

Células madre y cáncer.

Francisco Arvelo^{1,2}, Carlos Cotte² y Felipe Sojo^{1,2}.

¹Centro de Biociencias, Fundación IDEA. Carretera Nacional Hoyo de la Puerta, Valle de Sartanejas, Baruta, Edo. Miranda, Venezuela.

²Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Biología de Tumores, Instituto de Biología Experimental, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

Palabras clave: cáncer, células madres tumorales, dormancia, carcinogénesis, vías de señalización, quimioterapia, diferenciación, metástasis.

Resumen. La cirugía, la radioterapia y la quimioterapia siguen siendo los tratamientos reconocidos universalmente como los más efectivos en la lucha contra el cáncer, a pesar de los avances logrados para elucidar sus mecanismos moleculares y haber desarrollado nuevas y sofisticadas técnicas para su tratamiento. Al ser esta enfermedad un importante problema de salud pública, el descubrimiento y estudio de las *células madres tumorales* ha creado nuevas líneas de investigación dirigidas a comprender y controlar la recurrencia de un tumor, la resistencia a los medicamentos y los mecanismos que hacen posible las metástasis. De esta forma, con una mejor comprensión de las células tumorales, surgen nuevas alternativas terapéuticas que hacen más factible el control y la posible solución que permita la cura definitiva del cáncer. Por la importancia fundamental del tema, el presente artículo tiene como objetivo resumir las características y propiedades de las células madres tumorales, las investigaciones en curso y las nuevas estrategias para la prevención y control de los mecanismos que llevan a la recurrencia de los tumores en los pacientes de cáncer que han sido tratados.

Stem cells and cancer.

Invest Clin 2014; 55(4): 371 - 391

Keywords: cancer, tumor stem cell, dormancy, carcinogenesis, signaling pathway, chemotherapy, differentiation, metastasis.

Abstract. Surgery, radiotherapy and chemotherapy are universally recognized as the most effective anti-cancer therapies. Despite significant advances directed towards elucidating molecular mechanisms and developing clinical trials, cancer still remains a major public health issue. Cancer stem cells are a subpopulation of the cells that form the tumor. The discovery of these human cancer cells opens a perspective for understanding tumor recurrence, drug resistance and metastasis; and opens up new research directions on how cancer cells are capable of switching from dormancy to malignancy. Therapeutic alternatives emerge from a better understanding of the biology and the environment of tumor stem cells. The present paper aims to summarize the characteristics and properties of cancer stem cells, the ongoing research, as well as the best strategies for prevention and control of the mechanisms of tumor recurrence.

Recibido: 15-12-2013 Aceptado: 5-6-2014

INTRODUCCIÓN

El cáncer es uno de los más importantes problemas de salud pública existentes y es a la vez una patología que constituye un gran reto en la investigación biomédica. A pesar de los grandes avances logrados hasta el presente, tanto en lo concerniente a los mecanismos moleculares implicados en su origen y evolución, como en el desarrollo de nuevos tratamientos más específicos y efectivos, esta enfermedad todavía no se ha logrado controlar plenamente (1). Dentro de esta realidad se sigue investigando y hoy resaltan los estudios con las *células madre*, las cuales han abierto nuevas posibilidades al confirmarse que estas células, en su forma malignizada, constituyen una subpoblación del conjunto de todas las células que forman un tumor canceroso (2).

Se han descrito múltiples oncogenes y genes supresores tumorales que participan en la iniciación y progresión tumoral, lo

que permite distinguir dos posibles patrones viables de proliferación celular dentro de un tumor maligno (3). En el primer modelo, el *estocástico* o "*tradicional*", la célula somática es la que presenta una mutación que a través de un proceso de división no controlada se van acumulando nuevas alteraciones genéticas hasta alcanzar el estado de célula tumoral. De esta forma, cada célula del tumor comparte inicialmente las mismas características y puede formar nuevos tumores primarios. El segundo modelo, el "*jerárquico*", está basado en la *célula madre*, que es capaz de proliferar y mantenerse en el tumor de forma indefinida gracias a su capacidad de renovación (4). Así, se postula que sólo una pequeña subpoblación del tumor, formada por *células madres tumorales* o CMT, es la encargada de iniciar el tumor y desarrollar la enfermedad. Estas células pueden explicar la heterogeneidad celular presente en los procesos neoplásicos, formadas a partir de la diferenciación celu-

lar que ocurre en las células hijas. Independientemente de lo que se piense, en muchos tipos de cáncer, los más frecuentes, se han encontrado células transformadas que han sido identificadas como células que poseen las mismas características fundamentales de las *células madre*, especificadas ahora como “*células madre normales*” o CMN, cuya contrapartida son las *células CMT*, capaces de renovarse a sí mismas para poder mantener el crecimiento y desarrollo de los tumores malignos (5).

Estas investigaciones han sido muy importantes y prometedoras tanto para la investigación biomédica como para sus posibles aplicaciones terapéuticas, ya que los tratamientos actuales destruyen las células del tumor de manera indiscriminada, disminuyendo el contenido del total de sus células, sin eliminar específicamente las que serían la fuente del tumor maligno. Por ello se hace necesario encontrar tratamientos dirigidos a eliminar o neutralizar selectivamente las células CMT, las cuales deberían ser específicamente el blanco de la quimioterapia (6). Esta realidad hace imprescindible constatar si todos los tipos de cáncer tienen células CMT, por lo cual se han buscado prioritariamente en los tumores malignos de mayor incidencia, como lo son, por ejemplo, los de mama, ovarios, pulmón, cerebro, tracto digestivo, próstata, vejiga y sangre (7, 8). A pesar de que tanto las células CMN como la CMT son capaces de auto renovarse, solo las últimas continúan creciendo indefinidamente en cada tumor y son capaces de extenderse por infiltración y metástasis. Por otra parte, las investigaciones podrían encontrar los genes que están mutados o cuáles se utilizan de manera diferente en las células CMT, lo cual haría posible desarrollar fármacos para bloquear su comportamiento sin interferir con las células CMN (9, 10). Con esta revisión se resumen las características, evidencias y desarrollo de las células CMT, así como las implicaciones y retos que

plantea tanto dilucidar como tratar más efectivamente el cáncer.

ORIGEN Y VARIEDADES DE LAS CÉLULAS MADRE

Las *células madre* son un tipo especial de células que tienen una gran capacidad proliferativa, poder de renovarse y ser capaces de dar origen a diferentes tipos celulares especializados, todo lo cual las hace únicas. Se encuentran en el embrión, el feto y los adultos, se subdividen en diferentes clases y todas tienen, bajo ciertas condiciones, la capacidad de reproducirse a sí misma por un período de tiempo prolongado. Por ejemplo, en el caso de las “*células madre adultas*”, ellas lo hacen a lo largo de toda la vida del organismo, dando lugar a las células especializadas que forman los tejidos y órganos del cuerpo.

Las *células madre embrionales* se derivan de un grupo de células llamado la *masa celular interna*, que se forma en el blastocito entre los primeros 4 y 5 días del periodo de desarrollo embrionario. Por otra parte, las *células germinales embrionarias* son derivadas del tejido fetal, específicamente de las células germinales primordiales de la cresta gonadal del feto de 5 a 10 semanas de evolución. Más tarde en el desarrollo, la cresta gonadal se desarrolla en los testículos o en los ovarios, y las células germinales primordiales dan lugar a óvulos o esperma. La pluripotencia distingue a las *células madre embrionarias* de las *células madre adultas*, que son las que se encuentran en los individuos adultos. Mientras que las primeras son *totípotes* al poder generar todos los tipos de células en el cuerpo, las segundas son *multipotentes* al poder producir sólo un número limitado de tipos de células. Hay que decir que las células madre embrionarias y las células germinales embrionarias son pluripotentes, pero no son idénticas en sus propiedades y características (11).

Una *célula madre adulta* es una célula indiferenciada que se encuentra en un tejido diferenciado, se renueva a sí misma y también, según los requerimientos de ese tejido, se hace especializada para satisfacer las demandas y necesidades funcionales y de conservación del conjunto al cual pertenece. Por tal razón, estas *células madre* son capaces de hacer copias idénticas de sí mismas durante toda la vida del organismo, propiedad que se conoce como “*auto renovación*”. De esta forma ellas se dividen para generar células progenitoras o células precursoras, las cuales se diferencian o se desarrollan en los tipos de células “*maduras*” que tienen las formas y las funciones especializadas para poder cumplir su cometido particular. Fuentes de células madre adultas son la médula ósea, la sangre, el cerebro, la córnea, la retina, el músculo esquelético, la pulpa dental, el hígado, la piel, el revestimiento del tracto gastrointestinal, el páncreas, etc. Estas células han sido ampliamente estudiadas y han sido usadas terapéuticamente para reparar tejidos dañados por lesiones traumáticas, disfunciones y distintas enfermedades. Las *células madre adultas* no son abundantes y a menudo son difíciles de identificar, aislar y purificar, como se ha comprobado en el laboratorio (12).

