



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
IMPORTANCIA CLÍNICA DE LAS CÉLULAS
TUMORALES CIRCULANTES (CTCs) EN EL
PROCESO METASTÁSICO

Autor: Marta Lucas Fernández

Tutor: Dra. María del Carmen de Juan Chocano

Convocatoria: Junio 2018

INDICE

Resumen	3
1.Introducción	4
1.1 Fases del proceso metastásico	4
1.2 Estudio del microambiente tumoral.....	10
2. Objetivos.....	11
3. Metodología.....	11
4. Resultados y discusión.....	12
4.1 Relevancia clínica de las CTCs	14
4.2 Características biológicas y moleculares de las CTCs.....	15
4.3 CTCs en el cáncer de mama	17
5. Conclusión.....	19
6. Bibliografía.....	20

RESUMEN

La metástasis es un proceso complejo comprendido por diferentes etapas y en el que tiene lugar la diseminación de células cancerígenas desde su lugar de origen hasta un órgano distante. Además este proceso está determinado por la interacción entre las células tumorales y su microambiente metastásico. Una vez que se ha producido la extravasación a la circulación de las células del tumor primario, estas células se conocen como células tumorales circulantes (CTCs), y son estas quienes son consideradas los intermediarios del proceso metastásico. Estas células se encuentran en poca cantidad en la sangre y solo un bajo porcentaje de ellas será capaz de desarrollar metástasis. Los nuevos avances tecnológicos han permitido un mayor conocimiento de estas células sabiendo así que son células cuyo genotipo y fenotipo presentan gran heterogeneidad y que esto puede ser una de las causas de los fallos de los tratamientos ante la metástasis. Por ello, mejoras en la detección y caracterización de CTCs supondrán un avance para facilitar el diagnóstico precoz de las metástasis y para lograr decisiones de tratamiento apropiadas.

Palabras clave: CTCs, metástasis, microambiente, TEM, cáncer.

ABSTRACT

Metastasis is a complex process of different stages, in which the carcinogenic cells dissemination takes place from its roots to the diseased organs. Furthermore, this process is determined by the interaction of both the tumorous cells and its metastatic microenvironment. Once the primary cancer cells' extravasation to the blood circulation has taken place, these cells turn to be approached as "circulating tumorous cells" and become intermediaries in the metastatic process. The amount of these cells within the blood is very little and only a very few percentage of them will be able to develop metastasis. Recent technological advances have provided a bigger insight about these cells. It is thanks to these advances that researchers have come to the conclusion that cells, whose genotype and phenotype show high rates of heterogeneity, might be one of the reasons why some treatments to prevent metastasis end up failing. Thus, improvements in both the detection and characterization of CTCs would involve a major advance in early diagnosis of the metastasis as well as the achievement of optimal treatment decisions.

Key words: CTCs, metástasis, microenvironment, EMT, cancer.

I.INTRODUCCIÓN

La metástasis se define como "el proceso de diseminación de células cancerosas desde su lugar de origen hasta un órgano distante"¹. Cada uno de los pasos necesarios para que se produzca la metástasis, desde la aparición de las células tumorales hasta su crecimiento y proliferación en el órgano que las recibe, está dirigido por alteraciones genéticas y *lo* epigenéticas².

La metástasis es difícilmente tratable debido a su naturaleza sistémica y su resistencia a ciertos agentes terapéuticos¹. Se considera la causa de más del 90% de las muertes debidas al cáncer, a pesar de los recientes avances en las técnicas quirúrgicas, la radioterapia y el desarrollo de terapias dirigidas molecularmente³ A.

En la serie de pasos que componen el proceso metastásico, las células cancerosas migran o fluyen a través de microambientes muy diferentes, incluyendo el estroma, los vasos sanguíneos, el endotelio, el sistema vascular y el tejido secundario afectado tras la metástasis. La habilidad para realizar con éxito cada uno de estos pasos y avanzar hacia la formación y el crecimiento de un tumor secundario es dependiente, en parte, de las interacciones físicas y fuerzas mecánicas entre las células cancerosas y el microambiente^{5 6}.

El proceso metastásico es un proceso complejo que comprende varias etapas: invasión local de la matriz extracelular circundante (MEC), intravasación a la luz de los vasos sanguíneos, supervivencia en el transporte vascular, llegada a un órgano distante, extravasación al parénquima del tejido y supervivencia en el nuevo microambiente y proliferación celular.

1.1. FASES DEL PROCESO METASTÁSICO

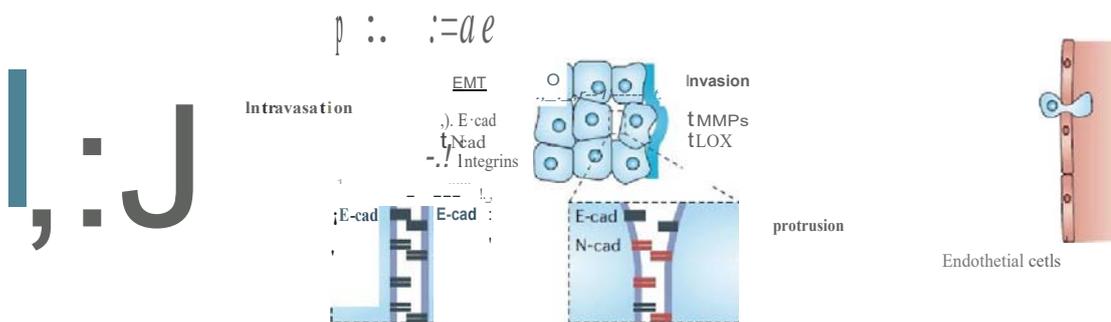
- Invasión local de la matriz extracelular

El primer paso para la colonización de otro órgano ajeno al tejido donde se origina el tumor, es la invasión de las células tumorales en ese lugar de origen. Para ello, las células del carcinoma degradan la lámina basal encargada de organizar los tejidos epiteliales separándolos del compartimento estromal. Esta lámina basal es importante en eventos de bioseñalización y como almacén de factores de crecimiento liberados por células cancerosas⁷.

