la vacuna ICT-107, una de las terapias más avanzadas (en fase 3) para tratar el glioblastoma múltiple, no podría utilizarse para tratar otros cánceres debido a que los antígenos a los que va dirigida no se comparten con otros tumores de diferentes tejidos de origen. Contrario a lo que sucede con la vacuna CTT basadas en lisados de CTT (ALDEFLUOR +) pues esta estrategia no se enfoca en antígenos particulares, por lo que esta misma estrategia ha sido aplicada en diferentes tipos de cáncer debido a que la expresión de ALDH en CTT de estos tumores se comparte y permite su aislamiento para la realización de la vacuna de DC. Por otra parte, entre los tratamientos para reposicionamiento que se encuentran en fases más avanzadas con posible efecto anti-CTT en diferentes tipos de cáncer se encuentran disulfiram, metformina y napabucasin, debido a que tienen como blancos moléculas o vías de señalización compartidas entre las CTT de diferentes tejidos de origen.

La eficacia del tratamiento de los pacientes con cáncer depende tanto de un diagnóstico oportuno y completo como de un acertado régimen terapéutico. Una estrategia que ha sido considerada en ensayos clínicos es analizar cómo mejora el efecto de la quimioterapia estándar cuando se utiliza quimioterapia guiada por una prueba de CTT como parte del diagnóstico. Tal es el caso del ensayo clínico de Fase 3 (NCT03632135), que tiene como propósito evaluar la utilidad de las pruebas tumorales de quimiosensibilidad en CTT (ensayo ChemOID) como predictor de la respuesta clínica en tumores cerebrales malignos con mal pronóstico, como lo es el GBM recurrente. En este estudio los pacientes se someten a una biopsia del tumor para realizar las pruebas de respuesta a fármacos ChemOID con múltiples agentes quimioterapéuticos aprobados por la FDA, teniendo como hipótesis que esta prueba de diagnóstico impulsará mejores resultados en comparación con los pacientes tratados con la terapia de atención estándar elegida por el médico. Este ensayo de respuesta a fármacos realizado por un laboratorio de patología clínica utiliza las células tumorales vivas del paciente para medir el efecto citotóxico de las dosis reales de quimioterapia estándar para erradicar no solo la mayor parte de las células tumorales, sino principalmente a las CTT. El ensayo de respuesta a fármacos ChemOID informa una lista priorizada de quimioterapias efectivas e ineficaces para cada paciente. Datos preeliminares de estos ensayos indican que pacientes con GBM recurrente o de alto grado tratados con terapia guiada tienen un 57% de probabilidad de sobrevivir a los 12 meses, en comparación con el 27% de probabilidad de supervivencia observada en estudios anteriores (Howard et al., 2017; Ranjan et al., 2020). Esta estrategia tiene un buen potencial de eficacia

para mitigar la recaída del tumor y sería un protocolo ideal para implementar de manera inmediata en el tratamiento del cáncer.

Las perspectivas de los esquemas terapéuticos a futuro se basan en el empleo de terapias personalizadas de primera y segunda línea. Tal como describen Walcher y colaboradores (2020), un seguimiento ideal del tratamiento del cáncer consistiría en realizar biopsias locales y exámenes de sangre al momento del diagnóstico que permitirán conocer la proporción, los marcadores y la firma genética de las CTT dentro del tumor, así como la detección de CTT circulantes, la evaluación de la inmunidad anti-CTT y la realización de una leucoféresis para la preparación de células CAR-T. Todo esto con el fin de tener una amplia caracterización de las CTT presentes en etapas tempranas y poder iniciar un régimen terapéutico basado en terapia anti-CTT con o sin quimioterapia previo a la cirugía, si fuere el caso. Cabe destacar que la detección de células tumorales circulantes (CTC) previo al inicio de la quimioterapia preoperatoria es un indicador pronóstico de una baja SG, además el patrón de expresión génica de las CTC también puede indicar un mayor potencial metastásico, como es la expresión de genes que involucran procesos de troncalidad, como *Notch* y *CD44*. En una segunda etapa, sería ideal realizar biopsias locales postterapéuticas que permitan la evaluación del riesgo de una recaída basándose en los biomarcadores encontrados, lo que también proporciona información sobre dianas terapéuticas dentro del tejido tumoral restante. La detección a tiempo de las CTT que resurgen permitirá el uso de la terapia secundaria individualizada y precisa de manera oportuna. Esta terapia de segunda línea puede incluir terapias dirigidas, tales como células CAR-T para erradicar las células restantes, las cuales dirigen la recaída tumoral por lo que su seguimiento y eliminación a tiempo es crucial. Incluso después de algunos años de la terapia de primera línea sería ideal seguir realizando exámenes de sangre o algunos análisis más sofisticados que permitan monitorear la aparición de marcadores de las CTT guiando a una terapia de mantenimiento (Walcher et al., 2020).

8. Conclusiones

- ✓ Algunos de los marcadores, factores de transcripción o ensayos funcionales de las CTT han sido usados como marcadores tumorales predictores de la eficacia terapéutica, resaltando la importancia de la eliminación de estas células para mejorar la terapia contra el cáncer.

- ✓ La caracterización de las CTT en diferentes tipos de cáncer ha permitido que varios tratamientos dirigidos a blancos moleculares en esta población, nuevos o para reposicionamiento, se encuentren actualmente en ensayos clínicos principalmente para pacientes con cáncer de mama, colorrectal, de hígado, ovario, glioblastoma y leucemias.

- ✓ Aún se requieren hacer mejoras en las estrategias experimentales empleadas en investigación, incluyendo aquellas usadas para la identificación de las CTT y los modelos de estudio para la evaluación de un fármaco en esta población, pues aún no existen metodologías totalmente eficientes.

- ✓ Dirigirse certeramente a la población de CTT y/o al microambiente tumoral, adicional al resto de la masa tumoral, podría evadir la resistencia terapéutica intrínseca o adquirida y la recurrencia del tumor, mejorando la terapia contra el cáncer.

- ✓ Incluso las estrategias terapéuticas más prometedoras han presentado inconvenientes, incluyendo reacciones adversas, baja efectividad o resistencia terapéutica, por lo que aún se requiere optimizar estas estrategias.

- ✓ A pesar de la abundante información disponible sobre las CTT en diferentes tipos de cáncer, no ha sido suficiente para resolver los desafíos que se han presentado durante el desarrollo de las terapias anti-CTT para el tratamiento del cáncer.

- ✓ Dentro de las terapias más prometedoras que se encuentran en fases clínicas más avanzadas y/o las aplicables a más de un tipo de tumor están: napabucasin, disulfiram, metformina, la vacuna CTT y la vacuna ICT-107.

- ✓ Una de las rutas más factibles y rápidas de llevar a cabo es la mejora en el diagnóstico y selección del régimen terapéutico basado en pruebas tumorales de quimiosensibilidad, la cual puede ser aplicada a todos los tipos de cáncer y permitirá disminuir el riesgo de ineficacia terapéutica.

Abreviaturas

ABCG2/1	Miembro de la superfamilia G del casete de unión a ATP
ABCB5	Miembro 5 de la subfamilia B del casete de unión a ATP
ACT	Terapias de células adoptivas
ADCC	Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADAM 10/17	Desintegrina y metaloproteasa 10/17
Akt	Proteína cinasa PKB
AMH	hormona anti-Mulleriana
ALCAM	Molécula de adhesión de células leucocitarias activadas
ALDH	Aldehído deshidrogenasa
Ape1 / Ref-1	Proteína multifuncional endonucleasa apurínica/apirimidínica/factor redox
ARN	Ácido ribonucleico
ATRA	Tretinoína
BAX	Proteína X asociada a Bcl-2
BAAA	BODIPY-aminoacetaldehído
BAA-	BODIPY-aminoacetato
BCC	Carcinoma de células basales
Bcl-2	Proto-oncogén de linfoma de células B
Bcl-xL	Linfoma de células B extragrande
BCL2L2 (BCL-W)	Proteína 2 similar a Bcl-2
BMP7	Proteína morfogénica ósea 7
BMX	Tirosina cinasa no receptora ligada al cromosoma X
BRCA	Carcinoma invasivo de mama
BTK	Tirosina cinasa de Bruton
CAF	Fibroblastos asociados al cáncer
CAR	Células T receptoras de antígenos quiméricos
c-FLIP	Inhibidor celular proteico de FLICE
ciAP1/2	Proteínas inhibidoras celulares de la apoptosis 1 y 2
CIK	Células asesinas inducidas por citocinas
C-KIT	Glicoproteína transmembrana
CM	Cáncer de mama
CMTN	Cáncer de mama triple negativo
COAD	Adenocarcinoma de colon

