

GRADU AMAIERAKO LANA

---

MINBIZI TRATAMENDUETAN  
AGERTZEN DIREN ERRESISTENTZIA  
MEKANISMOEN AZTERKETA

---

Farmaziako Gradua. 2020-2021 ikasturtea

Egilea: Nekane Maritorea Hualde

Zuzendaria: Felix Olasagasti Arsuaga

## **LABURPENA:**

Minbiziak tratatzerako orduan agertzen den zailtasunetako bat hauek tratamenduekiko agertzen dituzten erresistentziak dira. Hauek, tratamenduaren hasieraren aurretik existitzen diren (berezko erresistentzia) edo tratamenduaren ondorioz agertzen diren (hartutako erresistentzia) mekanismoen ondorio izan daitezke eta jatorri genetikodunak edo ez-genetikodunak izaten ahal dira.

Mekanismo ezagunen artean, mintz proteinekin erlazionatutako mekanismoak, itu farmakologikoarekin erlazionatutakoak, barrera fisikoen ondoriozko farmakoa zeluletara iristeko zailtasuna, DNAREN konponketa eta apoptosiaren desregulazioa, mikroinguruneak eragindakoak eta immunitate sistemarekin erlazionatutako mekanismoak bereizi badaitezke ere, hauek guztiak elkarrekin erlazionatuak egonen dira eta elkar baldintzatuko dute.

Lan honetan, aurreko mekanismoak barneratzen dituzten eta elkarrekin erlazionatuta dauden tumore barneko heterogeneotasuna, modulazio epigenetikoa eta minbizi ama zelulak aztertzen dira. Minbizi barneko heterogeneotasuna zer den eta zer jatorri duen, modulazio epigenetikoa zer den eta ze modulazio mekanismo nagusi ezagutzen diren eta minbizi ama zelulak zer diren eta ze ezaugarri dituzten azalduko da. Hiru mekanismoen kasuan, tratamenduekiko erresistentziarekin duten zerikusia ere azalduko da.

## AURKIBIDEA

1. SARRERA.....	1
1.1. Berezko eta hartutako erresistentzia mekanismoak .....	2
1.2. Erresistentzia mekanismo genetikoak eta ez-genetikoak .....	2
1.3. Tratamenduarekiko erresistentziaren ikuspegi multifaktoriala.....	3
2. HELBURUAK.....	4
3. ERRESISTENTZIA MEKANISMO EZAGUNENAK.....	4
3.1. Mintz proteinekin erlazionatutako mekanismoak:.....	4
3.2. Itu farmakologikoarekin erlazionatutakoak: .....	5
3.3. Barrera fisikoak eta Farmakoa zeluletara iristeko zailtasuna: .....	5
3.4. DNA konponketarekin erlazionatutako mekanismoak .....	6
3.5. Apoptosiaren desregulazioa: .....	6
3.6. Mikroingurunea .....	7
3.7. Immunitate sistemarekin erlazionatutakoak: .....	7
4. TUMORE BARNEKO HETEROGENEOTASUNA, MODULAZIO EPIGENETIKOA ETA MINBIZI ZELULA AMAK.....	8
4.1. Tumore barneko heterogeneotasuna .....	8
4.1.1. Tumore-barneko heterogeneotasunaren eragileak:.....	10
4.1.2. Tumore-barneko heterogeneotasunak tratamenduan daukan eragina.....	11
4.2. Faktore epigenetikoak.....	14
4.2.1. DNAREN metilazioa:.....	14
4.2.2. Histona modifikazioa: .....	15
4.2.3. Kromatina birmodelatzaileak:.....	16
4.2.4. mikroRNA (miRNA): .....	16
4.3. Minbizi zelula amak .....	17
4.3.1. Erresistentzia bideratzen duten ezaugarriak .....	18
4.3.2. Minbizi zelula amek tratamenduan daukaten eragina.....	20
5. ONDORIOAK.....	21
6. BIBLIOGRAFIA .....	23

## 1. SARRERA

2019an argitaratutako *Current Cancer Epidemiology* artikulua arabera, 2016an minbizi mundu mailako heriotzen bigarren eragilea zen bihotzeko gaixotasun iskemikoen atzetik, eta heriotza guztien %15,8 eragin zituen (8,97 miloi pertsona). Artikulu berean, 2060 urterako mundu mailako heriotzen lehen eragile bihurtuko zela estimatu zen.(1)

Hilkortasun tasa altua eragiten duten hainbat faktore daude, horien artean, lan honetan aipatuko diren minbiziek garatu ditzaketan tratamenduarekiko erresistentziak. Arazo hau errealitatean honela ikusten da askotan: Hasiera batean tratamenduari erantzuten zion minbizi batek denboraren buruan honekiko erresistentzia garatzen du, edo, jada desagertutzat emandako minbizien berreritzea agertzen da eta bigarren aldi hasierako tratamenduarekiko sentikortasuna galduta dago.(2)

Gaixotasunari aurre egiteko orduan, minbizi bakoitzaren ezaugarrien arabera, ebakuntza, erradiazioa, kimioterapia, immunoterapia eta agente antiangiogenikoen erabilera bezalako hainbat tratamendu modalitateen artean aukera daiteke. Gaur egun, ebakuntza eta erradiazioa dira aukerako tratamendua tumore lokalizatuen kasuan eta kimioterapia, immunoterapia eta agente antiangiogenikoak tumore metastasietan zein odoleko minbizietan. Azken hiru hauek, tratamendu sistemiko kontsideratuak, farmako konbentzionalak edo molekularki-bideratutako farmakoak izan daitezke; lehenak zaharragoak dira, minbizi tratatzeko agertu ziren lehenengo molekuletakoak, eta bigarrenak berriagoak, geroz eta gehiago erabiltzen hasi direnak. Molekularki-bideratutako farmakoen itua gunea minbizi zeluletan bakarrik egotea bilatzen denez, dosi baxuagoekin eragin berdina lor daiteke eta horrela konbentzionalekin sortzen dena baino toxizitate baxuagoa eragin. Tratamendu modalitateen artean desberdintasun nabarmenak egon arren, guztiekiko (ebakuntza salbu) agertu da hartutako edo berezko erresistentzia moduren bat.(2-4)

Minbizi tratamenduetan agertzen diren erresistentzia mekanismoez hitz egitekotan, lehenik eta behin, farmako edo tratamendu batekiko erresistentzia zer den definitu behar da. **Farmakoekiko erresistentzia**, farmako batek eragin terapeutikoa lortzeko duen eraginkortasun eta potentziaren murrizketari deritza, ondorioz, pazientearen bizirauteko aukera nabariki murrizten duena(2). Gai honen inguruko idatzietan, tolerantzia eta iraunkortasuna bezalako hitzak ere agertu ohi dira. **Tolerantziak**, farmako kontzentrazio altu iragankor bati bizirauteko gaitasunari egingo lioke erreferentzia, eta **persistentsiak**, zelula talde batek farmakoen presentzian bizirauteari gainerako zelulak hiltzen diren bitartean. Esanahi propioa badute ere, minbizi zelulei dagokionean hiru termino hauek trukagarri bezala erabiltzen dira gehienetan, eta testu honetan ere hala egingen da.(5)

### **1.1. Berezko eta hartutako erresistentzia mekanismoak**

Kimioterapiaren aurrean minbizi zelulek ager ditzaketen erresistentzia mekanismoak berezkoak edo hartutakoak izan daitezke. Hartutako erresistentziak minbizi zelulen intrintsekoak dira, zelulen hasierako egoeren edo hauek hasiera batetik dituzten mutazio genetikoaren ondoriozkoak; tratamenduekin hasi aurretik jada existitzen direnak. Hartutako erresistentziak, aldiz, tratamenduaren hasierarekin agertzen dira; tratamenduak eraginik, hasierako tumore zelulen hautespena gertatzean, mutazio genetiko eta aldaketa epigenetiko berriak agertzean, aldaketa metabolikoak sortzean edo beste hainbat prozesu gertatzearen ondorioz sortzen direnak izanen dira.(6, 7)

Immunoterapiaren kasuan, berezko erresistentziaz eta hartutakoez gain, tratamendu modalitate honekiko propioa den beste bat ezagutzen da, naturalki hartutako erresistentzia. Naturalki hartutako erresistentzia ez du immunoterapiak eragiten, sistema immuneak berez eragindako presioak baizik; kasu honetan, tumore gunean jarduera immunitarioa ikusiko da baina honek ez dio tratamendu immunomodulatzaileari erantzungo.(7) Hau ulertzeko, garrantzitsua da T zelula bidezko immunoterapiaren funtzionamendu egokirako beharrezkoak diren hiru pausoak ezagutzea: Lehenbizi, T-zelulak zelula antigeno erakusle profesionalak erakusten dituzten antigenoen bidez aktibatua izan behar dira. Bigarren, organo linfoide sekundarioetara heldu ondoren, T zelulek tumore zeluletaraino iritsi behar dute, horretarako tumoreraino iritsi, mikroingurunea igaro eta zeluletaraino iritsi behar dira. Eta azkenik, T-zelulen errezeptoreak tumore zelulen gainazaleko peptidoetara (ituetara) lotu behar dira granulo litikoak askatu eta hauek tumore zelulak kaltetzea lortzeko.(7, 8) Naturalki hartutako erresistentzien mekanismoa guztiz ezagutzen ez bada ere, pentsatzen da arazoa tumore mikroingurunean T-zelulek duten jarduerarekin erlazionatuta dagoela.(7)

### **1.2. Erresistentzia mekanismo genetikoak eta ez-genetikoak**

Fenomeno hau genetikaren ikuspegitik behatzerakoan, beste sailkapen posible bat lortzen da. Minbizi geneen aldaketetan eta zelulen erreplikazioan oinarritzen den gaixotasun genetiko kontsideratzen denez, tratamenduarekiko erresistentziak aldaketa genetikoaren ondoriozkoak kontsideratu izan dira denbora luzean, hala ere, geroz eta gehiago onartzen ari da faktore epigenetiko edo zelula plastikotasuna bezalako mekanismo ez genetikoak ere erresistentzien eragileen artean daudela.(5, 6)

Bata agertzeak ez du bestea agertzea eragozten, geroz eta azterketa gehiagok erakusten dute mekanismo genetikoak eta ez-genetikoak elkarrekin agertzen direla. Farmako erresistentzia azaltzen duen modelo genetiko/epigenetiko dualak, honakoa defendatzen du: hasierako erresistentzia intrintsekoek minbizi zelula talde batek tratamenduari bizirautea ahalbidetzen dute hauetako batzuek mutazio edo aldaketa epigenetiko berriak lortu arte,

horrela tratamenduarekiko erresistente bihurtu eta tumorearen progresioa ahalbidetzen dute.(5, 6)