Debe recordarse que las células CMN poseen tres características que las distinguen de otros tipos de células: a) son células no especializadas, no específicas; b) bajo ciertas condiciones fisiológicas o experimentales, pueden ser inducidas a diferenciarse para convertirse en células que posean funciones especiales; c) mantienen la capacidad de dividirse asimétricamente dando lugar a dos células hijas diferentes donde una mantiene su capacidad de mantenerse como célula madre y la otra se convierte en una progenitora con menor actividad para auto renovarse y de la cual se derivará la célula funcional diferenciada, propia

de cada tejido (13). En base a estas características y las propias del cáncer, era razonable pensar que pudiera existir una *célula madre transformada* en célula madre cancerosa, propia de cada tumor, la cual sería la principal protagonista de esta patología. Así, la primera propuesta del origen del cáncer a partir de la *célula madre* fue formulada en 1875 por Cohnheim, el cual propuso que los tumores eran generados y mantenidos por un pequeño subconjunto de células no diferenciadas capaces de auto renovarse y diferenciarse. Esta propuesta se basó en cuatro principios: 1) agresiones externas o internas como radiaciones, lesiones, carcinógenos, todos factores que pueden ocasionar daños genéticos en las células madre; 2) cada una de las células madre dañada podría originar un tipo de tumor morfológicamente distinto; 3) todas las células dentro de un tumor presentan el mismo perfil en diferentes etapas de la progresión tumoral; 4) los diferentes tumores originados de diferentes células madre tienen diferentes perfiles genéticos y bioquímicos (14).

DESCUBRIMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LAS CÉLULAS MADRE TUMORALES

Las evidencias indican que los tumores son derivados y sostenidos por una pequeña población de células madre que carecen de control por la pérdida de regulación. En 1983 Mackillop y col. (15), demostraron la existencia de una pequeña población de células con características similares a las células CMN, supuestamente presentes en todos los tumores. La primera evidencia concluyente de las células CMT se publicó diez años después, en 1997, por Bonnet y Dick, quienes aislaron una subpoblación de células leucémicas que expresaban el marcador de superficie CD34, pero no el marcador CD38 (CD34+/CD38-) (16). Las células con estos marcadores fenotípicos CD34+ /

CD38- fueron trasplantadas en ratones con inmunodeficiencia severa NOD-SCIDI, que formaron tumores que se asemejan fenotípicamente al tumor original, indicando que las células eran tumorogénicas (17). Actualmente estos ratones se han convertido en el instrumento estándar para la evaluación e identificación de las células CMT en los tumores sólidos de algunos tipos de cáncer, como los de cabeza y cuello (18), pulmón (19), hígado (20), ovario (21), colon (22) y páncreas (23, 24). Estos estudios señalaron la existencia de las células CMT en el tejido tumoral y son las que permiten la sobrevivencia de los tumores. Adicionalmente su presencia se ha ratificado a través de estudios histológicos e inmuno-histoquímicos, lo cual muestra que muchos tumores son heterogéneos, que su diversidad se mantiene en las metástasis y que las células que los producen tienen capacidad de generar múltiples tipos celulares. Células positivas para la aldehído deshidrogenasa (ALDH+), aisladas de cáncer mamario humano, demostraron que son células CMT, hecho demostrado al originar tumores en ratones NOD-SCID (25, 26). Asimismo, las células CMT con fenotipo ALDH+ fueron detectadas en colon (27), útero (28) e hígado (29), capaces de formar tumores en ratones NOD-SCID. Sin embargo, células con el fenotipo ALDH- no fueron capaces de formar tumores.

Las investigaciones actuales también han demostrado que las células CMT y las CMN presentan características similares, tales como la autorrenovación, división celular asimétrica, producción de gran cantidad de células diferenciadas y expresión de moléculas específicas (30). Las células CMN, aunque tienen un gran potencial de auto renovación, pasan la mayor parte de su tiempo en fase G₀ del ciclo celular. Ya que, las células madre tumorales y normales comparten varias características, es aceptado que las primeras tienen un ciclo celular

más lento que el resto de las células cancerosas, estado de latencia que puede contribuir a la resistencia a la quimioterapia, que actúa principalmente sobre las células proliferantes (31). Se ha demostrado que ambos tipos celulares presentan factores regulatorios comunes que modulan la autorrenovación, diferenciación y proliferación y que la diferencia entre los dos tipos de células madre radica es que las células normales funcionan bajo condiciones controladas, mientras que las tumorales no poseen control de regulación alguno, por lo cual pueden generar gran cantidad de células para mantener su autorrenovación, crecimiento y diferenciación (32). Por otra parte, al igual que ocurre en los tejidos sanos, los tumores están compuestos por poblaciones heterogéneas de células en diferentes estados de diferenciación (33). Así, según el modelo jerárquico, dentro de los tumores hay una población celular capaz de auto renovarse y de generar toda la variabilidad celular que puede contener. Por tal razón sus células CMT presentan la capacidad de dividirse tanto de forma simétrica como asimétrica que originan progenitores de amplificación rápida, pero transitoria que dan lugar a precursores comprometidos con un linaje que formarán células tumorales diferenciadas sin capacidad tumorogénica que constituirán el grueso del tumor (34).

Por otra parte, en muchos casos, los tratamientos no producen la eliminación total de las células malignas, impidiendo la curación, lo cual puede ser atribuible a un grupo de células que presenta resistencia a los tratamientos de quimioterapia y radioterapia, logrando así sobrevivir y ser activas. Estas células residuales se comportan por tanto como células activas tumorales, aunque a veces de bajo índice mitótico; es decir, crecen lentamente, por lo que la mayoría de los fármacos antitumorales clásicos les afectan en menor grado. Esto indica y ratifica: a) que los tumores son masas celu-

lares heterogéneas constituidas por diferentes tipos celulares y con diferente grado de diferenciación; b) que las células más resistentes a los fármacos antitumorales son, en general, una porción menor de toda la población dentro de ese tumor; c) que estas células resistentes tienen características similares a las células CMN del tejido correspondiente.

Actualmente se han podido identificar células CMT presentes en distintos tipos de cánceres, destacando las leucemias (35) y los cánceres de: mama (36), cerebro (37), colorrectales (38), cabeza y cuello (39), páncreas (40) y próstata (41). Los estudios de estas células muestran la validez de esta nueva perspectiva del cáncer y sus promisorias implicaciones en el tratamiento de esta enfermedad, siempre teniendo presente que las células CMT son muy similares a las CMN encargadas de producir y renovar cualquier tejido en el organismo. Esto obliga a tener siempre presente que cualquier terapia dirigida a las células CMT también puede destruir el tejido sano, por lo que ha sido prioritario encontrar las principales diferencias entre los dos tipos de células madre para que las nuevas terapias sean selectivas al poder distinguirlas.

COMPORTAMIENTO DE LAS CÉLULAS MADRE TUMORALES

Las células CMN pueden tanto multiplicarse como producir progenitoras que se diferencian en otros tipos celulares. En forma similar, una célula CMT se multiplica por sí sola y produce células progenitoras que generan todos los tipos de células que forman un tumor. Sobre el comportamiento y origen de las células CMT se han propuesto diversas hipótesis, destacando:

a. Las células CMN y CMT comparten algunas propiedades, como la autorrenovación, la diferenciación y la proliferación. También poseen actividad de te-

lomerasa, pero con actividad baja en las normales, mientras que en la mayoría de las células tumorales es alta, lo cual está relacionado con células con alta tasa de replicación (42). Por ello, los tejidos con alta tasa de replicación, como las células epiteliales y células hematopoyéticas normales, poseen una alta incidencia de cáncer.

b. Las *células madre* en desarrollo sufren mutaciones y luego, al expandirse, la mutación es compartida por muchas de las descendientes de las células mutadas, lo que conduce a que las células madre hijas, mutadas, presenten mayor probabilidad de convertirse en CMT. Estos hallazgos sugieren que pueden existir algunos vínculos entre los dos tipos de células madre (43,44).

c. Las células CMT se podrían originar a partir de una célula progenitora diferenciada, la cual pudiera sufrir un proceso de cambio que lleve a adquirir el fenotipo de célula madre, posiblemente por influencia de señales del microambiente. Células bien diferenciadas, incluyendo células somáticas humana y células de cáncer de piel, fueron artificialmente reprogramadas para formar células madres pluripotentes embrionarias, llamadas *células madre pluripotentes inducidas*, CMPi, lo cual rompería el dogma de que el estado de diferenciación es irreversible (45,46). Esto también ha sido estudiado en el cáncer de mama (47), pulmón (48) y colon (49). Al ser las células CMPi tumorogénicas, la transformación oncogénica de células diferenciadas originaría la aparición de células CMT.

d. La pérdida de regulación del microambiente que rodea a la célula madre juega un papel fundamental en la regulación del ciclo celular. Sus desequilibrios pueden ocasionar en las células

madre, embrionarias o adultas, una inestabilidad genética que origine mutaciones espontáneas que conduzcan a un fenotipo maligno (50). Las células madre de la médula ósea, cuando se encuentran fuera de su nicho nativo, sufren un proceso de descontrol debido a la desaparición de señales inhibitorias de la matriz extracelular de su entorno, originando células CMT (51, 52).

- e. La pérdida de la división asimétrica permite la capacidad auto renovadora de la célula madre. Para que se origine una división asimétrica, es imprescindible que el complicado aparato que divide a la célula madre en dos, lo haga en la orientación correcta a lo largo de un eje preestablecido, que de no ser así, la división puede hacerse simétrica y generar dos células madre. Si la orientación de la división está alterada, puede generarse una situación potencialmente muy peligrosa, ya que podría derivar en una proliferación descontrolada (53).
- f. A pesar de la falta de evidencias experimentales directas, algunos estudios han mostrado que las células CMT se pueden originar mediante la fusión de células madres y de otros tipos celulares (54). La fusión entre células tumorales y células somáticas sanas puede originar células híbridas con mayor malignidad que las células de donde provienen (55). El cultivo simultáneo de células embrionarias con células madre de la médula ósea, originó células híbridas similares a las células embrionarias con alteraciones cromosómicas (56). Es probable que en un tumor existan varias líneas de células madre, con nuevas que son creadas y otras muriendo a medida que un tumor crece y se adapta a su entorno. Por lo tanto, las células CMT pueden

constituirse en un blanco móvil”, haciéndolas incluso más difíciles de tratar (57).