CPT	Camptotecina
CTC	Células tumorales circulantes
CTLA - 4	Antígeno 4 asociado a linfocitos T citotóxicos
CTT	Células troncales tumorales
CSF3R	Receptor del factor 3 estimulante de colonias
CXCL1/2	Ligandos de quimiocinas (motivo CXC)
CXCR	Receptor alfa de quimioquinas
DAF	Factor acelerador del decaimiento
DC	Células dendríticas
DLL	Proteína tipo Delta
DPP-4	Dipeptidil peptidasa-4
DSB	Roturas de doble hebra
EMA	Agencia Europea de Medicamentos
EMT	Transición epitelial-mesenquimal
EpCAM	Molécula de adhesión celular epitelial
ERK	Cinasa regulada por señales extracelulares
FACS	Clasificación de células activadas por fluorescencia
FAK	Cinasa de adhesión focal
Fc	Fragmento cristalizante
FcR	Receptor Fc
FDA	Administración de Medicamentos y Alimentos
FGF- β	Factor de crecimiento de fibroblastos básico
FKBP	Proteína de unión a FK506
FOLFIRI	Esquema con ácido folínico, fluorouracilo y clorhidrato de irinotecan
FOLFIRINOX	Esquema con fluorouracilo, irinotecan y oxaliplatino
FT	Factores de transcripción
GBM	Glioblastoma multiforme
GDF	Factores de crecimiento y diferenciación
GFP	Proteína verde fluorescente
GLI 1	Oncogén asociado al glioma es una proteína
GM-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos
GSC	Células troncales de glioma
HA	Glicosaminoglicano hialuronano
HBO	Oxígeno hiperbárico
HER2	Receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2

HGSOC	Cáncer de ovario seroso de alto grado
Hh	Hedgehog
HIF-1	Factor 1 inducible por hipoxia
HR	Reparación homóloga
ICAM-1	Molécula de adhesión intracelular 1
IFN- γ	Interferón gama
IHC	Inmunohistoquímica
I κ B	Inhibidor de NF- κ B
IKK	Complejo de cinasa I κ B
IL-3R	Receptor de interleucina-3
IL-6; IL-10	Interleucina 6; Interleucina 10
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
IR	Radiación
JAG1	Ligando de Notch canónico irregular 1
JAK	Janus cinasa
KICH	Cromóforo de riñón / carcinoma de células renales cromóforo
KLF4	Factor 4 similar a Kruppel
LDT	Trasplante por dilución limitante
LEF	Factor de unión al potenciador linfóide
LGR5	Receptor 5 acoplado a proteína G
LIHC	Carcinoma hepatocelular
LLC	Leucemia linfocítica crónica
LMA	Leucemia mieloide aguda
LMC	Leucemia mieloide crónica
LSC	Células troncales leucémicas
MACS	Clasificación de células activadas magnéticamente
MAPK	Proteína cinasa activada por mitógenos
Mcl-1	Leucemia de células mieloides 1
mCTT	Células troncales tumorales migratorias
MCAM	Molécula de adhesión celular
MDR	Resistencia a múltiples fármacos
MDSC	Células supresoras derivadas de mieloides
MEC	Matriz extracelular
MEK	Proteína cinasa activada por mitógenos
MHC	Complejo principal de histocompatibilidad

miRNA	microRNA (ácido ribonucleico)
MRP-1	Proteína 1 asociada a la resistencia a múltiples fármacos
MS4A1	Membrana que abarca 4 dominios A1
NANOG	Factor de transcripción de unión al DNA mediada por un homeodominio
NCAM	Molécula de adhesión celular neural
NF-kB	Factor nuclear kappa B
NIK	Cinasa inductora de NF-kB
NK	Células asesinas naturales
NP	Nanopartículas
NPC	Células progenitoras neurales
OCT4	Factor de transcripción 4 de unión al octámero (PUO5F1, en humano)
OMS	Organización Mundial de la Salud
OSCC	Carcinoma oral de células escamosas
OV	Cistoadenocarcinoma seroso de ovario
PAAD	Adenocarcinoma de páncreas
PD - 1	Muerte programada 1
PDAC	Adenocarcinoma ductal de páncreas
PI3K	Fosfatidilinositol 3-cinasa
P-gp	Glucoproteína - P1
PLC	Cánceres primarios de hígado
PODXL - 1	Proteína similar a la podocalixina 1
PTCH1	Proteína que es miembro de la familia parcheada
PTEN	Fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato 3-fosfatasa
RANK	Activador del receptor de NFkB
RARs	Receptores del ácido retinoico
RH+	Receptores a hormonas positivo
RE	Receptores a estrógeno
READ	Adenocarcinoma de recto
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SALL4	Proteína 4 tipo Sal
sCTT	Células troncales tumorales estacionarias
SG	Supervivencia general
SLP	Supervivencia libre de progresión
SMAD	Proteínas identificadas en madres contra decapentapléjia
SMO	Smoothened

SNC	Sistema nervioso central
SOD	Superóxido dismutasa
SOX2	Factor de transcripción SRY-box 2
SP	Población lateral
SSEA3/4	Antígeno embrionario específico de la etapa 3/4
SSE	Supervivencia libre de enfermedad
STAT1-4	Transductor de señal y activador de la transcripción 1-4
TAM	Macrófagos asociados a tumores
TAZ	Coactivador transcripcional con motivo de unión a PDZ
TCF	Grupo de genes que codifican factores de transcripción
TCGA	El Atlas del Genoma del Cáncer
TDGF1	Factor de crecimiento 1 derivado de teratocarcinoma
TEAD1-4	Proteínas de unión al ADN de TEA
TGF- β	Factor de crecimiento Transformante Beta
THY-1	Proteína de la superficie celular conservada
TIL	Linfocitos infiltrantes de tumores
TME	Microambiente tumoral
TNF- α	Factor de necrosis tumoral alfa
TNM	Tamaño-Nódulos-Metástasis
TRA-1-60/81	Locus alfa del receptor de células T
TRADD	Proteína con dominio de muerte asociada al TNFR1
UCSC	Universidad de California, Santa Cruz
VCAM-1	Molécula 1 de adhesión celular vascular
VEGF	El factor de crecimiento endotelial vascular
XIAP	Inhibidor de la apoptosis ligado a X)
YAP	Proteína asociada a Yes

Listado de tablas y figuras

Listado de figuras

Figura 1. Modelos de carcinogénesis y origen de CTT.....	9
Figura 2. Representación de la complejidad de las CTT.....	33
Figura 3. Estrategias experimentales para el estudio de las CTT.....	39
Figura 4. Mecanismos de resistencia terapéutica de las CTT.....	49
Figura 5. Estadísticas de los tipos de cáncer de interés.....	51
Figura 6. Top 15 de Incidencia y mortalidad del cáncer en México.....	53

Listado de tablas

Tabla 1. Marcadores de CTT en diferentes tipos de cáncer	18
Tabla 2. Conjunto de marcadores empleados para identificación de CTT tumor específico	34
Tabla 3. Marcadores de CTT en diferentes tumores asociados a pronósticos clínicos en función de la expresión de factores de transcripción de pluripotencia.....	43
Tabla 4. Ensayos clínicos en curso de agentes dirigidos a CTT.....	61
Tabla 5. Evaluación de fármacos aprobados por la FDA para su uso anti-CTT.....	64

Referencias

- Alvarado, A. G., Thiagarajan, P. S., Mulkearns-Hubert, E. E., Silver, D. J., Hale, J. S., Alban, T. J., Turaga, S. M., Jarrar, A., Reizes, O., Longworth, M. S., Vogelbaum, M. A., & Lathia, J. D. (2017). Glioblastoma Cancer Stem Cells Evade Innate Immune Suppression of Self-Renewal through Reduced TLR4 Expression. *Cell Stem Cell*, 20(4), 450-461.e4. <https://doi.org/10.1016/J.STEM.2016.12.001>
- Alvarez-Meythaler, J. G., Garcia-Mayea, Y., Mir, C., Kondoh, H., & LLeonart, M. E. (2020). Autophagy Takes Center Stage as a Possible Cancer Hallmark. *Frontiers in Oncology*, 10. <https://doi.org/10.3389/FONC.2020.586069>
- Alvarez-Trotta, A., Guerrant, W., Astudillo, L., Lahiry, M., Diluvio, G., Shersher, E., Kaneku, H., Robbins, D. J., Orton, D., & Capobianco, A. J. (2021). Pharmacological disruption of the notch1 transcriptional complex inhibits tumor growth by selectively targeting cancer stem cells. *Cancer Research*, 81(12), 3347–3357. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-20-3611>
- Andrade, F., Rafael, D., Vilar-Hernández, M., Montero, S., Martínez-Trucharte, F., Seras-Franzoso, J., Díaz-Riascos, Z. v., Boullosa, A., García-Aranda, N., Cámara-Sánchez, P., Arango, D., Nestor, M., Abasolo, I., Sarmiento, B., & Schwartz, S. (2021). Polymeric micelles targeted against CD44v6 receptor increase niclosamide efficacy against colorectal cancer stem cells and reduce circulating tumor cells in vivo. *Journal of Controlled Release : Official Journal of the Controlled Release Society*, 331, 198–212. <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2021.01.022>
- Annett, S., Moore, G., Short, A., Marshall, A., McCrudden, C., Yakkundi, A., Das, S., McCluggage, W. G., Nelson, L., Harley, I., Moustafa, N., Kennedy, C. J., deFazio, A., Brand, A., Sharma, R., Brennan, D., O'Toole, S., O'Leary, J., Bates, M., ... Robson, T. (2019). FKBPL-based peptide, ALM201, targets angiogenesis and cancer stem cells in ovarian cancer. *British Journal of Cancer* 2019 122:3, 122(3), 361–371. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0649-5>
- Annett, S., & Robson, T. (2018). Targeting cancer stem cells in the clinic: Current status and perspectives. *Pharmacology & Therapeutics*, 187, 13–30. <https://doi.org/10.1016/J.PHARMTHERA.2018.02.001>
- Atkins, R. J., Stylli, S. S., Kurganovs, N., Mangiola, S., Nowell, C. J., Ware, T. M., Corcoran, N. M., Brown, D. v., Kaye, A. H., Morokoff, A., Luwor, R. B., Hovens, C. M., & Mantamadiotis, T. (2019). Cell quiescence correlates with enhanced glioblastoma cell invasion and cytotoxic resistance. *Experimental Cell Research*, 374(2), 353–364. <https://doi.org/10.1016/J.YEXCR.2018.12.010>
- Bahena-Ocampo, I., Espinosa, M., Ceballos-Cancino, G., Lizarraga, F., Campos-Arroyo, D., Schwarz, A., Maldonado, V., & Melendez-Zajgla, J. (2016). miR-10b expression in breast cancer stem cells supports self-renewal through negative PTEN regulation and sustained AKT activation. *EMBO Reports*, 17(5), 648–658. <https://doi.org/10.15252/EMBR.201540678>
- Bajaj, J., Diaz, E., & Reya, T. (2020). Stem cells in cancer initiation and progression. *Journal of Cell Biology*, 219(1). <https://doi.org/10.1083/JCB.201911053>
- Basati, G., Mohammadpour, H., & Emami Razavi, A. (2019). Association of High Expression Levels of SOX2, NANOG, and OCT4 in Gastric Cancer Tumor Tissues with Progression