### **1.3. Tratamenduarekiko erresistentziaren ikuspegi multifaktoriala**

Erresistentzien sailkapena edonolakoa izanda ere, argi dagoena da erresistentzia eragin dezaketen mekanismoak oso ugariak direla. Hauek gainera, tumore-zelulen ezaugarriek eragindakoak izateaz gain, tumore mikroingurunearen, barrera fisikoen zein erabili nahi diren farmakoen ezaugarri farmakozinetikoen eragindako mekanismoak izan daitezke.(3) Tumore zelulekin erlazionatutako mekanismoen artean, mintz proteinek erlazionatutako aldaketak, itu farmakologikoarekin erlazionatutakoak, tumore barruko heterogeneotasuna, DNAREN konponketa, zelularen bizi-zikloaren eta apoptosi prozesuaren aldaketak, aldaketa epigenetikoak eta tumore-zelula amen existentzia bezalakoak daude.(2, 3, 9)

Barrera fisikoetaz ari garelarik bi mekanismo nagusi agertzen dira, alde batetik, tumorea farmakoa iritsi ezin den leku batean (nerbio sistema zentrala edo peritoneoa bezalakoak) egotearen ondoriozko erresistentzia; eta bestetik, tumore barruko perfusio aldatuen ondorioz farmakoa tumore-zelula talde batzuetara ez iristearen ondoriozkoak.(3, 10) Tumore mikroingurunearekin eta sistema immunearekin erlazionatutako auto antigenoen adierazpena, tumore-kontrako jardura immunearen murriztea eta immunodeprimitutako mikroinguruneen (immune deserts) agerpena bezalako mekanismoak aurkitzen dira.(3, 7) Ezaugarri farmakozinetikoen farmakoaren askapena, xurgapena zein distribuzioa baldintzatuko dutenez, ekintza mekanismo egokidun baina ezaugarri farmakozinetiko ezegokiko farmako bat erabili ezin izatea gerta daiteke; hauek hala ere, tratamendua hasi baino lehen ebalatuak izan ohi dira.(10)

Erresistentziak hartutako edo berezko bezala sailkatzen ahal badira ere, gaixotasunaren garapenaren errealitatean bi-biak elkarrekin konbinatuta agertzen dira.(3) Era berean, genetiko edo ez-genetiko bezala sailkatzen direnean ere, errealitatean hauek ere konbinazio gisa agertzen dira.(5, 6) Gainera, erresistentzia eragiten duten, eta berriro ere elkarrekin konbinatuta agertuko diren hainbat erresistentzia mekanismo daudela jakina da. Baita ere, modu orokor batean esan daiteke farmakoekiko erresistentziak tumore-zelulen material genetikoaren egonkortasunarekiko, ezegonkortasun genomikoarekiko, kimioterapiarekiko/immunoterapiarekiko, farmakoen ekintza-mekanismoarekiko, hartutako dosiarekiko eta tratamenduaren posologiarekiko zuzenki menpeko direla.(2) Hau guztia kontuan izanik, argi geratzen da minbizien tratamenduarekiko erresistentziaren fenomeno arazo multifaktorial bat dela.(5, 6)

## **2. HELBURUAK**

Lan honetan minbizietan tratamenduarekiko erresistentzia eragiten duten mekanismo nagusien azalpen laburra egingo da ondotik minbizi barneko heterogeneotasunak, modulazio epigenetikoak eta minbizi zelula amek erresistentzia horietan daukaten eragina sakonago azaldu ahal izateko. Hiru mekanismo hauek zer diren eta tratamenduarekin nola erlazionatzen diren azalduko da hauen garrantzia aipatuz. Hau egiteko helburuarekin, Pubmed edo Web Of Science bezalako datu baseetan eskuragarri dauden argitalpen zientifikoen berrikuspen bibliografikoa egingen da.

## **3. ERRESISTENTZIA MEKANISMO EZAGUNENAK**

Minbizietan farmakoekiko erresistentzia eragin dezaketen mekanismoak oso ugariak dira eta askotan ez dira guztiz ezagunak. Hauen ugaritasunaz gain, kontuan izan behar da gehienetan aldi berean eta elkarri konektatua agertzen direla eta honek mekanismo desberdinen arteko muga ongi ez bereiztea eragin dezakeela. Hemen, gero sakonago azalduko diren hiru mekanismoak, hau da, tumore barneko heterogeneotasuna, faktore epigenetikoak eta minbizi zelula amak ez diren beste zenbait mekanismoren laburpena egingen da.

### **3.1. Mintz proteinek in erlazionatutako mekanismoak:**

Farmakoekiko erresistentzia mintz proteina garraiatzaileen (ingelesez DRAMP) menpekoa izan daiteke; hauek farmako molekulak zuzenean zelulatik kanporatuz edo barruko pilaketa zeharka baldintzatuz eragiten dute erresistentzia. Bi DRAMP mota nagusi daude, farmako hidrofoboak zelula barrutik kanporatzen dituzten ATP-binding cassette (ABC) garraiatzaileen familia eta farmako hidrofoboen barneratzea eragozten duten solutu eramaile garraiatzaileena (SLC). (2, 10)

Bi hauetatik egokien ezagutzen dena ABC familiaren jardura da, SLCEk minbizi tratamenduetan duten eragina, aldiz, ez da ongi ezagutzen. ABCen artean P-glycoproteina (P-gp) da kanporatze ponpa nagusia; minbizi zeluletan hauen espresio areagotua farmakoekiko sentikortasun murriztuarekin eta berreritzeekin erlazionatua dago eta erresistentzia bide nagusia da vinka alkaloideak, antraziklinak, taxanoak eta kinasa inhibitzaileak bezalako hainbat farmakoetarako, hauek bezalako molekula hidrofoboak lotu eta kanporatzeko ahalmena baitute. P-gp espresio areagotua bular-minbizietan, obulutegi zein barrabil minbizietan, leuzemietan, gibel eta kolon minbizietan, minbizi-pankreatikoan eta giltzurrun-minbizia bezalakoetan ikusi da, eta hauek tratamenduarekiko garatzen dituzten erresistentziarekin erlazionatzen da. (9-11) Aipagarria da, gainera, P-gp-ren espresioa kimioterapiak berak induzitu dezakeela. (10)

### **3.2. Itu farmakologikoarekin erlazionatutakoak:**

Farmakoaren ituaren egituraren aldaketek edo honen espresioaren aldaketek tratamenduaren eraginkortasuna baldintza dezakete, honela erresistentzia mekanismo bihurtuz.(9, 10) Uste da aldaketa hauek tratamenduaren aurretik ere egon daitezkeela maila txiki batean eta terapiaren ondorioz zelula hauen aukeraketa gertatzen dela.(10)

Itu proteina ugariak eta elkarrekiko oso desberdinak daudenez, mekanismo desberdinen bidez egon daitezke aldatuta: gene espresio gutxitua eta ondoriozko itu kopuru baxua, gene anplifikazioa, konformazioa aldatzen duten mutazioak eta moztitsasketa alternatiboa duten formak esaterako.(10)

### **3.3. Barrera fisikoak eta Farmakoa zeluletara iristeko zailtasuna:**

Gehienetan kontsideratzen direnak mekanismo molekularrak eta zelularrak badira ere, askotan tratamenduarekiko erresistentzia arrazoi farmakozinetikoen eta zailtasun fisikoen ondoriozkoa da. Arazoen artean emate-bidearen araberako xurgapen arazoak, lehen pauso hematikoaren ondoriozkoak eta beste farmakoekin eman daitezkeen interakzioak daude. Hauek printzipioz plasma kontzentrazioak behatuz eta dosiak egokituz kontrolatu balitezke ere, beste farmakoekin ez bezala, tumore arkitektura eta mikroingurunearen ondorioz, farmako antikartzinogenikoetaz ari garelarik, gehienetan plasma-kontzentrazioa ez da ehun neoplasikoetan dagoenaren adierazle egokia izaten.(10)

Bestalde, tumore solidoen baskularizazioa ez da guztiz egokia izaten, eta horri drainatze linfatiko ezegokiak eta hantura-zelula eta zelula-mesenkimatikoen infiltrazioak gehitzaerakoan, tumoreetan tipikoki ikusten den farmakoaren distribuzio baxu eta heterogeneoak gertatzen dira. Arrazoa aztertu baino lehenago ere ikusita zegoen, nekrosi gune edo hipobaskularizatueta farmako kontzentrazioak odol-plasmakoak baino baxuagoak zirela.(2,10,11)

Begiak, barrabilak eta nerbio sistema-zentrala (NSZ) bezalako guneek odola eta gunearen arteko molekula igarotzea baldintzatuta dute, eta horrek farmako antikartzinogenikoen sartzea eta ondoriozko eragina murriztu dezakete horrela minbiziaren persistentzia ahalbidetuz. NSZren kasuan muga hesi hematoentzefalikoak da, eta honek odoletik garunerako molekulen igarotzea eragozteaz gain, molekula hauek odolerako kanporatzea eragiten du; azterketa desberdinen arabera, farmako antineoplasikoen garuneko kontzentrazioa baxua izaten da eta bideratutako farmako gehienek igarotzea ia ez da ematen.(12)



### **3.4. DNA konponketarekin erlazionatutako mekanismoak**

Farmakoaren eragin egokia izatea askotan DNA konponketa mekanismoek baldintzatzen dute, farmako horien eragin zitotoxikoa DNA kaltetzearen ondoriozko zelula heriotzan oinarritzen baita. Farmakoekiko sentikortasuna, beraz, hauek eragindako kaltea konpontzeko gaitasunaren arabera izanen da.(2,10)

Birkonbinaketa homologoak (BH) DNA kate bikoitzaren apurketak konpontzen ditu, platinozko kimioterapikoek eragiten dituztenak bezalakoak. Honen ondorioz, BH defizienteak diren zelulak kalte hauen eta platino kimioterapikoekiko sentikor diren bitartean, BH-ren goranzko erregulazioa dutenak kimioterapiko hauekiko erresistentziarekin erlazionatuta egongo dira. Esaterako, hasieran gradu altuko obarioiko minbizien (HGSOC) %50 EH-defizientea da BRCA proteinetan emandako aldaketengatik (epigenetiko eta somatiko) eta ondorioz platinodun molekulekiko sentikorra, baina tratamenduan zehar zelula askok erresistentziak garatzen dituzte mutazioek proteina horietan konponketak eragitearen ondorioz.(13)

