



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

Macrófagos en el cáncer colorrectal:
papel y diana terapéutica

Macrophages in colorectal cancer:
role and therapeutic target

Autora

Inmaculada Zaragoza García

Directora

Sara Oliván García

Facultad de Medicina
2019

ÍNDICE

1.	RESUMEN /ABSTRACT	5
2.	ABREVIATURAS	7
3.	OBJETIVOS	9
4.	INTRODUCCIÓN DEL CÁNCER COLORRECTAL	11
4.1.	EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER COLORRECTAL.....	11
4.2.	ETIOLOGÍA DEL CÁNCER COLORRECTAL	11
4.3.	ESTADIAJE Y TRATAMIENTO.....	13
5.	MICROENTORNO TUMORAL.....	15
6.	LOS MACRÓFAGOS.....	19
7.	MACRÓFAGOS ASOCIADOS A TUMORES.....	20
7.1.	EFECTO DE LOS MACRÓFAGOS ASOCIADOS A TUMORES SOBRE EL MICROENTORNO TUMORAL DEL CÁNCER COLORRECTAL.....	21
8.	MACRÓFAGOS ASOCIADOS A TUMORES Y RELACIÓN CON CÁNCER COLORRECTAL.....	23
8.1.	DOBLE ROL DE LOS MACRÓFAGOS ASOCIADOS A TUMORES.	23
8.2.	EFECTO DEL METABOLISMO DE LOS TAM EN EL CRECIMIENTO DEL CCR	24
8.3.	LOS TAM Y SU ASOCIACIÓN CON LA ANGIOGÉNESIS TUMORAL EN EL CCR.	25
9.	MACRÓFAGOS ASOCIADOS A TUMORES COMO OBJETIVO TERAPÉUTICO.....	26
10.	CONCLUSIONES	31
11.	ANEXOS.....	33
12.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

1. RESUMEN /ABSTRACT

El cáncer colorrectal (CCR) consiste en una neoplasia maligna que se origina sobre el epitelio del colon o recto. En términos generales ocupa el segundo lugar en relación a la mortalidad y el tercer puesto en cuanto a la incidencia en los casos de cáncer, siendo considerado un marcador de desarrollo socioeconómico.

El proceso de carcinogénesis viene determinado por la aparición de mutaciones sobre el epitelio del colon que terminan con la formación del tumor. En este punto el entorno que lo rodea se modifica y pasa a denominarse microentorno tumoral, y en él están presentes diversos componentes que están fuertemente relacionados con las etapas del proceso de carcinogénesis. Dentro del microentorno que rodea al tumor, algunos de los componentes que desempeñan funciones destacadas son los macrófagos, células del sistema inmunitario muy abundantes y con un papel esencial en el desarrollo del crecimiento tumoral. Bajo estas circunstancias pasan a denominarse macrófagos asociados a tumores (TAM) y se activan en función de los estímulos presentes en el microambiente tumoral. Estos TAM pueden diferenciarse en dos subtipos: el subtipo M1 con capacidad antitumoral, y el subtipo M2 con fenotipo protumoral. El papel que presentan los TAM en el CCR viene determinado por varias funciones entre las que se encuentran la capacidad de polarización que poseen, la modificación del microentorno tumoral mediante cambios en la estructura de la matriz extracelular, la participación en los procesos de angiogénesis y el resultado de su metabolismo sobre el crecimiento del CCR.

Debido a esta dualidad en su comportamiento, el papel de los TAM para controlar la progresión tumoral, es decir como diana terapéutica, puede plantearse desde dos aproximaciones distintas. Por un lado, se puede disminuir su presencia en el tejido tumoral o bien inducir la repolarización del macrófago M2 hacia el fenotipo M1 (antitumoral).

Palabras clave: Macrófagos, cáncer colorrectal, microentorno tumoral, sistema inmune.

ABSTRACT.

