



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

**Papel de la angiogénesis en la regulación del
tumor dormancy**

Autor: Irene de Pablos Florido

Fecha: Julio 2020

Tutor: Paloma Bragado Domingo

ÍNDICE

1.-Resumen/Abstract	- 2 -
2.-Introducción	- 2 -
2.1.-El cáncer	- 2 -
2.2.-Concepto de metástasis	- 3 -
2.3.-Líneas de investigación	- 3 -
3.-Objetivo	- 4 -
4.-Material y Métodos	- 4 -
5.-Resultados y Discusión	- 4 -
5.1.-Tumor dormancy	- 4 -
5.2.-Dormancy angiogénico	- 7 -
5.2.1.-Angiogénesis	- 7 -
5.2.2.-Factores angiogénicos y anti-angiogénicos	- 8 -
5.2.3.-Interruptor angiogénico	- 11 -
5.2.3.-Cooptación de vasos sanguíneos en cáncer	- 11 -
5.3.-Terapia anti-angiogénica	- 12 -
5.3.1.-Fármacos empleados y efectos en metástasis	- 12 -
5.3.2. Mecanismos de resistencia a la terapia	- 16 -
6.-Conclusiones	- 17 -
7.-Bibliografía	- 18 -

1.-Resumen/Abstract

La latencia tumoral o tumor dormancy es la habilidad que presentan las células tumorales de sobrevivir en un estado quiescente. Pueden permanecer latentes durante años o décadas, sin presentar síntomas clínicos, esperando al ambiente adecuado para su proliferación. Este trabajo se centra en el dormancy angiogénico, en el cual la masa tumoral se mantiene constante por un equilibrio entre las células en división y las células que mueren, debido a una pobre vascularización. La latencia tumoral incluye también el efecto del sistema vascular sobre la quiescencia de las células tumorales diseminadas, antes de que se formen masas micro-metastásicas.

Inducir el tumor dormancy inhibiendo la formación de nuevos vasos sanguíneos necesarios para el crecimiento tumoral, puede proporcionar estrategias terapéuticas para la inhibición de la metástasis y las recurrencias tumorales; aunque no son pocas las dificultades que se ponen por delante en este proceso.

Palabras clave: dormancy, angiogénesis, metástasis.

Abstract

Tumor dormancy is the ability of cancer cells to survive in a quiescent state. They can remain dormant for years or decades, without clinical symptoms, waiting for an appropriate environment for proliferation. This project is focused on angiogenic dormancy, that studies the role of the vasculature on dormancy. For example in angiogenic mass dormancy the tumor mass is kept constant by a balance between dividing cells and cells that die due to poor vascularization. Tumor dormancy also includes the effect of the vascular system on the quiescence of disseminated tumor cells before forming micro-metastases.

Inducing tumor dormancy by inhibiting the formation of new blood vessels necessary for tumor growth, can provide therapeutic strategies for the inhibition of metastasis and tumor recurrences; although many difficulties are ahead in this process.

Key words: dormancy, angiogenesis, metastasis.

2.-Introducción

2.1.-El cáncer

El término cáncer abarca un amplio grupo de enfermedades que se caracterizan por desarrollar células anormales. Estas células se dividen, crecen, y diseminan sin control en cualquier parte del cuerpo.

Una célula normal se divide y muere en un periodo de tiempo programado. Sin embargo, una célula cancerosa o tumoral “pierde” esa capacidad para morir y se divide casi sin límite. Esa multiplicación llega a formar unas masas, que se llaman tumores o neoplasias, y al expandirse pueden destruir y sustituir a los tejidos normales. El proceso de diseminación puede darse directamente a través de los vasos sanguíneos, o indirectamente a través de los vasos linfáticos. Cada tipo de cáncer se podría considerar una enfermedad independiente, por sus causas determinadas, su evolución, y su tratamiento específico (1,2).

Las fases del cáncer van desde que se producen las primeras mutaciones de las células hasta que la enfermedad llega a su etapa final. Esto se conoce como historia natural del cáncer. En adultos depende del tipo de cáncer y puede variar entre meses y décadas.

-Fase de inducción: los cambios celulares proporcionan a las células las características de malignidad, la multiplicación descontrolada y la capacidad de invasión. Esta etapa no es diagnosticable y no es sintomatológica. En algunos tipos de cánceres como mama o cabeza y cuello, se ha visto que las células preneoplásicas son capaces de diseminarse y sobrevivir en otros tejidos durante largos periodos de tiempo.

-Fase “in situ”: se produce una lesión cancerosa microscópica en el tejido donde se ha originado. Tampoco aparecen síntomas o molestias. En algunos casos como por ejemplo el cáncer de mama, la enfermedad se puede diagnosticar mediante técnicas que permiten la detección precoz.

-Fase de invasión local: la lesión comienza a extenderse e invade tejidos u órganos adyacentes. La aparición de síntomas depende del tipo de cáncer, de su crecimiento y de su localización.

-Etapa de metástasis: la enfermedad que ha diseminado fuera de su lugar de origen, forma lesiones tumorales a distancia (2).

La diseminación de células de lesiones preneoplásicas a otros tejidos puede ser un evento temprano, aunque la metástasis sea un evento tardío.

Pero no todos los tumores son malignos. Algunos de ellos crecen a un ritmo lento, no se diseminan ni infiltran los tejidos vecinos. Se los considera tumores benignos.

2.2.-Concepto de metástasis

Es un tumor secundario que se genera en un órgano diferente y lejano al tumor original. Normalmente se desarrolla cuando las células cancerosas se desprenden del tumor principal y viajan a través de la sangre y vasos linfáticos hacia otras localizaciones del cuerpo. Así pueden desplazarse y formar nuevos tumores cuando se asientan y crecen en una parte diferente del cuerpo.

Las metástasis también pueden desarrollarse cuando las células cancerosas del tumor principal se desprenden y crecen en áreas cercanas.

Que el cáncer se disemine o no depende de varios factores, como por ejemplo: el tipo de cáncer (algunos son más propensos a diseminarse que otros), la velocidad con la que crece... y otros factores relacionados con el comportamiento del cáncer.

2.3.-Líneas de investigación

La metástasis es la primera causa de muerte en pacientes con cáncer. Además, son bien conocidos los casos en los que tras un tratamiento exitoso de un tumor, reaparecen esas células cancerosas, dando lugar a recurrencias. ¿Por qué, por ejemplo, el 62% de las muertes por cáncer de mama ocurren después de la marca de supervivencia de 5 años (3)?

Los esfuerzos dirigidos a tratar las metástasis se ven obstaculizados, ya que esas células tumorales a menudo permanecen latentes durante intervalos prolongados de años, o incluso décadas, sin ser detectadas. Esta latencia tumoral o **tumor dormancy** refleja la capacidad de las células tumorales diseminadas, o micrometástasis, de evadir el tratamiento y permanecer en bajas proporciones después del tratamiento del tumor primario. La concepción tradicional de la progresión del tumor como algo lineal, ha sido alterada por el concepto de latencia (4,5).

Por desgracia, esas células inactivas posteriormente darán lugar a metástasis. Comprender los mecanismos de inducción y regulación de la etapa latente de las células tumorales, nos ayudará a prevenir la recurrencia tumoral y la metástasis, y a mejorar la detección y el tratamiento del cáncer (6).

3.-Objetivo

El propósito de este trabajo es la investigación y revisión bibliográfica sobre los nuevos avances en el conocimiento del tumor dormancy, con la finalidad de conocer nuevas opciones terapéuticas en el tratamiento del cáncer, y sus implicaciones en metástasis. Nos centraremos principalmente en el papel que juega la angiogénesis en el control de la latencia tumoral.

4.-Material y Métodos

Para obtener información relativa a la revisión bibliográfica, se han utilizado publicaciones científicas de bases de datos como PubMed, y Scielo, además de artículos tomados del libro “Biological mechanisms of minimal residual disease and systemic cancer”.

Para facilitar la búsqueda y obtener resultados concretos, se emplearon palabras clave como “tumor dormancy”, “dormancy angiogénico”, “terapia anti-angiogénica”, entre otras.

5.-Resultados y Discusión

5.1.-Tumor dormancy

La latencia tumoral o tumor dormancy es un estado del desarrollo del tumor, en el que las células tumorales dejan de dividirse, sobreviviendo de forma quiescente y activando rutas de supervivencia que les permite sobrevivir a terapias dirigidas o quimioterapia. Estas células latentes pueden no detectarse durante mucho tiempo, hasta que tiene lugar la metástasis, o la recurrencia del tumor. Este hecho sugiere que las células cancerosas pueden permanecer en estado latente, esperando el ambiente adecuado para llevar a cabo su proliferación. Esto puede ocurrir durante la formación de recurrencias locales, o después de la diseminación a órganos distantes durante la formación de metástasis (6).