EL PROBLEMA DEL CÁNCER Y EL PAPEL FUNDAMENTAL DE LAS CÉLULAS MADRE

La existencia de las células CMT ha impulsado las investigaciones en cáncer y el conocimiento existente, reinterpretado, ha sido la guía para fundamentar los nuevos descubrimientos. Siempre se ha sabido que las células normales, transformadas en células malignas mediante la acción de múltiples factores de naturaleza física, química o biológica, proliferan para formar un tumor primario. Este tumor, de no controlarse su crecimiento y proliferación, pone en riesgo la vida del paciente mediante la infiltración y la metástasis, la cual produce tumores secundarios en diferentes órganos, muy difíciles de controlar. Por otra parte, cuando se trata un paciente, inicialmente las células malignas son sensibles a los tratamientos por quimioterapia y radioterapia, pero con el tiempo, un número de sus células cancerosas puede volverse resistente y no podrá ser controlado (58). Estos dos fenómenos, la metástasis y la resistencia que se desarrolla a los tratamientos, son procesos cruciales en el tratamiento del cáncer, ya que en definitiva serán determinantes para asegurar la vida o la muerte del paciente.

Estos fenómenos son muestra de la complejidad del cáncer y la plasticidad de sus células, todo lo cual está determinado tanto por los dramáticos cambios a todos los niveles en el desarrollo maligno, como por la heterogeneidad celular. Considerando que las células tumorales descienden de una progenitora única que formará un mismo tipo de tumor, en ellas se expresan marcadores histológicos o antigénicos comunes, relacionados con el tejido o la capa embrionaria de origen, expresando también ca-

racterísticas genotípicas y fenotípicas diferentes (59). La heterogeneidad celular no está limitada a los tejidos cancerosos, ya que los tejidos normales también están compuestos de células que expresan características diferentes gobernadas por su estado de diferenciación o su posición en el ciclo celular. Sin embargo, a diferencia de la heterogeneidad de las células normales, donde el genoma es estable, la heterogeneidad de las células tumorales está relacionada con una inestabilidad genética que es común a todos los procesos cancerosos. Esta inestabilidad, cuyo origen y mecanismo se desconoce, se traduce por diferentes anomalías cromosómicas: aneuploidía, translocaciones, mutaciones puntuales, deleciones, duplicaciones y amplificaciones (60). Otra característica distintiva de la heterogeneidad presente en el cáncer es la aparición de fenotipos resistentes a la apoptosis. Aún cuando la maquinaria necesaria para hacer que se lleve a cabo este fenómeno fundamental está presente en las células tumorales, también hay incapacidad de sufrir la muerte celular como producto de alteraciones moleculares en las vías de señalización para la iniciación de la apoptosis o de los efectores iniciales (61).

Las células tumorales igualmente son sometidas a factores y fluctuaciones epigenéticas, en la que la expresión de sus genes puede estar influenciada por mecanismos diferentes al de un cambio de secuencia nucleotídica en el ADN. El más estudiado de estos mecanismos epigenéticos está relacionado con la variedad de metilación del ADN, siendo la hipometilación frecuente en las células tumorales, donde ciertos genes pueden conducir a cambios en la expresión, particularmente una sobreexpresión, cuya consecuencia será comparable a una amplificación (62). Es razonable pensar que estas inestabilidades genéticas y epigenéticas constituyan la base de la progresión tumoral, es decir, las células se hacen frecuente-

mente más agresivas al adquirir, en el curso del tiempo, propiedades más malignas (63).

MECANISMOS MOLECULARES QUE CONTROLAN LAS CÉLULAS MADRE TUMORALES

Una célula CMN puede ser transformada en una célula CMT por la desregulación en las vías de señalización que controlan la proliferación, la diferenciación y la apoptosis. Así tenemos:

1. Vía de señalización Notch

Esta vía es altamente conservada en muchos organismos multicelulares, regula el desarrollo y la homeostasis a través de las interacciones locales entre las células. Los estudios indican que esta vía está asociada a la patogénesis de muchos tumores humanos, donde se incluyen y destacan las leucemias (64) y el cáncer de páncreas (65). Recientes investigaciones ponen de relieve la importancia de las células CMT en la malignidad de los gliomas (66), las cuales han sido referidas como *células madre de glioma*, GSC en inglés, por compartir similitudes con las *células madre neurales normales*, NSC. Por estas razones, es importante entender las vías de señalización que contribuyen a la formación y mantenimiento de las células GSC (67). La señalización de Notch es una vía evolutivamente conservada que media la interacción y señalización directa célula/célula jugando un papel fundamental en el mantenimiento de las células NSC. También las funciones de Notch, en el desarrollo del cáncer, se han establecido y los datos recientes han mostrado claramente el papel de esta señalización en las células GSC (68). Por otra parte esta señalización modula el ciclo celular a fin de garantizar que las células NSC retengan sus propiedades de auto renovación.

El bloqueo de la señalización de Notch causa la salida del ciclo celular, apoptosis y

diferenciación, mientras que la activación promueve la proliferación y formación de colonias de células madre en el cerebro (69). Hay evidencias que señalan la contribución de Notch en el proceso de la metástasis (70), que también representa un vínculo importante entre la autorrenovación de las células CMT y la angiogénesis (71). En las leucemias, la autorrenovación de las células CMT es reducida por bloqueo de la activación de vía Notch, mientras que el mismo promueve el crecimiento y la diferenciación de las células CMT en los gliomas (72).

2. Vía de señalización Wnt/ β -catenina

Esta vía regula procesos involucrados en el desarrollo a través de regulación transcripcional (73, 74), cuya desregulación es un factor clave para el inicio de la tumorigénesis (75). Existen evidencias de que esta vía está implicada en mecanismos moleculares de control sobre las células CMT, confirmado por estudios que han demostrado que Wnt se activa en respuesta al daño en el ADN (76). Por lo tanto, la inestabilidad genómica puede conducir a la transformación de las células CMN a células CMT en el caso de los glioblastomas (77).

3. Vía de señalización mTOR

Esta vía se encuentra frecuentemente activada de forma aberrante en los cánceres humanos (78) y hay evidencias que demuestran que TOR está implicada en mecanismos que regulan procesos biológicos en las células CMT (79). En las células del cáncer de mama, TOR está involucrado en su sobrevivencia y su proliferación (80); igualmente en los meduloblastomas, en los cuales la sobre-activación de TOR contribuye a la radio-resistencia, mientras que su inhibición incrementa su radio-sensibilidad (81). *Las células madre* ejercen una regulación de los programas de auto-renovación y diferenciación para mantener la homeostasis

de los tejidos, regulación que se modula por medio de cambios metabólicos, factores de crecimiento, hormonas, mutágenos, aminoácidos y modificaciones de las vías de señalización de detección de nutrientes, tales como mTOR y AMPK (82,83).

En este contexto destaca la rapamicina Tor, cinasa reguladora que actúa en una amplia gama de señales sensibles a nutrientes para regular el metabolismo (84). Se expresa de dos maneras: mediante TOR 1, que es el efector principal sensible a los nutrientes y mediante TOR 2 (TORC2), que está implicada en la reorganización del citoesqueleto y la supervivencia celular. Durante los períodos de privación de nutrientes la actividad de TOR1 es reducida drásticamente hasta alcanzar la autofagia (85).

4. Vía de señalización del factor de crecimiento de fibroblastos

Esta vía del factor de crecimiento de fibroblastos o FGF es útil para cultivar "*in vitro*" varios tipos de células CMT de cánceres humanos, como las de cerebro (86) y de vías digestivas (87). Los estudios clínicos han demostrado que las *células madre* pueden permanecer genéticamente estables durante 6 a 8 semanas *in vitro* y en el caso de las células CMT de leucemia, la presencia del factor FGF es importante para mantener el fenotipo indiferenciado (88).

5. Vía de señalización Sonic hedgehog (SHH)

Esta vía tiene, en general, un papel esencial en la regulación de la organogénesis de los vertebrados (89). En los gliomas humanos, las células CMT requieren de la actividad de SHH para su sobrevivencia, proliferación y tumorigenicidad (90). En el caso de los carcinomas baso-celulares (BCC), tumores epiteliales cuyas células madre se localizan en un 90% en la epidermis interfoliular y el restante 10% proviene del infundíbulo (91). Estos tumores se

desarrollan mediante la activación constitutiva y aberrante de la vía *Sonic hedgehog Shh*, asociada frecuentemente a la pérdida de función del gen *patched*, que codifica para un inhibidor de la vía *Shh* o mutaciones de ganancia de funciones del gen *Smoothened, Smo*, que codifica para un gen activador de la vía *Shh* (92).

6. Vía de señalización factor de crecimiento epidérmico

Esta vía del *factor de crecimiento epidérmico* o FCE, es un factor de crecimiento usado a menudo para el mantenimiento de las células CMT en cultivo. En el caso del cáncer de mama, cuando sus células fueron tratadas con el *Lapatinib*, un inhibidor del receptor FCE, se observó que ocurría una inhibición en el crecimiento de las células CMT (93).