Colorectal cancer (CRC) is a malignant neoplasia located in the epithelium of the colon or rectum. CCR is the second leading cause of cancer associated death in the world and the third most common cancer, is considered a marker of socioeconomic development

The process of carcinogenesis is determined by the appearance of mutations on the colon epithelium and tumor formation. At this point the environment around the tumor change (tumor microenvironment), and their t components are strongly related to the carcinogenesis process. In this surrounding microenvironment, one of the components that perform outstanding functions are macrophages, which play an essential role in the tumor development. In this scenario, they are called macrophages associated with tumors (TAM) and are activated depending on the stimuli present in the tumor microenvironment. TAM are able to polarize into two subtypes: the M1 subtype with antitumor properties and the M2 subtype with protumoral phenotype. The role of TAM in the CCR is determined by several functions which are the polarization capacity they possess, the modification of the tumor microenvironment through changes in the structure of the extracellular matrix, participation in the angiogenesis processes and the result of its metabolism on the growth of the CCR.

Due to this dual behaviour, the role of TAM to control tumor progression, that is, as a therapeutic target, could be arisen from two different approaches. On the one hand, its presence in the tumor tissue could be reduced and on the other, could be induced the repolarization of the M2 macrophage towards the M1 phenotype (antitumoral).

Keywords: Macrophages, colorectal cancer, tumor microenvironment, immune system

2. ABREVIATURAS

- CCR:Cáncer colorrectal
- ADN:Ácido desoxirribonucleico
- TAM:Macrófagos asociados a tumores
- MEC:Matriz Extracelular
- ROS:Especies reactivas de oxígeno
- TME:Microentorno tumoral
- IFN- γ :Interferón - γ
- IL-4:Interleucina 4
- MB:Membrana basal
- EGFR:Receptor del factor estimulador del crecimiento
- CAF:Fibroblastos asociados al cáncer
- VEGF:Factor de crecimiento endotelial vascular
- MMP:Metaloproteinasa de matriz
- TCA:Ácido tricarboxílico
- ABHD5:Hidrolasa AB 5
- SRM:Espermidina sintasa

3. OBJETIVOS

Los objetivos de esta revisión bibliográfica se exponen a continuación:

1. Conocer el cáncer colorrectal: etiología, prevalencia, estadiaje...
2. Describir los componentes del microentorno tumoral y su papel en el cáncer colorrectal.
3. Analizar las características y funciones que presentan los macrófagos asociados a tumores.
4. Comprender la relación que existe entre los macrófagos y el cáncer colorrectal.
5. Estudio del posible papel terapéutico de los macrófagos en el cáncer colorrectal.

4. INTRODUCCIÓN DEL CÁNCER COLORRECTAL.

4.1. EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER COLORRECTAL

El cáncer colorrectal (CCR) constituye la cuarta causa de muerte por cáncer, ocupando el tercer puesto en hombres y el segundo en las mujeres.

El estudio de GLOBOCAN 2018 estimó en 1,096,601 el número de casos nuevos de CCR en todo el mundo y 881,000 muertes, lo que representa aproximadamente 1 muerte por cada 10 casos. En general, el CCR ocupa el tercer lugar en términos de incidencia, pero el segundo en términos de mortalidad. Las tasas de incidencia son aproximadamente 3 veces más altas en los países desarrollados en comparación con los que están en vías de desarrollo; sin embargo, la mortalidad de casos promedio es mayor en áreas con un índice de desarrollo humano más bajo, pero hay menos variación en las tasas de mortalidad (ANEXO I).

Las tasas de incidencia de cáncer de colon más altas se encuentran en determinadas zonas de Europa (Hungría, Eslovenia, Eslovaquia, los Países Bajos y Noruega), Australia / Nueva Zelanda, América del Norte y Asia Oriental. Mientras que las tasas de incidencia tienden a ser bajas en la mayoría de las regiones de África y en el sur de Asia.

Esta enfermedad puede considerarse un marcador de desarrollo socioeconómico (1). Los aumentos en la incidencia apuntan a la influencia de los patrones dietéticos, la obesidad y los factores del estilo de vida, mientras que la disminución de la mortalidad observada en los países más desarrollados refleja mejoras en la supervivencia mediante la adopción de mejores prácticas en el tratamiento y manejo del cáncer (2).