La estrategia de invasión puede variar según las condiciones del microambiente, pudiéndose distinguir una invasión colectiva como unidades multicelulares y una invasión individual. En caso de que la invasión sea como unidades individuales tienen dos alternativas: invasión del mesénquima dependiente de proteasa, fibras de estrés e integrina o invasión ameboidal dependiente de Rho/ROCK e independiente de proteasa, fibras de estrés e integrina⁸.

La invasión individual tiene el inconveniente de que las células están adheridas a sus vecinas por interacciones mediante E-cadherina. Para lograr la invasión, las células cancerosas pueden llevar a cabo la transición epitelio-mesénquima (TEM), un proceso de múltiples pasos que involucra muchos cambios celulares y moleculares y que dotan a la célula de mayor movilidad e invasividad^{5,9}.

Figura 1. Física de la invasión y la intravasación⁵.



La transición epitelio-mesénquima implica la pérdida de regulación de proteínas epiteliales tales como E-cadherina, claudinas y citoqueratinas, y además se produce una regulación positiva de proteínas mesenquimales como N-cadherina, fibronectina y vimentina que promueven la degradación de la lámina basal y permiten la entrada de las células del carcinoma al estroma¹⁰.

Todo esto conduce a cambios dramáticos en las propiedades físicas y mecánicas de las células produciendo una reducción de la adhesión intercelular y provocando un cambio morfológico de cuboide epitelial a mesenquimal que finalmente ocasiona cambios en el comportamiento del tumor primario y supone la adquisición de un fenotipo móvil⁵.

- **Intravasación**

La entrada de células tumorales en la circulación puede ocurrir a través de los vasos sanguíneos o de los vasos linfáticos. La mayoría de las entradas se producen a través de

las vías hematógenas (vasos sanguíneos) y puede ser un evento activo o pasivo, según el tipo de tumor, la estructura de los vasos sanguíneos y las afecciones que se producen en el microambiente tumoral⁹.

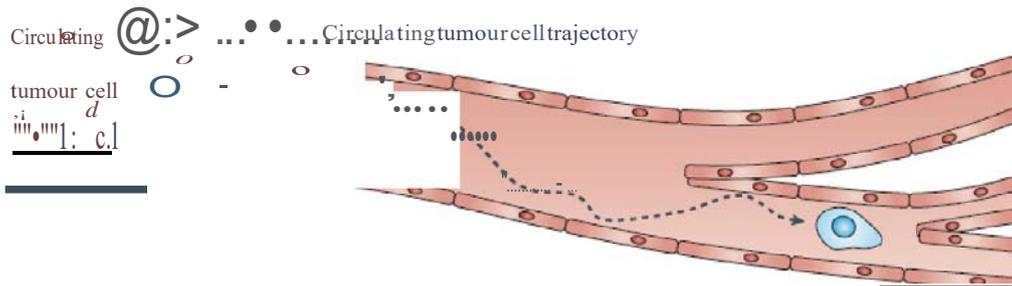
Durante la intravasación, se producen una serie de cambios en las propias células tumorales. Las interacciones físicas entre una célula y la matriz extracelular, rica en colágeno, tiene un papel clave para permitir la migración de las células del tumor a los vasos sanguíneos cercanos^{5,9}. Durante la intravasación y la extravasación, las células deben someterse a grandes deformaciones elásticas para penetrar el endotelio, estas deformaciones elásticas están impulsadas por la remodelación del citoesqueleto⁵.

Mediciones biofísicas que comparan las propiedades mecánicas de las células sanas y de las células cancerosas han demostrado que las segundas son más blandas que las primeras y que este cumplimiento celular se correlaciona con un potencial metastásico aumentado⁹.

La penetración de estas células en los vasos puede estar facilitada por cambios moleculares que promueven la capacidad de las células tumorales para atravesar la barrera endotelial, o por características estructurales de los vasos sanguíneos que promueven la entrada de las células. Otra posibilidad es que las células tumorales estimulen la formación de nuevos vasos sanguíneos en su microambiente, proceso conocido como angiogénesis. Esta nueva vasculatura se caracteriza por ser más permeable y por encontrarse en continua reconfiguración, por lo que facilita la entrada de las células tumorales. Esta nueva formación de vasos es debida al suministro limitado de sangre, esto crea condiciones en las que las células experimentan una escasez de nutrientes y oxígeno. Estas condiciones hipóxicas pueden inducir la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y del factor de crecimiento inducible (HIF)-1-a, causando un aumento de la angiogénesis, linfangiogénesis y permeabilidad de los vasos.¹¹

Una vez que las células llegan al interior del vaso se conocen como células tumorales circulantes (CTCs) y son las que se dirigen desde el tumor primario hacia el lugar de diseminación, es decir, son los intermediarios metastásicos.