- and Poor Prognosis. *Journal of Gastrointestinal Cancer* 2019 51:1, 51(1), 41–47. <https://doi.org/10.1007/S12029-018-00200-X>
- Begicevic, R. R., & Falasca, M. (2017). ABC Transporters in Cancer Stem Cells: Beyond Chemoresistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(11). <https://doi.org/10.3390/IJMS18112362>
- Bradshaw, A., Wickremsekera, A., Tan, S. T., Peng, L., Davis, P. F., & Itinteang, T. (2016). Cancer Stem Cell Hierarchy in Glioblastoma Multiforme. *Frontiers in Surgery*, 0, 21. <https://doi.org/10.3389/FSURG.2016.00021>
- Brown, J. R., Chan, D. K., Shank, J. J., Griffith, K. A., Fan, H., Szulawski, R., Yang, K., Reynolds, R. K., Johnston, C., McLean, K., Uppal, S., Liu, J. R., Cabrera, L., Taylor, S. E., Orr, B. C., Modugno, F., Mehta, P., Bregenzler, M., Mehta, G., ... Buckanovich, R. J. (2020). Phase II clinical trial of metformin as a cancer stem cell–targeting agent in ovarian cancer. *JCI Insight*, 5(11). <https://doi.org/10.1172/JCI.INSIGHT.133247>
- Calses, P. C., Crawford, J. J., Lill, J. R., & Dey, A. (2019). Hippo Pathway in Cancer: Aberrant Regulation and Therapeutic Opportunities. *Trends in Cancer*, 5(5), 297–307. <https://doi.org/10.1016/J.TRECAN.2019.04.001>
- Chen, P., Hsu, W. H., Han, J., Xia, Y., & DePinho, R. A. (2021). Cancer Stemness Meets Immunity: From Mechanism to Therapy. *Cell Reports*, 34(1), 108597. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2020.108597>
- Chen, Y. C., Ingram, P. N., Fouladdel, S., Mcdermott, S. P., Azizi, E., Wicha, M. S., & Yoon, E. (2016). High-Throughput Single-Cell Derived Sphere Formation for Cancer Stem-Like Cell Identification and Analysis. *Scientific Reports* 2016 6:1, 6(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/SREP27301>
- Chen, Y., Wen, H., Zhou, C., Su, Q., Lin, Y., Xie, Y., Huang, Y., Qiu, Q., Lin, J., Huang, X., Tan, W., Min, C., & Wang, C. (2019). TNF- α derived from M2 tumor-associated macrophages promotes epithelial-mesenchymal transition and cancer stemness through the Wnt/ β -catenin pathway in SMMC-7721 hepatocellular carcinoma cells. *Experimental Cell Research*, 378(1), 41–50. <https://doi.org/10.1016/J.YEXCR.2019.03.005>
- Cheng, C. C., Shi, L. H., Wang, X. J., Wang, S. X., Wan, X. Q., Liu, S. R., Wang, Y. F., Lu, Z., Wang, L. H., & Ding, Y. (2018). Stat3/Oct-4/c-Myc signal circuit for regulating stemness-mediated doxorubicin resistance of triple-negative breast cancer cells and inhibitory effects of WP1066. *International Journal of Oncology*, 53(1), 339–348. <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4399>
- Cojoc, M., Mäbert, K., Muders, M. H., & Dubrovskaya, A. (2015). A role for cancer stem cells in therapy resistance: Cellular and molecular mechanisms. *Seminars in Cancer Biology*, 31, 16–27. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2014.06.004>
- Cong, J., Wang, Y., Zhang, X., Zhang, N., Liu, L., Soukup, K., Michelakos, T., Hong, T., DeLeo, A., Cai, L., Sabbatino, F., Ferrone, S., Lee, H., Levina, V., Fuchs, B., Tanabe, K., Lillemo, K., Ferrone, C., & Wang, X. (2017). A novel chemoradiation targeting stem and nonstem pancreatic cancer cells by repurposing disulfiram. *Cancer Letters*, 409, 9–19. <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2017.08.028>
- Cruceriu, D., Baldasici, O., Balacescu, O., & Berindan-Neagoe, I. (2020). The dual role of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in breast cancer: molecular insights and therapeutic approaches. *Cellular Oncology* 2019 43:1, 43(1), 1–18. <https://doi.org/10.1007/S13402-019-00489-1>

- Das, P. K., Islam, F., & Lam, A. K. (2020). The Roles of Cancer Stem Cells and Therapy Resistance in Colorectal Carcinoma. *Cells*, 9(6), 1392. <https://doi.org/10.3390/cells9061392>
- Davidson, B., Holth, A., & Dong, H. P. (2020). Expression of the cancer stem cell marker SSEA1 is associated with poor survival in metastatic high-grade serous carcinoma. *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology*, 477(5), 677–685. <https://doi.org/10.1007/S00428-020-02850-4>
- Desai, A., Yan, Y., & Gerson, S. L. (2019). Concise Reviews: Cancer Stem Cell Targeted Therapies: Toward Clinical Success. *STEM CELLS Translational Medicine*, 8(1), 75–81. <https://doi.org/10.1002/SCTM.18-0123>
- Devan, A. R., Kumar, A. R., Nair, B., Anto, N. P., Muraleedharan, A., Mathew, B., Kim, H., & Nath, L. R. (2021). Insights into an Immunotherapeutic Approach to Combat Multidrug Resistance in Hepatocellular Carcinoma. *Pharmaceuticals 2021, Vol. 14, Page 656, 14(7)*, 656. <https://doi.org/10.3390/PH14070656>
- Duan, H., Liu, Y., Gao, Z., & Huang, W. (2021). Recent advances in drug delivery systems for targeting cancer stem cells. *Acta Pharmaceutica Sinica. B*, 11(1), 55–70. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.09.016>
- Dzobo, K., Ganz, C., Thomford, N. E., & Senthebane, D. A. (2021). Cancer Stem Cell Markers in Relation to Patient Survival Outcomes: Lessons for Integrative Diagnostics and Next-Generation Anticancer Drug Development. *OMICS A Journal of Integrative Biology*, 25(2), 81–92. <https://doi.org/10.1089/omi.2020.0185>
- Dzobo, K., Senthebane, D. A., Ganz, C., Thomford, N. E., Wonkam, A., & Dandara, C. (2020). Advances in Therapeutic Targeting of Cancer Stem Cells within the Tumor Microenvironment: An Updated Review. *Cells 2020, Vol. 9, Page 1896, 9(8)*, 1896. <https://doi.org/10.3390/cells9081896>
- Dzobo, K., Senthebane, D. A., Rowe, A., Thomford, N. E., Mwapagha, L. M., Al-Awwad, N., Dandara, C., & Parker, M. I. (2016). Cancer Stem Cell Hypothesis for Therapeutic Innovation in Clinical Oncology? Taking the Root Out, Not Chopping the Leaf. *OMICS A Journal of Integrative Biology*, 20(12), 681–691. <https://doi.org/10.1089/omi.2016.0152>
- Ebert, C., Perner, F., Wolleschak, D., Schnöder, T. M., Fischer, T., & Heidel, F. H. (2016). Expression and function of ABC-transporter protein ABCB1 correlates with inhibitory capacity of Ruxolitinib in vitro and in vivo. *Haematologica*, 101(3), e81. <https://doi.org/10.3324/HAEMATOL.2015.136754>
- Espinosa-Sánchez, A., Suárez-Martínez, E., Sánchez-Díaz, L., & Carnero, A. (2020). Therapeutic Targeting of Signaling Pathways Related to Cancer Stemness. *Frontiers in Oncology*, 0, 1533. <https://doi.org/10.3389/FONC.2020.01533>
- Eun, K., Won Ham, S., & Kim, H. (2017). Cancer stem cell heterogeneity: origin and new perspectives on CSC targeting. *BMB Rep*, 50(3), 117–125. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2017.50.3.222>
- Fekir, K., Dubois-Pot-Schneider, H. ene, Desert, R., Daniel, Y., Glaise, D., Rauch, C., Morel, F., Fromenty, B., Musso, O., Cabillic, F., & Corlu, A. (2019). Retrodifferentiation of human tumor hepatocytes to stem cells leads to metabolic reprogramming and chemoresistance. *Cancer Research*, 79(8), 1869–1883. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-2110/653479/AM/RETRODIFFERENTIATION-OF-HUMAN-TUMOR-HEPATOCYTES-TO>