### **3.5. Apoptosiaren desregulazioa:**

Erresistentziaren garapena zelulen apoptosi prozesu disfuntzionalaren ondorio izan daiteke; egoera normal batean DNA kaltearen ondoriozko zelula heriotza ematen da eta honen funtzio txarrak zelularen biziraupena eta minbiziaren aurrera egitea ahalbidetzen dute. Proteina antiapoptotiko baten edo gehiagoren gain-espresioak, proteina pro-apoptotiko baten edo gehiagoren azpi espresioak edo bien konbinazioak apoptosi prozesu hori deseregulatu dezake.(10)

Kaspasak apoptosi prozesuan parte hartzen duten proteina talde oso garrantzitsuak dira, apoptosiaren hasieran eragile bezala (hasiera kaspasak) zein zelula zatien apurketan berean (kaspasa efektoreak) parte hartzen baitute. Proteina hauen maila baxuak apoptosia murriztu eta erresistentziak eragin ditzake beraz. Baita, apoptosiaren kanpo bidea erregulatzen duten herio-hartzaileen funtzio aldatu edo gutxituek ere, apoptosiaren murrizpena eta farmakoekiko erresistentzia eragin dezakete.(10)

Apoptosiaren induktore den eta zelula zikloaren erregulazioan zein beste zelula prozesuetan parte hartzen duen p53 proteina, proteina tumore-ezabatzaile bezala ere ezagutzen dena, oso garrantzitsua da. Proteina honetan ematen diren mutazioek tumorigenesian parte hartzeaz gain (minbizien %50ean agertzen dira proteina honetan akatsak), minbizi askotan erresistentzia mekanismoetan parte hartzen du. Adibidez, ikerketa batzuetan p53ren espresio aberranteak ikusi dira melanoma zeluletan erresistentziarekin erlazionatuta egon daitezkeenak.(2, 10)

### **3.6. Mikroingurunea**

Mikroingurunearen ondoriozkoak izan daitezkeen zelula-proliferazio geldoa eta odoleztapen txarra molekularki bideratutako tratamenduarekiko erresistentziarekin erlazionatuta daude. Gainera, zelula arteko atxikipena, hazkuntza-faktoreak, zelula hurbiltasuna, energia eta oxigeno eskuragarritasuna bezalako beste faktore batzuekin batera, farmako antikartzinogenoen eragin murriztuan inplikatuta daude.(2)

Oxigeno murrizpena erresistentziak eragiten dituzten geneen aktibazioarekin lotuta dago. Gainera, farmako antikartzinogeno batzuek oxigeno eskuragarritasuna murrizten dute eta minbizia jarduerarik gabeko egoera batean utzi dezakete, gerora berpiztu eta berriro erreplikatu dena.(2)

Farmako batzuen zitotoxikotasuna mikroingurunearen pHak baldintzatuta dago. Zelula mintzean zehar difusio pasiboz garraiatzen diren molekulak forma ez-ionizatuan pasatzen dira errazago, ondorioz pH eta farmakoaren pKa-ren arabera sartuko dira tumore-zeluleta eta zitotoxikotasun hobea izanen dute; 9 inguruko pKa duen Doxorubicin farmakoak adibidez, ingurune alkalinoan errazago igaroko du mintz plasmatikoa. Bestalde, ikusi da pH azidoko mikroinguruneak farmako jakin batzuen garraio aktiboa inhibitu dezakeela, metotrexatoaren garraioa esaterako.(2, 9)

### **3.7. Immunitate sistemarekin erlazionatutakoak:**

Immunitate sistemarekin erlazionatutako erresistentziak immunitate sistemaren eragin antitumoral lokal edo sistemiko okerraren ondoriozkoak izaten dira.(7)

Arazo sistemiko motetako bat gorputza kanpo antigeno desberdin askoren kontra erantzun immune eraginkor bat erakusteko gai ez denean agertzen da, esaterako GIB duten edo transplantatuak izan diren eta oso immunodeprimetuta dauden pertsonetan. Baita ere, kanpo antigenoekiko erantzun immune nahikoa eragiteko gaitasuna galdua duten adindu batzuetan, seguruenik ere T zelula kopuru totala murriztua izateagatik. Pentsatzen da paziente hauek minbiziari kontra egiteko gaitasun immune nahikoa ez dutela eta beraz terapia immunitarioa ez dela eraginkorra izanen.(7)

Beste erresistentzia sistemiko modu bat kanpo antigeno kontsideratzen diren antigeno gutxi adierazten dituzten minbizi /tumoreen kasuan ematen da. Edo baita autoantigenoak espresatzen dituztenean ere; T zelulek tolerantzia garatzen dute autoantigenoekiko gorputzari berari ez erasotzeko eta ondorioz neoplasia hauen kontra ez dute eragin askorik izanen.(7)

Erresistentzia lokala ere hainbat modutan ager daiteke, esaterako infiltrazio linfotiko eza, mikroinguruneak eragindako T zelulen funtzio egokia eragozteak edo mikroingurunean inhibizio molekularak eragitearen ondoriozkoak.(7)

Azkenik, berezko erresistentziak eta hartutako erresistentziak aipatzea beharrezkoa da. Lehena, jada azaldu den bezala, ez du immunoterapiak eragiten, sistema immuneak berez eragindako presioak baizik, eta bigarrena, terapiaren ondorioz jada erresistenteak ziren klon jakin batzuk aukeratzea ematean gertatzen da. Aipatzekoa da immunoterapiak eragindako erresistentziak urteak iraun badituzkete ere talde txiki batzuetan tolerantzia hau denboraldi baterako bakarrik dela.(7)

#### **4. TUMORE BARNEKO HETEROGENEOTASUNA, MODULAZIO EPIGENETIKOA ETA MINBIZI ZELULA AMAK**

Lan honetan sakonduko diren tratamenduarekiko 3 erresistentzia mekanismoak tumore barneko heterogeneotasuna, modulazio epigenetikoak eta minbizi zelula amak dira. Hauek ez dute zelula bat erresistente egiten duen mekanismo bakarra azaltzen, eta, minbizia osotasunean erresistente egiten duten ezaugarriak barneratzen dituztelako aukeratu dira. Bai eta hiruk elkarren artean erlazionatuta daudelako ere.

Azalduko den bezala, 3 hauek jada aipatu diren mekanismo gehienak barneratzen dituzte. Tumore barneko heterogeneotasunari dagokionez, honen ondorioz, minbiziko zelula desberdinek erresistentzia mekanismo desberdinak erakutsiko dituzte, elkartzerakoan tratamenduarekiko erresistentzia eragin dezaketenak. Modulazio epigenetikoan, emandako aldaketek gene desberdinak aktibatu edo isiltzearen bitartez jada aipatutako mekanismoak aktibatu ditzakete. Eta azkenik, minbizi zelula amek, beren berezko ezaugarrien artean mekanismo hauek erakutsiko dituzte, tratamenduarekiko berezko erresistentzia erakutsiz eta minbizia erresistente izatean parte hartuz.

Hiru mekanismo hauek elkarrekin erlazionatuta daude gainera, tratamenduarekiko erresistentzia arazo multifaktoriala denaren erakusle. Modulazio epigenetikoek eta tumore zelula amek minbizi barruko heterogeneotasuna eragin dezakete eta era berean tumore zelula amek ezaugarri epigenetiko bereizgarriak erakutsiko dituzte.

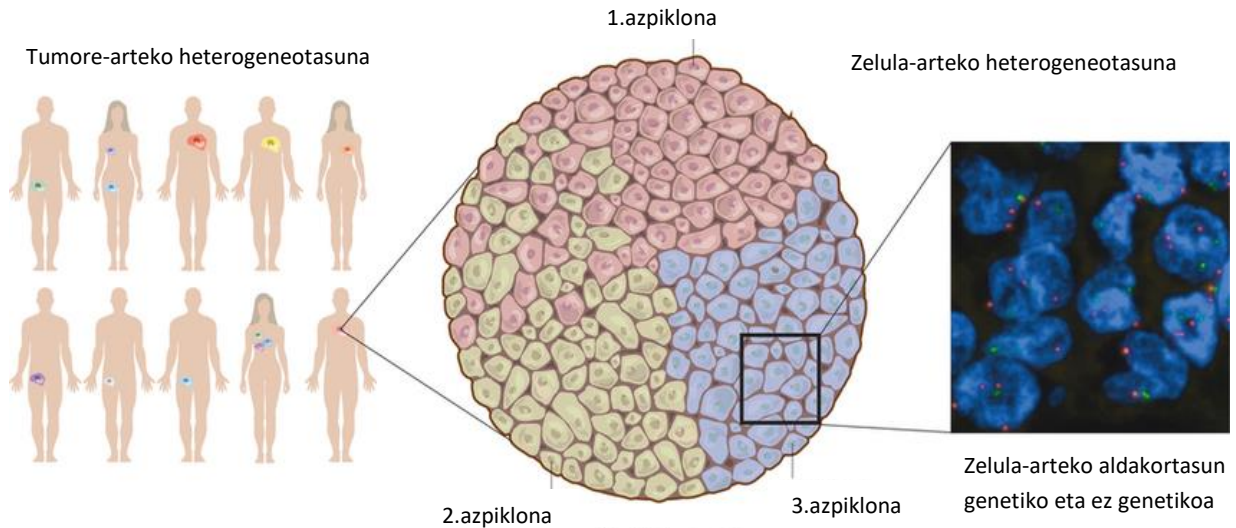
##### **4.1. Tumore barneko heterogeneotasuna**

Jakina da minbizi ehunak heterogeneoak direla, minbizi zelulez gain, mesenkima-zelulak, odol hodi zelulak eta gehiagoz osatuak egoteaz gain, minbizi zeluletan beretan ere desberdintasunak aurkitzen dira. Pertsona desberdinen minbizien zein pertsona beraren tumore desberdinen artean existitzen den dibertsitate handi honek inplikazio asko dauzka

minbizien tratamenduen porrotarekin zein tratamenduekiko garatzen diren erresistentzietan.(6, 14) Fenomeno hau aspaldidanik ezagutzen da morfologiari dagokionean baina gaur egun jakina da zelulen arteko heterogeneotasuna genetikaren, epigenetikaren eta fenotipoaren mailan ere agertzen dela.(15)

Lan honetan bereziki landuko dena tumore-barneko heterogeneotasuna (TBH) da, baina honen inguruan hitz egin ahal izateko, tumore-arteko heterogeneotasuna eta paziente-arteko heterogeneotasuna kontzeptuak ere azaldu behar dira.(6, 16) **Tumore-barneko heterogeneotasuna** tumore jakin baten zelulen artean dagoen aldakortasun genetikoa eta fenotipikoa da, **tumore-arteko heterogeneotasuna** pertsona bereko baina gune desberdineko tumoreen arteko zeluletan ikusten den aldakortasun genetikoa eta fenotipikoa, eta azkenik, **paziente-arteko heterogeneotasuna**, pertsona desberdinetan dauden tumore berdinen artean existitzen den aldakortasuna da.(16) Ikusi 1.irudia