Figura 2. Detención de células tumorales circulantes⁵

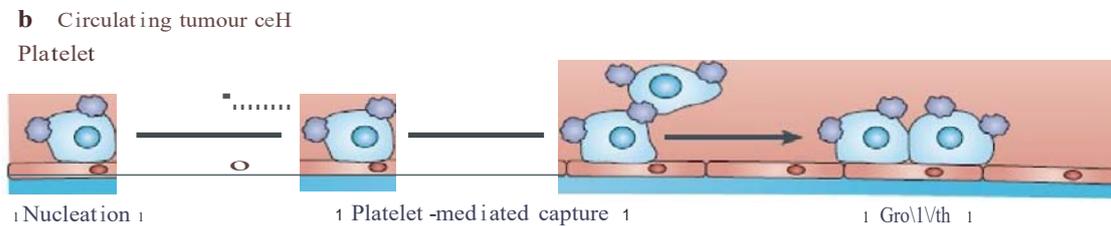


- Supervivencia en el transporte vascular

Durante su tránsito por el sistema circulatorio, las CTCs están sujetas a fuerzas hemodinámicas, inmunológicas, estrés y colisiones con otras células como las sanguíneas y las endoteliales.⁵ Todas estas tensiones podrían afectar a la supervivencia celular y a la capacidad de establecer focos metastásicos.

Una vez en el torrente sanguíneo, el estrés de cizallamiento del flujo sanguíneo puede ser suficiente para destruir muchas de las células que ingresan a la circulación, pero además las células cancerosas también deben ser capaces de evadir el sistema inmune, especialmente a las células natural killer. Parece que las células tumorales evaden este problema generando embolias cuando interactúan con las plaquetas. La formación de agregados plaquetarios con incorporación de células cancerosas facilita su detección y adhesión a la pared de los pequeños vasos, creando un ambiente protector contra los mecanismos defensivos biológicos que favorecen el desarrollo de la metástasis⁵.

Figura 3. Supervivencia células tumorales circulantes⁵



- Llegada a un órgano distante

La circulación de las células tumorales termina cuando estas se detienen en un órgano distante al órgano en el que se originó el tumor primario. Se ha demostrado que las

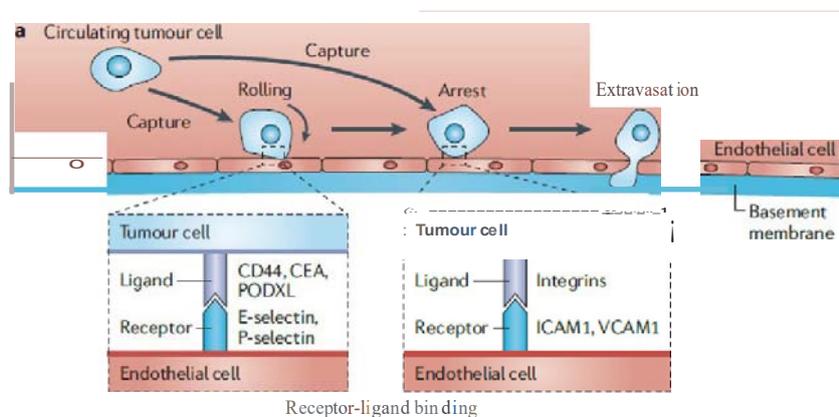
células tumorales tienen preferencias por determinados órganos de destino según sea el origen del tumor primario.

A pesar de que los tumores primarios se metastatizan a muchos sitios diferentes existe una mayor probabilidad de metástasis en ciertos lugares¹². Por ejemplo, el cáncer de próstata tiende a metastatizar a la médula ósea y al hígado, mientras que el cáncer de mama tiende a hacerlo a la médula ósea y a los pulmones⁵. Este fenómeno se conoce como órgano-especificidad metastásica.

Los patrones de metástasis han sido explicados por dos hipótesis: la hipótesis de "semilla y suelo" que establece que las células tumorales producirán metástasis en un lugar donde el microambiente local sea favorable, y la hipótesis mecánica que determina que el patrón metastásico es debido al patrón de flujo de sangre entre el lugar primario y el secundario^{5,12}.

- Extravasación

Figura 4. Extravasación células circulantes⁵



La extravasación tiene lugar cuando las CTCs cruzan el vaso hacia el parénquima del tejido de destino. El lugar en el que se produce esta extravasación puede verse influenciado por características físicas que facilitan o dificultan la extravasación. Por otra parte, el tumor primario es capaz de secretar factores que perturban el microambiente distante e inducen la hiperpermeabilidad vascular⁵.

Cada colisión que se produce entre una CTC y la pared de los vasos sanguíneos tiene el potencial de producir la adhesión de las CTCs al endotelio vascular. Si el tiempo de permanencia es lo suficientemente largo, entonces la célula tumoral puede adherirse a la

pared del vaso sanguíneo y producirse entonces la extravasación. La probabilidad de que ese tiempo de residencia sea lo suficientemente largo está relacionada con el estrés de cizalladura local, y una complejidad adicional es que la expresión de los niveles de proteínas de adhesión es diferente en los distintos órganos⁵.

Existen dos mecanismos por los que una célula tumoral puede vincularse a la pared endotelial de los vasos y dar lugar a la extravasación: por oclusión física y por adhesión celular. La oclusión física se producirá si la célula ingresa en una zona cuyo diámetro es menor que el de la célula tumoral circulante y esto ocurre en pequeños vasos o capilares. En caso de que se trate de vasos sanguíneos grandes, para que tenga lugar la extravasación se requiere la adherencia a la célula endotelial del vaso mediante la formación de enlaces específicos.