- Ferlay, J., Ervik, M., Lam, F., Colombet, M., Mery, L., Piñeros, M., Znaor, A., Soerjomataram, I., & Bray, F. (2020). *Global Cancer Observatory: Cancer Today*. International Agency for Research on Cancer. <https://gco.iarc.fr/today/home>
- Galassi, C., Musella, M., Manduca, N., Maccafeio, E., & Sistigu, A. (2021). The Immune Privilege of Cancer Stem Cells: A Key to Understanding Tumor Immune Escape and Therapy Failure. *Cells* 2021, Vol. 10, Page 2361, 10(9), 2361. <https://doi.org/10.3390/CELLS10092361>
- Gao, J., Yang, T., Wang, X., Zhang, Y., Wang, J., Zhang, B., Tang, D., Liu, Y., Gao, T., Lin, Q., Tang, J., & Cai, J. (2021). Identification and characterization of a subpopulation of CD133 + cancer stem-like cells derived from SK-UT-1 cells. *Cancer Cell International*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/S12935-021-01817-Y>
- Gargalionis, A. N., Papavassiliou, K. A., & Papavassiliou, A. G. (2021). Targeting STAT3 Signaling Pathway in Colorectal Cancer. *Biomedicines* 2021, Vol. 9, Page 1016, 9(8), 1016. <https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES9081016>
- Garros-Regulez, L., Garcia, I., Carrasco-Garcia, E., Lantero, A., Aldaz, P., Moreno-Cugnon, L., Arrizabalaga, O., Undabeitia, J., Torres-Bayona, S., Villanua, J., Ruiz, I., Egaña, L., Sampron, N., & Matheu, A. (2016). Targeting SOX2 as a therapeutic strategy in glioblastoma. *Frontiers in Oncology*, 6(OCT), 222. <https://doi.org/10.3389/FONC.2016.00222/BIBTEX>
- Goldman, M. J., Craft, B., Hastie, M., Repečka, K., McDade, F., Kamath, A., Banerjee, A., Luo, Y., Rogers, D., Brooks, A. N., Zhu, J., & Haussler, D. (2020). Visualizing and interpreting cancer genomics data via the Xena platform. *Nature Biotechnology*, 38(6), 675–678. <https://doi.org/10.1038/S41587-020-0546-8>
- Goldstein, L. J., Mansutti, M., Levy, C., Chang, J. C., Henry, S., Fernandez-Perez, I., Prausová, J., Staroslawska, E., Viale, G., Butler, B., McCanna, S., Ruffini, P. A., Wicha, M. S., Schott, A. F., Alvarez, R. H., Abu-Khalaf, M., Ibrahim, N., Daniel, B., Meshad, M., ... Jimenez, M. M. (2021). A randomized, placebo-controlled phase 2 study of paclitaxel in combination with reparixin compared to paclitaxel alone as front-line therapy for metastatic triple-negative breast cancer (fRida). *Breast Cancer Research and Treatment*, 190(2), 265–275. <https://doi.org/10.1007/S10549-021-06367-5>
- Goldstein, L. J., Perez, R. P., Yardley, D., Han, L. K., Reuben, J. M., Gao, H., McCanna, S., Butler, B., Ruffini, P. A., Liu, Y., Rosato, R. R., & Chang, J. C. (2020). A window-of-opportunity trial of the CXCR1/2 inhibitor reparixin in operable HER-2-negative breast cancer. *Breast Cancer Research*, 22(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/S13058-019-1243-8/FIGURES/5>
- Gomatou, G., Syrigos, N., Vathiotis, I. A., & Kotteas, E. A. (2021). Tumor dormancy: Implications for invasion and metastasis. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 9, p. 4862). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms22094862>
- Grant, C. E., Flis, A. L., & Ryan, B. M. (2022). Understanding the role of dopamine in cancer: past, present and future. *Carcinogenesis*, 43(6), 517–527. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/BGAC045>
- Grubelnik, G., Boštjančič, E., Pavlič, A., Kos, M., & Zidar, N. (2020). NANOG expression in human development and cancerogenesis. *Experimental Biology and Medicine*, 245(5), 456–464. <https://doi.org/10.1177/1535370220905560>
- Gwak, J. M., Kim, M., Kim, H. J., Jang, M. H., Park, S. Y., Moon Gwak, J., Kim, M., Jeong Kim, H., Hye Jang, M., & Yeon Park, S. (2017). Expression of embryonal stem cell transcription

- factors in breast cancer: Oct4 as an indicator for poor clinical outcome and tamoxifen resistance. *Oncotarget*, 8(22), 36305–36318. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.16750>
- Gzil, A., Zarębska, I., Bursiewicz, W., Antosik, P., Grzanka, D., & Szyłberg, Ł. (2019). Markers of pancreatic cancer stem cells and their clinical and therapeutic implications. *Molecular Biology Reports*, 46(6), 6629–6645. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05058-1>
- Heise, T., & Sommer, G. (2021). RNA-Binding Protein La Mediates TGFβ-Induced Epithelial to Mesenchymal Transition and Cancer Stem Cell Properties. *Cancers 2021*, Vol. 13, Page 343, 13(2), 343. <https://doi.org/10.3390/CANCERS13020343>
- Hida, K., Maishi, N., Torii, C., & Hida, Y. (2016). Tumor angiogenesis--characteristics of tumor endothelial cells. *International Journal of Clinical Oncology*, 21(2), 206–212. <https://doi.org/10.1007/S10147-016-0957-1>
- Howard, C. M., Valluri, J., Alberico, A., Julien, T., Mazagri, R., Marsh, R., Alastair, H., Cortese, A., Griswold, M., Wang, W., Denning, K., Brown, L., & Claudio, P. P. (2017). Analysis of Chemopredictive Assay for Targeting Cancer Stem Cells in Glioblastoma Patients. *Translational Oncology*, 10(2), 241–254. <https://doi.org/10.1016/J.TRANON.2017.01.008>
- Hu, Y., Yagüe, E., Zhao, J., Wang, L., Bai, J., Yang, Q., Pan, T., Zhao, H., Liu, J., & Zhang, J. (2018). Sabutoclax, pan-active BCL-2 protein family antagonist, overcomes drug resistance and eliminates cancer stem cells in breast cancer. *Cancer Letters*, 423, 47–59. <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2018.02.036>
- Huang, B., Yan, X., & Li, Y. (2021). Cancer Stem Cell for Tumor Therapy. *Cancers 2021*, Vol. 13, Page 4814, 13(19), 4814. <https://doi.org/10.3390/CANCERS13194814>
- Huang, R., Rofstad, E. K., Huang, R., & Rofstad, E. K. (2016). Cancer stem cells (CSCs), cervical CSCs and targeted therapies. *Oncotarget*, 8(21), 35351–35367. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.10169>
- Huang, T., Song, X., Xu, D., Tiek, D., Goenka, A., Wu, B., Sastry, N., Hu, B., & Cheng, S. Y. (2020). Stem cell programs in cancer initiation, progression, and therapy resistance. *Theranostics*, 10(19), 8721–8743. <https://doi.org/10.7150/thno.41648>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2022). *ESTADÍSTICAS A PROPÓSITO DEL DÍA MUNDIAL CONTRA EL CÁNCER*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- Iqbal, W., Alkarim, S., AlHejin, A., Mukhtar, H., & Saini, K. S. (2016). Targeting signal transduction pathways of cancer stem cells for therapeutic opportunities of metastasis. *Oncotarget*, 7(46), 76337–76353. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.10942>
- Jiang, N., Dai, Q., Su, X., Fu, J., Feng, X., & Peng, J. (2020). Role of PI3K/AKT pathway in cancer: the framework of malignant behavior. *Molecular Biology Reports*, 47(6), 4587–4629. <https://doi.org/10.1007/S11033-020-05435-1>
- Jiang, W., Finniss, S., Cazacu, S., Xiang, C., Brodie, Z., Mikkelsen, T., Poisson, L., Shackelford, D. B., Brodie, C., Jiang, W., Finniss, S., Cazacu, S., Xiang, C., Brodie, Z., Mikkelsen, T., Poisson, L., Shackelford, D. B., & Brodie, C. (2016). Repurposing phenformin for the targeting of glioma stem cells and the treatment of glioblastoma. *Oncotarget*, 7(35), 56456–56470. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.10919>
- Karagiannidis, I., Salataj, E., Said Abu Egal, E., & Beswick, E. J. (2021). G-CSF in tumors: Aggressiveness, tumor microenvironment and immune cell regulation. *Cytokine*, 142, 155479. <https://doi.org/10.1016/J.CYTO.2021.155479>