El informe revisado del Fondo Mundial para la Investigación del Cáncer y del Instituto Americano para la Investigación del Cáncer muestra evidencias de que la carne procesada, las bebidas alcohólicas y el exceso de grasa corporal aumentan el riesgo; mientras que la actividad física protege (aunque solo en los casos de cáncer de colon) (3).

4.2. ETIOLOGÍA DEL CÁNCER COLORRECTAL

Se denomina cáncer al conjunto de enfermedades que tienen en común un mecanismo anómalo en el crecimiento celular, caracterizado por ser excesivo y con capacidad de invasión de otros tejidos u órganos. El epitelio del colon se encuentra en una renovación continua ya que las células madre de la cripta van migrando a la superficie según se van diferenciando. Durante este proceso de diferenciación las células pueden acumular mutaciones en el ADN (ácido desoxirribonucleico) y cambios epigenéticos que producen una falta de respuesta a los mecanismos que regulan el crecimiento celular.

Cuando el crecimiento excesivo se acompaña además de la capacidad de invadir tejidos circundantes, de alcanzar el torrente sanguíneo o el sistema linfático para colonizar órganos secundarios, se establece la enfermedad metastásica (4).

En el caso del CCR se pasa por varios estadios de desarrollo de la enfermedad. Primero, sobre las células epiteliales normales se asientan los pólipos o lesiones benignas, y de estas derivan los adenocarcinomas totalmente desarrollados no invasivos hasta finalizar en la enfermedad metastásica invasiva (5).

EN el CCR se ha observado una alta inestabilidad genética determinada por cambios a nivel del genoma que impiden el adecuado funcionamiento de los mecanismos que regulan la ganancia, pérdida o reordenamiento durante la división celular. El origen de esta inestabilidad genética puede ser adquirida por alteraciones somáticas, como consecuencia de factores ambientales carcinogénicos, que darán lugar a cánceres de tipo esporádico; o heredada por mutaciones en la línea germinal, dando lugar a casos de tipo familiar. La mayoría de los casos de CCR se deben a alteraciones de tipo somático (5) (ANEXO II).

Dentro del CCR hereditario, se engloban varios tipos de síndromes según el número de pólipos que presente el paciente. Los síndromes de tipo polipósico incluyen la poliposis adenomatosa (más de 10 adenomas), la poliposis juvenil, el síndrome de Cowden y el síndrome de PeutzJeghers, siendo estos tres últimos síndromes hamartomatosos. Los de tipo no polipósico están conformados por el Síndrome de Lynch y el CCR familiar tipo X, siendo el Cáncer Colorrectal Hereditario No Polipósico (CCHNP) el síndrome de cáncer hereditario más prevalente (6).

El proceso de carcinogénesis pasa por varias etapas siendo necesaria la inestabilidad genética para que se desarrolle el tumor. Actualmente hay descritas 3 vías, que no son excluyentes entre sí y se pueden presentar de manera conjunta en un mismo tumor (7).

1.Vía de la Inestabilidad Cromosómica

Es la forma más común de inestabilidad genética, da origen al 85% de los CCR (9). La progresión de estos tumores sigue la vía clásica de adenoma-carcinoma. Esta vía se inicia por la inactivación del gen supresor de tumores APC (Adenomatous polyposis coli) durante el desarrollo del pólipo, posteriormente aparece la mutación en del oncogen KRAS (v-Ki-RAS2 homólogo del *oncogén* viral del sarcoma de la rata Kirsten) durante el estadio de adenoma y finaliza la evolución hacia adenocarcionma con las mutaciones en genes supresores de tumores como TP53 (proteína tumoral 53), SMAD4 (SMAD family member 4), PIK3CA (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, catalytic subunit alpha) (7).

2. Vía de la Inestabilidad de Microsatélites

Los microsatélites son secuencias cortas (1-6 pares de bases) repetidas en tándem a lo largo de todo el genoma, y debido a esa repetición se pueden producir errores de emparejamiento y pequeños bucles. Estos errores se pueden reparar por un sistema de reparación del ADN de los errores de replicación, el cual está formado por cuatro proteínas: MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2. La pérdida de función de alguno de estos elementos conduce a la acumulación de errores (7).