7. Vía de señalización LICAM

Esta vía la constituye la glicoproteína de superficie *LICAM* presente en las células diferenciadas, en las cuales está sobre-expresada, la cual está relacionada con la resistencia en las células CMT de los glioblastomas (94). Experimentalmente se ha demostrado que al inhibirse su actividad con el ARN de transferencia, se logra detener el crecimiento celular (95).

8. Vía de señalización del factor de traducción y activador de transcripción-3 (STAT3)

Este factor regula diversos procesos como lo son el crecimiento celular, la diferenciación celular y la apoptosis, el cual se encuentra frecuentemente activado durante el proceso de la tumorigénesis. La inhibición del factor STAT3 con ARN de transferencia específico impide también la proliferación de las células CMT de los glioblastomas (96).

9. Vías de señalización Sox2, Oct4 y Nanog

Se ha considerado que las células CMT presentan características similares a las *células madres embrionarias* o CME, lo que sugiere que podrían existir moléculas comunes entre ambos tipos celulares (97). Las moléculas Sox2, Oct4 y Nanog se encuentran correlacionadas con el fenotipo *transición epitelio-mesénquimal*, EMT –siglas en inglés–, el cual permite que las células se diseminen a partir del tumor primario al intravasarse en los vasos sanguíneos (98).

- *Sox2* está relacionado con la inhibición de la diferenciación neuronal, el cual es un factor transcripcional con capacidad de mantener la autorrenovación de las células CME (99).
- *Oct4* es un miembro de la familia del factor de transcripción POU, que además actúa conjuntamente con Sox2 en la autorrenovación de las células CME (100).
- *Nanog* es una proteína que mantiene la pluripotencia de las células CME de ratón mediante la inhibición de NFκB y la cooperación con STAT3 (101).

CÉLULAS MADRE TUMORALES Y EXPRESIÓN DE LA MALIGNIDAD

Cuando un tratamiento contra el cáncer no logra eliminar todas las células malignas del tumor primario, la enfermedad seguirá su curso, haciéndose muy difícil lograr la curación. Usualmente un pequeño grupo de células se hace resistente a los tratamientos convencionales, logra sobrevivir y produce las metástasis, procesos que se dan por pasos que incluyen: la motilidad; la pérdida de adhesión intercelular; la degradación de la matriz extracelular; la migración y finalmente la implantación en un órgano blanco (102). Existe la evidencia de que las células tumorales son capaces de

producir metástasis al adquirir el fenotipo de *transición epitelio-mesenquimal* o TEM, el cual permite que las células se diseminen a partir del tumor primario al intravasarse en los vasos linfáticos y/o los vasos sanguíneos. Una vez alcanzada la vía de diseminación, las células tumorales se desplazan hasta fijarse en un nuevo tejido distante al tumor primario.

Los estudios muestran que las células CMT tienen la capacidad de la iniciación tumoral, de ser invasivas y de diseminarse a diferentes tejidos y órganos (103). Por otra parte se ha encontrado que ellas expresan marcadores del fenotipo TEM (104), que se han aislado de células madres de tejido normal y tumoral de mama, siendo muy significativo que expresan estos marcadores (105). Las células CMT del cáncer de mama, expuestas a ciclos de hipoxia y re-oxigenación, han mostrado una sobre-regulación de los factores de inducción del fenotipo TEM, lo cual muestra la plasticidad que poseen las células tumorales para que se puedan separar del tumor primario de una manera eficiente (106, 107).

Aparte de los fenotipos de autorrenovación y TEM, las células CMT presentan otras propiedades de las células CMN que las beneficia para adaptarse a un microambiente desconocido y dar origen a una metástasis activa. Esto indica que hay propiedades inherentes a las células CMN que contribuyen a la protección de las células CMT, como lo es el sobrevivir en un microambiente adverso. Las células CMN también tienen incrementada su capacidad de reparación del ADN, así como la expresión de altos niveles de proteínas antiapoptóticas en comparación con las células diferenciadas (108, 109). Resulta notorio que después que las células tumorales llegan a un microambiente desconocido, como lo es el del órgano donde se implantan, mientras se adaptan forman una barrera para detener la progresión de la metástasis e inducir el es-

tado de latencia. El aumento en la capacidad antiapoptótica y la de reparación del ADN, incrementan la supervivencia de las células CMT durante largos períodos de tiempo, las cuales se encuentran bajo condiciones metabólicas o de estrés en el nuevo ambiente del órgano blanco. De esta manera las células invasoras alcanzan sus condiciones adaptativas.

Las células CMN poseen bombas de expulsión en la membrana para protegerse de la acumulación de compuestos potencialmente nocivos, característica que ha permitido la identificación de una subpoblación que expulsa eficientemente el colorante intracelular *Hoechst 33342*. Esta subpoblación posee características de células madres y se ha llamado "*población lateral*" o SP por sus siglas en inglés (110). Se piensa que las células CMT se encuentren en la fracción SP de las células tumorales, por lo que tienen una mayor capacidad de bombear fármacos hacia el exterior de las células. Estas células tumorales identificadas como SP presentaron quimioresistencia relacionada con la expresión del transportador de la familia ABC o *ATP-Binding Cassette* (111). Han sido identificados dos transportadores ABC: la P-glicoproteína (MDR1) y la proteína de resistencia del cáncer de mama ABCG2, los cuales son los que expulsan el colorante *Hoechst 33342* de la subpoblación SP, tanto de las células CMT como en las células normales (112).

En el caso de las células leucémicas, la fracción SP tiene incrementado el flujo de salida para la mitoxantrona (113). También, ha sido identificada la fracción SP en las líneas celulares de cáncer de mama MCF-7 y SKBR3, que al tener la expresión de transportadores ABC, poseen la capacidad de expulsar fármacos desde el espacio intracelular, cualidad que se pierde durante la diferenciación de las células CMT a células cancerosas adultas (114). También hay otros estudios que han demostrado que las

células CMT presentan resistencia a la apoptosis, por lo que la producción autocrina de citoquinas, tal como la IL-4, induce un incremento de proteínas antiapoptóticas e inducen resistencia a la terapia antitumoral en diferentes tipos de cáncer (115). Pacientes con cáncer de colon tratados con antagonistas IL-4 presentaron una alta actividad citotóxica, ello como respuesta al tratamiento con quimioterapia por medio de la sensibilización de sus células CMT con un fenotipo CD133⁺ (116).

Otro mecanismo de quimioresistencia que ha sido estudiado en las células CMT es el papel que juega la proteína B-cell lymphoma-2 o BCL-2 y otros miembros de esta especie molecular (117). Esta familia BCL-2 está constituida por un grupo de proteínas que juega un papel muy importante en el balance entre la supervivencia y la apoptosis (118). Considerando el papel que juega en la tumorigénesis, su papel en la biología de las células CMT ha sido intensamente estudiado, habiéndose observado que las células leucémicas en quiescencia, con fenotipo CD34⁺, presentan una expresión alta de las proteínas BCL-2 y BCL-XL. Al provocarse la diferenciación de estas células con ácido trans-retinoico, muestran baja expresión de estas proteínas, así como un incremento de sensibilidad a la citosina arabinosido (119,120). La proteína BCL-2, altamente expresada en las células CMT de cáncer de mama, muestran el fenotipo CD44⁺/CD24^{low} al afectar la quimioresistencia a través de la inducción por diferentes vías de señalización (121).

Por otra parte, la eficiencia de la radioterapia es mediada a través de la producción de especies reactivas de oxígeno, ROS por sus siglas en inglés, en las células tumorales, lo cual ha demostrado que las células CMT presentan resistencia a la radiación (122). En el caso de las células CMT de glándulas mamarias, tanto humanas como de ratón, muestran que contienen bajos ni-

veles de ROS cuando se comparan con las células tumorales diferenciadas, lo que las hace menos susceptibles al daño del ADN provocado por la radiación (123, 124). Tal vez los bajos niveles de ROS en las células CMT son una consecuencia de una alta expresión en el sistema de captación de radicales libres (125, 126). Por otra parte, se ha observado que un aumento en la actividad de la ALDH confiere resistencia a agentes quimioterapéuticos (127), como se ha demostrado estudiando el mecanismo de la resistencia a la ciclofosfamida en las células leucémicas L1210, donde se encontraron altos niveles de la ALDH, lo cual fue revertido por el disulfiram (128). Estos resultados fueron confirmados al estudiar el papel que ha jugado la ALDH en la resistencia a la ciclofosfamida en un meduloblastoma (129). Por tanto, la inhibición de la actividad de la ALDH puede sensibilizar a la célula CMT a la acción de agentes quimioterapéuticos, habiendo visto que el tratamiento de tumores xenógrafos de cáncer de colon con ciclofosfamida o irinotecan, produjo un aumento de células CMT con fenotipo ESA⁺CD44⁺. Estas células presentaron quimioresistencia con altos niveles de actividad de la ALDH, la cual fue revertida por inhibidores de la ALDH, que incrementó la sensibilidad a la ciclofosfamida e irinotecan. Estos resultados muestran que la quimioresistencia es atribuible a la alta actividad de la ALDH (130).