La evidencia clínica pone de manifiesto que esas células tumorales diseminadas no son proliferativas, debido a la falta de marcadores de proliferación (3).

Pasan a ese estado de latencia, permaneciendo quiescentes. La quiescencia es quizá un término más adecuado que la senescencia para la definición de este estado tumoral, ya que los dos son estados celulares estables, pero al contrario que la senescencia, la quiescencia es reversible (3).

En cánceres sólidos, después de extirpar el tumor primario, las células cancerosas se pueden eliminar de forma que son indetectables con las pruebas tradicionales (radiografías y pruebas serológicas). Sin embargo, puede permanecer después del tratamiento una pequeña cantidad de células cancerosas en el sitio primario o diseminadas en otros órganos; esto constituye la enfermedad mínima residual, que puede pasar desapercibida durante largos períodos. De esta forma el tumor dormancy es clínicamente asintomático, y estas células tumorales pueden esquivar la terapia dirigida o convencional (7).

La presencia generalizada de células tumorales diseminadas se ha demostrado en modelos animales y en autopsias de fallecidos (8, 9). Sin embargo, solo unos pocos sitios se pueden muestrear de manera segura en pacientes vivos con cáncer para detectar estas células tumorales diseminadas, como son los aspirados de médula ósea y los ganglios linfáticos. (10-12)

Debido a esto, la investigación de autopsias de personas fallecidas tras accidentes de tráfico o traumatismos, es una herramienta útil para determinar la tasa de tumores latentes en una población que aparentemente está sana.

Estos estudios mostraron un número sorprendentemente alto de tumores microscópicos que clínicamente no se detectaron (10). Por ejemplo, en el caso del cáncer de mama o de próstata,

aproximadamente el 40% de las personas a las que se hicieron autopsias fueron positivos para un carcinoma in situ, frente a aproximadamente el 1% que se diagnosticaron durante la vida, en el mismo rango de edad (10).

Esta forma de cáncer oculto constituye una etapa temprana del desarrollo del tumor. Esto puede explicar la recurrencia de un tumor después de un tratamiento exitoso, además de las micrometástasis (8).

Las metástasis pueden iniciarse y evolucionar a partir de células tumorales diseminadas latentes, y no se conoce el tiempo necesario para que esto ocurra. De hecho, en el momento del diagnóstico, la diseminación de células tumorales ha tenido lugar en más del 50% de los pacientes.

Tras la cirugía o el tratamiento del tumor primario, la masa tumoral disminuye. Después de meses, años o décadas, la masa tumoral metastásica va aumentando. Las células tumorales diseminadas que se originan en las primeras etapas del desarrollo del tumor y que permanecen latentes, pueden generar tumores metastásicos décadas después del primer diagnóstico. Pueden ser las primeras células en colonizar órganos distantes, pero pueden permanecer mucho tiempo en estado latente mientras el tumor va progresando. Por el contrario, hay otras células que surgen a partir del tumor primario establecido, las células tumorales diseminadas “tardías”. Estas pueden tener un mayor potencial metastásico y dar lugar a lesiones metastásicas en un tiempo menor. Es decir, existe heterogeneidad entre las distintas células tumorales diseminadas (3).

La duración de la latencia metastásica varía con los distintos tipos de cáncer: es muy corta para aquellos que son más agresivos, así que presentan altas tasas de recaída y mortalidad después del diagnóstico.

En el cáncer de pulmón, el intervalo de latencia metastásico generalmente dura solo unas pocas semanas, por lo que se estima que las tasas de supervivencia a 5 años son de alrededor del 17%. Un tipo de cáncer de latencia y agresividad medias es el colorrectal; presenta una tasa de supervivencia a 5 años del 65%. Y un ejemplo conocido de un tipo de tumor con latencia muy larga es el cáncer de próstata: según las estadísticas del Instituto Nacional del Cáncer, casi el 100% de los pacientes diagnosticados sobreviven 5 años, y el 82% todavía están vivos 15 años después del diagnóstico (4).

Desde una perspectiva clínica, será importante distinguir marcadores moleculares de las células tumorales circulantes y diseminadas para identificar a los pacientes con una enfermedad mínima residual latente o activa, y así seleccionar terapias adecuadas para evitar la reactivación (13).

Comprender las interacciones que ocurren en el microambiente es importante para contrarrestar el crecimiento del tumor. En este microambiente tumoral se encuentran todos los componentes celulares y extracelulares que rodean las células cancerosas. La expresión de algunos receptores interviene en la regulación de la latencia tumoral. De esta forma, el microambiente del tumor puede facilitar ese estado de latencia; o por el contrario, un cambio en ese ambiente puede dar lugar al crecimiento, recaída o metástasis del tumor, permitiendo que el tumor salga de la latencia a través de la interacción con las células endoteliales, los fibroblastos asociados con el tumor, las células inmunes e inflamatorias asociadas al tumor, y la matriz extracelular (Fig. 1). De modo que el microambiente puede ser latente-permisivo o latente-restrictivo (4,14).

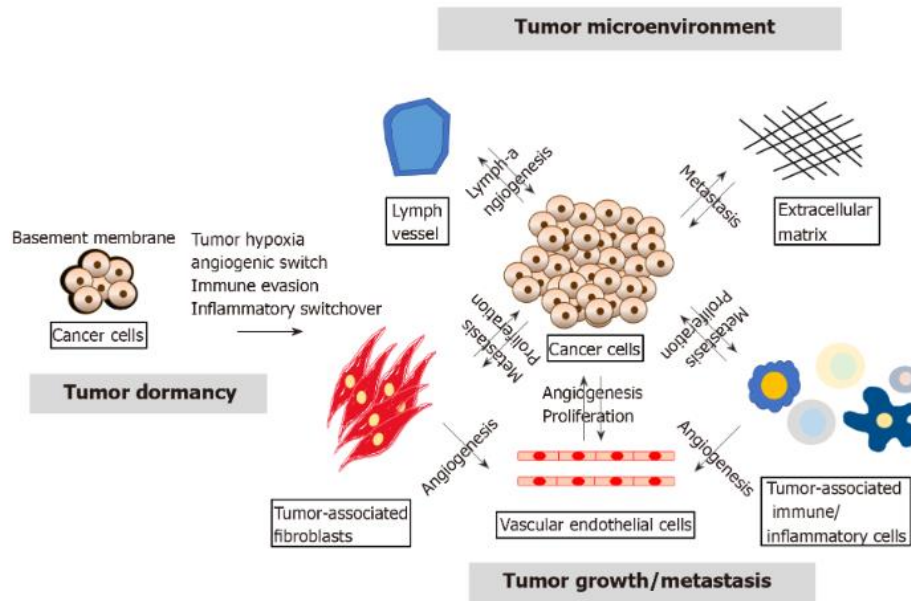


Figura 1. Importancia del microambiente del tumor en la regulación de la latencia, crecimiento del tumor, recaída y metástasis (14).

Clasificación

Este estado del tumor se alcanza por tres mecanismos principales (Fig. 2):

En el dormancy celular, las células tumorales diseminadas entran en un estado de reposo, con una disminución en la expresión del marcador de proliferación Ki67, un factor que mide la velocidad de crecimiento del tumor; excelente marcador diagnóstico (según el grado del tumor) y pronóstico (según la supervivencia del paciente) (15). Probablemente, la detención del ciclo celular G0/G1 en la fase de reposo, sea responsable de la latencia celular. En contraste con la senescencia casi irreversible, las células pueden quedar en un estado latente, y después reactivar la proliferación (4). Esta detención del ciclo celular puede ser inducida por factores de estrés, mitógenos y otros factores presentes en el microambiente del órgano huésped. Para garantizar su supervivencia en este estado, las células tumorales diseminadas alteran las vías de señalización que coordinan la homeostasis metabólica (4).

En el dormancy inmunológico, es el sistema inmunitario el que se encarga de la eliminación de las células tumorales. Las células cancerosas se desarrollan en un microambiente que suprime la vigilancia inmunológica. Sin embargo, al inicio de este proceso la mayoría de las células tumorales diseminadas mueren: juegan un papel importante las células T citotóxicas y las “natural killers” (NK), tienen mucha relevancia en la acción antimetastásica. Es esa actividad citotóxica persistente lo que mantiene constante la masa tumoral proliferativa. De hecho, el agotamiento de las células T CD4 + y CD8 + en modelos de ratón da como resultado el escape de la latencia. (3, 4).