Ya se ha mencionado el papel que tienen las plaquetas para la supervivencia de las células tumorales en el torrente sanguíneo pero estas también pueden facilitar la adhesión a la célula endotelial del vaso sanguíneo y provocar que esta libere una serie de compuestos bioactivos tales como el factor de crecimiento endotelial (VEGF) en los puntos de unión al endotelio, promoviendo así la hiperpermeabilidad vascular y la extravasación.

- Supervivencia en el nuevo microambiente y proliferación.

La supervivencia de las células tumorales en el órgano de llegada para formar micrometástasis no está asegurada porque pueden existir diferencias entre el microambiente del tumor primario y el nuevo microambiente. Se propone el modelo del nicho premetastásico, según el cual las células tumorales despliegan complejos mecanismos para modificar el microambiente ajeno y facilitar la supervivencia inicial en esta localización ectópica. La mayor parte de las células diseminadas pueden permanecer en un estado de latencia, sin ganancia o pérdida neta en el número total de células. La capacidad de las células para escapar de este estado latente y volver a ser proliferativas puede depender del entorno.

El nicho metastásico juega un papel fundamental dentro de los factores que determinan el éxito o el fracaso de la metástasis¹. En su formación ocurren una serie de eventos donde destacan: la modificación de la MEC; la remodelación de la red vascular; la participación de células de la médula ósea; la hipoxia y la expresión de una gran

variedad de moléculas de señalización. A ello se suma la participación de células no transformadas, como es el caso de los fibroblastos y las células endoteliales, más la deposición de moléculas tales como la fibronectina, tenascina-c y la periostina. La enzima lisil-oxidasa, LOX, participa activamente en la remodelación de la MEC y en la formación del nicho, ya que esta enzima tiene la capacidad de enlazarse al colágeno y la elastina. La expresión de la enzima LOX está incrementada en las células tumorales expuestas a condiciones de hipoxia¹.

Se han descrito genes que favorecen la metástasis porque compensan incompatibilidades entre la célula y el órgano que las recibe. Para conseguir una colonización exitosa, las células deben poseer una alta capacidad autorrenovadora. Esta cualidad se reserva para las células iniciadoras de tumores, por lo que deben incluirse entre las células diseminadas para que pueda tener lugar la cascada metastásica. La formación de metástasis macroscópica por el crecimiento de las células diseminadas representa el punto final del proceso.

1.2. ESTUDIO DEL MICROAMBIENTE TUMORAL

La metástasis es un proceso determinado por las interacciones entre las células metastásicas y su microambiente en los órganos afectados. Por ello, se hace necesario actualizar el conocimiento de los diferentes elementos del microambiente que participan en la formación de la metástasis. Es necesario centrar la atención sobre las principales interacciones que se establecen entre las células tumorales y el microambiente a partir del tumor primario hasta alcanzar el sitio donde se origina.⁴

Dada la importancia del microambiente tumoral en el desarrollo de la metástasis se han desarrollado técnicas novedosas para el estudio de este como es el caso de "Cáncer-on-a-chip" (CoC). Aunque los modelos convencionales han contribuido significativamente a nuestro conocimiento de la metástasis, los modelos CoC han comenzado a producir nuevas ideas sobre el papel del microambiente tumoral en la iniciación de la metástasis en los últimos años¹³.

Los CoC son chips microfluídicos con microcanales por los que tiene lugar el transporte de fluido controlado. Reproducen las condiciones en las que los tumores pueden crecer y desarrollarse y permiten conocer la interacción entre un tumor y su microambiente. Se categorizan en cinco grupos y cada uno de los cuales presenta diferentes opciones de

cultivo celular. Sin embargo, los componentes básicos de un CoC son los mismos en todos los tipos: un chip microfluídico, células cancerosas, otros tipos de células (opcional), materiales de matriz (opcional) y equipo para controlar el flujo de fluido. En cuanto a los parámetros que se controlan y los métodos de lectura, estos pueden diferir de unos tipos a otros pero las lecturas comunes se basan en el rastreo de lesiones invasivas y celulares, en la detección de gradientes y en la cuantificación de expresión de genes mediante transcripción inversa cuantificada¹³.

En una perspectiva más amplia, las tecnologías desarrolladas para los modelos de CoC son no solo para estudiar la invasión del cáncer y el microambiente tumoral, la tecnología de CoC puede ser, y es, aplicada para estudiar otros pasos en el proceso metastásico, como la extravasación. Ya sea para estudiar la cascada metastásica completa o solo su inicio, la tecnología CoC tiene el potencial de reducir nuestra dependencia de modelos animales como una herramienta de investigación complementaria¹³.

2. OBJETIVOS

Con esta revisión bibliográfica se plantea como objetivo conocer las fases implicadas en el desarrollo de la metástasis a partir del tumor primario y valorar el actual conocimiento que se tiene acerca de las CTCs y sus características más importantes en relación a su implicación en este proceso metastásico. Comprobar cómo puede influir el conocimiento y el estudio de estas células en mejorar el diagnóstico y el tratamiento de la metástasis en el cáncer en general y concretamente en la metástasis del cáncer de mama.