Esta vía de inestabilidad genómica desarrolla más del 95% del cáncer colorrectal hereditario no polipósico debido a la mutación de la línea germinal presente en MLH1 y MLH2; y aproximadamente el 15% del CCR esporádico se produce debido al silenciamiento epigenético del promotor del gen MLH1 (7).

3. Vía del fenotipo metilador O Vía Serrada

Se considera la vía iniciadora del CCR. Esta vía consiste en la hipermetilación de islas CpG en zonas promotoras de genes supresores de tumores, produciendo el silenciamiento transcripcional de dichos genes. Para que se produzca el progreso tumoral es necesario que la célula presente una inestabilidad epigenética. A partir de esta vía se generan los pólipos serrados, considerados lesión precursora al cáncer (10).

Entre el 20-30% de todos los CCR pueden tener incorporada esta vía (7).

4.3. ESTADIAJE Y TRATAMIENTO

El estadio tumoral se constituye como el principal factor pronóstico en el CCR que determina la supervivencia y la decisión del tratamiento clínico que se debe realizar a cada paciente. El estadio se basa en la clasificación TNM, sistema diseñado por el American Joint Committee on Cancer (AJCC). Este sistema diferencia a los pacientes en función de la extensión del tumor primario por las capas de la pared del intestino, o la invasión de tejidos adyacentes (T), el estado de afectación de los ganglios linfáticos (N) y la diseminación a distancia de metástasis (M) (Tabla 1).

ESTADIO	DESCRIPCIÓN	CORRESPONDENCIA TNM
0	Las células tumorales se localizan en la capa mucosa.	TisNOM0
I	El tumor no sobrepasa la capa muscular. No hay afectación linfática.	T1NOM0 T2NOM0
II	Infiltración de todas las capas de la pared, puede penetrar en los órganos adyacentes. No es necesaria la afectación ganglionar.	IIA: T3NOM0 IIB: T4aNOM0 IIC: T4b N0M0
III	Invasión de tejidos adyacentes con afectación de ganglios linfáticos	IIIA: T1-T2 N1/N1c M0 T1N2aM0 IIIB: T3-T4a N1/N1c M0 T2-T3 N2a M0 T1-T2 N2b M0 IIIC: T4a N2a M0 T3-T4a N2b M0 T4b N1-N2 M0
IV	Diseminación a órganos a distancia	IVA: cualquier T cualquier N M1a IVB: cualquier T cualquier N M1b IVC: cualquier T cualquier N M1c

Tabla 1: Estadificación TNM del carcinoma colorrectal, AJCC 8ª edición (Amin et al. 2017)

Tis: "carcinoma in situ". La lesión invade la lámina propia, pero no penetra en la mucosa muscular; **T1**: invasión de la submucosa; **T2**: invasión de la muscular propia; **T3**: llega a subserosa o tejidos grasos perirrectales; **T4a**: invasión de la superficie del peritoneo visceral; **T4b**: El tumor se adhiere a tejidos de órganos adyacentes; **N0**: No hay afectación ganglionar; **N1a**: metástasis en 1 ganglio linfático regional; **N1b**: metástasis en 2-3 ganglios linfáticos regionales; **N1c**: ningún ganglio linfático es positivo pero hay depósitos tumorales en los tejidos subserosos, mesenterio, en tejidos pericólicos o perirrectales; **N2a**: metástasis en 4-6 ganglios linfáticos regionales; **N2b**: metástasis en más de 7 ganglios linfáticos regionales; **M0**: no hay metástasis; **M1a**: metástasis a distancia, confinadas a un órgano; **M1b**: identificación de metástasis en dos o más órganos; **M1c**: metástasis peritoneal

El tratamiento en esta patología es individualizado en función del estadio en el que se encuentre en el momento del diagnóstico y la localización donde asiente el tumor, permitiendo así aumentar los beneficios para proporcionar una supervivencia y calidad de vida óptimas. Un primer abordaje terapéutico para el CCR son los procedimientos quirúrgicos que incluyen la escisión local del tumor, la colectomía y la proctectomía. Los pacientes que presentan cáncer de colon en estadios I y II se les realiza una colectomía parcial o total. En estadios II y estadio III se puede administrar además quimioterapia para disminuir el riesgo de posibles recidivas (12).