En el tumor dormancy angiogénico la masa tumoral se mantiene constante por un equilibrio entre las células en división y las células que mueren, debido a una pobre vascularización o falta de vasos sanguíneos funcionales (3). Este trabajo se centra, concretamente, en el dormancy angiogénico.

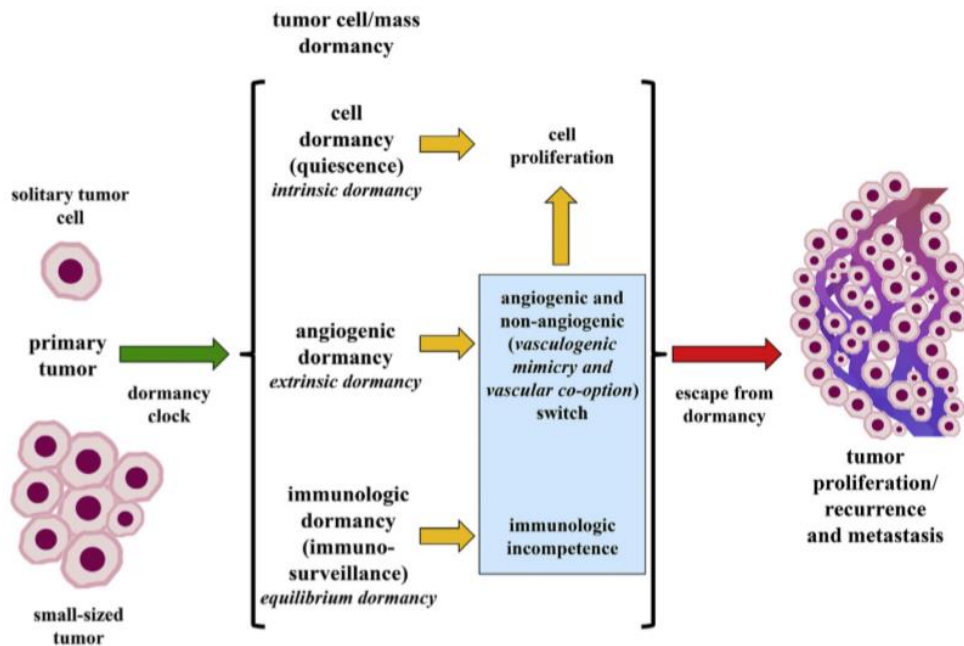


Figura 2. Principales mecanismos de regulación del tumor dormancy (10).

5.2.-Dormancy angiogénico

Como todos los tejidos, los tumores también necesitan una vasculatura funcional. Cuando una célula tumoral diseminada da lugar a micrometástasis, estimula la formación de nuevos vasos sanguíneos; y al contrario: un déficit en la vascularización hace que la proliferación de las células cancerosas se vea contrarrestada por la apoptosis. De esta forma, está impedida la expansión de la masa tumoral por encima de un tamaño microscópico, siendo asintomático y no metastásico.

Esas células tumorales pueden permanecer de forma latente hasta que las señales genéticas, epigenéticas o microambientales desencadenan un cambio angiogénico (3).

La latencia angiogénica está basada en la teoría de Judah Folkman, que sostiene que el tamaño de un tumor depende de su vascularización, y los tumores que no tienen la capacidad de estimular la formación de nuevos vasos sanguíneos son de tamaño limitado. Por lo tanto, los tumores micrometastásicos no se expandirían, permaneciendo en una forma clínicamente latente, hasta adquirir esa capacidad angiogénica (5).

5.2.1.-Angiogénesis

El proceso de la angiogénesis consiste en la formación de nuevos capilares a partir de vasos sanguíneos preexistentes. Ocurre en condiciones fisiológicas, como por ejemplo en la embriogénesis, ovulación, curación y reparación de heridas, además de patológicas, como es el caso de la artritis, retinopatía diabética y tumores.

Las células cancerosas del tumor están en rápido crecimiento y división, por lo que esa masa tumoral necesita oxígeno y nutrientes. Para obtener oxígeno y otros nutrientes esenciales, el tumor induce la formación de nuevos vasos sanguíneos funcionales (Fig. 3). Si esto no

ocurriera, los tumores no pueden crecer más allá de cierto tamaño, generalmente 1-2 mm³, sin inducir la formación de vasos sanguíneos.

Si el tumor no puede inducir la angiogénesis, la alta tasa de proliferación celular se contrarresta con una apoptosis elevada, lo que conduciría a la latencia angiogénica. (3,14)

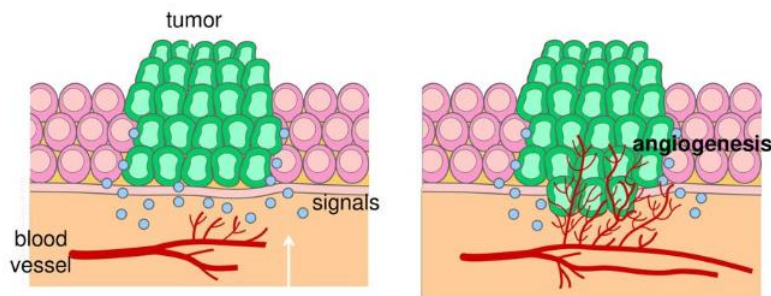


Figura 3. *Proceso de formación de nuevos vasos sanguíneos. Transformación de un tumor pequeño y localizado a un tumor que puede crecer y diseminarse (16).*

Por lo tanto, el crecimiento y progresión del tumor están fuertemente asociados a su capacidad para inducir angiogénesis (3,14). De hecho, los datos se remontan al año 1939, cuando el trabajo de Ide y sus colaboradores demostró que los tumores implantados en las orejas de conejo producen un factor estimulante del crecimiento de los vasos, observaciones que fueron confirmadas por otros, en distintos modelos animales. Más tarde, al implantar fragmentos de carcinomas de conejo en la cámara anterior de los ojos de conejillos de Indias, se demostró que entraban en una fase de latencia hasta que recibían un suministro de sangre. Este fenómeno se conoce hoy como “interruptor angiogénico”.

Basado en estos datos, Folkman propuso que la inhibición del suministro de sangre podría mantener las células tumorales en un estado latente, previniendo así la metástasis (7).

5.2.2.-Factores angiogénicos y anti-angiogénicos

La angiogénesis normal depende del equilibrio entre los factores pro-angiogénicos y anti-angiogénicos. En el dormancy angiogénico se encuentra bloqueada la angiogénesis, y la salida de la latencia angiogénica depende principalmente de la alteración de este equilibrio, a favor de los factores pro-angiogénicos, con la consecuente formación de nuevos vasos sanguíneos (10).

Folkman ya estableció una hipótesis hace más de 45 años sobre la presencia de un factor pro-angiogénico, llamado factor angiogénico tumoral (TAF). Más tarde, los científicos descubrieron que los factores capaces de activar y regular la angiogénesis eran muchos más: incluido los factores de crecimiento de fibroblastos 1 y 2 (bFGF-1 y 2), la familia de factores de crecimiento endotelial vascular (VEGF de -A a -D), factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento placentario, factores de crecimiento similares a la insulina, angiopoyetina-1 y -2 (Ang-1 y -2), factor inducible por hipoxia (HIF) -1 α y β , factor de crecimiento de hepatocitos (10).

El tumor induce el crecimiento de los vasos sanguíneos al secretar varios de estos factores de crecimiento, incluido el VEGF, que tiene un importante papel en la formación de vasos sanguíneos que soportan el crecimiento del tumor. VEGF es un importante regulador del crecimiento y la supervivencia de las células endoteliales, que es el componente principal de los vasos sanguíneos (6).

Además de la hipoxia, hay otras situaciones de estrés que pueden inducir la expresión de factores pro-angiogénicos: la privación de glucosa, la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), la acidosis celular o la deficiencia de hierro, la activación de oncogenes como Ras, o la función anormal de los genes supresores de tumores (10, 17).

El descubrimiento de esta población heterogénea de factores de crecimiento, péptidos, enzimas y citosinas que promueven la angiogénesis, estimuló el diseño de un gran número de agentes terapéuticos antagonistas.