Tumore-barneko heterogeneotasuna minbizien berezko ezaugarria da, minbizi garapenean eta progresioan ematen diren aldaketen ondoriozkoa baita maila handi batean. Heterogeneotasuna gainera, ez da ezaugarri konstante bat, hau denboran zehar eta minbizia aurrera doan heinean aldatuz joaten da, bai eta tratamenduaren ondorioz edo metastasia gertatzean ingurune aldaketaren ondorioz ere.(6)



**1.Irudia:** Tumore barneko heterogeneotasuna eta tumore-arteko heterogeneotasuna. (16) artikulutik moldatua.

Tumore barneko heterogeneotasuna hainbat minbizitan egindako ikerketetan ikusi da. Horien artean, 21 bular minbizitan egindako ikerketa batean ikusi zen tumore guztietan azpiklon nagusi bat bereizten bazen ere, klon desberdinak agertzen zirela guztietan. Ikusi da baita ere, minbizien bereizgarri (hallmark) kontsideratzen diren gene askoren (RAS, ziklinak,

c-KIT eta antzerakoak) espresioa tumore bereko gune desberdinen artean ez dela berdina.(14)

#### **4.1.1. Tumore-barneko heterogeneotasunaren eragileak:**

Heterogeneotasuna eragiten duten faktoreak oso ugariak diren arren bi taldetan sailka daitezke. Alde batetik, faktore zelula-autonomoak edo intrintsekoa egongo dira, eta bestetik, faktore ez zelula-autonomoak edo estrintsekoak. Lehenak zelularen genetikaren edo epigenetikaren ondoriozkoak dira, bigarrenak, aldiz, kanpo faktoreen ondoriozkoak.(14, 15)

Zelulen faktore intrintsekoen artean, DNAREN erreplikazioan ematen diren akats txikien mantentzea, aldaketa epigenetikoak, ezegonkortasun genomikoa, DNAREN erreplikazioan emandako akats handiak eta minbizi zelula-amen existentzia daude besteak-beste. Faktore estrintsekoen artean, aldiz, minbizi zelula-amen existentzia, tumorearen barruan ingurune desberdinak egotearen ondoriozko klon jakinen aukeraketa, azpiklonen arteko interakzioak eta lehia, zein zelularen eta ingurunearen arteko interakzioak egonen dira.(6, 15, 17)

Minbizia etengabeko eboluzioan dagoen ehun bizi bat denez, bertako zelulek etengabe interaktzionatuko dute bai elkarren artean bai eta ingurunearekin ere, horrela, elkarren eboluzioa une oro baldintzatuz. Honek esan nahi du heterogeneotasunaren eragileak bi taldetan banatu badaitezke ere, elkarrekin erlazionatuta egonen direla beti. Faktore intrintsekoek eragindako aldaketak momentuko testuinguruaren arabera izanen dira onuragarriak edo ez eta, beraz, mutazio berriak ingurunearen arabera mantenduko dira. Era berean, faktore estrintsekoek testuingurua aldatzearen ondorioz baldintzatuko dute eboluzioa.(15)

Eragile hauetako batzuen eraginbidea erraz ulertzen den bitartean, besteena konplexuagoa izan daiteke. DNA sekuentzian emandako aldaketek (txiki zein handiek), honen adierazpena baldintzatzen duten aldaketa epigenetikoek edo erreplikazio akatsek ezaugarri desberdineko zelulak sortarazten dituztela erraz ikusten da. Ezegonkortasun genetikoa, klon arteko lehiak edo zelula-inguruneak heterogeneotasuna baldintzatzeko duten moduak, ordea, azalpen luzeagoa merezi dute.

Berezko eragile garrantzitsuenetakoa ezegonkortasun genomikoa da. Honek aldaketa genomikoa hartzeko joera handituari egiten dio erreferentzia eta minbizi guztiek maila batean edo bestean erakusten dute. Zelula funtzioaletan genomaren egokitasuna mantenduko duten mekanismoak daude eta hauetan ematen diren aldaketak izanen dira ezegonkortasun honen eragile. Ezegonkortasun hau base nitrogenatu mailan ematen diren mutazio txikiak, DNA sekuentzia handiagotako aldaketak, kromosoma zati handien mutazioak, kromosoma osoen bikoizketa edo ezabatzea bezalakoak, bai eta konponketa

mekanismoen disfunczioak bezalako mekanismo desberdinek eragin dezakete; hauek minbizi zelulen erreplikazio maila handituaren ondoriozko estresak eraginak izan ditzakete.(15, 16, 18)

Beste eragileetako bat zelulen arteko interakzioak dira. Ideia hau errazago ulertzeko, kartzinogenesiari Darwinen ideiak aplikatu eta prozesu ebolutibo bat dela kontsideratzea komeni da. Minbiziaren garapenean zehar zelula somatikoek prozesu kartzinogenikoa gertatzea ahalbidetuko duten ausazko mutazio desberdinak bereganatzen dituzte, zelula guztietan berdinak izanen ez direnak, eta ezaugarri lagungarriak eskuratu dituztenek errazago biziraungo dute. Zelula talde guztiak berdinak izanen ez direnez, bizirauteko elkarren arteko lehian egongo dira.(15)

Ideia honekin jarraituz, minbizi zelula azpliklon taldez osatuta dagoela eta hauen arteko interakzioak hainbat inplikazio garrantzitsu izanen dituela kontuan hartu behar da. Alde batetik, ikusi da minbizi zelulek elkarren arteko biziraupena mantentzea ahalbidetzen duten faktoreak askatzen dituztela eta zelula populazio txikiak ez direla minbiziaren bizirautea bermatzeko bezainbeste faktore isurtzeko gai eta ondorioz, populazioaren tamainak minbiziaren biziraupenerako garrantzia izanen du. Bestetik, minbizi zelula klonen arteko interferentziak daude. Zelula azplikonek elkarrekin lehiatu behar dute bizirauteko beharrezkoak dituzten mantenu gaiak, oxigenoa eta espazioa bezalakoak lortzeko, ondorioz, gaitasun antzekoa duten hainbat azpliklon daudenean, elkarren arteko lehiak hauen hazkuntza oztopatuko du zelula talde bakoitzaren, eta ondorioz minbiziaren, hazkuntza totala nolabait kontrolatuz.(15)

Faktore estrintsekoei dagokienez, mikroinguruneak minbizi zeluletan daukan eragina nabarmentzen da. Minbizi zein tumoreek hazkuntza anormalak izanik, mikroingurune heterogeneoa izatea eragiten duten hainbat faktore agertzea ohikoa da; hauek heterogeneotasuna eragingo dute minbizi zelulak ingurune desberdinetan egoteagatik ematen den zelula desberdinen aukeraketaren ondorioz. Esaterako, tumore solidoen baskularizazio desordenatuaren eta hauen funtzionaltasun kaltetuaren ondorioz, tumore beraren barruan ongi baskularizatutako eta gaizki baskularizatutako guneak egotea ohikoa da. Gaizki perfunditutako guneak hipoxikoak izanen dira eta metabolizazio anaerobioa duten zelulak aukeratzea eragingo dute, ongi baskularizatutakoetan, aldiz, metabolizazio aerobikokoak aukeratuko dira. Hau hainbat ezaugarriekin gertatuko da, azidotasuna, oxidazio-estresa zein hazkuntza hormonak.(14)

#### **4.1.2. Tumore-barneko heterogeneotasunak tratamenduan daukan eragina**

Askotan, minbiziak daukan eboluzioa eta prognostikoa honek erakusten duen heterogeneotasunaren arabera da. Zelula oso homogeneoko minbizi batean, guztiek

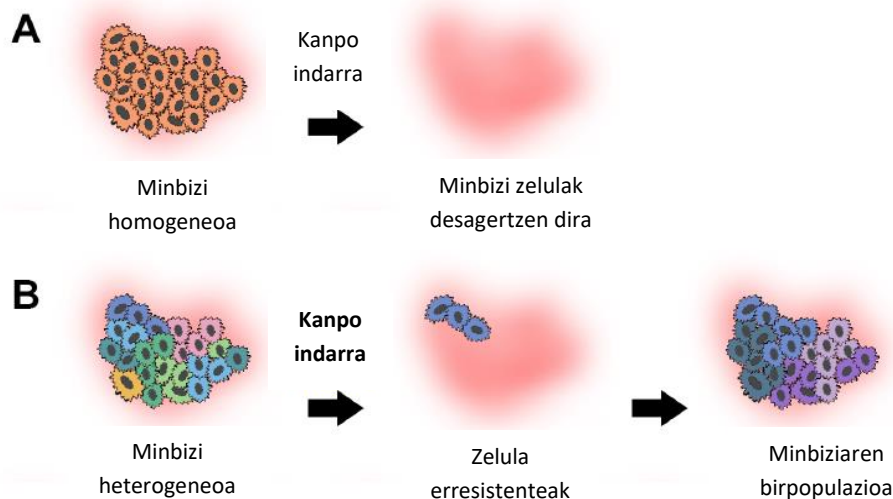
terapieko fenotipo sentikorra edo guztiek erresistentea izanen dute, eta tratamendua bezalako kanpo faktore baten aurrean denek modu antzekoan erantzuko dute. Zelula heterogeneoko minbizi baten kasuan, aldiz, probabilitate asko daude hauen azpipopulazioen bat erresistentea izateko eta tratamendua bizirauteko. Horregatik, heterogeneotasuna erakusten duten tumoreek aukera gehiago dute metastasiak edo erresistentzia garatzeko, beraz, prognosi okerragoa izanen dute berez.(15) Ikusi 2.irudia

Enpirikoki hau ikusten da: pronostiko txarra duten bular minbizi askok dibertsitate klonal handia dute. Heterogeneotasun handia erakusten duten leuzemia mieloideak, lepoko minbiziak, obulutegi minbiziak eta birika minbiziak biziraute maila txarragoa erakusten dute orokorrean. Ikerketa hauek erakusten dute heterogeneotasun maila prognosirako markatzaile bezala erabili daitekeela.(15)