Los estudios han mostrado que las células CMT del cáncer de colon, con fenotipo CD133⁺ y altos niveles de interleucina-4 (IL-4), tratadas con anticuerpos IL-4, mostraron un descenso en la expresión de BCL-XL así como también un incremento de sensibilidad al oxiplatino y 5-fluorouracilo, 5-FU (131,132). En el caso de una línea celular establecida de un hepatoma con fenotipo CD133⁺, la expresión de BCL-2 es regulada por la vía AKT/PKB. El tratamiento de esta línea celular con doxorubicina y

5-fluorouracilo, mostró un aumento de la quimioresistencia a estas drogas a través de una elevada expresión de BCL-2. El tratamiento con inhibidores de AKT1 produjo una disminución en la expresión de BCL-2 en las células CD133+ con un aumento en la sensibilidad por la doxorubicina y 5-fluorouracilo (133). La proteína BCL-2 también puede ser inducida en las células CMT a través de Aurora-A, que es la *quinasa serina-treonina oncogénica*, que regula el ciclo celular. En el cáncer colorrectal, las células CMT con fenotipo CD133+CD29+CD20- expresan altos niveles de Aurora-A, así como de BCL-2, MCL-1 y BCL-XL (134).

Otro mecanismo que contribuye a la progresión del cáncer y a la quimioresistencia es el aumento de respuesta al daño en el ADN, ha sido observado que bajo condiciones de hipoxia, las células tumorales pueden inducir una respuesta al daño a través del *factor de transcripción hipoxia-inducible* (135). Bajo estas condiciones las primeras vías de señalización que se activan son la *ataxia telangiectasia mutada* (ATM) y la *ataxia telangiectasia mutada relacionada* Rad-3 (ATR). Vías que pueden posteriormente regular el ciclo celular por fosforilación de las quinasas CHK2 y CHK1 (136), siendo el mismo mecanismo que regula el ciclo celular y promueve la reparación del ADN dañado, que también puede proteger al ADN de las células CMT del efecto de la radiación y la quimioterapia. En los gliomas las células CMT con fenotipo CD133+ mostraron una resistencia superior a la radiación que pueden soportar las células con fenotipo CD133- (137). Similares resultados de resistencia, esta vez al cisplatino, fueron mostradas por las células CMT del cáncer de colon con fenotipo CD133+ cuando son comparadas con las células con fenotipo CD133- (138).

Al considerar las características de las células CMT y su relación con la formación de metástasis se ha observado, al comparar

las células de un tumor primario con sus células metastásicas, que estas últimas usualmente presentan un mayor grado de diferenciación. En estos casos, las células de las metástasis muestran un incremento en la expresión de E-caderina. A propósito de esto, en modelos de metástasis, se ha demostrado la importancia del fenotipo epitelial en la formación de tumores secundarios en próstata (139), colon (140) y mama (141). Las evidencias, tanto clínicas como experimentales, muestran la necesidad que tienen las células cancerosas diseminadas a revertir el fenotipo de *transición epitelio-mesénquima*, TEM, en el microambiente secundario para formar macro-metástasis.

Se ha propuesto que las células metastásicas poseen una plasticidad fenotípica para revertir este fenotipo, es decir, que la célula metastásica readquiere su fenotipo epitelial para la formación de un tumor metastásico en el órgano blanco (142). Las células tumorales con el fenotipo inducido TEM incrementan la invasividad local en el tumor primario, pero fracasan en promover la colonización a distancia cuando se introducen en la circulación (143). Por otra parte, el nicho metastásico puede suministrar factores extrínsecos que puedan influenciar la proliferación, por lo que la multiplicación de las células CMT diseminadas en el órgano blanco puede ser regulada por factores estimuladores o supresores secretados en el microambiente. Células tumorales quiescentes o micrometástasis quiescentes pueden convertirse en metástasis clínicamente detectables a través de factores angiogénicos secretados en el nicho metastásico al promover la formación de nuevos vasos mediante el mecanismo de la angiogénesis. Se ha reportado que las células CMT promueve la angiogénesis tumoral a través de la secreción del factor de crecimiento vascular endotelial o VEGF (144, 145). Las interacciones célula-célula participan en la protección de las células CMT en el mi-

croambiente y las células madre mesenquimáticas MSCs, pueden promover el crecimiento de las *células tumorales* en un sistema de cocultivo (146).

CONCLUSIONES

Las nuevas investigaciones hechas con las *células madre* han abierto nuevos y prometedores caminos tanto para la investigación como para el desarrollo de nuevos tratamientos para enfrentar múltiples patologías. Al haberse demostrado la existencia de las *células madre tumorales* no solo se han producido nuevos conocimiento sino también nuevas esperanzas para el dominio definitivo de uno de los problemas de salud más apremiantes que enfrenta la humanidad. Según el *modelo jerárquico*, basado en las células CMT, sólo una pequeña subpoblación de un tumor es la responsable de iniciar su desarrollo y explicar la heterogeneidad celular presente en los mismos como producto de la diferenciación de las células hijas, incapaces de generar un nuevo tumor primario, ya que esta función es propia de las células madre.

Al ser las células CMT las responsables del mantenimiento y la expansión de los tumores, provocando el crecimiento, las recidivas, la resistencia y las metástasis, la identificación de los mecanismos moleculares que regulan la autorrenovación y la diferenciación de estas células son fundamentales. Tal conocimiento conducirá al diseño de tratamientos dirigidos que puedan eliminar su acción, siendo también prioritario desarrollar nuevas estrategias para encontrar marcadores más específicos que diferencien a las células CMN de las CMT, así como también para alcanzar una mejor comprensión de su fisiopatología, lo cual permitirá un conocimiento más completo sobre la iniciación y la progresión tumoral. Dada la urgente necesidad de evaluar las respuestas que se correlacionen con los biomarcado-

res, mediante los estudios clínicos, ya se están monitoreando los comportamientos de las células CMT ante la quimioterapia. A la luz de todo lo que ya se ha investigado sobre las *células madre* en general y las *tumorales* en particular, se puede pensar que un tratamiento efectivo contra el cáncer solo será posible mediante el control y eliminación de las CMT, antes que con las células tumorales ya diferenciadas.

REFERENCIAS

1. **Arvelo F, Poupon MF.** Aspectos moleculares y celulares de la metástasis cancerosa. *Acta Cient Venez* 2001; 52: 304-312.
2. **Li Y, Latorra J.** Cancer stem cells: Distinct entities or dynamically regulated phenotypes? *Cancer Res* 2012; 72: 576-580.
3. **Weinberg RA.** The molecular basis of oncogenes and tumor suppressor genes. *Ann NY Acad Sci* 1995; 758: 331-338.
4. **Bosch-Barrera J, Lopez-Picazo Gonzalez JM, Garcia-Foncillas Lopez J, Prosper Cardoso F.** Células madre y cáncer: dilucidando el origen de la célula madre tumoral. *Rev Med Univ Navarra* 2007; 51: 14-17.
5. **Polyak K, Hahn WC.** Roots and stems: stem cells in cancer. *Nat Med* 2006; 12: 296-300.
6. **Zhang M, Rosen JM.** Stem cells in the etiology and treatment of cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2006; 16: 60-64.
7. **Maitland NJ, Collins A.** A tumour stem cell hypothesis for the origins of prostate cancer. *BJU Int* 2005; 96: 1219-1223.
8. **Dontu G, Al Hajj M, Abdallah WM, Clarke MF, Wicha MS.** Stem cells in normal breast development and breast cancer. *Cell Prolif* 2003; 36 (Suppl 1): 59-72.
9. **Maitra A, Arking DE, Shivapurkar N, Ikeda M, Stastny V, Kassauci K.** Genomic alterations in cultured human embryonic stem cells. *Nat Genet* 2005; 37(10): 1099-1103.
10. **Vogelstein B, Kinzler KW.** Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med* 2004; 10: 789-799.