3. METODOLOGÍA

Para la realización de este trabajo se realizó una revisión bibliográfica de artículos científicos basados en estudios humanos, referentes a células tumorales circulantes y metástasis, publicados durante los diez últimos años. Para ello, se realizó una búsqueda sistemática en la base de datos online de PubMed utilizando palabras clave como "células tumorales circulantes" "metástasis" "cáncer" "cáncer de mama". Además, se

buscaron artículos a través de Google Académico utilizando las mismas palabras clave. Esta revisión se centró en el papel de las células tumorales circulantes en la metástasis y su importancia para el diagnóstico precoz de recaída o metástasis y para la mejora en la detección temprana y las decisiones de tratamiento apropiadas.

4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La diseminación tumoral a través de la intravasación de CTCs al torrente sanguíneo, es el paso fundamental para que se produzca el desarrollo de la metástasis¹⁴. Las CTCs son células tumorales epiteliales que se encuentran ya en la sangre periférica de pacientes con cáncer en un estadio temprano, ya que se ha observado que dichas células acumulan un menor número de alteraciones genómicas que las células del tumor primario, sugiriendo que la diseminación de las CTCs ocurre en una fase temprana de la enfermedad¹⁵.

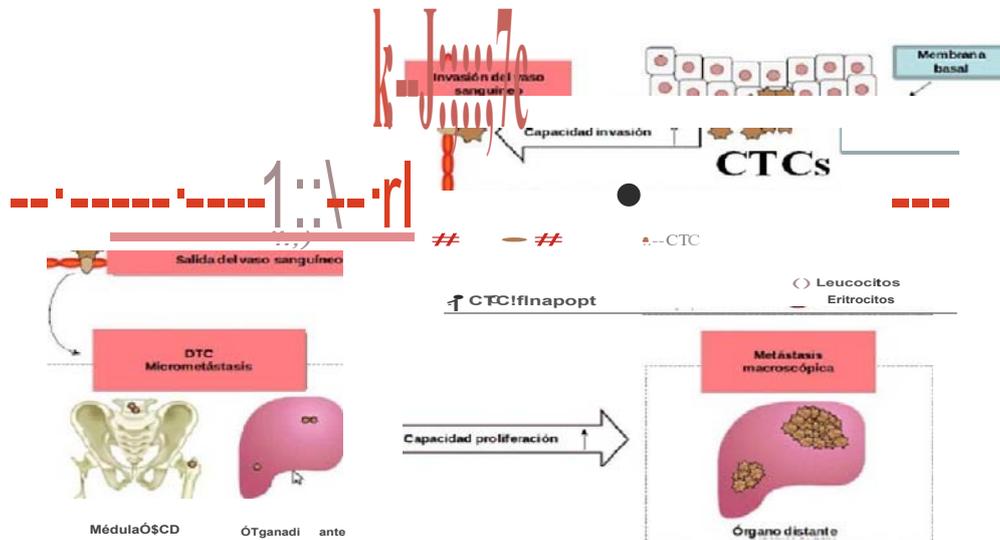
La presencia de CTCs en sangre periférica fue detectada por primera vez en 1869¹⁵, pero solo gracias a los avances tecnológicos recientes en los métodos de detección se ha permitido la identificación y caracterización de estas células de forma reproducible. Los avances tecnológicos actuales han puesto de manifiesto que las CTCs poseen alteraciones genómicas características, propias de células malignas y que rara vez se encuentran en sangre periférica de personas sanas¹⁶. Para la detección y caracterización de estas células existen diferentes métodos que se muestran en la siguiente tabla.

Tabla I. Métodos de detección de células tumorales circulantes (CTCs)¹⁴

Metodología	Sistema	Alémblo de en, quef mrento	Detalle
Selección Negativa	MACS [®] technology	Depl...ición d> célula< CD4	Inmu'locitcqmlic.a poositiva p.ara. CK mas criterios; morfoló icos
Selección basada en el tamaño	Saeencell	Filtraci>nen microporo l>a.do en el tamaria(el ular	hmumoc oqufmlca positiva par rñjircador epltel\$1es como Epi"...AM, p.aro marcadores meSEnq,imol+o perfil mole ular
	ISET	Tamaño celu lar< filtre> con poros de.SJtm	hmunocoqyfnlca PO>litiv+ p r+ IBilrcador epleljlles comoEpCAM,p.are mar<sdores mesenq,imsi""o perfil molecular

Las CTCs a partir del tumor primario , llegan al torrente sanguíneo y son capaces de sobrevivir durante largos periodos de tiempo hasta que se infiltran en la médula ósea o en los órganos, produciendo micrometástasis que darán lugar a metástasis macroscópicas que pueden ser identificadas por pruebas de imágenes¹⁵ .

Figura 5. Células tumorales circulantes y el proceso metastásico¹⁵



Sin embargo, se estima que solo 1 de cada 10^5 - 10^6 CTCs que se encuentran en sangre periférica pueden ingresar en tejidos diferentes al del tumor primario y que solo un pequeño porcentaje de estas células van a lograr desarrollar metástasis^{15,16}.

Es importante conocer que las CTCs son poco abundantes en la sangre de los pacientes que padecen cáncer (en promedio hay una CTC por cada billón de células sanguíneas normales), incluso en aquellos pacientes con enfermedad metastásica progresiva¹⁷.

4.1. RELEVANCIA CLÍNICA DE LAS CTCs

El aislamiento y el análisis molecular de CTCs en sangre periférica es uno de los enfoques más prometedores para identificar la enfermedad metastásica. Muchos estudios han informado que la detección y caracterización de CTCs es útil para facilitar el diagnóstico precoz de recaída o metástasis y mejorar la detección temprana y las decisiones de tratamiento apropiadas¹⁵. Además, la detección de CTCs supone una estrategia innovadora para el diseño de tratamientos antitumorales individualizados¹⁸.