Azaldu den bezala, minbizi gehienetan, elkarrekin interakzionatzen duten eta bizirauteko lehia konstantean dauden zelula azpipopulazio desberdinak agertzen dira eta mantengai, oxigeno eta espazioa lortzeko lehia honek azpipopulazioen hazkuntzaren nolabaiteko kontrola eragingo du. Minbizi/tumore beraren barruan farmakoekiko erresistenteak diren zein farmakoekiko sentikorrak diren azpipopulazioak agertuko dira eta elkarrekiko lehiaren ondorioz azpipopulazio sentikorrak azpipopulazio erresistentearen hazkuntza kontrolatuko du horrela minbizia totalean erresistente bihurtzea eragotziz. Azpipopulazio sentikorrak desagertzen badira, tratamenduaren eraginez adibidez, azpipopulazio erresistenteen kontrolik gabeko hazkuntza gertatuko da (6, 15)

Minbizi heterogeneo bat tratatzen denean, farmakoarekiko sentikorrak diren azpipopulazioak eliminatuko dira eta azpipopulazio sentikorren selekzio positiboa gertatuko da. Hasiera batean, honek heterogeneotasuna murriztuko du baina azpipopulazio erresistentea mantendu denez, eta jada gainerako zelulekin lehiatu behar ez duenez, berriro hazi eta minbizi erresistentea sortzea eragingo dute. Gainera, hazkuntza berriak heterogeneotasuna eraginen du berriro hartutako mutazioen bitartez. Gertaera hau oso arrunta izango da gehienetan aukeratzen diren dosi maximo posiblea erabiltzen duten terapien kasuan; tratamendu bortitzak minbizi zelula kopuru handiak hilko ditu denbora laburrean baina azpipopulazio erresistenteen aukeraketa eta ondorengo terapiaren porrota eragin ditzake.(6, 15) Ikusi 2.irudia

Gertaera hau birika minbizi, leuzemia eta melanoma bezalako minbizietan ikusi da.(15) Esaterako, erradiazioaren edo ziklofosfamidekin tratatuko bular minbizian, kartzinoma kolorrektalean eta glioblastometan minbizi zelulen areagotzea ikusi zen.(14)



**2.Irudia:** Minbizi barneko heterogeneotasunak tratamenduan daukan eragina.(A) bezalako minbizi homogeneo eta sentikor bati tratamendua bezalako kanpo indar bat aplikatzean, populazio guztia hilko da, (B) bezalako minbizi heterogeno batean kasuan, aldiz, aurretik erresistenteak ziren zelulek biziraun eta minbizia birpopulatuko dute. (15). artikulutik moldatua

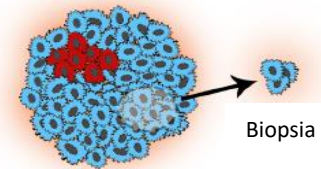
Heterogeneotasun maila altua, beraz, prognosi txarrarekin erlazionatua dagoela esan daiteke. Hala ere, DNA konponketa mekanismoak kaltetuta dituzten eta berez heterogeneotasun handia erakutsi beharko luketen tumore batzuek prognosi ona dute eta, bestalde, heterogeneotasun maila altuarekin erlazionatzen den ezegonkortasun kromosomiko altua duten bular minbizi batzuek prognosi hobea dute ezegonkortasun maila ertaina dutenek baino. Hau gertatzearen azalpen posible desberdinak daude: Heterogeneotasun maila handiak minbiziaren handitzea eragotzi dezaketen klonak egotea eragin dezake, mutazio maila handiak hazkuntza eragotziko lukeen immunogeneizitate handia izatea era eragin lezake edo, baita ere, DNA konponketan arazoa duten minbizi zelulak sentikorragoak dira DNA apurketa eta zelula apoptosi bidez funtzionantzen duten hainbat tratamendurekiko.(15)

Minbizi-barneko heterogeneotasunak prognosia egiteko eta tratamenduak aukeratzeko orduan ere garrantzi handia du. Prognosiak egiteko hainbat ezaugarri erabil daitezke, horien artean, hedapena, tamaina, edo metastasien garapena bezalako ezaugarrien arabera minbiziaren estadio eta gradutan sailkatzea, markatzaile molekularrak (estrogeno hartzaileak edo progesterona hartzaileak besteak-beste) edo azken aldian erabiltzen ari den eta klon erresistenteak bereizteko erabil daitezkeen analisi genetikoak daude.(15)

Behaketarako zelula kopuru txikiak bakarrik erabiltzen direnean, esaterako biopsia puntualak egiterakoan, minbizietan prognosi egokia lortzeko arazoak egon daitezke, kasu hauetan, prognostikoa hartutako zelulek erakusten dituzten ezaugarrien arabera izanen baita gainerako zelulen ezaugarriak kontuan hartu gabe. Minbizi homogeneoetan honek ez du



arazorik sortuko baina minbizi barneko heterogeneotasuna erakusten dutenen kasuan gune desberdinek prognosi desberdina adierazi dezakete eta ondorioz biopsia puntual bakarra egingo balitz informazio garrantzitsua galdu liteke.(15) Ikusi 3.irudia



**3.Irudia:** Zelula sentikorak (urdinak) bakarrik hartzean zelula erresistenteen (gorriak) informazioa galduko da pronostikoa okerrekoa izatea eraginez. (15). artikulutik moldatua.

## **4.2. Faktore epigenetikoak**

Aldaketa epigenetikoak DNAREN egituran gertatzen diren eta sekuentzian aldaketarik eragiten ez duten aldaketa egonkor eta heredagarriak dira. Erregulazio epigenetikoaren barruan, DNAREN metilazioa, histonetan emandako aldaketak, kromatinaren egitura modulatzailerak eta mikroRNA-ak daude. Hauek zelula arruntetan gene adierazpena erregulatzen badute ere, minbizi zeluletan ustekabean gerta daitezke eta zelulei bizirauteko abantailaren bat eman gene tumore-ezabatzaileak isilduz edo DNAREN konponketa genetiko aldaketak eraginez; minbizien tratamenduarekiko erresistentziaren eragile ere izan daitezke.(17, 19, 20)

Orokorrean, tratamenduak aldaketa epigenetikoak eragingo ditu eta hauek, erresistentzia mekanismo desberdinen aktibazioa eragin dezakete mintz garraiatzaileak, gene proapoptotikoak zein DNAREN konponketan parte hartzen duten geneen espresioa aldatuz. Hau da, tratamenduren ondorengo modulazio epigenetikoek hartutako erresistentzia eragin dezake.(6, 19)

Aipagarria da, baita ere, aldaketa epigenetikoek jada aipatutako tumore-barneko heterogeneotasunaren sorreran parte hartzen dutela. Minbizi prozesuan gerta daitezkeen aldaketa epigenetikoek minbizi zeluletako batzuen biziraupena hobetzen dute, eta aldaketak heredagarriak direnez, denboran zehar mantenduko dira heterogeneotasuna eraginez.(21)

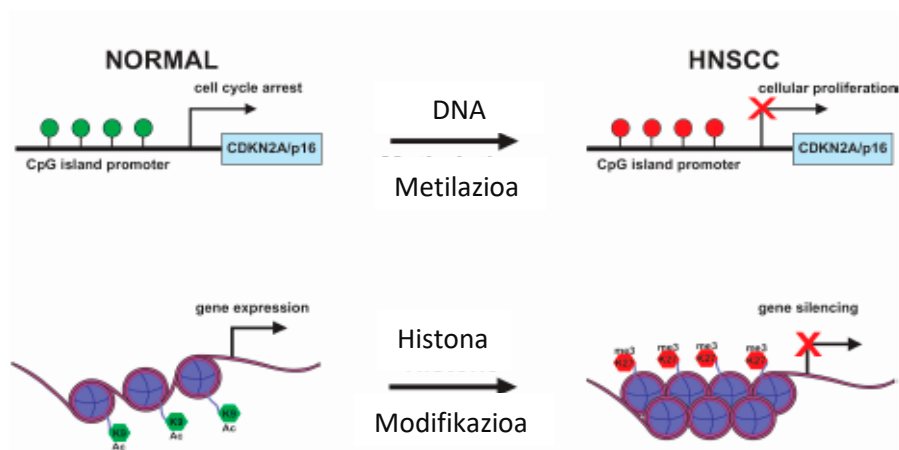
Aipatu bezala, modulazio epigenetikoaren artean honakoak ditugu: DNAREN metilazioa, histonen modifikazioa, kromatinaren modulatzailerak eta mikroRNA ez kodetzaileak. Atal honetan, hauek zer diren eta minbizi tratamenduaren erresistentzian nola parte hartzen duten azalduko da.

### **4.2.1. DNAREN metilazioa:**

DNAREN metilazioan, geneen gune sustatzaileetan ugari diren CpG dinukleotidoen (CpG irlak) zitosina hondarretan metilazioa ematen da, edo beste modu batetara esanda, DNA metiltransferasa entzimak bideratuta, zitosina hondarri CH<sub>3</sub> talde bat lotzen zaio kobalentekei. Honek gene transkripzioa inhibitzen du dagokion genearen isilaraztea eraginez.(17, 19) Ikusi 4.irudia

DNAren metilazio aldaketak minbizietan ikusi ziren lehen aldaketa epigenetikoak izan ziren eta hobekien ezagutzen direnak dira. Bi modutara parte har dezakete kartzinogenesisian, alde batetik, hipometilazio orokorraren bidez ezegonkortasun genomikoan eta proto-onkogeneen aktibazioan parte hartuz, eta bestetik, gune jakin batzuetan gertatzen den hipermetilazioaren bidezko gene tumore-ezabatzaileen isilaraztearen bidez.(17, 20)

Minbizi askotan hipermetilazioa farmakoekiko erresistentziarekin erlazionatuta egoten da. Esaterako barrabil kartzinometan tratamenduarekiko erresistentzia bezalako ezaugarri kliniko desberdinak dituzten minbizien artean hipermetilazio profil desberdinak ikusten dira eta obulutegi minbizietan gene jakin batzuen hipermetilazioaren eta kimioterapiaren arteko erresistentziaren artean korrelazioa dago.(19)



4. irudia: DNAren metilazio prozesua eta Histonen modifikazio prozesua. (17). artikulutik moldatua

#### 4.2.2. Histona modifikazioa:

Zortzi histona azpiunitatek (2xH2A, 2xH2B, 2xH3 eta 2xH4) eta hauek inguratzen dituen DNA zatiak, kromatinaren unitatea dela kontsideratzen den nukleosoma osatzen dute. Bertan ematen diren aldaketa kobalenteak dira modulazio epigenetikoak eragiten dutenak; hauen artean aldaketa ohikoenak histona proteinen lisina aminoazidoen metilazioa, azetilazioa eta fosforilazioa daude eta arraroagoak badira ere ubikitinazioa, SUMOila zioa eta ADP errribosilazioa ere bai. (17, 19) Ikusi 4.irudia