En el cáncer de recto, más de la mitad de los pacientes se benefician de la proctectomía o proctocolectomía en estadio I, recibiendo también radiación y/o quimioterapia. Los estadios II y III con frecuencia se tratan con quimioterapia más radiación neoadyuvantes, y en el estadio IV la principal medida terapéutica es la quimioterapia. En este tipo de intervenciones quirúrgicas puede ser necesario realizar una colostomía (generalmente temporal) durante la cirugía, hecho que se produce con mayor asiduidad en pacientes con cáncer de recto (29%) que en los de colon (12%) (12).

Respecto al tratamiento de la enfermedad metastásica, hay un número creciente de fármacos disponibles (12).

5. MICROENTORNO TUMORAL

El proceso de carcinogénesis en el colon se produce por la aparición de una mutación (explicadas en el apartado de etiología) sobre el epitelio del colon. El microentorno de la lesión preneoplásica constituye el entorno sobre el que se puede originar el tumor, tiene una importante función en la determinación del inicio, progresión o regresión del tumor. Una vez que se ha establecido el tumor, su microentorno pasa a denominarse microentorno tumoral (TME) (13)

En el TME están presentes los siguientes elementos: la matriz extracelular y células estromales como miofibroblastos y reproductores celulares, fibroblastos, células neuroendocrinas, células adiposas, células inmunoinflamatorias y redes vasculares de la sangre y el sistema linfático (14).

El papel del TME y sus componentes, está estrechamente relacionado con cada etapa de la tumorigénesis: iniciación, progresión y metástasis. Analizaremos la función de cada componente en el proceso de tumorigénesis (14):

-Los fibroblastos asociados a cáncer (CAF):

Se trata de una subpoblación de fibroblastos con un fenotipo miofibroblástico presentes en lesiones neoplásicas que después de la activación, se conocen como CAF o miofibroblastos. Durante la reparación de la lesión los miofibroblastos están presentes de forma transitoria, mientras que cuando se ha establecido el tumor permanecen perpetuamente activados. Los fibroblastos activados son necesarios para iniciar y promover el crecimiento del tumor (14).

La activación de fibroblastos puede inducirse a través de diversos impulsos cuando se producen lesiones tisulares, incluidos factores de crecimiento, comunicación directa célula-célula, moléculas de adhesión en contacto con leucocitos, especies reactivas de oxígeno y microRNA. Cuando los fibroblastos permanecen activados después de la regresión inicial, pueden funcionar con otras vías moleculares para estimular el inicio de la neoplasia. Estos CAF tienen un impacto significativo en la progresión del cáncer mediante la remodelación de la MEC, induciendo la angiogénesis, reclutando células inflamatorias y estimulando directamente la proliferación de las células cancerosas a través de la secreción de factores de crecimiento, citoquinas supresoras inmunes e interacciones de las células mesenquimales y epiteliales (14).

-Células inmunes e inflamatorias:

El sistema inmunológico se divide en inmunidad adaptativa e inmunidad innata. Las células inmunitarias adaptativas incluyen linfocitos dependientes del timo (células T) y linfocitos dependientes de la médula ósea (células B). Las células inmunes innatas consisten en células dendríticas, linfocitos asesinos, células natural killer (NK), leucocitos / macrófagos hialinos, granulocitos y mastocitos (14).

La inmunodeficiencia que se produce en el cáncer es un proceso dinámico dividido en tres pasos: eliminación, equilibrio y escape (15).

En la fase de eliminación, denominada clásicamente vigilancia inmunológica, la inmunidad innata y adaptativa trabaja en conjunto para detectar y destruir las células neoplásicas mucho antes de que se vuelvan clínicamente evidentes. Se inicia con la inmunidad innata, que reconoce las células neoplásicas debido a los procesos de remodelación estromal (15). Las células NK, las células T y/o macrófagos reconocen moléculas inducidas por las células tumorales (NKG2D o glicolípido –CD1) y como resultado se produce IFN- γ . El aumento de IFN- γ induce la producción de quimiocinas que estimulan las células del sistema inmune innato. Como resultado de estos procesos, una fuente de antígenos tumorales de células tumorales muertas se vuelve disponible y el sistema inmune adaptativo impulsa el desarrollo de una respuesta inmunitaria adaptativa específica. Las células dendríticas activadas adquieren antígenos tumorales a través de la ingestión de residuos de células. Las células dendríticas maduras migran hacia el ganglio linfático drenante donde inducen la activación de las células T CD4+ específicas de tumores vírgenes, las cuales facilitan el desarrollo de células T CD8+. Las células T CD4+ y CD8+ se ubican en el sitio del tumor y participan en la destrucción de células tumorales positivas para el antígeno (16).