Todo esto se deduce teniendo en cuenta los siguientes aspectos:

- 1) La presencia de CTCs es un paso necesario para el desarrollo de un proceso metastásico. Por ello, cualquier avance en el conocimiento de estas células supondrá también un avance para el desarrollo de tratamientos antitumorales y para mejorar el pronóstico del paciente.
- 2) Las CTCs tienen un perfil molecular distinto al de las células del tumor primario, por lo que la quimioterapia y las estrategias terapéuticas pueden ser testadas en CTCs igual que se realiza en el tumor primario.
- 3) Si se confirma el valor pronóstico, la detección de las CTCs podría ser de gran importancia para el seguimiento de la terapia adyuvante y neo adyuvante, así como para identificar a pacientes que necesitarían un tratamiento adyuvante.
- 4) Las CTCs son detectadas en sangre periférica que es fácil de obtener y no supone sufrimiento para el paciente.
- 5) Avances recientes en la detección de estas células y en su caracterización podrían ser útiles para observar la evolución del tumor y usar esto para el diseño del tratamiento.

La detección de las CTCs es útil no sólo para demostrar la agresividad del cáncer primario y su capacidad de hacer llegar células tumorales al torrente sanguíneo y la correspondiente potencialidad para desarrollar un proceso metastásico, sino también su presencia *per se* y su facultad hipotética de iniciar la diseminación de una generación de CTCs diferentes desde las nuevas localizaciones metastásicas. Las CTCs procedentes de los clones del tumor primario pueden ser detectadas incluso antes que el tumor donde se originan, y a menudo persisten, después de que el tumor se ha extirpado. Por tanto la detección de CTCs ayuda tanto al diagnóstico, como a la estadificación, al pronóstico y a la evaluación de la respuesta de los cánceres ante diferentes terapias¹⁹.

Una de las principales aplicaciones que tiene la caracterización de las CTCs es que supone conocer el perfil genético de los tumores antes, durante y tras el tratamiento. Esto es de gran importancia en la nueva era de las terapias contra el cáncer genéticamente dirigidas. Estas terapias buscan hacer coincidir el medicamento correcto con el paciente correcto según las etapas de progresión de la enfermedad²⁰. De tal manera que las CTCs pueden permitir identificar los marcadores asociados a la sensibilidad a los medicamentos y a la resistencia y guiar las decisiones terapéuticas. Además, el hecho de que los tumores produzcan CTCs que llegan al torrente sanguíneo antes de que se establezcan metástasis supone que la detección de estas células puede proporcionar información importante en individuos de riesgo.

4.2 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS Y MOLECULARES DE LAS CTCs

La determinación de las CTCs es compleja ya que como se ha mencionado anteriormente su presencia en el torrente sanguíneo es escasa. Esta concentración de CTCs extremadamente baja obligaría a analizar muestras entre 1.000 y 10.000 veces mayores que las que son extraídas habitualmente para un análisis de sangre.afortunadamente, en los últimos tiempos diferentes avances tecnológicos han hecho posible la optimización y la detección fiable de las CTCs.

Las CTCs pueden originarse como ya se ha dicho en el tumor primario o en las metástasis originadas. Teniendo en cuenta este origen, cabe esperar que estas células presenten heterogeneidad respecto a su fenotipo y genotipo¹⁸.

La mayor parte de las CTCs no poseen capacidad para sobrevivir por tiempo prolongado en el torrente sanguíneo y mucho menos poseen capacidad para generar

metástasis. Son solo algunas de estas células, las que cuentan con marcadores específicos tales como marcadores de células madre, las que pueden lograr inducir una metástasis¹⁸.

El análisis de las características biológicas y moleculares de estas células ha sido una tarea difícil en las últimas décadas ya que se trata de células muy poco frecuentes. Sin embargo los nuevos avances y los nuevos métodos desarrollados han hecho más factible su análisis.

La mayoría de técnicas de las que se dispone en la actualidad para el aislamiento de CTCs se basa en la expresión de marcadores de superficie y en las propiedades físicas de estas células para poder distinguirlas del resto de componentes sanguíneos^{17,21}.

La propiedad biológica de uso más extendido para la detección de estas células es la expresión de proteínas como la molécula de adhesión de células epiteliales (EpCAM) y citoqueratina (CK) entre otros²¹. Sin embargo, como se ha visto anteriormente, estas proteínas pueden perderse en el proceso de TEM perdiéndose así la capacidad de detectar las CTCs que no expresen estas proteínas de tipo epitelial.

Este cambio de marcadores en el proceso EMT hace que se usen en gran medida las técnicas de detección basadas en las propiedades físicas de las CTCs. La propiedad física más utilizada para separar CTCs es el mayor tamaño que presentan comparado con las células normales de la sangre¹⁸.

Volviendo a la detección de las CTCs mediante marcadores epiteliales, estos están teóricamente disponibles para la detección de todas las CTCs. Sin embargo, no todas las CTCs conducirán a la formación de lesiones metastásicas. Existen marcadores específicos adicionales que se pueden detectar solo en CTCs con potencial metastásico. Esto puede ser mejor para su uso en aplicaciones clínicas. Estos marcadores han sido reportados como marcadores adicionales para detectar CTCs en tumores malignos de alto grado:

- HER2 (receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano). La amplificación o la sobreexpresión de HER2 juega un papel crítico en el desarrollo y progresión de ciertos tipos de cáncer agresivos de mama o cáncer gástrico. En los últimos años, HER2 se ha utilizado clínicamente como biomarcador y objetivo terapéutico molecular para aproximadamente el 30% de pacientes con cáncer de mama o gástrico²³.