Histona modifikazioek transkripzionalki aktiboa den eta aktiboa ez den kromatinaren orekan parte hartzen dute eta ondorioz geneen aktibazioa eta inaktibazioa eragin dezakete. Minbizi zeluletan ematen diren aldaketa hauek onkogeneen aktibazio, gene tumore-ezabatzaileen inaktibazioa edo DNAren konponketa mekanismoak aktibatu ditzakete besteak-beste.(22)

#### **4.2.3. Kromatina birmodelatzaileak:**

Kromatina birmodelatzaileak transkripziorako beharrezkoa den kromatinaren eskuragarritasunean parte hartzen duten proteinak dira. Hauen funtzionamendu okerrak gene transkripzioan parte hartzen duen makinaria deserregulatzen duenez, minbizi garapenean, progresioan eta tratamenduarekiko erresistentzian parte hartzen dute. Adibidez, RDF-1 birmodelatzailearen adierazpen kaltetuak erradioterapia zein kimioterapiarekiko erresistentzia areagotzen du, BRG1 eta BRM birmodelatzaileak zisplatino kimioterapikoekiko erresistentzia eragiten du buru eta lepoko kartzinoma batzuetan eta MTA1-ren gainespresioa kartzinoma nasofaringeoaren zisplatinoekiko erresistentziarekin lotua dago.(17)

#### **4.2.4. mikroRNA (miRNA):**

RNA ez kodetzaileak (ncRNAk) gene erregulazioan parte hartzen dute transkripzio, RNA prozesamendu eta itzulpenean, baina erregulatzaile epigenetiko bezala ere joka dezakete. ncRNA gehienek erregulazio epigenetikoan parte hartzen dute kromatinaren konformazio aldaketak eraginez, zonalde promotoreetan eragin eta transkripzioa oztopatuz.(17)

ncRNA desberdinak badaude ere mikroRNA (miRNA) izenekoak da ezagunenetakoa eta honen desregulazioak minbiziaren garapen, eboluzio, metastasi eta tratamenduaren erresistentziarekin erlazioa du. miRNA-ak 20-25 nukleotidoz osatutako eta proteinarik kodetzen ez duten ncRNA mota bat dira, gene adierazpenaren azpierreulazioa eragiten dutenak DNAREN transkripzioaren ondoren.(17, 19) miRNA-ek erresistentzia mekanismoekin erlaxionatuta dauden ABC familiako garraiatzaileen adierazpena erregulatzen du hainbat minbizi motetan, farmakoekiko sentikortasunean interferitzen du DNA konponketarekin erlaxionatutako hainbat gene erregulatuz eta minbizi tratamenduarentzat garrantzitsuak diren zelula heriotzeko mekanismotan ere parte hartzen du baita ere.(19)

Buru eta lepo minbiziko aldaketa epigenetikoaren inguruko berrikuspen baten arabera, karakterizatutako miRNA molekulen %10a terapiarekiko erresistente diren fenotipoen garapenarekin erlaxionatuta dago kanporatze ponpa, apoptosiaren disfuntzioa, zelula proliferazioa eta DNA konponketa mekanismoetan eragitearen ondorioz. Hauek eragiten duten erresistentzietako bat, miR-21, miR-23 zein miR-213 miRNA-en gainadierazpenen ondoriozko zisplatino bidezko tratamenduaren erresistentzia da. Artikulu berean, miRNA-ek buru eta lepo minbizietan bideratzen dituzten erresistentziak aipatzen dira, 1.taulan biltzen direnak.(17)

Aldaketa epigenetikoak, aldaketa genetikoak ez bezala, itzulgarriak dira. Aipatu den bezala modulazio epigenetikoa kartzinogenesiaren eta minbiziaren mantentzearen zati garrantzitsu

bat da, horren ondorioz, posible da kartzinogenesisia eragin duten modulazioen atzera-buelta eragiten duten farmakoak erabiltzean minbiziaren tratamendurako.(6)

**1.Taula:** Tratamenduarekiko erresistentziarekin erlazionatzen diren miRNA desregulazioa. (17). *artikulutik moldatua*

PROTEINA	EXPRESIOA	FARMAKO ERRESISTENTZIA
miR-21	Handitua	Zisplatinoa
miR-634	Handitua	Paklitaxela
miR-181a	Handitua	Zisplatinoa
miR-23a	Handitua	Zisplatinoa
miR-10b	Handitua	Zisplatinoa
miR-214	Handitua	Zisplatinoa
miR-200b	Gutxitua	Zisplatinoa
miR-15b	Gutxitua	Zisplatinoa

### **4.3. Minbizi zelula amak**

Egoera fisiologiko batean, gorputzeko ehunen mantentzea, bere burua berritzeko eta diferentziatzeko gaitasuna duten eta ondorengoak sortzeko gai diren zelula amei esker gertatzen da.(23) Minbizien garapena ulertzeko gehien erabiltzen den ikuspegia eboluzio klonalarena da, hau da, minbizi zelula guztiak baliokideak direla eta denek proliferatu eta tumore-zelula berriak sortzeko gaitasuna dutela defendatzen duena, baina honen bidez ezin da azaldu zergatik hainbat ikerketatan ausazko minbizi zelulek ezin zuten tumore berririk sortu.(24, 25) Ikerketa horien artean, in vivo minbizi hasarazteko minbizi zelula kopuru handiak behar zirela erakutsi zuen Bruce eta Van Der Gaag-ek eginiko entsegua edo 1963an publikatutakoa, non 35 pazienteri besora bakoitzaren tumore zelulak transplantatu (gaur egun guztiz debekatua) eta gehienei tumorarik hazi ez zitzaiela ikusi zenekoa bezalakoak dauzkagu.(24, 26-28) Hau sakonago aztertzean, lehenik leuzemia mieloidearen kasuan, eta gerora tumore solidoetan ere, proliferazioa ahalbidetzen duten zelula berezi batzuk daudela ikusi zen, tumore zelula ama deritzenak.(24, 25)

Tumore zelula amak, beraz, zatiketa bidez beren burua berritzeko zein minbizi osatuko duten hainbat zelula ume sortzeko gai diren zelula hilezkorak dira eta minbiziaren sorrerarekin, garapenarekin, metastasiekin, farmakoekiko duten erresistentziarekin zein berrerritzearekin zerikusia dute; ezaugarri hauengatik zelula tumore-propagatzaile, tumore progenitore edo zelula minbizi-hasle izenekin ere ezagutzen dira.(25, 29, 30) Tumorogenesiarekin duten erlazioa bular, garun, gibel, kolon, prostata, pankrea, melanoma eta leuzemia bezalako minbizietan ikusi da.(25)

Zelula hauen jatorria zelula ama arruntetan edo zelula progenitoreetan egon liteke. Zelula amek beren burua berritzeko, denbora luzean bizirauteko eta ondorengoak sortzeko gaitasuna izanik, kartzinogenesi prozesurako beharrezkoak diren mutazio eta aldaketa nahikoak pilatzeko aukera ematen dute, horrela, minbizi zelula ama bihurtzera iritsiz. Gerta daiteke baita ere, kartzinogenesi prozesuan zelula progenitoreetan mutazio garrantzitsuren bat ematea eta ondorioz bere burua berritzeko gaitasuna bereganatzea, horrela minbizi-zelula amen ezaugarriak bereganatuz.(24, 26)

Zelula hauen berezkoa den diferentziazio ezaren mantenurako, aurretik aipatuak diren faktore epigenetikoak garrantzitsuak dira. Hauek, histona modifikazioen eta DNA metilazioaren aldaketen bidez eragindako gene adierazpena ezabatuz zelularen diferentziazioa blokeatzen dute eta, beraz, epigenetikak minbizi zelulen mantenu eta diferentziazioan zerikusia du. Esaterako, EZH2 proteinaren gain espresioak zelularen bere buru berritzea sustatu eta zelula diferentziazioa eragozten du eta aho-minbizi agresiboarekin erlazionatuta dago, edo BMI1-ek eragindako kromatina isilaraztea zelula amen mantentzearekin erlazionatuta dago. Posible da zelula ama arruntetan sortutako desregulazioaren ondoriozko ausazko aldaketa epigenetikoek minbizi zelula amen sorreran eta minbiziaren garapenean parte hartzea.(17)

Zelula hauek kimioterapiarekiko, erradioterapiarekiko eta immunoterapiarekiko erresistente egiten dituzten propietateak dituztela eta minbizien tratamenduarekiko erresistentzia zelula hauek eragindakoa izan daitekeela, geroz eta ebidentzia gehiagok erakusten dute. Gainera, tratamenduak berak, erresistente egiten dituen faktoreei esker, biziraun eta minbiziaren/tumorearen birsortzea eragin dezake.(29)

#### **4.3.1. Erresistentzia bideratzen duten ezaugarriak**

Bere burua berritzeko eta ondorengoak sortzeko gaitasunaz gain, bestelako ezaugarri bereizgarriak ere badituzte, hauetatik asko, zelulak tratamenduarekiko erresistente egiten dituztenak. Ikusi 1.eskema

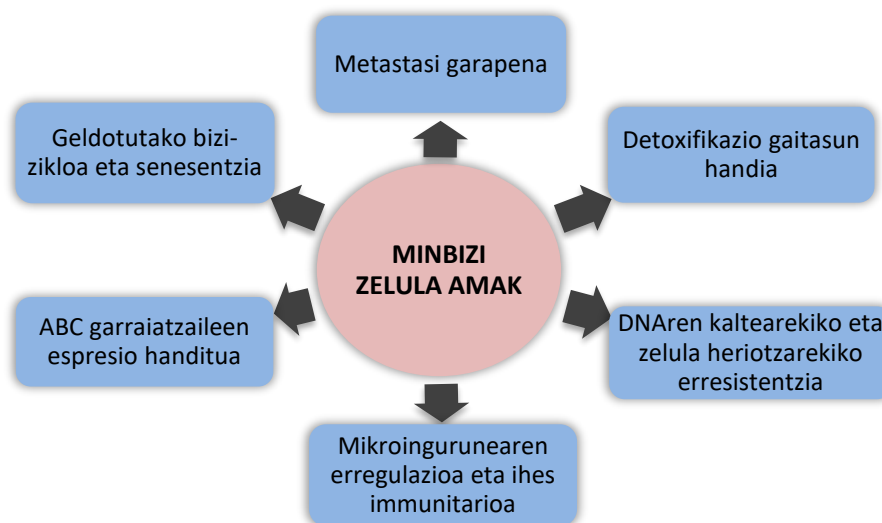
Lan honetan jada aipatu den bezala, ABC mintz proteina garraiatzaileek terapiarekiko erresistentzia eragin dezakete farmakoak zelulatik kanporatzearen bidez, eta, ikusi denez, proteina hauen adierazpena handituta agertzen da tumore ama zeluletan. Gliometan, tratamendu estandarra den temozolomidarekiko erresistentzia agertzen da ABCG2 proteinen adierazpenarekin erlazionatuta.(25)