11. **Stem Cells.** Scientific Progress and Future Research Directions. Report Prepared by the National Institute of the Health, USA, June 2001.
12. **Arvelo F, Pérez P, Cotte C.** Obtención de láminas de piel humana mediante ingeniería de tejidos. *Acta Cient Venez* 2004; 55: 74-82.
13. **Hanna JH, Saha K, Jaenisch R.** Pluripotency and cellular reprogramming: facts, hypotheses, unresolved issues. *Cell* 2010; 143: 508-525.
14. **Langan RC, Mullinax JE, Raiji MT, Upham T, Summers T, Stojadinovic A, Avital I.** Colorectal cancer biomarkers and the potential role of cancer stem cells. *2013*; 4: 241-250.
15. **Mackillop WJ, Ciampi A, Till JE, Buick RN.** A stem cell model of human tumor growth: implications for tumor cell clonogenic assays. *J Natl Cancer Inst* 1983; 70:9-16.
16. **Bonnet D, Dick JE.** Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997; 3: 730-737.
17. **Blair A, Hogge DE, Ailles LE, Lansdorp PM, Sutherland HJ.** Lack of expression of Thy-1 (CD90) on acute myeloid leukemia cells with long-term proliferative ability *in vitro* and *in vivo*. *Blood* 1997; 89: 3104-3112.
18. **Prince ME, Sivanandan R, Kaczorowski A, Wolf GT, Kaplan MJ, Dalerba P, Weissman IL, Clarke MF, Ailles LE.** Identification of a subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head and neck squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 16; 104: 973-978.
19. **Eramo A, Lotti F, Sette G, Pillozzi E, Biffoni M, Di Virgilio A, Conticello C, Ruco L, Peschle C, De Maria R.** Identification and expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population. *Cell Death Differ* 2008; 15: 504-514.
20. **Yang ZF, Ho DW, Ng MN, Lau CK, Yu WC, Ngai P, Chu PW, Lam CT, Poon RT, Fan ST.** Significance of CD90+ cancer stem cells in human liver cancer. *Cancer Cell* 2008; 13: 153-166.
21. **Zhang S, Baleh C, Chan MW, Lai HC, Matei D, Schilder JM, Yan PS, Huang TH, Nephew KP.** Identification and characterization of ovarian cancer-initiating cells from primary human tumors. *Cancer Res* 2008; 68: 4311-4320.
22. **O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, Dick JE.** A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature* 2007; 445: 106-110.
23. **Li C, Heidt DG, Dalerba P, Burant CF, Zhang L, Adsay V, Wicha M, Clarke MF, Simeone DM.** Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res* 2007; 67: 1030-1037.
24. **Fredebohm J, Boettcher M, Eisen C, Gaida MM, Heller A, Keleg S, Tost J, Greulich-Bode KM, Hotz-Wagenblatt A, Lathrop M, Giese NA, Hoheisel JD.** Establishment and characterization of a highly tumorigenic and cancer stem cell enriched pancreatic cancer cell line as a well defined model system. *PLoS One* 2012; 7: 1-14.
25. **Ginestier C, Hur MH, Charafe-Jauffret E, Monville F, Dutcher J, Brown M, Jacquemier J, Viens P, Kleer CG, Liu S, Schott A, Hayes D, Birnbaum D, Wicha MS, Dontu G.** ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 555-567.
26. **Aomatsu N, Yashiro M, Kashiwagi S, Takashima T, Ishikawa T, Ohsawa M, Wakasa K, Hirakawa K.** CD133 is a useful surrogate marker for predicting chemosensitivity to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *PLoS One.* 2012; 7: 1-9.
27. **Lugli A, Iezzi G, Hostettler I, Muraro MG, Mele V, Tornillo L, Carafa V, Spagnoli G, Terracciano L, Zlobec I.** Prognostic impact of the expression of putative cancer stem cell markers CD133, CD166, CD44s, EpCAM, and ALDH1 in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2010; 103: 382-390.
28. **Rao QX, Yao TT, Zhang BZ, Lin RC, Chen ZL, Zhou H, Wang LJ, Lu HW, Chen Q, Di N, Lin ZQ.** Expression and functional

- role of ALDH1 in cervical carcinoma cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13:1325-1331.
29. **Deng S, Yang X, Lassus H, Liang S, Kaur S, Ye Q, Li C, Wang LP, Roby KF, Orsulic S, Connolly DC, Zhang Y, Montone K, Bützow R, Coukos G, Zhang L.** Distinct expression levels and patterns of stem cell marker, aldehyde dehydrogenase isoform 1 (ALDH1), in human epithelial cancers. *PLoS One*. 2010; 5: 1-11.
 30. **Guo W, Lasky J, Wu H.** Cancer stem cells. *Pediatr Res* 2006; 59: 59R-64R.
 31. **Velasco M, De la Fuente Granada M.** Papel de las células madres oncogénicas. *Rev Venez Oncol* 2009; 21: 174-182.
 32. **Yuan Y, Shen H, Franklin DS, Scadden DT, Cheng T.** *In vivo* self-renewing divisions of haematopoietic stem cells are increased in the absence of the early G1-phase inhibitor, p18INK4C. *Nat Cell Biol* 2004; 6: 436-42.
 33. **Dalerba P, Cho RW, Clarke MF.** Cancer stem cells: models and concepts. *Annu Rev Med* 2007; 58: 267-284.
 34. **Charafe-Jauffret E, Monville F, Ginestier C, Dontu G, Birnbaum D, Wicha MS.** Cancer stem cells in breast: current opinion and future challenges. *Pathobiology* 2008; 75: 75-84.
 35. **Wong RS, Cheong SK.** Leukaemic stem cells: drug resistance, metastasis and therapeutic implications. *Malays J Pathol* 2012; 34: 77-88.
 36. **Velasco-Velázquez MA, Homsí N, De La Fuente M, Pestell RG.** Breast cancer stem cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2012; 44: 573-577.
 37. **Ramakrishna R, Rostomily R.** Seed, soil, and beyond: The basic biology of brain metastasis. *Surg Neurol Int* 2013; 4: S256-264.
 38. **Puglisi MA, Tesori V, Lattanzi W, Gasbarrini GB, Gasbarrini A.** Colon cancer stem cells: Controversies and perspectives. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2997-3006.
 39. **Chinn SB, Darr OA, Peters RD, Prince ME.** The role of head and neck squamous cell carcinoma cancer stem cells in tumorigenesis, metastasis, and treatment failure. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2012; 3: 1-6.
 40. **Lee CJ, Dosch J, Simeone DM.** Pancreatic cancer stem cells. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2806-2812.
 41. **Hynes PG, Kelly K.** Prostate cancer stem cells: The case for model systems. *J Carcinog* 2012; 11: 1-19.
 42. **Arvelo F, Morales A.** Telómero, telomerasa y cáncer. *Acta Cient Venez* 2004; 55: 288-303.
 43. **Passegué E, Weissman IL.** Leukemic stem cells: where do they come from? *Stem Cell Rev* 2005; 1: 181-188.
 44. **Passegué E, Jamieson CH, Ailles LE, Weissman IL.** Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100 (Suppl 1):11842-11849.
 45. **Takahashi K, Yamanaka S.** Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126: 663-676.
 46. **Yu J, Vodyanik M, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bouget J, Frane J, Tian S, Nie J, Jonsdottir G, Ruotti V, Stewart R.** Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007; 318: 1917-1920.
 47. **Kasimir-Bauer S, Hoffmann O, Wallwiener D, Kimmig R, Fehm T.** Expression of stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers in primary breast cancer patients with circulating tumor cells. *Breast Cancer Res* 2012; 14: R15.
 48. **Akunuru S, James Zhai Q, Zheng Y.** Non-small cell lung cancer stem/progenitor cells are enriched in multiple distinct phenotypic subpopulations and exhibit plasticity. *Cell Death Dis* 2012; 3:1-10.
 49. **Sipos F, Galamb O.** Epithelial-to-mesenchymal and mesenchymal-to-epithelial transitions in the colon. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 601-608.
 50. **Iwasaki H, Suda T.** Cancer stem cells and their niche. *Cancer Sci* 2009; 100: 1166-1172.

51. Li L, Neaves WB. Normal stem cells and cancer stem cells: the niche matters. *Cancer Res* 2006; 66: 4553-4557.
52. Hsu YC, Fuchs E. A family business: stem cell progeny join the niche to regulate homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012; 13: 103-114.
53. Inaba M, Yamashita YM. Asymmetric stem cell division: precision for robustness. *Cell Stem Cell* 2012; 11: 461-469.
54. Ozel C, Seidel J, Meyer-Staeckling S, Brandt BH, Niggemann B, Zänker KS, Dittmar T. Hybrid cells derived from breast epithelial cell/breast cancer cell fusion events show a differential RAF-AKT crosstalk. *Cell Commun Signal* 2012; 10:1-12.
55. Lu X, Kang Y. Cell fusion hypothesis of the cancer stem cell. *Adv Exp Med Biol* 2011; 714: 129-140.
56. Nagler C, Zänker KS, Dittmar T. Cell fusion, drug resistance and recurrence CSCs. *Adv Exp Med Biol* 2011; 714: 173-182.
57. Clarke MF, Dick JE, Dirks PB, Eaves CJ, Jamieson CH, Jones DL, Visvader J, Weissman IL, Wahl GM. Cancer stem cells-perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on Cancer Stem Cells. *Cancer Res* 2006; 39: 3-14.
58. Powell AE, Anderson EC, Davies PS, Silk AD, Pelz C, Impey S, Wong MH. Fusion between Intestinal epithelial cells and macrophages in a cancer context results in nuclear reprogramming. *Cancer Res* 2011; 71: 1497-1505.
59. Magee JA, Piskounova E, Morrison SJ. Cancer stem cells: impact, heterogeneity, and uncertainty. *Cancer Cell* 2012; 21: 283-296.
60. Thompson SL, Compton DA. Chromosomes and cancer cells. *Chromosome Res* 2011; 19: 433-444.
61. Mayora A, Arvelo F. Cáncer de próstata y apoptosis. *Invest Clín* 2011; 52: 376-396.
62. Goldberg AD, Allis CD, Bernstein E. Epigenetics: a landscape takes shape. *Cell* 2007; 128: 635-638.
63. Moyret-Lalle C, Falette N, Grelier G, Puisieux A. Tumour genomics: an unstable landscape. *Bull Cancer* 2008; 95: 923-930.
64. Vilimas T, Mascarenhas J, Palomero T, Mandal M, Buonamici S, Meng F, Thompson B, Spaulding C, Macaroun S, Alegre ML, Kee BL, Ferrando A, Miele L, Aifantis I. Targeting the NF-kappaB signaling pathway in Notch1-induced T-cell leukemia. *Nat Med* 2007; 13: 70-77.
65. Mimeault M, Batra SK. Hypoxia-inducing factors as master regulators of stemness properties and altered metabolism of cancer- and metastasis-initiating cells. *J Cell Mol Med* 2013; 17: 30-54.
66. Hemmati HD, Nakano I, Lazareff JA, Masterman-Smith M, Geschwind DH, Bronner-Fraser M, Kornblum HI. Cancerous stem cells can arise from pediatric brain tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:15178-15183.
67. Wu A, Oh S, Wiesner SM, Ericson K, Chen L, Hall WA, Champoux PE, Low WC, Ohlfest JR. Persistence of CD133+ cells in human and mouse glioma cell lines: detailed characterization of GL261 glioma cells with cancer stem cell-like properties. *Stem Cells Dev* 2008; 17: 173-184.
68. Hu YY, Zheng MH, Cheng G, Li L, Liang L, Gao F, Wei YN, Fu LA, Han H. Notch signaling contributes to the maintenance of both normal neural stem cells and patient-derived glioma stem cells. *BMC Cancer* 2011; 11:1-13.
69. Aguirre A, Rubio ME, Gallo V. Notch and EGFR pathway interaction regulates neural stem cell number and self-renewal. *Nature* 2010; 467: 323-327.
70. Yu Z, Pestell TG, Lisanti MP, Pestell RG. Cancer stem cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2012; 44: 2144-2151.
71. Hovinga KE, Shimizu F, Wang R, Panagiotakos G, Van Der Heijden M, Moayedpardazi H, Correia AS, Soulet D, Major T, Menon J, Tabar V. Inhibition of notch signaling in glioblastoma targets cancer stem cells via an endothelial cell intermediate. *Stem Cells* 2010; 28: 1019-1029.
72. Androutsellis-Theotokis A, Leker RR, Soldner F, Hoepfner DJ, Ravin R, Poser SW, Rueger MA, Bae SK, Kittappa R, McKay RD. Notch signalling regulates