Por otro lado, además del desarrollo de varios inhibidores angiogénicos, como los anticuerpos monoclonales y los fármacos de moléculas pequeñas, se descubrieron numerosos inhibidores endógenos de la angiogénesis y su lista continúa creciendo debido a su potencial terapéutico (10,18).

Muchas proteínas se han identificado como inhibidores de la angiogénesis endógena, incluidas las trombospondinas (TSP) -1 y -2, la condromodulina, el factor derivado del epitelio pigmentario (PEDF), el factor plaquetario 4 (PF-4) y varios miembros de las familias de interleucina e interferón. Además, también fragmentos de proteínas como la endostatina, angiostatina, microARN y receptores de VEGF solubles (s VEGFR) han sido reconocidos como inhibidores de la angiogénesis endógena (10,18).

Cuando se estudiaron masas tumorales con poca vasculatura en modelos in vivo de cáncer de mama, glioblastoma, osteosarcoma y liposarcoma de ratones inmunodeficientes, que permanecieron latentes durante más de 90 días; se demostró que la trombospondina (TSP) y la angiomotina estaban reguladas positivamente en estos tumores (10).

La angiogénesis también regula la latencia celular. Estudios recientes pusieron de manifiesto que las células tumorales diseminadas en cáncer de mama se encuentran en un estado latente en la microvasculatura de los órganos que han invadido. Utilizando el modelado de tejido 3D in vitro, descubrieron que las células endoteliales en la microvasculatura estable producen TSP, que mantiene las células tumorales diseminadas solitarias en un estado latente. Estos estudios sugieren que moléculas como TSP podrían influir en la actividad de las células tumorales diseminadas y que la formación de esos nuevos vasos sanguíneos es la consecuencia de que las células tumorales diseminadas cambien de latencia a proliferación (1, 19).

Por tanto, la regulación positiva de la trombospondina-1 en cáncer da lugar a una pobre vascularización y latencia en modelos in vivo de cáncer de mama, glioblastoma, osteosarcoma y liposarcoma. Además, la secreción de TSP-1 por el endotelio maduro induce la latencia en las células tumorales diseminadas, lo que indica que este factor promueve la latencia a través de diversos mecanismos (4).

Después de la diseminación de las células tumorales, estas se asientan cerca de los vasos sanguíneos, dentro del nicho perivascular. Ese nuevo microambiente en el que se encuentran es el que regula el equilibrio entre la latencia y la proliferación. Por ejemplo, las células tumorales diseminadas con alta actividad de Erk tienden a ser proliferativas, mientras que la alta activación de p38 fuerza a las células a la latencia (20).

El nicho perivascular está compuesto de células endoteliales, pericitos, fibroblastos, células inmunes locales, células epiteliales, células madre y progenitoras y componentes de la membrana basal. Los tipos de células que residen en el nicho varían según los tejidos, y estos diferentes tipos de células influyen en la supervivencia y la latencia de las células tumorales diseminadas. El TGF- β y las proteínas morfogénicas óseas (BMP) son reguladores centrales de la latencia. En la médula ósea, las células del estroma secretan BMP-7, que mantienen la

latencia de las células del cáncer de próstata con la inducción de los inhibidores del ciclo celular p21 y p27 (21, 22).

La mayoría de los tipos de células que están presentes en el nicho perivascular probablemente influyen en el fenotipo de las células tumorales diseminadas, pero las células endoteliales son de especial interés en este proceso, especialmente en lo que se refiere a la terapia anti-angiogénica, que veremos más adelante.

El endotelio juega un papel esencial en la regeneración de tejidos y mantenimiento de la homeostasis (23, 24). Las células endoteliales y las células madre evolucionan de la mano: el endotelio en reposo secreta proteínas que inducen la inactividad de las células madre, y el endotelio activado (en respuesta al daño tisular y la inflamación) secreta factores implicados en las células madre y expansión de células progenitoras. Por tanto, se pueden encontrar células madre cercanas al endotelio y estas células endoteliales estarán involucradas en la supervivencia, la latencia y la reactivación de células tumorales diseminadas (24).

En un estudio, las imágenes intravitales en el cerebro revelaron que las células tumorales diseminadas de cáncer de pulmón y melanoma migran lejos del endotelio después del retroceso de extravasación; esto sugiere que las células endoteliales apoyan la supervivencia de las células tumorales diseminadas (25).

Otros ensayos demostraron que las células tumorales pueden persistir en estado de reposo a pesar de la presencia de vasos sanguíneos que les proporcione los nutrientes y oxígeno necesarios (25).

También en el pulmón y médula ósea, el endotelio regula la latencia de las células tumorales diseminadas. Los vasos sanguíneos homeostáticos maduros secretan una serie de factores, incluida la TSP-1, que mantienen las células tumorales diseminadas en un estado inactivo. De forma inversa, se demostró que el TFG- β 1 y la periostina secretada por los nuevos vasos despiertan las células tumorales e inducen su proliferación (26).

Apoyando la necesidad de que las células tumorales diseminadas residan cerca de los vasos sanguíneos para permanecer latentes, se han implicado en la latencia de las células madre cancerosas factores como la vía de comunicación célula-célula Notch, o varias proteínas relacionadas con la matriz extracelular (7).

La vía de señalización Notch juega un papel muy importante en procesos de diferenciación celular, la angiogénesis o la proliferación entre otros. Además se ha relacionado con la aparición y progresión de patologías como el cáncer (27). En mamíferos se han identificado dos clases de ligandos homólogos de Delta y Serrate, denominados “Delta-like” y Jagged, respectivamente. En total se conocen cinco ligandos en mamíferos denominados Jagged1 y 2, y Delta like 1,3, y 4 (D11, D13 y D14) (27).

Los ligandos Notch tienen efectos opuestos sobre la quiescencia. En el cerebro, las células endoteliales que expresan D14 y Jagged1 contribuyen al crecimiento de glioblastoma y a la renovación de las células madre cancerosas (28). Sin embargo, la señalización de Notch también puede mantener la latencia, como en algunos subtipos de tumores cerebrales, como los astrocitomas.

Los componentes de la matriz extracelular y las proteínas relacionadas también regulan la latencia y el crecimiento. Por ejemplo, se sabe que la laminina α 2 que se origina en el endotelio induce el crecimiento de células madre de glioblastoma. La proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina derivada de células endoteliales (IGFBP)-7 inhibe la expansión de las células madre cancerosas al reprimir la señalización del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF1R)-1, un mecanismo revertido durante la quimioterapia, lo que lleva a una mejor progresión (29).

Las células tumorales diseminadas inactivas que se encuentran protegidas por el nicho perivascular, son resistentes a la quimioterapia convencional. Identificar medicamentos que pueden mantener estas células tumorales diseminadas en un estado latente, o mejor aún, medicamentos capaces de erradicarlas definitivamente sin quimioterapia, evitaría las recurrencias a largo plazo en pacientes con cáncer (21).

5.2.3.-Interruptor angiogénico

El cambio angiogénico es la alteración del equilibrio entre los factores anti-angiogénicos y pro-angiogénicos a favor de estos últimos, de manera que promueven la formación de nuevos vasos sanguíneos y el escape de la latencia tumoral. Durante este proceso, las células cancerosas inactivas parecen someterse a una reprogramación genética que da lugar al progreso del fenotipo no angiogénico a angiogénico, con la formación de nuevos vasos sanguíneos.

Un concepto importante es que esa capacidad angiogénica es necesaria durante mucho tiempo antes de que surja una neoplasia maligna invasiva. (10,30).

El momento del cambio angiogénico puede ocurrir antes, durante o después de la progresión del tumor.

En tumores humanos se han distinguido subpoblaciones de células cancerosas con diferente potencial angiogénico. En un liposarcoma humano se han observado tres patrones diferentes de clones: clones altamente angiogénicos, con rápido crecimiento tumoral; clones débilmente angiogénicos con crecimiento tumoral lento; y clones no angiogénicos que se corresponden con tumores vitales pero latentes. (4, 31)

La hipoxia en la proliferación de células cancerosas parece ser fundamental para la transición del fenotipo tumoral no angiogénico al angiogénico, con el posterior crecimiento tumoral. Se reclutan factores pro-angiogénicos como VEGF, y óxido nítrico sintasa, que interviene en la vasodilatación inicial. (32,33)

El cambio angiogénico se asoció además con una disminución de la regulación de TSP-1. Cuando se compararon los niveles de TSP-1 en células tumorales angiogénicas y no angiogénicas aisladas de la línea celular de cáncer de mama humano MDA-MB-436, la secreción de TSP-1 por las células tumorales no angiogénicas era 20 veces mayor que la de células angiogénicas. La disminución en los niveles de TSP parece estar mediada por fosfatidilinositol 3-quinasa. (34,35).