- ER (receptor de estrógenos). ER se expresa en aproximadamente el 70% de los pacientes con cáncer de mama, estos casos se conocen como cánceres ER-positivos²³.
- Ligando 1 de muerte programada (PD-L1). Un análisis de 196 muestras tumorales de pacientes con carcinoma de células renales ha demostrado que una alta expresión de PD-L1 en estos tumores se asoció con una mayor agresividad tumoral²³.

Existen también CTCs que son capaces de generar metástasis porque presentan marcadores de células madre. Tras permitirse el análisis de las CTCs mediante diferentes técnicas, se ha verificado su tumorigenicidad y se ha identificado el fenotipo de estas CTCs capaces de generar metástasis denominadas células iniciadoras de la metástasis (CIM). Los CIM expresaban EpCAM, CD44, CD47 y MET, que podrían ser biomarcadores de recaída o metástasis.²³

4.3 CTCs EN EL CÁNCER DE MAMA

El cáncer de mama es el segundo más común en el mundo y el más común en mujeres con mucha diferencia²⁴. Un gran número de casos de este cáncer se curan mediante cirugía, sin embargo, el desarrollo de metástasis aun representa más de 500.000 muertes al año en todo el mundo.

El cáncer de mama es el cáncer en el que se han llevado a cabo la mayoría de estudios sobre las CTCs. Estas células en el cáncer de mama han demostrado ser predictores de una disminución de la supervivencia, con pronóstico peor en aquellos pacientes con al menos cinco CTCs por 30 ml de sangre¹⁴.

Uno de los aspectos clave que surge tras el análisis de las CTCs de mama es que son muy heterogéneas y con diferente capacidad para diseminar, colonizar y formar metástasis clínicamente significativas.

Las CTCs difieren genéticamente del tumor primario y pueden contribuir a las variaciones en el pronóstico y la respuesta al tratamiento^{25, 26}. A medida que se comience a comprender más sobre la biología de las CTCs, se podrá comenzar a abordar la mejor forma de tratar esta forma de enfermedad.

Para concretar más acerca de estas posibles diferencias en cuanto a las células del tumor primario y las células tumorales circulantes originadas a partir de este, nos vamos a

centrar en tratar los cambios que se producen en cuanto a los receptores hormonales (receptor de estrógenos (RE) y receptor de progesterona (RP)), y el receptor HER2.

En cuanto a los receptores hormonales (RH), el cáncer de mama se considera RH positivo si el tumor primario muestra reactividad nuclear de cualquier intensidad del RE o RP en al menos un 1% de las células estudiadas mediante inmunohistoquímica¹⁴ y esto ocurre en el 70% de los casos de cáncer de mama²¹. Pero como ya se ha mencionado, las CTCs difieren genéticamente del tumor primario y por ello, no se debe esperar necesariamente que las CTCs procedentes de tumores de mama RH positivos también sean RE o RP positivas. Las CTCs que no expresan RH pueden haberse originado de la fracción de células del tumor primario negativas o de clones con los RH negativos generados bajo la presión de un tratamiento hormonal. La aparición de las CTCs con el RE negativo puede también ir acompañada de aberraciones genómicas y epigenómicas.

Estudios recientes han podido mostrar que el hecho de que el estado de los RH en el tumor primario y las CTCs originadas de este tumor no siempre coincidan parece ser un fenómeno bastante común.

Dado que el tratamiento endocrino es dependiente del estado de los RH en el tumor primario y su diana terapéutica es el RE, las discrepancias entre el estado de los RH en el tumor primario y las CTCs, además de la heterogeneidad en la expresión de RH en las CTCs podría ser una de las razones para el fallo de los tratamientos endocrinos y el desarrollo de la enfermedad metastásica.

En referencia al receptor HER2 ocurre lo mismo, varios estudios han observado que existen discrepancias entre tumores primarios y las correspondientes CTCs¹⁶. A menudo la expresión del HER2 en las CTCs es no concordante con el estado HER2 del tumor primario y un subconjunto de pacientes con HER2- negativo en el tumor primario desarrolla CTCs HER2-positivo durante la progresión de la enfermedad. Estos hallazgos suponen una clara evidencia de la importancia de caracterizar las CTCs para definir mejor el tratamiento en pacientes de manera individualizada.