- stem cell numbers *in vitro* and *in vivo*. Nature 2006; 442: 823-826.
73. **Huelsken J, Behrens J.** The Wnt signaling pathway. J Cell Sci 2002; 115:3977-3978.
 74. **Reya T, Clevers H.** Wnt signalling in stem cells and cancer. Nature 2005; 434: 843-850.
 75. **Polakis P.** Drugging Wnt signalling in cancer. EMBO J 2012; 31:2737-2746.
 76. **Fre S, Pallavi SK, Huyghe M, Laé M, Janssen KP, Robine S, Artavanis-Tsakonas S, Louvard D.** Notch and Wnt signals cooperatively control cell proliferation and tumorigenesis in the intestine. Proc Natl Acad Sci USA 2009; 106: 6309-6314.
 77. **Shiras A, Chettiar ST, Shepal V, Rajendran G, Prasad GR, Shastry P.** Spontaneous transformation of human adult nontumorigenic stem cells to cancer stem cells is driven by genomic instability in a human model of glioblastoma. Stem Cells 2007; 25: 1478-1489.
 78. **Laplante M, Sabatini DM.** mTOR signaling in growth control and disease. Cell 2012; 149: 274-293.
 79. **Iglesias-Bartolome R, Gutkind JS.** Signaling circuitries controlling stem cell fate: to be or not to be. Curr Opin Cell Biol 2011; 23:716-723.
 80. **Akcakanat A, Zhang L, Tsavachidis S, Meric-Bernstam F.** The rapamycin-regulated gene expression signature determines prognosis for breast cancer. Mol Cancer 2009; 8:1-11.
 81. **Hambardzumyan D, Becher OJ, Rosenblum MK, Pandolfi PP, Manova-Todorova K, Holland EC.** PI3K pathway regulates survival of cancer stem cells residing in the perivascular niche following radiation in medulloblastoma *in vivo*. Genes Dev 2008; 22: 436-448.
 82. **Kapahi P, Chen D, Rogers AN, Katewa SD, Li PW, Thomas EL, Kockel L.** With TOR, less is more: a key role for the conserved nutrient-sensing TOR pathway in aging. Cell Metab 2010;11: 453-65.
 83. **Chong ZZ, Shang YC, Wang S, Maiese K.** Shedding new light on neurodegenerative diseases through the mammalian target of rapamycin. Prog Neurobiol 2012; 99: 128-148.
 84. **Maiese K, Chong ZZ, Shang YC, Wang S.** mTOR: on target for novel therapeutic strategies in the nervous system. Trends Mol Med 2013; 19:51-60.
 85. **Russell RC, Fang C, Guan KL.** An emerging role for TOR signaling in mammalian tissue and stem cell physiology. Development 2011; 138: 3343-3356.
 86. **Qiu B, Zhang D, Tao J, Wu A, Wang Y.** A simplified and modified procedure to culture brain glioma stem cells from clinical specimens. Oncol Lett 2012; 3: 50-54.
 87. **Song Z, Yue W, Wei B, Wang N, Li T, Guan L, Shi S, Zeng Q, Pei X, Chen L.** Sonic hedgehog pathway is essential for maintenance of cancer stem-like cells in human gastric cancer. PLoS One 2011; 6: 1-13.
 88. **Rubio D, Garcia-Castro J, Martín MC, de la Fuente R, Cigudosa JC, Lloyd AC, Bernad A.** Spontaneous human adult stem cell transformation. Cancer Res 2005; 65: 3035-3039.
 89. **Wu SM, Choo AB, Yap MG, Chan KK.** Role of sonic hedgehog signaling and the expression of its components in human embryonic stem cells. Stem Cell Res 2010; 4: 38-49.
 90. **Clement V, Sanchez P, de Tribolet N, Radovanovic I, Ruiz I, Altaba A.** HEDGEHOG-GLI1 signaling regulates human glioma growth, cancer stem cell self-renewal, and tumorigenicity. Curr Biol 2007; 17: 165-172.
 91. **Adolphe C, Hetherington R, Ellis T, Wainwright B.** Patched1 functions as a gatekeeper by promoting cell cycle progression. Cancer Res 2006; 66: 2081-2088.
 92. **Basset-Seguín N, Soufir N.** Voie Patched/Sonic Hedgehog et carcinomes basocellulaires. Med Sci (Paris) 2004; 20: 899-903.
 93. **Eccles SA.** The epidermal growth factor receptor/Erb-B/HER family in normal and malignant breast biology. Int J Dev Biol 2011; 55: 685-696.
 94. **Bao S, Wu Q, Li Z, Sathornsumetee S, Wang H, McLendon RE, Hjelmeland AB, Rich JN.** Targeting cancer stem cells

- through L1CAM suppresses glioma growth. *Cancer Res* 2008; 68: 6043-6048.
95. **Held-Feindt J, Schmelz S, Hattermann K, Mentlein R, Mehdorn HM, Sebens S.** The neural adhesion molecule L1CAM confers chemoresistance in human glioblastomas. *Neurochem Int* 2012; 61:1183-1191.
96. **Cao Y, Lathia JD, Eyster CE, Wu Q, Li Z, Wang H, McLendon RE, Hjelmeland AB, Rich JN.** Erythropoietin receptor signaling through STAT3 is required for glioma stem cell maintenance. *Genes Cancer* 2010; 1: 50-61.
97. **Dick JE.** Stem cell concepts renew cancer research. *Blood* 2008; 112: 4793-4807.
98. **Luo W, Yao K.** Molecular characterization and clinical implications of spindle cells in nasopharyngeal carcinoma: a novel molecule-morphology model of tumor progression proposed. *PLoS One* 2013; 8: 1-12.
99. **Avilion AA, Nicolis SK, Pevny LH, Perez L, Vivian N.** Multipotent cell lineages in early mouse development depend on SOX2 function. *Genes Dev* 2003; 17: 126-140.
100. **Pesce M, Schöler HR.** Oct-4 gatekeeper in the beginnings of mammalian development. *Stem Cells* 2001; 19:271-278.
101. **Mitsui K, Tokuzawa Y, Itoh H, Segawa K, Murakami M.** The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell* 2003; 113: 631-642.
102. **Arvelo F, Merentes E, Cotte C.** Resistencia multidroga (MDR) o pleiotropica. *Acta Cient Venez* 2000; 51: 45-52.
103. **Liu H, Patel MR, Prescher JA, Patsialou A, Qian D, Lin J, Wen S, Chang YF, Bachmann MH, Shimono Y, Dalerba P, Adorno M, Lobo N, Bueno J, Dirbas FM, Goswami S, Somlo G, Condeelis J, Contag CH, Gambhir SS, Clarke MF.** Cancer stem cells from human breast tumors are involved in spontaneous metastases in orthotopic mouse models. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 18115-18120.
104. **Krantz SB, Shields MA, Dang-Garimella S, Munshi HG, Bentrem DJ.** Contribution of epithelial-to-mesenchymal transition and cancer stem cells to pancreatic cancer progression. *J Surg Res* 2012; 173: 105-112.
105. **Mani SA, Guo W, Liao MJ, Eaton EN, Ayyanan A, Zhou AY, Brooks M, Reinhard F, Zhang CC, Shipitsin M, Campbell LL, Polyak K, Brisken C, Yang J, Weinberg RA.** The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell* 2008; 133: 704-715.
106. **Louie E, Nik S, Chen JS, Schmidt M, Song B, Paeson C, Chen XF, Park S, Ju J, Chen EI.** Identification of a stem-like cell population by exposing metastatic breast cancer cell lines to repetitive cycles of hypoxia and reoxygenation. *Breast Cancer Res* 2010; 12: R94.
107. **Mimeault M, Batra SK.** Hypoxia-inducing factors as master regulators of stemness properties and altered metabolism of cancer- and metastasis-initiating cells. *J Cell Mol Med* 2013; 17: 30-54.
108. **Rodríguez-Jiménez FJ, Moreno-Manzano V, Lucas-Domínguez R, Sánchez-Puelles JM.** Hypoxia causes downregulation of mismatch repair system and genomic instability in stem cells. *Stem Cells* 2008; 26: 2052-2062.
109. **Shinin V, Gayraud-Morel B, Gomès D, Tajbakhsh S.** Asymmetric division and cosegregation of template DNA strands in adult muscle satellite cells. *Nat Cell Biol* 2006; 8: 677-687.
110. **Fukunaga-Kalabis M, Herlyn M.** Beyond ABC: another mechanism of drug resistance in melanoma side population. *J Invest Dermatol* 2012; 132: 2317-2319.
111. **Luo Y, Ellis LZ, Dallaglio K, Takeda M, Robinson WA, Robinson SE, Liu W, Lewis KD, McCarter MD, Gonzalez R, Norris DA, Roop DR, Spritz RA, Ahn NG, Fujita M.** Side population cells from human melanoma tumors reveal diverse mechanisms for chemoresistance. *J Invest Dermatol* 2012; 132: 2440-2450.
112. **Natarajan K, Xie Y, Baer MR, Ross DD.** Role of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in cancer drug resistance. *Biochem Pharmacol* 2012; 83: 1084-1103.
113. **Wulf G, Wang R, Kuehnle L, Weidner D, Marini F, Brenner M, Andref F, Goodell**