A veces, las variantes de células tumorales pueden no eliminarse por completo, sino que entran en una fase de equilibrio en la que el sistema inmunitario controla el crecimiento neto de las células tumorales; en esta fase, la inmunidad adaptativa restringe el crecimiento de células tumorales ocultas clínicamente indetectables y edita la inmunogenicidad de las células tumorales.(15) El final del proceso de equilibrio da como resultado una nueva población de clones tumorales con inmunogenicidad reducida (16). Finalmente, la latencia funcional de la población de células tumorales puede romperse, lo que lleva a la progresión de las células a la fase de escape, durante la cual los tumores editados de inmunogenicidad reducida comienzan a crecer progresivamente de manera inmunológicamente ilimitada, establecen un microambiente tumoral inmunosupresor hasta hacerse clínicamente aparentes. Escapar del control inmunológico es una de las características del cáncer (15).

-Redes vasculares y sistema linfático:

Las redes vasculares linfáticas suministran oxígeno y sustento, además de eliminar el dióxido de carbono y los desechos metabólicos para sostener la supervivencia del crecimiento de neoplasma. Presentan dos características principales: en primer lugar, los nuevos vasos que rodean al tumor son ineficientes, tortuosos o con fugas. En segundo lugar, el interruptor angiogénico se activa y permanece activo durante el proceso de la tumorigénesis, obteniendo como resultado el crecimiento continuo de nuevos vasos sanguíneos naturales. En el proceso de angiogénesis tumoral, se forman nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes, esto hace que la red vascular sanguínea y linfática tenga mayor complejidad (14).

En el proceso de progresión tumoral, una de las funciones principales de la sangre y las redes vasculares linfáticas es ayudar a las células tumorales a escapar de la vigilancia inmunológica. Las medidas de escape se dividen principalmente en dos categorías. Directamente, el microentorno linfático debilitará o eliminará la función normal de las células inmunitarias. La remodelación de vénulas endoteliales inusuales puede influir indirectamente en las células inmunitarias para que entren en los ganglios linfáticos (14).

-Las células adiposas:

Una amplia evidencia ha demostrado que algunas características del tejido adiposo están asociadas con el cáncer. En primer lugar, la hipoxia del tejido adiposo obeso establece un microentorno altamente proinflamatorio, aumentando así la posibilidad de que se generen tumores. Por otro lado, las células adiposas también secretan citoquinas, quimiocinas y factores similares a las hormonas, cuya producción puede aumentar la obesidad, pueden ser cómplices en la iniciación del tumor. En tercer lugar, en pacientes obesos, el tejido adiposo aloja una mayor proporción de pre-adipocitos, en los que las cifras de macrófagos y monocitos aumentan sinérgicamente, alteraciones que también pueden contribuir al desarrollo del cáncer a nivel local. El exceso de adiposidad conduce a una alta circulación de estrógenos en la sangre y la inflamación crónica de bajo grado, que participa en el desarrollo del cáncer (14).

Otro tipo de células adiposas asociadas al cáncer son las células madre adiposas, que tienen la capacidad de diferenciarse en múltiples linajes celulares. Estas células madre juegan un papel principal cuando se trata de la promoción del progreso del tumor; ya que, influyen en el microentorno del tumor, pueden promover la angiogénesis, pueden diferenciarse en células asociadas a carcinoma y pueden promover EMT (14).