Otros factores son también indicativos de proliferación de las células tumorales diseminadas, como la fibronectina, la periostina, TGF- β 1 y ERK fosforilado (P-ERK).

Como resultado, las células tumorales entran en proliferación y causan metástasis (3).

Los traumas locales, las lesiones, heridas, quemaduras y cirugía también pueden favorecer el crecimiento del tumor. No inducen la aparición de células malignas, pero promueven el escape de la latencia tumoral. Una inflamación, la capacidad de atraer células tumorales circulantes o de movilizar precursores endoteliales circulantes (que promueven la formación de nuevos vasos sanguíneos), con un aumento en los niveles plasmáticos de VEGF podría ser la causa de la salida del estado latente (36).

5.2.3.-Cooptación de vasos sanguíneos en cáncer

Es un proceso no angiogénico, por el cual los tumores secuestran los vasos sanguíneos preexistentes del tejido no maligno que colonizan. Las células cancerosas migran a lo largo de la superficie de los vasos preexistentes, y esto finalmente conduce a la incorporación de esos

vasos en el tumor. Así, los tumores cooptan los vasos del huésped para satisfacer sus necesidades metabólicas sin tener que estimular el crecimiento de nuevos vasos (37,38).

Es un mecanismo que con frecuencia se pasa por alto y que puede influir en la progresión de la enfermedad, metástasis y en la respuesta al tratamiento. Podría ser central para facilitar la motilidad de las células cancerosas, su supervivencia, y la latencia tumoral.

Tumores ubicados en muchos sitios anatómicos pueden explotar la cooptación de los vasos. Por ejemplo, se ha observado en muestras histopatológicas de pulmón, hígado, cerebro, ganglios linfáticos y otros tejidos, y a veces sin ninguna evidencia de angiogénesis.

5.3.-Terapia anti-angiogénica

Durante muchas décadas, la quimioterapia ha sido el tratamiento estándar del cáncer. Muchos fármacos quimioterápicos presentan un amplio perfil de toxicidad y aparecen resistencias al tratamiento.

La terapia anti-angiogénica surgió como una alternativa a las terapias convencionales. En lugar de bloquear el crecimiento de las mismas células tumorales, está dirigida a combatir el tumor bloqueando el crecimiento de los vasos sanguíneos.

Con los primeros estudios y logros, se pensó que la terapia anti-angiogénica sería capaz de mantener la latencia del tumor indefinidamente (7). Al ir dirigida a la formación de nuevos vasos sanguíneos, se esperaba que los agentes anti-angiogénicos impidieran el crecimiento de cualquier tipo de tumor primario o metastásico, independientemente de su subtipo.

Sin embargo, más de 20 años después del primer ensayo preclínico anti-angiogénico, y después de conseguir la inhibición del crecimiento metastásico en modelos de ratones, el efecto de la terapia anti-angiogénica en pacientes con cáncer es limitado. De hecho, mientras que los agentes anti-angiogénicos (a veces) prolongan la supervivencia libre de progresión, no afectan a la supervivencia general, en concreto en el cáncer de mama (7).

5.3.1.-Fármacos empleados y efectos en metástasis

Los inhibidores de la angiogénesis pueden actuar en diferentes niveles del crecimiento de los vasos sanguíneos. Algunos son anticuerpos monoclonales que reconocen específicamente el VEGF y se adhieren a él, de forma que al unirse a su receptor no se puede activar. Otros se unen al receptor de VEGF o a otros receptores en la superficie de las células endoteliales, o a proteínas en las vías de señalización descendentes y bloquean sus actividades. Algunos inhibidores de la angiogénesis son fármacos inmunomoduladores que también tienen propiedades anti-angiogénicas (39).

En 1989 se purificó el principal regulador de la angiogénesis, VEGF, y esto dio lugar al desarrollo de una gran variedad de terapias anti-angiogénicas. El primer fármaco anti-angiogénico, un anticuerpo neutralizante dirigido a VEGF-A llamado bevacizumab, fue aprobado para el tratamiento del glioblastoma recurrente; y en combinación con quimioterapia en cáncer colorrectal metastásico, carcinoma de pulmón de células no pequeñas y cáncer de células renales metastásico (7).

En el ensayo E2100, se demostró que aumentaba la supervivencia sin progresión de pacientes con cáncer de mama metastásico, de modo que la FDA (Food and Drug Administration) lo aprobó aceleradamente en combinación con paclitaxel, para este cáncer (40). Sin embargo, en los ensayos siguientes RIBBON-1 y AVADO, no hubo una supervivencia general prolongada

de los pacientes, además de un efecto más moderado sobre la supervivencia libre de progresión. Esto hizo que se retirara dos años después en Estados Unidos (40).

Además la resistencia a bevacizumab se inicia rápidamente, en parte por el exceso de las moléculas angiogénicas. Para compensar la activación de vías de señalización pro-angiogénicas alternativas, se desarrollaron inhibidores de tirosina quinasa con un amplio rango de inhibición, como por ejemplo sunitinib aprobado para el carcinoma de células renales y tumores neuroendocrinos pancreáticos, o sorafenib, utilizado en cánceres hepatocelulares y renales.

Sin embargo, estos fármacos en cáncer de mama resultaron también un fracaso; aunque muchas otras estrategias anti-angiogénicas se están estudiando actualmente (41).

Cuando se establecen los nuevos vasos sanguíneos en sitios distantes, es lo que permite finalmente el crecimiento metastásico. Se esperaba que el uso de la terapia anti-angiogénica antes de la resección del tumor primario, en terapia neoadyuvante, matara de hambre al tumor de forma que se contraería, disminuyendo su tamaño para la operación quirúrgica. Al disminuir el número de vasos sanguíneos intratumorales, podríamos imaginar que quedaría limitada la entrada de células tumorales al torrente sanguíneo, con lo que se evitaría la diseminación del cáncer.

En terapias adyuvantes, después de la resección del tumor primario, los anti-angiogénicos tenían como objetivo mantener las células cancerosas diseminadas y las metástasis latentes al impedir el reclutamiento de nuevos vasos sanguíneos. Pero por desgracia, la realidad clínica no cubrió las expectativas. Los efectos son limitados y algunos tipos de tumores, como por ejemplo el cáncer de mama, son particularmente resistentes a la inhibición de la angiogénesis (7).

En varios estudios sí ha habido una reducción significativa del crecimiento del tumor primario, invasión y metástasis después de aplicar la terapia anti-angiogénica (42). Sin embargo en otros, se vio una mayor migración de células tumorales y metástasis avanzada. Por ejemplo, Ebos y sus colaboradores observaron que a pesar de los beneficios sobre los tumores primarios, el tratamiento con sunitinib neoadyuvante a corto plazo fomenta el desarrollo de metástasis (43). De forma que hay una falta de correlación entre la respuesta de los tumores primarios y las lesiones metastásicas a la terapia anti-angiogénica. Estos estudios explican el intento fallido de llevar los anti-angiogénicos de laboratorios, probados esencialmente contra tumores primarios, a la clínica, donde se utilizan principalmente en pacientes con metástasis.

Aunque algunos agentes anti-angiogénicos fomentaron el crecimiento metastásico, hay también tratamientos anti-angiogénicos “leves”, como B-20 (un anticuerpo dirigido al VEGF), que no aumentó las metástasis en modelos de cáncer de mama y melanoma (44).

Otros estudios demostraron que el aumento de la carga metastásica producido por la terapia anti-angiogénica, puede revertirse combinando los anti-angiogénicos con quimioterapia, como paclitaxel o ciclofosfamida. Los datos de los últimos años sugieren que el mecanismo molecular que lleva a un aumento de la diseminación metastásica después de la terapia anti-angiogénica sea el daño al endotelio, ya que es lo que hacen principalmente estos agentes, y afecta prácticamente a cada paso de la cascada metastásica (7).

La inhibición de la angiogénesis, lo primero que produce en el tumor es su contracción. Después la hipoxia conduce rápidamente a una revascularización del tumor a través de una señalización pro-angiogénica alternativa, mediante vías activadas por las propias células tumorales, o el reclutamiento de células derivadas de la médula ósea. Las células tumorales, cuando es necesario, adaptan su metabolismo para sobrevivir en un entorno sin oxígeno. Las células tumorales pueden ganar capacidad invasiva, lo que les permite escapar del área hipóxica y sin nutrientes (7) (Fig 4 a-b). La hipoxia inducida por la terapia anti-angiogénica se ha asociado

con una mayor invasividad del tumor primario, particularmente en modelos de insulinooma y glioblastoma.