Minbizi ama zelulen beste ezaugarrietako bat, erreplikazio estresarekiko tolerantzia altua eta DNA kaltearen konpontze areagotua dira, eta erabiltzen diren terapia askoren ekintza mekanismoa DNA kaltetzea denez, honek hauekiko erresistente eginen ditu. Konponketa

mekanismoen areagotzeak eragindako erresistentzia hainbat minbizitan ikusi da. Adibidez, obulutegi minbizi batzuetako tumore zelula amek zisplatinoekiko erresistentzia erakutsi zuten polimerasek bideratutako DNA konponketari esker.(25)

Beste faktore garrantzitsu bat minbizi zelula amek duten bizi ziklo aldatuarena da, hauen bizi zikloa ez da gainerako zelulena bezalakoa izaten eta aldaera hauek tratamenduarekiko erresistentzia ahalbidetzen dute. Ikuspegi orokor batetik behatuta, esan daiteke hauen bizi zikloa gainerako zelulena baino geldoagoa dela, eta hau kontuan izanda, erraz ulertzen da zergatik itu bezala azkar erreproduzitzen diren zelulak dituzten farmako askok ez dieten haei kalterik egiten. Gainera, bikoizketa prozesu geldoa izateak DNAREN kalteak konpontzeko denbora ematen die.(25, 26)

Behaketa sakonago batekin ikusten dena honakoa da, minbizi zelula amek denbora asko kieszentzia egoera batean ematen dutela, hau da, zelula zikloko G0 unean geratzen direla. Hala ere, egoera hau ez da konstantea, zelulak egoera kieszente eta egoera proliferatiboaren artean mugi daitezke kanpo faktore desberdinen arabera. Horregatik, terapiari zehar kieszentzia egoeran mantentzeari esker biziraun duten zelulek, kanpoko estresatzaileak desagertzean, G0-tik atera eta minbizia berreraikin dezakete.(31)



1.Eskema: Minbizi zelula amak terapiarekiko erresistente egiten dituen faktoreak. (25). artikulutik moldatua

Zelula ziklo aldatuaren harira, ikusi da minbizi zelula ama batzuek DNA konponketa mekanismoak zelula zikloaren S fasean aktibatzeke gai direla, horrela kimioterapiarekiko eta erradioterapiarekiko erresistentzia areagotuz.(25)

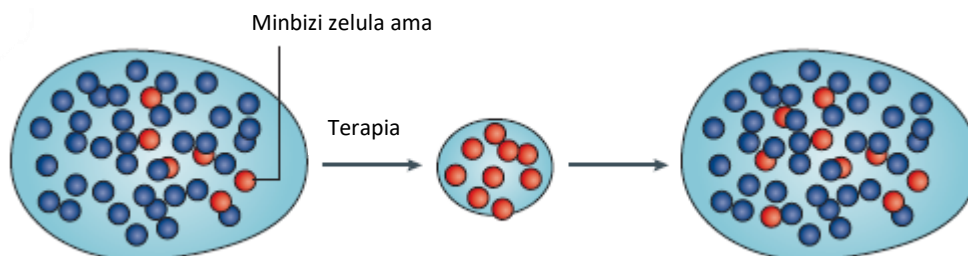
Tumore-zelula amek duten oxidazioaren modulazioa ere ezaugarri garrantzitsua da. Oxigeno espezie erreaktiboan (ROS) pilaketak zelulak kaltetu eta hauen heriotza eragin dezake, baina maila altu jasagarri eta maila baxu baten arteko orekak, minbizi ama zeluletan

tratamenduarekiko erresistentzia faboratu dezake.(30) Horretaz gain, minbizi zelula ama batzuek oxidatzaile-ezabatzaile (oxidant scavengers) maila altua erakusten dute, ROS kopurua maila oso baxuetan mantentzea ahalbidetzen dutenak. Honela, zelula hauei erradioterapia eta kimioterapiarekiko babesa eskaintzen diote eta zelulen egoera kieszentean parte hartzen dute, egoera honen seinale izan daitezkeelarik.(25, 30)

#### 4.3.2. Minbizi zelula amek tratamenduan daukaten eragina

Aipatu den bezala, zelula progenitore hauek minbiziaren hasiera, progresio eta metastasian parte hartzen dute eta tratamenduarekiko erresistentziarekin, prognosi txarrarekin eta berreritzeekin erlazionatuta daude.(29, 30) Hauek minbizi gehienetan agertzen dira baina kopuru oso baxuan, zelula kopuru totalaren %1 inguru osatzen dute eta gaixotasuna aurrera doala %30-eraino iritsi daitezke; kopuru areagotze hau terapia erresistentziarekin erlazionatuta dago. Hain kopuru txikian egonik, zelula hauek tratamenduekiko erresistente izatea ez da nahikoa minbizia tratamenduarekiko erresistente izatea azaltzeko, gainerako zelula gehienak sentikorrek izanen baitira.(30)

Minbizi zelula amak tratamenduarekiko erresistentzia bideratzeko modua tratamenduari eutsi eta minbizia berriro sorraraztea da. Azaldutako ezaugarriei esker zelula hauek farmakoekiko berezko erresistentzia dutenez, tratamendua biziraungo dute eta berriro erreproduzituko dira minbiziak aurrera jarraitzea ahalbidetuz; daukaten proliferazio gaitasuna handiari esker, azkar berrituko dituzte tratamenduaren ondorioz galdutako zelulak.(26, 30) Ikusi 5.irudia



**5.irudia:** Tratamenduak zelula diferentziatuak (urdinak) hil egingen ditu baina berezko erresistentzia duten minbizi zelula amak biziraungo dute. Hauek zatikatu eta berriro minbizi zelula diferentziatuak sortuko dituzte. (26). artikulutik moldatua

Tratamenduarekiko erresistentzia zuzena ez bada ere, aipagarria da minbizi ama zelulek minbiziaren berreritzean ere parte hartzen dutela. Erakusten duten seneszentzia egoeran egoteko gaitasunari esker tratamendua biziraun dezakete eta denbora luzean lo egoeran mantendu. Denbora honetan zehar ez da minbizi arrastorik sumatuko eta sendatutzat joko da baina edozein eragileren ondorioz seneszentzia egoera utzi eta erreproduzitzen hasten badira, berriro minbizia agertuko da eta berreritzea emango da.(31)

## 5. ONDORIOAK

Minbizietan sor daitekeen arazo larrienetakoa tratamenduarekiko erresistentziaren garapena da, honek pazientearen prognostikoa asko larrituko baitu. Honengatik eta minbizia lehen mundu mailako heriotzen bigarren eragilea denez, erresistentziek nola funtzionatzen duten eta hauek nola eragotzi edo tratatu daitezkeen ezagutzea oso garrantzitsua egingo da klinikan. Tratamendu egokia planteatzerako orduan, minbizi zelulen ezaugarriak ezagutzea beharrezkoa da, tratamendu desegoki batek minbizi zelula erresistenteen aukeraketa edo erresistentzia mekanismo berrien garapena eragin baititzake.

Terapia egokia aukeratzeko, ezinbestekoa da minbiziaren inguruko ezaugarriak ezagutzea. Informazioa biltzeko erabiltzen diren bideek (irudiak, biopsiak, tumore markatzaileak...) mugak izaten dituzte askotan, minbizia zelula heterogenoz osatutako ehun bat izanda ezaugarrien erradiografia totala lortzea zaila izango baita.(15) Informazio zabalena lortzeko helburua duten metodoak erabiltzen badira ere, hauek oraindik ere muga asko izaten jarraitzen dute eta hauek hobetzen jarraitzea ezinbestekoa da.

Minbizi bereko biopsia anitz erabiltzeak zelula gehiago aztertzea ahalbidetuko du, horrela tumore-barneko heterogeneotasunaren ondoriozko zelula desberdinen ezaugarri gehiago behatzea ahalbidetuz. Honek, hala ere, ez du arazoa konponduko gune desberdinak biopsiatzean ere ia ezinezkoa baita minbizi osoa errepresentatuko duen lagin bat lortzea, eta horregatik, biopsia likidoak edo tumore-markatzaileen erabilera egokiagoa lirateke.

Tumore markatzaileen erabilerak bestelako arazoak ere sor ditzake, barne heterogeneotasuna erakusten duten minbizietan markatzaile egokiak aukeratzea zaila da eta honen erabilgarritasuna markatzaile egokiak aukeratzearen araberakoa izanen da.(15) Markatzaile hauek minbiziaren barruan tumore ama zelulak dauden edo ez jakiteko ere erabili daitezke(26), baina berriro ere, markatzaile egokien faltak mugatuko du hau. Argi geratzen da, beraz, aspektu honetan aurrerapen asko egin daitezkeela oraindik, markatzaile gehiago eta egokiagoak lortzeak prognosi egokiak egin eta tratamendu egokiak erabiltzeko aukera emango baitu.

Azken aldiaren erabiltzen hasi den beste metodo bat minbiziaren azterketa genetikoarena da.(21) Honi esker zelulek adierazten dituzten genetika eta epigenetikarekin erlazionatutako erresistentzia mekanismoak zein diren ikusi daitezke eta horrela hauei zuzenean bideratu. Aktibo dauden erresistentzia mekanismoak ezagutzean, hauei aurre egiteko tratamendu egokienak aukeratu ahalko dira eta tratamendu desegokiaren ondorioz ager daitezkeen erresistentzia mekanismo berriak eragotzi.



Arazoaren eragile bezala mekanismo indibidual asko bereizi badaitezke ere, lan honetan zehar argi geratu da hauek guztiak elkarrekin erlazionatuta daudela eta, ondorioz, bakarrean zentratzeak ez luke askorik konponduko; erresistentzia mekanismo bat deuseztatzen bada baina bestelakoak mantentzen badira minbizia oraindik ere erresistente mantendu daiteke. Mekanismo indibidualetan zentratzearen ordean, tumore barneko heterogeneotasunean, modulazio epigenetikoa edo tumore ama zelulen osotasuna tratatzea egokiagoa izanen da.