-La célula neuroendocrina:

Las células neuroendocrinas son parte del sistema endocrino difuso, que se encuentra distribuido por todo el organismo en condiciones fisiológicas. También se pueden encontrar dentro de las glándulas o tejidos endocrinos, como el hipotálamo, la glándula pituitaria anterior, la glándula pineal, la glándula tiroides (células secretoras de calcitonina), el timo, la mama y los islotes pancreáticos de Langerhans (14).

El sistema de endocrino influye fuertemente en la función del sistema inmunológico, ya que puede regular la migración y la citotoxicidad en las células NK a través de los neurotransmisores (14).

-Matriz extracelular:

La matriz extracelular del epitelio del colon comprende una red tridimensional (17) compuesta principalmente de colágeno, glicoproteínas y proteoglicanos formando un entorno físico y bioquímico que en condiciones fisiológicas mantiene las funciones de homeostasis y reparación del tejido lesionado. Está constituida por la membrana basal, que es una forma especializada de matriz compuesta principalmente por fibras de colágeno tipo IV, encargada de separar la mucosa del colon de la submucosa. La matriz extracelular estromal se compone de fibras de colágeno tipo I, confiriéndole una estructura menos rígida. Bajo estas circunstancias de normalidad, la matriz presenta una disposición isotrópica de sus componentes de proteínas fibrilares adquiriendo una MEC ordenada esencial para regular el comportamiento celular y homeostasis del tejido (13).

Su heterogeneidad es crucial para controlar los comportamientos invasivos celulares colectivos y determinar la eficiencia de la metástasis. Tiene efectos complementarios sobre el desarrollo y la metástasis de los tumores de diversas maneras, pudiendo afectar a los tumores a través de la secreción extracelular, puede alterar el tipo de fenotipo de células estromales o células tumorales, puede ayudar a las neoplasias a alejarse de la vigilancia inmunológica y puede proporcionar un ambiente hipóxico o ácido en el que las células tumorales tienen mayores ventajas de supervivencia que las células normales. Además, la matriz extracelular seleccionará las células que sobrevivan en dichas circunstancias de hipoxia o acidez, reclutándolas para ayudar en el crecimiento de masa tumoral y aumentar la velocidad de invasión (14).

Ver ANEXO III

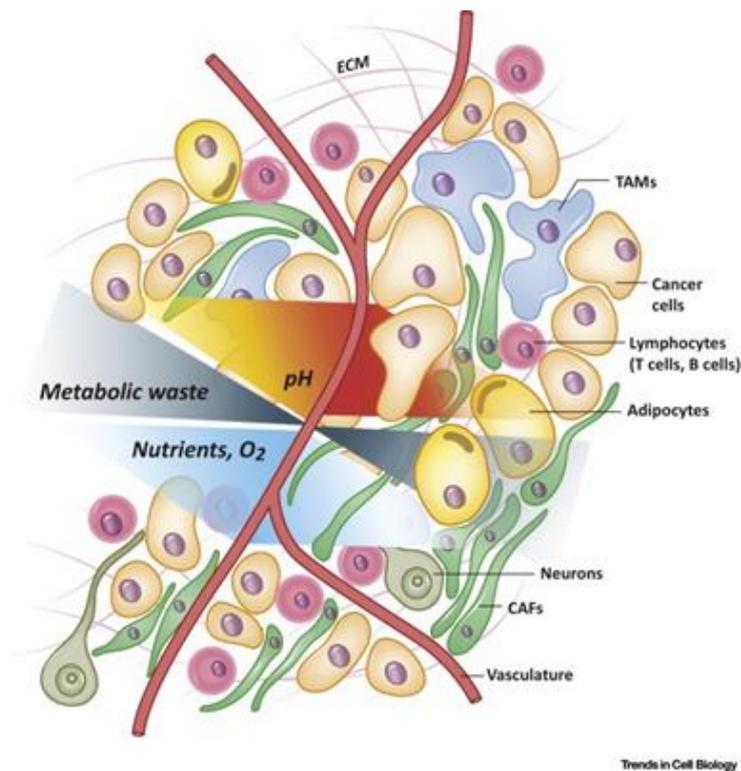


Figura 1: Microambiente tumoral que contribuye a la heterogeneidad metabólica (Lyssiotis CA, Kimmelman AC .2017).