- Karagonlar, Z. F., Akbari, S., Karabicici, M., Sahin, E., Avci, S. T., Ersoy, N., Ates, K. E., Balli, T., Karacicek, B., Kaplan, K. N., Celiker, C., Atabey, N., & Erdal, E. (2020). A Novel Function for KLF4 in Modulating the De-differentiation of EpCAM-/CD133- nonStem Cells into EpCAM+/CD133+ Liver Cancer Stem Cells in HCC Cell Line HuH7. *Cells*, 9(5), 1198. <https://doi.org/10.3390/cells9051198>
- Karamanakos, P. N., Trafalis, D. T., Papachristou, D. J., Panteli, E. S., Papavasiliopoulou, M., Karatzas, A., Kardamakias, D., Nasioulas, G., & Marselos, M. (2017). Evidence for the efficacy of disulfiram and copper combination in glioblastoma multiforme - A propos of a case. *Journal of B.U.ON. : Official Journal of the Balkan Union of Oncology*, 22(5), 1227–1232. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29135106/>
- Kim, W.-T., & Ryu, and C. J. (2017). Cancer stem cell surface markers on normal stem cells. *BMB Reports*, 50(6), 285–298. <https://doi.org/10.5483/BMBREP.2017.50.6.039>
- Kumar, D., Gorain, M., Kundu, G., & Kundu, G. C. (2017). Therapeutic implications of cellular and molecular biology of cancer stem cells in melanoma. *Molecular Cancer* 2017 16:1, 16(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/S12943-016-0578-3>
- Kutoka, P. T., Seidu, T. A., Baye, V., Khamis, A. M., Omonova, C. T. qizi, & Wang, B. (2022). Insights into Tumor Microenvironment (TME) and the Nano Approaches to Suppress Tumor Growth. *OpenNano*, 7, 100041. <https://doi.org/10.1016/J.ONANO.2022.100041>
- Lánczky, A., & Györfy, B. (2021). Web-based survival analysis tool tailored for medical research (KMplot): Development and implementation. *Journal of Medical Internet Research*, 23(7). <https://doi.org/10.2196/27633>
- Lara-Castillo, M. C. , Cornet-Masana, J. M. , Etxabe, A. , Banús-Mulet, A. , Torrente, M. Á. , Nomdedeu, M. , Díaz-Beyá, M. , Esteve, J. , & Risueño, R. M. . (2016). Repositioning of bromocriptine for treatment of acute myeloid leukemia. *Journal of Translational Medicine*, 14(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/S12967-016-1007-5/FIGURES/3>
- Lathia, J., Liu, H., & Matei, D. (2020). The Clinical Impact of Cancer Stem Cells. *The Oncologist*, 25(2), 123–131. <https://doi.org/10.1634/THEONCOLOGIST.2019-0517>
- Lee, W.-Y., Kuo, C.-C., Lin, B.-X., Cheng, C.-H., Chen, K.-C., & Lin, C.-W. (2017). Podocalyxin-Like Protein 1 Regulates TAZ Signaling and Stemness Properties in Colon Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(10). <https://doi.org/10.3390/IJMS18102047>
- Li, Y., Chen, G., Han, Z., Cheng, H., Qiao, L., & Li, Y. (2020). IL-6/STAT3 Signaling Contributes to Sorafenib Resistance in Hepatocellular Carcinoma Through Targeting Cancer Stem Cells</p>.</p> </div>
<div data-bbox="473 917 523 935" data-label="Page-Footer">
<p>- 98 -</p>
</div>

- Liu, L., & Borlak, J. (2021). Advances in Liver Cancer Stem Cell Isolation and their Characterization. *Stem Cell Reviews and Reports*, 1–24. <https://doi.org/10.1007/s12015-020-10114-6>
- Liu, X., Ye, N., Xiao, C., Wang, X., Li, S., Deng, Y., Yang, X., Li, Z., & Yang, X. (2021). Hyperbaric oxygen regulates tumor microenvironment and boosts commercialized nanomedicine delivery for potent eradication of cancer stem-like cells. *Nano Today*, 40, 101248. <https://doi.org/10.1016/J.NANTOD.2021.101248>
- Liu, Z., Ren, Y., Meng, L., Li, L., Beatson, R., Deng, J., Zhang, T., Liu, J., & Han, X. (2021). Epigenetic Signaling of Cancer Stem Cells During Inflammation. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9. <https://doi.org/10.3389/FCELL.2021.772211>
- Ma, B., Zhang, L., Zou, Y., He, R., Wu, Q., Han, C., & Zhang, B. (2019). Reciprocal regulation of integrin $\beta 4$ and KLF4 promotes gliomagenesis through maintaining cancer stem cell traits. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR*, 38(1). <https://doi.org/10.1186/S13046-019-1034-1>
- Maffuz-Aziz, A., Labastida-Almendaro, S., Espejo-Fonseca, A., & Rodríguez-Cuevas, S. (2017). Clinical and pathological features of breast cancer in a population of Mexico. *Cirugia y Cirujanos*, 85(3), 201–207. <https://doi.org/10.1016/J.CIRCIR.2016.08.004>
- Masoumi, J., Jafarzadeh, A., Abdolalizadeh, J., Khan, H., Philippe, J., Mirzaei, H., & Mirzaei, H. R. (2021). Cancer stem cell-targeted chimeric antigen receptor (CAR)-T cell therapy: Challenges and prospects. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 11(7), 1721–1739. <https://doi.org/10.1016/J.APSB.2020.12.015>
- Matsui, W. H. (2016). Cancer stem cell signaling pathways. *Medicine (United States)*, 95(1), S8–S19. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000004765>
- McClements, L., Annett, S., Yakkundi, A., O'Rourke, M., Valentine, A., Moustafa, N., Alqudah, A., Simões, B. M., Furlong, F., Short, A., McIntosh, S. A., McCarthy, H. O., Clarke, R. B., & Robson, T. (2019). FKBPL and its peptide derivatives inhibit endocrine therapy resistant cancer stem cells and breast cancer metastasis by downregulating DLL4 and Notch4. *BMC Cancer*, 19(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/S12885-019-5500-0/FIGURES/6>
- Mendonça, L., Trindade, A., Carvalho, C., Correia, J., Badenes, M., Gigante, J., & Duarte, A. (2019). Metastasis is impaired by endothelial-specific Dll4 loss-of-function through inhibition of epithelial-to-mesenchymal transition and reduction of cancer stem cells and circulating tumor cells. *Clinical & Experimental Metastasis 2019* 36:4, 36(4), 365–380. <https://doi.org/10.1007/S10585-019-09973-2>
- Michelozzi, I. M., Kirtsios, E., & Giustacchini, A. (2021). Driving CAR T Stem Cell Targeting in Acute Myeloid Leukemia: The Roads to Success. *Cancers 2021, Vol. 13, Page 2816*, 13(11), 2816. <https://doi.org/10.3390/CANCERS13112816>
- Mishra, D., Singh, S., & Narayan, G. (2016). Role of B Cell Development Marker CD10 in Cancer Progression and Prognosis. *Molecular Biology International*, 2016, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2016/4328697>
- Miyoshi, S., Tsugawa, H., Matsuzaki, J., Hirata, K., Mori, H., Saya, H., Kanai, T., & Suzuki, H. (2018). Inhibiting xCT Improves 5-Fluorouracil Resistance of Gastric Cancer Induced by CD44 Variant 9 Expression. *Anticancer Research*, 38(11), 6163–6170. <https://doi.org/10.21873/ANTICANRES.12969>