La hipoxia es un indicador de mal pronóstico en pacientes con cáncer. Por tanto, al fomentar la hipoxia y un fenotipo invasivo, el tratamiento anti-angiogénico podría aumentar el potencial de la potencia del tumor.

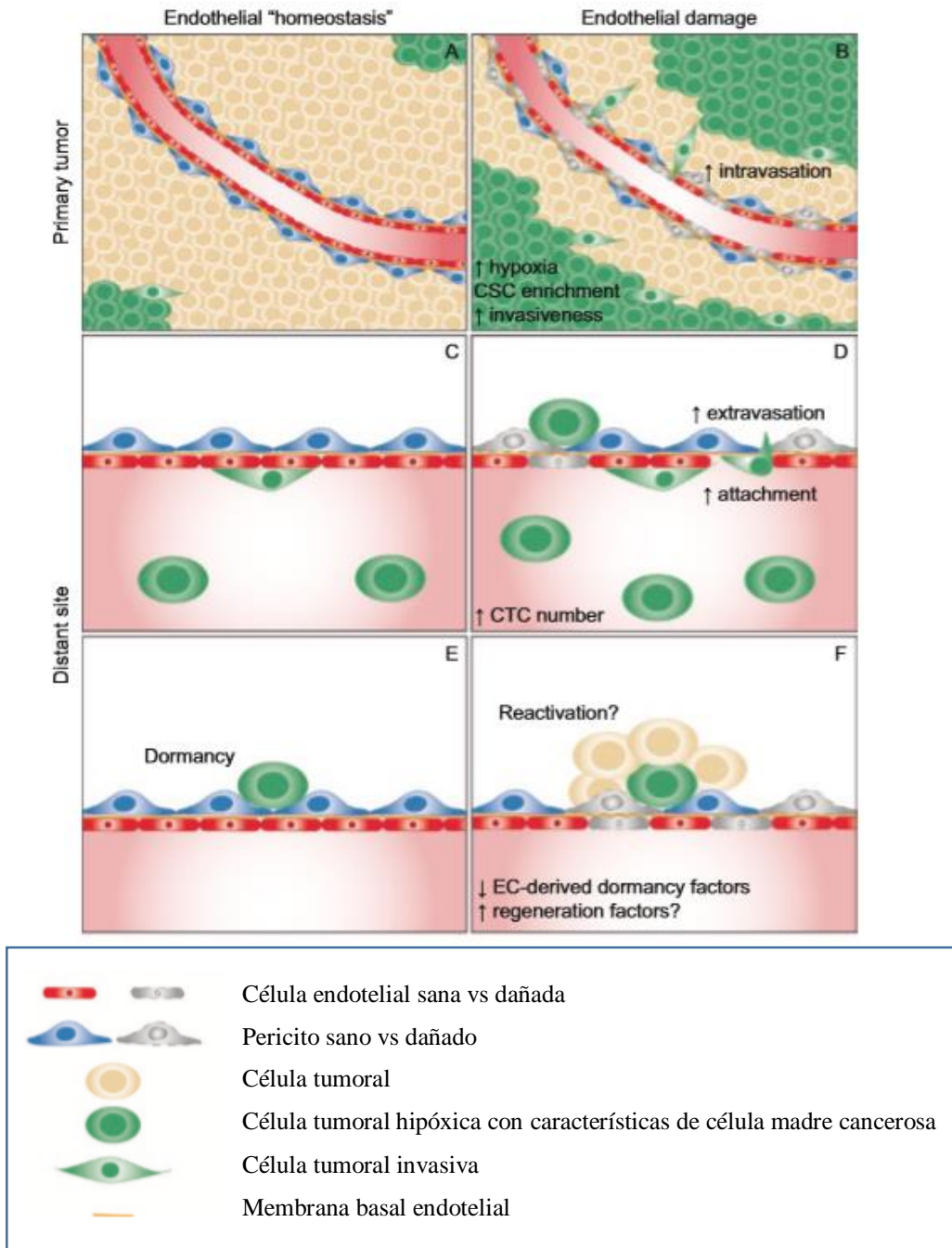


Fig 4. Efectos del daño endotelial en la progresión metastásica. La terapia anti-angiogénica induce la apoptosis de células endoteliales y pericitos, y esto lleva a un aumento de la hipoxia en tumores primarios (a-b). Esto hace que las células tumorales adquieran un fenotipo invasivo y acceden a la circulación. Como consecuencia, un mayor número de células tumorales circulantes llega a sitios metastásicos, donde la membrana basal facilita su unión y

extravasación (c-d). Finalmente, se plantea la hipótesis de que el endotelio dañado en órganos distantes está asociado con una pérdida de factores de latencia derivados de células endoteliales y una mayor secreción de citosinas inflamatorias y factores de crecimiento que intervienen en la regeneración, lo que podría reactivar la proliferación de células cancerosas diseminadas (e-f) (Imagen modificada del libro *Biological Mechanisms of Minimal Residual Disease and Systemic Cancer* (7)).

Los factores angiogénicos no solo son esenciales para la supervivencia de las células endoteliales, sino que las células tumorales y más particularmente las células madre cancerosas, también dependen de ellos para sobrevivir y proliferar. Probablemente el ejemplo más representativo es la implicación de VEGF-A en el mantenimiento de las células madre cancerosas. Beck y sus colaboradores demostraron, usando un modelo químico de papilomas de la piel, que VEGF-A juega un doble papel en la iniciación del tumor. Al unirse al VEGFR-2 endotelial, el VEGF-A contribuye a la formación del nicho vascular en el que residen las células madre cancerosas. Además, se identificó un bucle VEGF-neuropilina1, que apoya directamente el potencial de renovación de las células madre cancerosas (43).

El hecho de que VEGF regule el mantenimiento de células madre cancerosas a través de neuropilinas en lugar de a través de VEGFR sugiere que atacar VEGF-A con bevacizumab podría ser más eficiente que el uso de inhibidores de tirosina quinasa. Por lo tanto, la combinación de inhibidores extracelulares de VEGF/VEGFR con inhibidores de quinasa de adhesión focal (FAK) o péptidos dirigidos a neuropilina, podría resultar más eficiente en la eliminación de células tumorales diseminadas, si la combinación no fuera demasiado tóxica (45).

Tomando como ejemplo el cáncer de mama, los factores que secretan las células endoteliales promueven la latencia de las células tumorales de mama mientras se mantenga la homeostasis endotelial. Entonces, ¿Si interrumpimos esa homeostasis vascular con inhibidores de la angiogénesis, se podrían reactivar las células tumorales diseminadas latentes?

En un modelo de latencia de tumor mamario de ratón, la expresión de VCAM-1 (molécula de adhesión vascular, un marcador de daño endotelial que se expresa en aterosclerosis y enfermedades inflamatorias), indujo el reclutamiento de progenitores de osteoclastos, que activaron micrometástasis indolentes ubicadas en la médula ósea y dieron como resultado una recurrencia temprana del cáncer de mama, lo que sugiere que el endotelio dañado también podría reclutar progenitores de osteoclastos e inducir células tumorales diseminadas re-emergentes.

Además, se ha demostrado que la inflamación en general y en particular una citosina inflamatoria, CXCL-12, promueven la reactivación de células tumorales diseminadas, por lo que no sería sorprendente observar el crecimiento de células tumorales diseminadas después del tratamiento anti-angiogénico (46).

Finalmente, podríamos pensar que la apoptosis de las células endoteliales después de la terapia anti-angiogénica llevaría a una disminución de la expresión de los reguladores de la latencia derivados de las células endoteliales, como la TSP-1 (Fig.4 e-f). Sin embargo, las células endoteliales no solo inducen la latencia de las células tumorales diseminadas, sino que también promueven su supervivencia; y se desconoce cuál de estos efectos estaría más afectado por los anti-angiogénicos.

5.3.2. Mecanismos de resistencia a la terapia

Folkman propuso que el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos es necesario para la progresión de tumores sólidos más allá de unos pocos mm^3 , y que el bloqueo de esa angiogénesis en tumores podría ser un medio eficaz para mantener o inducir la latencia. Son dos las premisas de esta hipótesis: que los cánceres dependen del oxígeno y nutrientes suministrados por el sistema circulatorio, y que la formación de nuevas ramas de vasos es el único medio para acceder a este torrente circulatorio cuando se exceden los límites de difusión de oxígeno. Los logros científicos de los años siguientes llevaron a la emoción sobre el potencial de atacar la angiogénesis en el cáncer.