- M. Leukemic stem cell with intrinsic efflux capacity in acute myeloid leukemia. *Blood* 2001; 98: 1166-1173.
114. Zhang F, Throm SL, Murley LL, Miller LA, Steven Zatechka D Jr, Kiplin Guy R, Kennedy R, Stewart CF. MDM2 antagonist nutlin-3a reverses mitoxantrone resistance by inhibiting breast cancer resistance protein mediated drug transport. *Biochem Pharmacol* 2011; 82: 24-34.
 115. Todaro M, Lombardo Y, Francipane MG, Alea MP, Cammareri P, Iovino F, Di Stefano AB, Di Bernardo C, Agrusa A, Condorelli G, Walczak H, Stassi G. Apoptosis resistance in epithelial tumors is mediated by tumor-cell-derived interleukin-4. *Cell Death Differ* 2008; 15: 762-772.
 116. Todaro M, Perez Alea M, Scopelliti A, Medema JP, Stassi G. IL-4-mediated drug resistance in colon cancer stem cells. *Cell Cycle* 2008; 7: 309-311.
 117. Chiou SH, Kao CL, Chen YW, Chien CS, Hung SC, Lo JF, Chen YJ, Ku HH, Hsu MT, Wong TT. Identification of CD133-positive radioresistant cells in atypical teratoid/rhabdoid tumor. *PLoSOne*. 2008; 3: 1-13.
 118. Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 647-656.
 119. Konopleva M, Zhao S, Hu W, Jiang S, Snell V, Weidner D, Jackson CE, Zhang X, Champlin R, Estey E, Reed JC, Andreeff M. The anti-apoptotic genes Bcl-X (L) and Bcl-2 are over-expressed and contribute to chemoresistance of non-proliferating leukaemic CD34+ cells. *Br J Haematol* 2002; 118: 521-534.
 120. Abdullah LN, Chow EK. Mechanisms of chemoresistance in cancer stem cells. *Clin Transl Med* 2013; 2: 1-9.
 121. Madjd Z, Mehrjerdi A, Sharif A, Molanei S, Shahzadi S, Asadi-Lari M. CD44+ cancer cells express higher levels of the anti-apoptotic protein Bcl-2 in breast tumours. *Cancer Immun* 2009; 9:1-7.
 122. D'Andrea FP. Intrinsic radiation resistance of mesenchymal cancer stem cells and implications for treatment response in a murine sarcoma model. *Dan Med J* 2012; 59: B4388.
 123. Diehn M, Cho RW, Lobo NA, Kalisky T, Dorie MJ, Kulp AN, Qian D, Lam JS, Ailles LE, Wong M, Joshua B, Kaplan MJ, Wapnir I, Dirbas FM, Somlo G, Garberoglio C, Paz B, Shen J, Lau SK, Quake SR, Brown JM, Weissman IL, Clarke MF. Association of reactive oxygen species levels and radioresistance in cancer stem cells. *Nature* 2009; 458:780-783.
 124. Shi X, Zhang Y, Zheng J, Pan J. Reactive oxygen species in cancer stem cells. *Antioxid Redox Signal* 2012; 16:1215-1228.
 125. Acharya A, Das I, Chandhok D, Saha T. Redox regulation in cancer: a double-edged sword with therapeutic potential. *Oxid Med Cell Longev* 2010; 3: 23-34.
 126. Kobayashi CI, Suda T. Regulation of reactive oxygen species in stem cells and cancer stem cells. *J Cell Physiol* 2012; 227: 421-430.
 127. Magni M, Shammah S, Schiró R, Mellado W, Dalla-Favera R, Gianni AM. Induction of cyclophosphamide-resistance by aldehyde-dehydrogenase gene transfer. *Blood* 1996; 87: 1097-1103.
 128. Hilton J. Role of aldehyde dehydrogenase in cyclophosphamide-resistant L 1210 leukemia. *Cancer Res* 1984; 5: 5156-5160.
 129. Friedman HS, Colvin OM, Kaufmann SH, Ludeman SM, Bullock N, Bigner DD, Griffith OW. Cyclophosphamide resistance in medulloblastoma. *Cancer Res* 1992; 52: 5373-5378.
 130. Dylla SJ, Beviglia L, Park IK, Chartier C, Raval J, Ngán L, Pickell K, Aguilar J, Lazetic S, Smith-Berdan S. Colorectal cancer stem cells are enriched in xenogeneic tumors following chemotherapy. *PLoS One* 2008; 3:1-13.
 131. Todaro M, Alea MP, Di Stefano AB, Cammareri P, Vermeulen L, Iovino F, Tripodo C, Russo A, Gulotta G, Medema JP, Stassi G. Colon cancer stem cells dictate tumor growth and resist cell death by production of interleukin-4. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 389-402.

132. **Todaro M, Perez Alea M, Scopelliti A, Medema JP, Stassi G.** IL-4-mediated drug resistance in colon cancer stem cells. *Cell Cycle* 2008; 7: 309-313.
133. **Ma S, Lee TK, Zheng BJ, Chan KW, Guan XY.** CD133+ HCC cancer stem cells confer chemoresistance by preferential expression of the Akt/PKB survival pathway. *Oncogene* 2008; 27:1749-1758.
134. **Cammareri P, Scopelliti A, Todaro M, Eterno V, Francescangeli F, Moyer MP, Agrusa A, Dieli F, Zeuner A, Stassi G.** Aurora-a is essential for the tumorigenic capacity and chemoresistance of colorectal cancer stem cells. *Cancer Res.* 2010; 70: 4655-4665.
135. **Arvelo F, Cotte C.** Hipoxia en la malignidad del cáncer. *Invest Clín* 2009; 50: 529-546.
136. **Smith J, Tho LM, Xu N, Gillespie DA.** The ATM-Chk2 and ATR-Chk1 pathways in DNA damage signaling and cancer. *Adv Cancer Res* 2010; 108: 73-112.
137. **Bao S, Wu Q, McLendon R, Hao Y, Shi Q, Hjelmeland A, Dewhirst M, Bigner D, Rich J.** Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature* 2006; 444: 756-760.
138. **Gallmeyer E, Hermann P, Muelle M, Machado J, Ziesch A, De Toni E, Palágyi A, Eisen C, Ellwart J, Rivera J.** Inhibition of ataxia telangiectasia and Rad 3 related function abrogates the *in vitro* and *in vivo* tumorigenicity of human colon cancer cells through depletion of the CD133(+) tumor initiating cell fraction. *Stem Cells* 2011; 29: 418-429.
139. **Yates CC, Shepard CR, Stolz DB, Wells A.** Co-culturing human prostate carcinoma cells with hepatocytes leads to increased expression of E-cadherin. *Br J Cancer* 2007; 96: 1246-1252.
140. **Vincan E, Brabletz T, Faux MC, Ramsay RG.** A human three-dimensional cell line model allows the study of dynamic and reversible epithelial-mesenchymal and mesenchymal-epithelial transition that underpins colorectal carcinogenesis. *Cells Tissues Organs* 2007; 185: 20-28.
141. **Chao YL, Shepard CR, Wells A.** Breast carcinoma cells re-express E-cadherin during mesenchymal to epithelial reverting transition. *Mol Cancer* 2010; 9: 1-18.
142. **Brabletz T.** To differentiate or not routes towards metastasis. *Nat Rev Cancer* 2012; 12: 425-436.
143. **Tsuji T, Ibaragi S, Hu GF.** Epithelial-mesenchymal transition and cell cooperativity in metastasis. *Cancer Res* 2009; 69: 7135-7139.
144. **Zhao Y, Bao Q, Renner A, Camaj P, Eichhorn M, Ischenko I, Angele M, Kleespies A, Jauch KW, Bruns C.** Cancer stem cells and angiogenesis. *Int J Dev Biol* 2011; 55: 477-482.
145. **Mimeault M, Batra SK.** Hypoxia-inducing factors as master regulators of stemness properties and altered metabolism of cancer- and metastasis-initiating cells. *J Cell Mol Med* 2013; 17: 30-54.
146. **Liu S, Ginestier C, Ou SJ, Clouthier SG, Patel SH, Monville F, Korkaya H, Heath A, Dutcher J, Kleer CG, Jung Y, Dontu G, Taichman R, Wicha MS.** Breast cancer stem cells are regulated by mesenchymal stem cells through cytokine networks. *Cancer Res* 2011; 71: 614-624.