- Mohan, A., Raj R., R., Mohan, G., K. P., P., & Thomas Maliekal, T. (2021). Reporters of Cancer Stem Cells as a Tool for Drug Discovery. *Frontiers in Oncology*, 0, 1270. <https://doi.org/10.3389/FONC.2021.669250>
- Moharil, R., Dive, A., Khandekar, S., & Bodhade, A. (2017). Cancer stem cells: An insight. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 21(3), 463. https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_132_16
- Mohiuddin, I. S., Wei, S. J., & Kang, M. H. (2020). Role of OCT4 in cancer stem-like cells and chemotherapy resistance. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1866(4). <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2019.03.005>
- Mollen, E. W. J., Ient, J., Tjan-Heijnen, V. C. G., Boersma, L. J., Miele, L., Smidt, M. L., & Vooijs, M. A. G. G. (2018). Moving Breast Cancer Therapy up a Notch. *Frontiers in Oncology*, 0, 518. <https://doi.org/10.3389/FONC.2018.00518>
- Mondal, S., Bhattacharya, K., & Mandal, C. (2018). Nutritional stress reprograms dedifferentiation in glioblastoma multiforme driven by PTEN/Wnt/Hedgehog axis: a stochastic model of cancer stem cells. *Cell Death Discovery* 2018 4:1, 4(1), 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41420-018-0126-6>
- Murayama, T., & Gotoh, N. (2019). Drug resistance mechanisms of cancer stem-like cells and their therapeutic potential as drug targets. *Cancer Drug Resistance*, 457–470. <https://doi.org/10.20517/cdr.2019.36>
- Najafi, M., Mortezaee, K., & Majidpoor, J. (2019). Cancer stem cell (CSC) resistance drivers. *Life Sciences*, 234, 116781. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116781>
- Najafzadeh, B., Asadzadeh, Z., Motafakker Azad, R., Mokhtarzadeh, A., Baghbanzadeh, A., Alemohammad, H., Abdoli Shadbad, M., Vasefifar, P., Najafi, S., & Baradaran, B. (2021). The oncogenic potential of NANOG: An important cancer induction mediator. *Journal of Cellular Physiology*, 236(4), 2443–2458. <https://doi.org/10.1002/jcp.30063>
- Neves, J. B., Vanaclocha Saiz, L., Abu-Ghanem, Y., Marchetti, M., Tran-Dang, M. A., El-Sheikh, S., Barod, R., Beisland, C., Capitanio, U., Cullen, D., Klatte, T., Ljungberg, B., Mumtaz, F., Patki, P., Stewart, G. D., Dabestani, S., Tran, M. G. B., & Bex, A. (2021). Pattern, timing and predictors of recurrence after surgical resection of chromophobe renal cell carcinoma. *World Journal of Urology*, 39(10), 3823–3831. <https://doi.org/10.1007/S00345-021-03683-9/FIGURES/2>
- Niederhuber, J. E., Armitage, J. O., Doroshow, J. H., Kastan, M. B., & Tepper, J. E. (2020). *Abeloff. Oncología clínica*. Elsevier Health Sciences. <https://books.google.com.mx/books?id=C9U6EAAAQBAJ>
- Oliva, E. N., Franek, J., Patel, D., Zaidi, O., Nehme, S. A., & Almeida, A. M. (2018). The Real-World Incidence of Relapse in Acute Myeloid Leukemia (AML): A Systematic Literature Review (SLR). *Blood*, 132(Supplement 1), 5188–5188. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2018-99-111839>
- Paramanatham, A., Jung, E. J., Go, S. il, Jeong, B. K., Jung, J. M., Hong, S. C., Kim, G. S., & Lee, W. S. (2021). Activated ERK Signaling Is One of the Major Hub Signals Related to the Acquisition of Radiotherapy-Resistant MDA-MB-231 Breast Cancer Cells. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, Vol. 22, Page 4940, 22(9), 4940. <https://doi.org/10.3390/IJMS22094940>

- Park, J. H., Pyun, W. Y., & Park, H. W. (2020). Cancer Metabolism: Phenotype, Signaling and Therapeutic Targets. *Cells* 2020, Vol. 9, Page 2308, 9(10), 2308. <https://doi.org/10.3390/CELLS9102308>
- Park, J.-H., Kim, Y.-H., Shim, S., Kim, A., Jang, H., Lee, S.-J., Park, S., Seo, S., Jang, W. il, Lee, S. B., & Kim, M.-J. (2021). Radiation-Activated PI3K/AKT Pathway Promotes the Induction of Cancer Stem-Like Cells via the Upregulation of SOX2 in Colorectal Cancer. *Cells* 2021, Vol. 10, Page 135, 10(1), 135. <https://doi.org/10.3390/CELLS10010135>
- Park, S.-R., Kim, S.-R., Hong, I.-S., & Lee, H.-Y. (2020). A Novel Therapeutic Approach for Colorectal Cancer Stem Cells: Blocking the PI3K/Akt Signaling Axis With Caffeic Acid. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 0, 1636. <https://doi.org/10.3389/FCELL.2020.585987>
- Pindiprolu, S. H., & Pindiprolu, S. K. S. S. (2019). CD133 receptor mediated delivery of STAT3 inhibitor for simultaneous elimination of cancer cells and cancer stem cells in oral squamous cell carcinoma. *Medical Hypotheses*, 129, 109241. <https://doi.org/10.1016/J.MEHY.2019.109241>
- Pollutri, D., Patrizi, C., Marinelli, S., Giovannini, C., Trombetta, E., Giannone, F. A., Baldassarre, M., Quarta, S., Vandewynckel, Y. P., Vandierendonck, A., van Vlierberghe, H., Porretti, L., Negrini, M., Bolondi, L., Gramantieri, L., & Fornari, F. (2018). The epigenetically regulated miR-494 associates with stem-cell phenotype and induces sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma. *Cell Death & Disease* 2018 9:1, 9(1), 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41419-017-0076-6>
- Postow, M. A., Goldman, D. A., Shoushtari, A. N., Warner, A. B., Callahan, M. K., Momtaz, P., Naito, E., Eton, O., Nair, S., Wolchok, J. D., Panageas, K., & Chapman, P. B. (2020). A phase II study to evaluate the need for > two doses of nivolumab + ipilimumab combination (combo) immunotherapy. https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.10003, 38(15_suppl), 10003–10003. https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.15_SUPPL.10003
- Prager, B. C., Xie, Q., Bao, S., & Rich, J. N. (2019). Cancer Stem Cells: The Architects of the Tumor Ecosystem. *Cell Stem Cell*, 24(1), 41. <https://doi.org/10.1016/J.STEM.2018.12.009>
- Qi, X. tian, Li, Y. ling, Zhang, Y. qi, Xu, T., Lu, B., Fang, L., Gao, J. qing, Yu, L. shan, Zhu, D. feng, Yang, B., He, Q. jun, & Ying, M. dan. (2019). KLF4 functions as an oncogene in promoting cancer stem cell-like characteristics in osteosarcoma cells. *Acta Pharmacologica Sinica*, 40(4), 546. <https://doi.org/10.1038/S41401-018-0050-6>
- Ramos-Herrera, I. M., Reyna-Sevilla, A., González-Castañeda, M. E., Robles-Pastrana, J. D., Herrera-Echauri, D. D., & González-Rivera, C. A. (2020). Breast cancer in Jalisco: a spatial analysis of mortality in the 2010-2017 period. *Gaceta Medica de Mexico*, 156(6), 532–538. <https://doi.org/10.24875/GMM.M21000494>
- Ranjan, T., Howard, C. M., Yu, A., Xu, L., Aziz, K., Jho, D., Leonardo, J., Hameed, M. A., Karlovits, S. M., Wegner, R. E., Fuhrer, R., Lirette, S. T., Denning, K. L., Valluri, J., & Claudio, P. P. (2020). Cancer Stem Cell Chemotherapeutics Assay for Prospective Treatment of Recurrent Glioblastoma and Progressive Anaplastic Glioma: A Single-Institution Case Series. *Translational Oncology*, 13(4), 100755. <https://doi.org/10.1016/J.TRANON.2020.100755>
- Rasti, A., Madjd, Z., Saeednejad Zanjani, L., Babashah, S., Abolhasani, M., Asgari, M., & Mehrzama, M. (2021). SMAD4 Expression in Renal Cell Carcinomas Correlates With a