Sin embargo, las terapias anti-angiogénicas han demostrado una relativa eficacia en los pacientes, y con la atención puesta en este tema durante años, no se tuvo en cuenta otros mecanismos de vascularización alternativos, como es la cooptación de vasos sanguíneos (37). La resistencia a las terapias anti-angiogénicas puede ser intrínseca, desde el inicio de la terapia, o adquirida, después de una respuesta inicial a la terapia.

En la década de 1990, Pezzela *et al.* señalaron que algunos tumores de pulmón cooptan vasos preexistentes en lugar de inducir la angiogénesis y que esto podría ser una barrera para la eficacia de los agentes anti-angiogénicos en los pacientes. Sin embargo, muchos agentes anti-angiogénicos finalmente entraron en uso clínico. Pero con respecto a la premisa original de que la angiogénesis sostenida es un requisito previo para la progresión del tumor, las grandes esperanzas de la eficacia terapéutica de los agentes anti-angiogénicos no se han cumplido por completo (36). Una creciente cantidad de literatura vincula la cooptación de los vasos con la resistencia a los agentes anti-angiogénicos en varios tipos de cáncer.

Este mecanismo de las células cancerosas que infiltran otros tejidos normales para explotar vasos normales pre-existentes, sugiere que las células cancerosas pueden reorientar su programa de proliferación, según el entorno o la terapia que se administre. Por lo tanto, el desarrollo del tumor y la metástasis pueden escapar de la latencia tanto de una forma angiogénica como no angiogénica, y esto explica el fracaso de la terapia anti-angiogénica al tratar estos tumores (10). La confirmación de que los tumores pueden adquirir una vasculatura por cooptación de vasos, es hasta ahora una oportunidad completamente desaprovechada para el tratamiento del cáncer.

En pacientes con cáncer de colon, la mitad de las lesiones hepáticas en pacientes no tratados son angiogénicas, mientras que la otra mitad invade el microambiente y coopta los vasos sanguíneos cercanos (7). El 80% de las lesiones que aparecen después del tratamiento con quimioterapia con bevacizumab no son angiogénicas (7), y esto sugiere que las células tumorales diseminadas o micrometástasis latentes pueden reanudar su crecimiento sin neo-angiogénesis, y que esto es un mecanismo por el cual esas células tumorales diseminadas superan la terapia anti-angiogénica.

Por tanto, los pacientes con metástasis cooptadas no se benefician de la anti-angiogénesis y tienen una supervivencia global que equivale a la de los pacientes que son tratados solo con quimioterapia.

La mayoría de los inhibidores de la angiogénesis que se utilizan actualmente en clínica actúan inhibiendo la vía de señalización de VEGF. Sin embargo, no todos los tumores dependen de la angiogénesis inducida por VEGF para su crecimiento, por lo que se da una resistencia anti-angiogénica intrínseca.

Por ejemplo, los anticuerpos dirigidos a la angiopoyetina superaron la resistencia intrínseca a la inhibición del VEGF en el tratamiento adyuvante de los carcinomas de mama y pulmón

postquirúrgicos (47). Combinando anticuerpos anti-VEGF y antiangiopoyetina-2 con dosis bajas de gemcitabina metronómica, se mantuvieron las células tumorales diseminadas de pulmón en un estado micrometastásico avascular (47).

Se está evaluando actualmente la eficacia de una angiopoyetina-2-VEGF-A CrossMab bioespecífica en cánceres de mama sólidos metastásicos (7). En modelos de ratón, la angiopoyetina-2-VEGF-A CrossMab redujo significativamente el número de células tumorales circulantes y el número de focos pulmonares. En tratamientos posquirúrgicos, este CrossMab también inhibió el crecimiento metastásico, lo que sugiere que atacando al mismo tiempo VEGF y la angiopoyetina-2 da como resultado una disminución del desprendimiento de células tumorales, pero también una disminución de la carga metastásica pulmonar (7).

En algunos tipos de cáncer, los agentes anti-angiogénicos basados en anticuerpos (como bevacizumab) deben combinarse con quimioterapia para ser clínicamente eficaces, por razones que todavía no están claras. Una posibilidad es que la inhibición de la señalización de VEGF mejore la administración de quimioterapia al normalizar la vasculatura del tumor. Otra posibilidad es que algunas quimioterapias puedan suprimir la cooptación de los vasos, ya sea inhibiendo la motilidad de las células cancerosas o matando directamente los vasos cooptados (37).

6.-Conclusiones

- El crecimiento y progresión del tumor están fuertemente asociados a su capacidad para inducir angiogénesis. Una pobre vascularización impedirá la expansión del tumor.
 - ✓ Factores anti-angiogénicos como las trombospondinas favorecen la inducción de la latencia tumoral y podrían prevenir el desarrollo de metástasis.
 - ✓ Factores pro-angiogénicos como VEGF promueven el escape de la latencia tumoral y favorecen la formación de metástasis.
- El endotelio también regula la latencia a través de la vía de señalización Notch y componentes de la matriz extracelular.
- Los fármacos anti-angiogénicos como bevacizumab mejoran significativamente la supervivencia libre de progresión, aunque sin ventajas en la supervivencia general.
- El fracaso de los fármacos anti-angiogénicos se debe a:
 - ✓ El daño que producen sobre el endotelio, que junto a la inflamación mediada en particular por CXCL-12, lleva a un crecimiento de las células tumorales diseminadas, y puede conducir a un aumento de la invasividad del tumor.
 - ✓ La mayoría de estos fármacos están dirigidos a la vía de señalización de VEGF, pero la angiogénesis puede ser independiente de VEGF.
 - ✓ Existen otros mecanismos de vascularización tumoral, como la cooptación de vasos sanguíneos, que puede ayudar a la progresión y metástasis de tumores.

7.-Bibliografía

1. Puente J, de Velasco G. ¿Qué es el cáncer y cómo se desarrolla? Sociedad Española de Oncología Médica [Internet] 2019. Disponible en: <https://seom.org/informacion-sobre-el-cancer/que-es-el-cancer-y-como-se-desarrolla?showall=1>
2. Asociación Española contra el Cáncer (aecc). Todo sobre el cáncer [Internet] 2019. Disponible en: <https://www.aecc.es/es/todo-sobre-cancer>
3. Sosa M.S, Bragado P, Aguirre-Ghiso J.A. Mechanisms of disseminated cancer cell dormancy: an awakening field. *Nature Reviews*. 2014;14:611-622
4. Gomis R, Gawrzak S. Tumor cell dormancy. *Molecular oncology*. 2017;11:62-78 Available from: doi:10.1016/j.molonc.2016.09.009
5. Hensel J.A, Flaig T.W, Theodorescu D. Clinical opportunities and challenges in targeting tumor dormancy. *Nature Reviews*. 2013;10, 41-51
6. Li J, Jiang E, Wang X, Shanguan A. J, Zhang L, Yu Z. Dormant cells: the original cause of tumour recurrence and metastasis. *Cell Biochem Biophys*. 2015;72:317-320
7. Carlini M.J, Shrivastava N, Sosa M.S. Epigenetic and pluripotency aspects of disseminated cancer cells during minimal residual disease. *Biological Mechanisms of Minimal Residual Disease and Systemic Cancer*. 2018;10-45
8. Sosa MS *et al*. NR2F1 controls tumour cell dormancy via SOX9- and RARbeta-driven quiescence programmes. *Nat Commun*. 2015;6:6170. <https://doi.org/10.1038/ncomms7170>
9. Bragado P *et al*. TGF-beta2 dictates disseminated tumour cell fate in target organs through TGFbeta-RIII and p38alpha/beta signalling. *Nat Cell Biol*. 2013;15:1351–1361. <https://doi.org/10.1038/ncb2861>
10. Natalea G, Bocci G. Does metronomic chemotherapy induce tumor angiogenic dormancy? A review of available preclinical and clinical data. *Cancer Letters*. 2018;432: 28-37
11. Chery L *et al*. Characterization of single disseminated prostate cancer cells reveals tumor cell heterogeneity and identifies dormancy associated pathways. *Oncotarget*. 2014;5:9939–9951
12. Schardt JA *et al*. Genomic analysis of single cytokeratin-positive cells from bone marrow reveals early mutational events in breast cancer. *Cancer Cell*. 2005;8:227–239
13. Sosa MS. Dormancy programs as emerging antimetastasis therapeutic alternatives. *Mol Cell Oncol*. 2016;3:e1029062. <https://doi.org/10.1080/23723556.2015.1029062>
14. Hsi-Lung H, Ming-Ming T. Tumor progression-dependent angiogenesis in gastric cancer and its potential application. *World J Gastrointest Oncol*. 2019;11(9):686-704
15. López-Muñiz A, Gutiérrez J.C, García-Fernández C, Herrero A. Valor pronóstico de los marcadores tumorales de proliferación celular y angiogenesis en los oligodendrogliomas. *Oncología (Barc.) [Internet]* 2014. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-48352004000500003#back10
16. Angiogenesis. National Cancer Institute [Internet]. Disponible en: https://cisncancer.org/research/what_we_know/advances/angiogenesis.html
17. Shaked Y, McAllister S, Fainaru O, Almog N. Tumor dormancy and the angiogenic switch: possible implications of bone-marrow derived cells, *Curr. Pharmaceut. Des*. 2014;20:4920-4933
18. Rao N, Lee Y.F, Ge R. Novel endogenous angiogenesis inhibitors and their therapeutic potential. *Acta Pharmacol. Sin*. 2015;36:1177-1190
19. Almog N *et al*. Prolonged dormancy of human liposarcoma is associated with impaired tumor angiogenesis. *FASSEB J.: Official Publ. Feder. Am. Societies Exp. Biol*. 2006; 20: 947-949