5. CONCLUSIÓN

Las células tumorales circulantes son intermediarios metastásicos y su diseminación por el torrente sanguíneo es el paso fundamental para el desarrollo de la metástasis. En los últimos años los avances tecnológicos han permitido ampliar el conocimiento de estas células y se ha podido comprobar que presentan características y biomarcadores diferentes a los de las células cancerígenas del tumor primario , además presentan también un fenotipo y genotipo heterogéneo entre sí mismas. Todo esto supone un problema en cuanto a la eficacia de los tratamientos para frenar el desarrollo de la enfermedad metastásica y es por ello, que un mayor conocimiento y una mejora en el análisis molecular de estas células circulantes supone uno de los enfoques más prometedores. Supondrá un avance para el desarrollo de los tratamientos antitumorales y para mejorar el pronóstico de los pacientes así como para observar la evolución del tumor y usar esto para el diseño del tratamiento.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Arvelo F, Sojo F y Cotte C. Progresión Tumoral y Metástasis. *Ecancermedicalsecience*.2016;10:617.
2. Valastyan S y Weinberg RA Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms. *Cell*. 2011; 147:275-292.
3. Langley RR y Fidler IJ. Tumor cell-organ microenvironment interactions in the pathogenesis of cancer metastasis. *Endocr Rev*. 2007; 28:297-321.
4. Christine L, Chaffer, Robert A y Weinberg A Perspective on Cancer Cell Metastasis. *Science*.2011;331:1559.
5. Wirtz D, Konstantopoulos K y Searson P. The Physics of Cancer: The Role of Physical Interactions and Mechanical Forces in Metastasis. *Nature Reviews Cancer*. 2011;11:511-522.
6. Chambers AF, Groom, A C y MacDonald I. C. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. *Nature Rev. Cancer*. 2011; 2: 563-572.
7. Isaiah J y Margaret L. The challenge of targeting metastasis. *Cancer Metastasis Rev*. 2015; 34:635-64 1.
8. Provenzano P.P, InmanD.R. , Eliceiri, K.W, Trier S.M. y Keely P.J. Contact guidance mediated three-dimensional cell migration is regulated by Rho/ROCK -dependent matrix reorganization. *Biophys. J*. 2008; 95:5374-5384.
9. Catherine Sánchez N. Conociendo y comprendiendo la célula cancerosa: fisiopatología del cáncer. *Rev. Med.Cilnica Condes*. 2013 ;24:553-562.
10. Xiao-Xian J, Xiao-Yan Z y Cong-Jian X. Epithelial-to-mesenchymal transition, circulating tumor cells and cancer metastasis: Mechanisms and clinical applications. *Oncotarget*. 2017;8: 81558-81571.
11. Chiang SPH, Cabrera RM y Segall JE. Tumor cell intravasation. *American Journal ofPhysiology - Cell Physiology*. 2016;311(1):C1-C14.
12. Suzanne A Eccles y Danny R Welch. Metastasis: recent discoveries and novel treatment strategies. *Lancet*. 2007;369(9574): 1742-1757.
13. Sleebom J.J, Amirabadi H.E, Nair P, Sahlgren C.M y den Toonder, J. M. Metastasis in context: modeling the tumor microenvironment with cancer-on-a-chip approaches. *Disease models & mechanisms*, 2018;11(3), dmm033100.
14. Nadal Rios R. Caracterización molecular de células tumorales circulantes en sangre periférica de pacientes con cáncer de mama [Tesis doctoral]. Barcelona: Departamento de Medicina, Universidad Autónoma de Barcelona; 2014.

15. Sáenz Mateos L.F. Importancia de la detección de células tumorales circulantes en el cáncer de mama. *Rev Eubacteria*. 2012; 28: 1697-0071.
16. Park Y, Kitahara T, Urita T, Yoshida Y y Kato R. Expected clinical applications of circulating tumor cells in breast cancer. *World J Clin Oncol*. 2011; 2(8):303-10.
17. Gkountela S, Szczerba B, Donato C, et al. Recent advances in the biology of human circulating tumour cells and metastasis. *ESMO Open* 2016; 1:e000078.
18. Ortega Sánchez FG. Implicaciones clínicas y buológicas de la caracterización de células tumorales en pacientes con cáncer de mama y colon [Tesis doctoral]. Granada: Universidad de Granada; 2015.
19. Olivier Gómez C., Carballido Rodríguez J. Células tumorales circulantes: aislamiento, cuantificación y relevancia de su traslación a la práctica asistencial. *Actas Urol Esp*. 2010: 34(1).
20. Sua Villegas, L. F., Silva Pérez, N. M., Vidaurreta Lázaro, M., Rafael Fernández, S., de la Orden, V., Veganzones de Castro, S., & Maestro de las Casas, M. L. Células tumorales circulantes en la práctica oncológica: importancia en tumores sólidos epiteliales. *Medicina*. 2011;33(2),101-114.
21. Shyamala Maheswaran, PhD y Daniel A. Haber. Circulating Tumor Cells: a window into cancer biology and Metástasis. *Curr Opin Genet Dev*. 2010; 20(1): 96-99.
22. Stott SL, Hsu CH, Tsukrov DI, et al. Isolation of circulating tumor cells using a microvortex-generating herringbone-chip. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:18392-7.
23. Masuda T, Hayashi N, Iguchi T, Ito S, Eguchi H, y Mimori K. Clinical and biological significance of circulating tumor cells in cancer. *Molecular oncology*. 2016;10(3):408-417.
24. Who.int: world health organisation [internet].Ginebra.[Citado 26 abril 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/topics/cancer/breastcancer/es/index1.html>
25. Nadal R, Fernandez A, Sanchez-Rovira P, et al. Biomarkers characterization of circulating tumour cells in breast cancer patients. *Breast Cancer Research*. 2012;14(3):R71.
26. Lara Lozano M, Piña Leyva C y Moreno-Sandoval H. Células Tumorales Circulantes en Cáncer de Mama: Un posible riesgo biológico. *Rev Esp Med Quir* 2014;19:45-51.
27. Yu M, Bardia A, Wittner BS, et al. Circulating Breast Tumor Cells Exhibit Dynamic Changes in Epithelial and Mesenchymal Composition. *Science*. 2013; 339 (6119):580-584.