- Stem-Cell Phenotype and Poor Clinical Outcomes. *Frontiers in Oncology*, 0, 1114. <https://doi.org/10.3389/FONC.2021.581172>
- Regan, J. L., Schumacher, D., Staudte, S., Steffen, A., Haybaeck, J., Keilholz, U., Schweiger, C., Golob Schwarzl, N., Mumberg, D., Henderson, D., Lehrach, H., Regenbrecht, C., Schäfer, R., & Lange, M. (2017). Non-Canonical Hedgehog Signaling Is a Positive Regulator of the WNT Pathway and Is Required for the Survival of Colon Cancer Stem Cells. *Cell Reports*, 21(10), 2813–2828. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2017.11.025>
- Renz, B. W., D'Haese, J. G., Werner, J., Westphalen, C. B., & Ilmer, M. (2017). Repurposing Established Compounds to Target Pancreatic Cancer Stem Cells (CSCs). *Medical Sciences 2017, Vol. 5, Page 14*, 5(2), 14. <https://doi.org/10.3390/MEDSCI5020014>
- Sabatier, R., Charafe-Jauffret, E., Pierga, J. Y., Curé, H., Lambaudie, E., Genre, D., Houvenaeghel, G., Viens, P., Ginestier, C., Bertucci, F., Sfumato, P., Extra, J. M., & Gonçalves, A. (2019). Stem Cells Inhibition by Bevacizumab in Combination with Neoadjuvant Chemotherapy for Breast Cancer. *Journal of Clinical Medicine 2019, Vol. 8, Page 612*, 8(5), 612. <https://doi.org/10.3390/JCM8050612>
- Safa, A. R. (2016). Resistance to cell death and its modulation in cancer stem cells. *Critical Reviews in Oncogenesis*, 21(3–4), 203–219. <https://doi.org/10.1615/CritRevOncog.2016016976>
- Saini, N., & Yang, X. (2018). Metformin as an anti-cancer agent: actions and mechanisms targeting cancer stem cells. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 50(2), 133–143. <https://doi.org/10.1093/ABBS/GMX106>
- Salinas-Jazmín, N., Rosas-Cruz, A., & Velasco-Velazquez, M. (2021). Reporter gene systems for the identification and characterization of cancer stem cells. <http://www.wjnet.com/>, 13(7), 861–876. <https://doi.org/10.4252/WJSC.V13.I7.861>
- Sánchez-Barriga, J. J. (2021). Mortality trends and risk of dying from liver cancer in Mexico, 2000-2013. *Cirugia y Cirujanos (English Edition)*, 89(2), 170–182. <https://doi.org/10.24875/CIRU.20000022>
- Saygin, C., Matei, D., Majeti, R., Reizes, O., & Lathia, J. D. (2019). Targeting Cancer Stemness in the Clinic: From Hype to Hope. *Cell Stem Cell*, 24(1), 25–40. <https://doi.org/10.1016/J.STEM.2018.11.017>
- Saygin, C., Samour, M., Chumakova, A., Jarrar, A., Lathia, J. D., & Reizes, O. (2016). Reporter systems to study cancer stem cells. *Methods in Molecular Biology*, 1516, 319–333. https://doi.org/10.1007/7651_2016_360
- Saygin, C., Wiechert, A., Rao, V. S., Alluri, R., Connor, E., Thiagarajan, P. S., Hale, J. S., Li, Y., Chumakova, A., Jarrar, A., Parker, Y., Lindner, D. J., Nagaraj, A. B., Kim, J. J., DiFeo, A., Abdul-Karim, F. W., Michener, C., Rose, P. G., DeBernardo, R., ... Reizes, O. (2017). CD55 regulates self-renewal and cisplatin resistance in endometrioid tumors. *Journal of Experimental Medicine*, 214(9), 2715–2732. <https://doi.org/10.1084/JEM.20170438>
- Scalici, J. M., Arapovic, S., Saks, E. J., Atkins, K. A., Petroni, G., Duska, L. R., & Slack-Davis, J. K. (2017). Mesothelium expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) is associated with an unfavorable prognosis in epithelial ovarian cancer (EOC). *Cancer*, 123(6), 977–984. <https://doi.org/10.1002/CNCR.30415>
- Schmohl, J. U., & Vallera, D. A. (2016). CD133, selectively targeting the root of cancer. *Toxins*, 8(6), 165. <https://doi.org/10.3390/toxins8060165>

- Schott, A. F., Landis, M. D., Dontu, G., Griffith, K. A., Layman, R. M., Krop, I., Paskett, L. A., Wong, H., Dobrolecki, L. E., Lewis, M. T., Froehlich, A. M., Paraniham, J., Hayes, D. F., Wicha, M. S., & Chang, J. C. (2013). Preclinical and clinical studies of gamma secretase inhibitors with docetaxel on human breast tumors. *Clinical Cancer Research*, *19*(6), 1512–1524. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-3326/286087/AM/PRECLINICAL-AND-CLINICAL-STUDIES-OF-GAMMA>
- Senthebane, D. A., Rowe, A., Thomford, N. E., Shipanga, H., Munro, D., al Mazeedi, M. A. M., Almazyadi, H. A. M., Kallmeyer, K., Dandara, C., Pepper, M. S., Parker, M. I., & Dzobo, K. (2017). The role of tumor microenvironment in chemoresistance: To survive, keep your enemies closer. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(7), 1586. <https://doi.org/10.3390/ijms18071586>
- Sharma, V. P., Tang, B., Wang, Y., Duran, C. L., Karagiannis, G. S., Xue, E. A., Entenberg, D., Borriello, L., Coste, A., Eddy, R. J., Kim, G., Ye, X., Jones, J. G., Grunblatt, E., Agi, N., Roy, S., Bandyopadhyaya, G., Adler, E., Surve, C. R., ... Oktay, M. H. (2021). Live tumor imaging shows macrophage induction and TMEM-mediated enrichment of cancer stem cells during metastatic dissemination. *Nature Communications* *2021* *12*:1, *12*(1), 1–24. <https://doi.org/10.1038/S41467-021-27308-2>
- Shen, S., Xu, X., Lin, S., Zhang, Y., Liu, H., Zhang, C., & Mo, R. (2021). A nanotherapeutic strategy to overcome chemotherapeutic resistance of cancer stem-like cells. *Nature Nanotechnology* *2021* *16*:1, *16*(1), 104–113. <https://doi.org/10.1038/S41565-020-00793-0>
- Shi, Y., Guryanova, O. A., Zhou, W., Liu, C., Huang, Z., Fang, X., Wang, X., Chen, C., Wu, Q., He, Z., Wang, W., Zhang, W., Jiang, T., Liu, Q., Chen, Y., Wang, W., Wu, J., Kim, L., Gimple, R. C., ... Bao, S. (2018). Ibrutinib inactivates BMX-STAT3 in glioma stem cells to impair malignant growth and radioresistance. *Science Translational Medicine*, *10*(443), 6816. https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.AAH6816/SUPPL_FILE/AAH6816_SM.PDF
- Shibata, M., & Hoque, M. O. (2019). Targeting Cancer Stem Cells: A Strategy for Effective Eradication of Cancer. *Cancers* *2019*, Vol. *11*, Page *732*, *11*(5), 732. <https://doi.org/10.3390/CANCERS11050732>
- Shlush, L. I., Mitchell, A., Heisler, L., Abelson, S., Ng, S. W. K., Trotman-Grant, A., Medeiros, J. J. F., Rao-Bhatia, A., Jaciw-Zurakowsky, I., Marke, R., McLeod, J. L., Doedens, M., Bader, G., Voisin, V., Xu, C., McPherson, J. D., Hudson, T. J., Wang, J. C. Y., Minden, M. D., & Dick, J. E. (2017). Tracing the origins of relapse in acute myeloid leukaemia to stem cells. *Nature* *2017* *547*:7661, *547*(7661), 104–108. <https://doi.org/10.1038/nature22993>
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2016). Cancer statistics, 2016. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *66*(1), 7–30. <https://doi.org/10.3322/CAAC.21332>
- Sistigu, A., Musella, M., Galassi, C., Vitale, I., & de Maria, R. (2020). Tuning Cancer Fate: Tumor Microenvironment's Role in Cancer Stem Cell Quiescence and Reawakening. *Frontiers in Immunology*, *11*, 2166. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02166>
- Skoda, J., Borankova, K., Jansson, P. J., Huang, M. L. H., Veselska, R., & Richardson, D. R. (2019). Pharmacological targeting of mitochondria in cancer stem cells: An ancient organelle at the crossroad of novel anti-cancer therapies. *Pharmacological Research*, *139*, 298–313. <https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2018.11.020>
- Steinbichler, T. B., Dudás, J., Skvortsov, S., Ganswindt, U., Riechelmann, H., & Skvortsova, I. I. (2018). Therapy resistance mediated by cancer stem cells. *Seminars in Cancer Biology*, *53*, 156–167. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2018.11.006>