20. Aguirre-Ghiso JA, Estrada Y, Liu D, Ossowski L. ERK(MAPK) activity as a determinant of tumor growth and dormancy; regulation by p38(SAPK). *Cancer Res.* 2003;63(7):1684–1695
21. Ghajar CM. Metastasis prevention by targeting the dormant niche. *Nat Rev Cancer.* 2015;15(4):238–247
22. Kobayashi A, Okuda H, Xing F, Pandey PR, Watabe M, Hirota S, Pai SK, Liu W, Fukuda K, Chambers C, Wilber A, Watabe K. Bone morphogenetic protein 7 in dormancy and metastasis of prostate cancer stem-like cells in bone. *J Exp Med.* 2011;208(13):2641–2655
23. Ding BS, Nolan DJ, Butler JM, James D, Babazadeh AO, Rosenwarks Z, Mittal V. Inductive angiocrine signals from sinusoidal endothelium are required for liver regeneration. *Nature.* 2010;310-315
24. Ding BS, Nolan DJ, Butler JM, James D, Babazadeh AO, Rosenwarks Z, Crystal RG, Simons M, Sato TN, Worgall S, Shido K, Rabbany SY, Rafii S. Endothelial-derived angiocrine signals induce and sustain regenerative lung alveolarization. *Cell.* 2011;3:539-533
25. Kienast Y, von Baumgarten L, Fuhrmann M, Klinkert WE, Goldbrunner R, Herms J, Winkler F. Real-time imaging reveals the single steps of brain metastasis formation. *Nat Med.* 2010;16(1):116–122
26. Ghajar CM, Peinado H, Mori H, Matei IR, Evason KJ, Brazier H, Almeida D, Koller A, Hajjar KA, Stainier DY, Chen EI, Lyden D, Bissell MJ. The perivascular niche regulates breast tumour dormancy. *Nat Cell Biol.* 2013;15(7):807–817
27. Noel TL. The Notch signaling pathway at the origin of some congenital malformations. 2018;44(3)
28. Zhu TS, Costello MA, Talsma CE, Flack CG, Crowley JG, Hamm LL, He X, Hervey-Jumper SL, Heth JA, Muraszko KM, DiMeco F, Vescovi AL, Fan X. Endothelial cells create a stem cell niche in glioblastoma by providing NOTCH ligands that nurture self-renewal of cancer stem-like cells. *Cancer Res.* 2011;71(18):6061–6072
29. Cao Z, Scandura JM, Inghirami GG, Shido K, Ding BS, Rafii S. Molecular checkpoint decisions made by subverted vascular niche transform indolent tumor cells into chemoresistant cancer stem cells. *Cancer Cell.* 2017;31(1):110–126.
30. Bertolini F, Mancuso P, Braidotti P, Shaked Y, Kerbel R.S. The multiple personality disorder phenotype(s) of circulating endothelial cancer. *Biochim Biophys.* 2009;27-32
31. Naumov G.N, Akslen L.A, Folkman J. Role of angiogenesis in human tumor dormancy: animal models of the angiogenic switch. *Cell cycle.* 2006;5:1779-1787
32. Moserle L, Amadori A, Indraccolo S. The angiogenic switch: implications in the regulation of tumor dormancy. *Curr Mol Med.* 2009;9:935-941
33. Naumov G.N, Folkman J, Straume O. Tumor dormancy due to failure of angiogenesis: role of the microenvironment. *Clin Exp Metastasis.* 2009;26:51-60
34. Naumov G.N, Bender G, Zurakowski D, Kang S.Y, Sampson D, Flynn E, Watnick R.S, Straume O, Akslen L.A, Folkman J, Almog N. A model of human tumor dormancy: an angiogenic switch from the nonangiogenic phenotype, *J. Natl. Cancer Inst.* 2006;98:316–325
35. Almog N, Ma L, Raychowdhury R, Schwager C, Erber R, Short S, Hlatky L, Vajkoczy P, Huber P.E, Folkman J, Abdollahi A. Transcriptional switch of dormant tumors to fast-growing angiogenic phenotype. *Canc. Res.* 2009;69:836–844
36. Favaro E, Amadori A, Indraccolo S. Cellular interactions in the vascular niche: implications in the regulation of tumor dormancy. *APMIS.* 2008;116:648–659

37. Kuczynski E.A, Vermeulen PV, Pezella F, Kerbel RS, Reynolds AR. Vessel co-option in cáncer. *Nature Reviews*. 2019;16,469-493
38. Vasudev N.S, Reynolds A.R. Anti-angiogenic therapy for cancer: current progress, unresolved questions and future directions. *Angiogenesis*. 2014;17: 471–494
39. Instituto Nacional del Cáncer. Inhibidores de la angiogénesis [Internet]. 2018. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos/inmunoterapia/hoja-informativa-inhibidores-angiogenesis>
40. Pivot X, Schneeweiss A, Verma S, Thomssen C, Passos-Coelho JL, Benedetti G, Ciruelos E, von Moos R, Chang HT, Duenne AA, Miles DW. Efficacy and safety of bevacizumab in combination with docetaxel for the first-line treatment of elderly patients with locally recurrent or metastatic breast cancer: results from AVADO. *Eur J Cancer*. 2011;47(16):2387–2395
41. Llovet JM *et al*. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*. 2018;359(4):378–390
42. Christensen JG. A preclinical review of sunitinib, a multitargeted receptor tyrosine kinase inhibitor with anti-angiogenic and antitumour activities. *Ann Oncol*. 2007;18(Suppl 10):x3–10
43. Ebos JM, Lee CR, Cruz-Munoz W, Bjarnason GA, Christensen JG, Kerbel RS. Accelerated metastasis after short-term treatment with a potent inhibitor of tumor angiogenesis. *Cancer Cell*. 2009;15(3):232–239
44. Chung AS, Kowanetz M, Wu X, Zhuang G, Ngu H, Finkle D, Komuves L, Peale F, Ferrara N. Differential drug class-specific metastatic effects following treatment with a panel of angiogenesis inhibitors. 2012;227(4):404–416
45. Beck B, Driessens G, Goossens S, Youssef KK, Kuchnio A, Caauwe A, Sotiropoulou PA, Loges S, Lapouge G, Candi A, Mascre G, Drogat B, Dekoninck S, Haigh JJ, Carmeliet P, Blanpain C. A vascular niche and a VEGF-Nrp1 loop regulate the initiation and stemness of skin tumours. *Nature*. 2011;478(7369):399–403
46. De Cock JM, Shibue T, Dongre A, Keckesova Z, Reinhardt F, Weinberg RA. Inflammation triggers Zeb1-dependent escape from tumor latency. *Cancer Res*. 2016;76(23):6778–6784
47. Srivastava K, Hu J, Korn C, Savant S, Teichert M, Kapel SS, Jugold M, Besemfelder E, Thomas M, Pasparakis M, Augustin HG. Postsurgical adjuvant tumor therapy by combining anti-angiopoietin-2 and metronomic chemotherapy limits metastatic growth. *Cancer Cell*. 2014;26(6):880–895