Aldaketa epigenetikoak, aldaketa genetikoak ez bezala, itzulgarriak direnez, hauek modulatu dituzten farmakoak erabiltzea posible litzateke. Minbiziaren erresistentzia mekanismoak aldaketa epigenetikoaren ondoriozkoak badira, farmakoen bidez hauen atzerabuelta lortzen bada, fenotipo sentikorra lortuko da berriro eta terapia arruntarekin tratatu ahal izanen da minbizia. Terapia epigenetikoaren beste aukeretako bat minbizien garapena zailtzen duten geneen aktibazioa edo gainespresioa eragitea litzateke.

Minbizi ama zelulei dagokienez, antzekoa gertatuko da. Zelula hauek hiltzea lortzen bada, minbiziaren progresioa gelditu edo gutxienez moteltzeaz gain, terapiaren ondorengo minbiziaren birsortzea ekidino litzateke. Aukera hau esperantzagarria bada ere, zaila da zelula ama arruntei kalterik eragin gabe aurrera eramatea, bi zelula mota hauek ezaugarri eta hartzaile oso antzekoak baitituzte.

Gaur egun terapia erabilienak toleratzen den dosi maximoan oinarritutakoak dira, baina hauek barneko heterogeneotasuna erakusten duten minbizietan erresistentzien agerpena eta ondoriozko minbiziaren prognostiko okertzea eragin dezakete. Metodologia honekin minbizi zelula kopurua asko murrizten duen hasierako erantzuna lor daiteke baina zelula erresistente batzuek bizirauten badute, berriro haziko dira populazio erresistente handiak eraginez.(32) Hau horrela izanda, minbiziaren erradikazio azkarra baino, minbiziaren luzerako kontrola bilatzen duten tratamenduen erabilera planteatu liteke, gaixotasuna sendatu beharrean, kronifikatzeko helburuarekin. Tratamendu modalitate honetan, farmakoen dosi baxuagoak eta posologia bereziak erabiltzen dira kontrolik gabeko hazkuntza eragotziz. Gainera, zelula azpipopulazioen arteko lehiak jarraitzea ahalbidetzean azpipopulazio sentikorrek azpipopulazio erresistenteen hazkuntza kontrolatzea lortzen da.

Modalitate hau ez da asko erabiltzen, hala ere, gutxi erabiltzeak ez du esan nahi desegokia litzatekeela. Egia da honekin ez dela sendatze osoa lortuko, kronifikazio bat baizik, eta horrek arazoak ekar litzakeela momenturen batean tratamenduari erantzuteari utzi eta tumore hazkuntza berrituko balitz, hala ere, kontuan hartzeko modukoa litzateke. Honi esker, gaixoen bizi itxaropena luzatzea lortuko da, gaixo kroniko izatera pasatuz, eta tratamendu egokiarekin bizi kalitate ona izatea posible litzateke. Gainera, farmakoen dosi baxuagoak erabiltzeari esker eragin desiragaitzak murriztea lortuko litzateke.

## 6. **BIBLIOGRAFIA**

1. Mattiuzzi C, Lippi G. Current Cancer Epidemiology. J Epidemiol Glob Health [Internet]. 2019 [2021ean kontsultatua]; 9(4): 217–222. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31854162/>
2. Nikolaou M, Pavlopoulou A, Georgakilas AG, Kyrodimos E. The challenge of drug resistance in cancer treatment: a current overview. Clin Exp Metastasis. [Internet]. 2018 [2021ean kontsultatua]; 35(4):309-318. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29799080/>
3. Vasan N, Baselga J, Hyman DM. A view on drug resistance in cancer. Nature [Internet]. 2019 [2021ean kontsultatua]; 575(7782):299-309. Hemen eskuragarri: <https://www.nature.com/articles/s41586-019-1730-1>
4. Tian Y, Tang L, Yi P, Pan Q, Han Y, Shi Y, et al. MiRNAs in Radiotherapy Resistance of Nasopharyngeal Carcinoma. J Cancer. [Internet]. 2020 [2021ean kontsultatua]; 11(13):3976-3985. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32328201/>
5. Salgia R, Kulkarni P. The Genetic/Non-genetic Duality of Drug 'Resistance' in Cancer. Trends Cancer [Internet]. 2018 [2021ean kontsultatua]; 4(2):110-118. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29458961/>
6. Chatterjee N, Bivona TG. Polytherapy and Targeted Cancer Drug Resistance. Trends Cancer. [Internet]. 2019 [2021ean kontsultatua]; 5(3):170-182. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30898264/>
7. Kelderman S, Schumacher TN, Haanen JB. Acquired and intrinsic resistance in cancer immunotherapy. Mol Oncol. [Internet]. 2014 [2021ean kontsultatua]; 8(6):1132-9. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25106088/>
8. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Immunologia básica: Funciones y trastornos del sistema inmunitario. 5.edizioa. Bartzelona: Elsevier; 2017
9. Kartal-Yandim M, Adan-Gokbulut A, Baran Y. Molecular mechanisms of drug resistance and its reversal in cancer. Crit Rev Biotechnol. [Internet]. 2016 [2021ean kontsultatua]; 36(4):716-26. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25757878/>
10. Colmegna B, Morosi L, D'Incalci M, Tang H, Xue G, et al. Mechanisms of Drug Resistance in Cancer Therapy [Ebook] 1.edizioa: Springer;2018
11. Choi YH, Yu AM. ABC transporters in multidrug resistance and pharmacokinetics, and strategies for drug development. Curr Pharm Des. [Internet]. 2014 [2021ean kontsultatua]; 20(5):793-807. Eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23688078/>
12. Angeli E, Nguyen TT, Janin A, Bousquet G. How to Make Anticancer Drugs Cross the Blood-Brain Barrier to Treat Brain Metastases. Int J Mol Sci. [Internet]. 2019 [2021ean kontsultatua]; 21(1):22. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23688078/>

13. Wong-Brown MW, van der Westhuizen A, Bowden NA. Targeting DNA Repair in Ovarian Cancer Treatment Resistance. *Clin Oncol* [Internet]. 2020 [2021ean kontsultatua]; 32(8):518-526. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32253106/>
14. Sun XX, Yu Q. Intra-tumor heterogeneity of cancer cells and its implications for cancer treatment. *Acta Pharmacol Sin.* [Internet]. 2015 [2021ean kontsultatua]; 36(10):1219-27. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26388155/>
15. Gay L, Baker AM, Graham TA. Tumour Cell Heterogeneity. *F1000Res.* [Internet]. 2016 [2021ean kontsultatua]; F1000 Faculty Rev-238. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26973786/>
16. Burrell RA, McGranahan N, Bartek J, Swanton C. The causes and consequences of genetic heterogeneity in cancer evolution. *Nature.* [Internet]. 2013 [2021ean kontsultatua]; 501(7467):338-45. Hemen eskuragarri: <https://www.nature.com/articles/nature12625>
17. Castilho RM, Squarize CH, Almeida LO. Epigenetic Modifications and Head and Neck Cancer: Implications for Tumor Progression and Resistance to Therapy. *Int J Mol Sci.* [Internet]. 2017 [2021ean kontsultatua]; 18(7):1506. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28704968/>
18. Duijf PHG, Nanayakkara D, Nones K, Srihari S, Kalimutho M, Khanna KK. Mechanisms of Genomic Instability in Breast Cancer. *Trends Mol Med.* [Internet]. 2019 [2021ean kontsultatua]; 25(7):595-611. Eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31078431/>
19. Assaraf YG, Brozovic A, Gonçalves AC, Jurkovicova D, Linē A, Machuqueiro M, et al. The multi-factorial nature of clinical multidrug resistance in cancer. *J Drug Resist Updat.* [Internet]. 2019 [2021ean kontsultatua]; 46:100645. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31585396/>
20. Baylin SB, Jones PA. Epigenetic Determinants of Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* [Internet]. 2016 [2021ean kontsultatua]; 8(9):a019505. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27194046/#:~:text=Abstract,and%20other%20components%20of%20chromatin.>
21. Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA. The cancer genome. *Nature.* [Internet]. 2009 [2021ean kontsultatua]; 458(7239):719-24. Hemen eskuragarri: <https://www.nature.com/articles/nature07943>
22. Nowacka-Zawisza M, Wiśnik E. DNA methylation and histone modifications as epigenetic regulation in prostate cancer (Review). *Oncol Rep.*[Internet]. 2017 [2021ean kontsultatua]; 38(5):2587-2596. Eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29048620/>
23. Krtolica A. Stem cell: balancing aging and cancer. *Int J Biochem Cell Biol.* [Internet]. 2005 [2021ean kontsultatua]; 37(5):935-41. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15743668/>

24. Bajaj J, Diaz E, Reya T. Stem cells in cancer initiation and progression. *J Cell Biol.* [Internet]. 2020 [2021ean kotsultatua]; 219(1):e201911053. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31874116/>
25. Makena MR, Ranjan A, Thirumala V, Reddy AP. Cancer stem cells: Road to therapeutic resistance and strategies to overcome resistance. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* [Internet]. 2020 [2021ean kotsultatua]; 1866(4):165339. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30481586/>
26. Dean M, Fojo T, Bates S. Tumour stem cells and drug resistance. *Nat Rev Cancer.* [Internet]. 2005 [2021ean kotsultatua]; 5(4):275-84. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15803154/>
27. Zietman AL, Suit HD, Ramsay JR, Silobrcic V, Sedlacek RS. Quantitative studies on the transplantability of murine and human tumors into the brain and subcutaneous tissues of NCr/Sed nude mice. *Cancer Res.* [Internet]. 1988 [2021ean kotsultatua]; 48(22):6510-6. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3052803/>
28. Bruce WR, Van Der Gaag H. A quantitative assay for the number of murine lymphoma cells capable of proliferation in vivo. *Nature.* [Internet]. 1963 [2021ean kotsultatua]; 199:79-80. Hemen eskuragarri: <https://www.nature.com/articles/199079a0>
29. Abad E, Graifer D, Lyakhovich A. DNA damage response and resistance of cancer stem cells. *Cancer Lett.* [Internet]. 2020 [2021ean kotsultatua]; 474:106-117. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31968219/>
30. Najafi M, Mortezaee K, Majidpoor J. Cancer stem cell (CSC) resistance drivers. *Life Sci.* [Internet]. 2019 [2021ean kotsultatua]; 234:116781. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31430455/>
31. Luo M, Li JF, Yang Q, Zhang K, Wang ZW, Zheng S, et al. Stem cell quiescence and its clinical relevance. *World J Stem Cells.* [Internet]. 2020 [2021ean kotsultatua]; 12(11):1307-1326. Hemen eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33312400/>
32. Gatenby R, Brown J. The Evolution and Ecology of Resistance in Cancer Therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med.* [Internet]. 2018 [2021ean kotsultatua]; 8(3):a033415. Eskuragarri: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28710258/>. 2020ean erretraktatutako artikulua. Eskuragarri: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7605237/>