- Sun, H. R., Wang, S., Yan, S. C., Zhang, Y., Nelson, P. J., Jia, H. L., Qin, L. X., & Dong, Q. Z. (2019). Therapeutic strategies targeting cancer stem cells and their microenvironment. *Frontiers in Oncology*, 9(OCT), 1104. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01104>
- Sun, J., Wei, Q., Zhou, Y., Wang, J., Liu, Q., & Xu, H. (2017). A systematic analysis of FDA-approved anticancer drugs. *BMC Systems Biology*, 11(Suppl 5). <https://doi.org/10.1186/s12918-017-0464-7>
- Tamayo-Chuc, D. U., & Garza-González, A. G. (2015). Papel de CYP2B6 y ALDH1A1 en la resistencia farmacológica del meduloblastoma a ciclofosfamida. *Gaceta Mexicana de Oncología*, 14(1), 46–52. <https://doi.org/10.1016/J.GAMO.2015.06.007>
- Tang, Z., Tang, N., Jiang, S., Bai, Y., Guan, C., Zhang, W., Fan, S., Huang, Y., Lin, H., & Ying, Y. (2020). The Chemosensitizing Role of Metformin in Anti-Cancer Therapy. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 21(8), 949–962. <https://doi.org/10.2174/1871520620666200918102642>
- Thankamony, A. P., Saxena, K., Murali, R., Jolly, M. K., & Nair, R. (2020). Cancer Stem Cell Plasticity – A Deadly Deal. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7, 79. <https://doi.org/10.3389/FMOLB.2020.00079>
- Toh, T. B., Lim, J. J., & Chow, E. K. H. (2017). Epigenetics in cancer stem cells. *Molecular Cancer*, 16(1), 1–20. <https://doi.org/10.1186/s12943-017-0596-9>
- Toledo-Guzmán, M. E., Bigoni-Ordóñez, G. D., Hernández, M. I., & Ortiz-Sánchez, E. (2018). Cancer stem cell impact on clinical oncology. *World Journal of Stem Cells*, 10(12), 183–195. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v10.i12.183>
- Turdo, A., Veschi, V., Gaggianesi, M., Chinnici, A., Bianca, P., Todaro, M., & Stassi, G. (2019). Meeting the challenge of targeting cancer stem cells. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7, 16. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00016>
- van der Toom, E. E., Verdone, J. E., & Pienta, K. J. (2016). Disseminated tumor cells and dormancy in prostate cancer metastasis. *Current Opinion in Biotechnology*, 40, 9–15. <https://doi.org/10.1016/J.COPBIO.2016.02.002>
- Vassalli, G. (2019). Aldehyde dehydrogenases: Not just markers, but functional regulators of stem cells. *Stem Cells International*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/3904645>
- Vázquez, C. G. I., González, E. D. F., Gómez-Manzo, S., Pineda, B., & Pérez De La Cruz, V. (2021). New Immunotherapeutic Approaches for Glioblastoma. *Journal of Immunology Research*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/3412906>
- Velasco-Velázquez, M. A., Velázquez-Quesada, I., Vásquez-Boehm, L. X., & Pérez-Tapia, S. M. (2019). Targeting Breast Cancer Stem Cells: A Methodological Perspective. *Current Stem Cell Research & Therapy*, 14(5), 389–397. <https://doi.org/10.2174/1574888x13666180821155701>
- Villodre, E. S., Kipper, F. C., Pereira, M. B., & Lenz, G. (2016). Roles of OCT4 in tumorigenesis, cancer therapy resistance and prognosis. *Cancer Treatment Reviews*, 51, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2016.10.003>
- Wainwright, E. N., & Scaffidi, P. (2017). Epigenetics and Cancer Stem Cells: Unleashing, Hijacking, and Restricting Cellular Plasticity. *Trends in Cancer*, 3(5), 372–386. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2017.04.004>
- Walcher, L., Kistenmacher, A., Suo, H., Kitte, R., Dluczek, S., Strauß, A., Blaudszun, A., Yevsa, T., Fricke, S., & Kossatz-Boehlert, U. (2020). Cancer Stem Cells-Origins and Biomarkers:

- Perspectives for Targeted Personalized Therapies. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.01280>
- Wang, L. H., Xu, M., Fu, L. Q., Chen, X. Y., & Yang, F. (2018). The Antihelminthic Niclosamide Inhibits Cancer Stemness, Extracellular Matrix Remodeling, and Metastasis through Dysregulation of the Nuclear β -catenin/c-Myc axis in OSCC. *Scientific Reports* 2018 8:1, 8(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30692-3>
- Wang, M., Zhao, J., Zhang, L., Wei, F., Lian, Y., Wu, Y., Gong, Z., Zhang, S., Zhou, J., Cao, K., Li, X., Xiong, W., Li, G., Zeng, Z., & Guo, C. (2017). Role of tumor microenvironment in tumorigenesis. *Journal of Cancer*, 8(5), 761. <https://doi.org/10.7150/JCA.17648>
- Wang, N., Wang, S., Li, M.-Y., Hu, B.-G., Liu, L.-P., Yang, S.-L., Yang, S., Gong, Z., Lai, P. B. S., & Chen, G. G. (2018). Cancer stem cells in hepatocellular carcinoma: an overview and promising therapeutic strategies. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 10, 1758835918816287. <https://doi.org/10.1177/1758835918816287>
- Wen, P. Y., Reardon, D. A., Armstrong, T. S., Phuphanich, S., Aiken, R. D., Landolfi, J. C., Curry, W. T., Zhu, J. J., Glantz, M., Peereboom, D. M., Markert, J. M., LaRocca, R., O'Rourke, D. M., Fink, K., Kim, L., Gruber, M., Lesser, G. J., Pan, E., Kesari, S., ... Yu, J. S. (2019). A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Phase II Trial of Dendritic Cell Vaccine ICT-107 in Newly Diagnosed Patients with Glioblastoma. *Clinical Cancer Research*, 25(19), 5799–5807. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-0261>
- Yan, B., Chen, Q., Shimada, K., Tang, M., Li, H., Gurusurthy, A., Khoury, J. D., Xu, B., Huang, S., & Qiu, Y. (2018). Histone deacetylase inhibitor targets CD123/CD47-positive cells and reverse chemoresistance phenotype in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2018 33:4, 33(4), 931–944. <https://doi.org/10.1038/s41375-018-0279-6>
- Yang, F., Zhang, J., & Yang, H. (2018). OCT4, SOX2, and NANOG positive expression correlates with poor differentiation, advanced disease stages, and worse overall survival in HER2⁺ breast cancer patients. *OncoTargets and Therapy*, 11, 7873–7881. <https://doi.org/10.2147/OTT.S173522>
- Yang, F., Zhao, N., & Wu, N. (2017). TNFR2 promotes Adriamycin resistance in breast cancer cells by repairing DNA damage. *Molecular Medicine Reports*, 16(3), 2962–2968. <https://doi.org/10.3892/MMR.2017.6898>
- Yang, L., Shi, P., Zhao, G., Xu, J., Peng, W., Zhang, J., Zhang, G., Wang, X., Dong, Z., Chen, F., & Cui, H. (2020). Targeting cancer stem cell pathways for cancer therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1). <https://doi.org/10.1038/S41392-020-0110-5>
- Ye, F., Zhong, X., Qiu, Y., Yang, L., Wei, B., Zhang, Z., & Bu, H. (2017). CD49f Can Act as a Biomarker for Local or Distant Recurrence in Breast Cancer. *Journal of Breast Cancer*, 20(2), 142–149. <https://doi.org/10.4048/JBC.2017.20.2.142>
- Yoshida, G. J. (2018). Emerging roles of Myc in stem cell biology and novel tumor therapies. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 37(1), 1–20. <https://doi.org/10.1186/s13046-018-0835-y>
- You, L., Guo, X., & Huang, Y. (2018). Correlation of Cancer Stem-Cell Markers OCT4, SOX2, and NANOG with Clinicopathological Features and Prognosis in Operative Patients with Rectal Cancer. *Yonsei Medical Journal*, 59(1), 35–42. <https://doi.org/10.3349/YMJ.2018.59.1.35>
- Yu, L., Fan, Z., Fang, S., Yang, J., Gao, T., Simões, B. M., Eyre, R., Guo, W., Clarke, R. B., Yu, L., Fan, Z., Fang, S., Yang, J., Gao, T., Simões, B. M., Eyre, R., Guo, W., & Clarke, R. B.

- (2016). Cisplatin selects for stem-like cells in osteosarcoma by activating Notch signaling. *Oncotarget*, 7(22), 33055–33068. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.8849>
- Zanjani, L. S., Madjd, Z., Abolhasani, M., Shariftabrizi, A., Rasti, A., & Asgari, M. (2018). Expression of CD105 cancer stem cell marker in three subtypes of renal cell carcinoma. *Cancer Biomarkers: Section A of Disease Markers*, 21(4), 821–837. <https://doi.org/10.3233/CBM-170755>
- Zhang, J.-M., Wei, K., & Jiang, M. (2018). OCT4 but not SOX2 expression correlates with worse prognosis in surgical patients with triple-negative breast cancer. *Breast Cancer 2018 25:4*, 25(4), 447–455. <https://doi.org/10.1007/S12282-018-0844-X>
- Zhang, Z., Deng, Q., Xiao, C., Li, Z., & Yang, X. (2022). Rational Design of Nanotherapeutics Based on the Five Features Principle for Potent Elimination of Cancer Stem Cells. *Accounts of Chemical Research*, acs.accounts.1c00635. <https://doi.org/10.1021/ACS.ACCOUNTS.1C00635>
- Zhdanovskaya, N., Firrincieli, M., Lazzari, S., Pace, E., Rossi, P. S., Felli, M. P., Talora, C., Screpanti, I., & Palermo, R. (2021). Targeting Notch to Maximize Chemotherapeutic Benefits: Rationale, Advanced Strategies, and Future Perspectives. *Cancers 2021, Vol. 13, Page 5106*, 13(20), 5106. <https://doi.org/10.3390/CANCERS13205106>
- Zheng, X., Yu, C., & Xu, M. (2021). Linking Tumor Microenvironment to Plasticity of Cancer Stem Cells: Mechanisms and Application in Cancer Therapy. *Frontiers in Oncology*, 11, 2552. <https://doi.org/10.3389/FONC.2021.678333/BIBTEX>
- Zhong, S., Shengyu Liu, Xin Shi, Zhang, X., Li, K., Liu, G., Li, L., Tao, S., Zheng, B., Sheng, W., Ye, Z., Xing, Q., Zhai, Q., Ren, L., Wu, Y., & Bao, Y. (2022). Disulfiram in glioma: Literature review of drug repurposing. *Frontiers in Pharmacology*, 0, 3151. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2022.933655>