6. LOS MACRÓFAGOS.

El sistema inmunitario tiene como función principal proteger al organismo frente a patógenos, para ello tiene que saber diferenciar lo propio de lo extraño, para que cuando desencadene una respuesta nociva frente a los elementos patógenos, no dañe estructuras propias del organismo. Se compone de una respuesta inmunitaria innata y otra adaptativa (19).

La respuesta inmunitaria innata constituye la primera línea de defensa del organismo, y se caracteriza por la rapidez de acción. En esta respuesta participan células (células NK, células dendríticas, macrófagos y neutrófilos), citoquinas y el sistema del complemento. Su mecanismo para identificar los elementos extraños se basa en receptores de reconocimiento de patógenos (PRRs, *Pattern Recognition Receptors*) que son capaces de reconocer patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP, *Pathogen –Associated Molecular Patterns*), y señales endógenas de daño tisular (DAMP, *Damage-Associated Molecular Patterns*). Dentro de la inmunidad innata se incluye también la respuesta inflamatoria (20).

La respuesta inmunitaria adaptativa, tiene como características propias la especificidad de antígeno, y ser más tardía y sostenida en el tiempo. La principal ventaja respecto a la anterior, es la capacidad de generar memoria inmunológica (una vez ha entrado en contacto con el antígeno, genera una respuesta específica rápida). Está constituida por dos elementos: uno celular (linfocitos T y B) y otro humoral (anticuerpos). El sistema innato se encarga de estimular y guiar (polarizar) a la respuesta adaptativa, mediante células presentadoras de antígeno que se encargan de procesar los antígenos y presentárselos a los linfocitos T y estos a su vez estimulan a los linfocitos B (21).

Todas las células del sistema inmunitario derivan de células madre hematopoyéticas (HSC, Hematopoietic Stem Cell). Durante el desarrollo embrionario, en las primeras semanas, la hematopoyesis se produce en el saco vitelino, más adelante adquieren esta función el hígado y el bazo, y finalmente la médula ósea siendo esta última el principal órgano hematopoyético en el ser humano. Las HSC se renuevan y a partir de ellas derivan las células progenitoras mieloides (CMP, Common Myeloid Progenitor) y linfoides (CLP, Common Lymphoid Progenitor). De las CMP se derivarán los monocitos, macrófagos, granulocitos, células dendríticas y mastocitos (22).

Los macrófagos, denominados también células centinela, mediante la detección de señales de peligro de patógenos o daños en los tejidos, se encargan de garantizar la integridad tisular fagocitando sustancias exógenas, patógenos y componentes propios alterados. Otra de sus funciones más importantes es la inducción y regulación de la inflamación. Además de las funciones mencionadas anteriormente, asumen un papel regulador que comprende la reparación de tejidos, la regulación adaptativa del sistema inmune y funciones de control durante la migración de células inmunitarias (23).

Respecto al origen de los macrófagos, se ha considerado que se originan a partir de los monocitos, los cuales, al salir de la médula ósea se desplazan por la circulación sanguínea y se depositan en los tejidos, dando lugar a diversos tipos de macrófagos tisulares. Esta disposición en distintas localizaciones permite que se detecten las señales de peligro de forma más eficaz y por tanto, obtenerse una respuesta más eficiente (23).

7. MACRÓFAGOS ASOCIADOS A TUMORES.

Los **macrófagos asociados a tumores** o TAM se originan a partir de los monocitos circulantes o macrófagos residentes en el tejido. Constituyen el principal componente inflamatorio del estroma tumoral, siendo abundantes en todas las etapas de progresión del tumor. Se localizan dentro o cerca de la masa tumoral, y cuando infiltran tejido tumoral adquieren funciones pro-tumorales en respuesta a estímulos del microambiente tumoral (TME). Tras su activación, producen y liberan factores de crecimiento, mediadores inflamatorios y enzimas proteolíticas que desempeñan un papel clave en el desarrollo y metástasis del cáncer.

Los macrófagos se clasifican en dos subtipos:

-El subtipo **M1** (polarización denominada activación clásica) tiene como principal función la eliminación de patógenos y células cancerígenas, ejerciendo una fuerte respuesta inflamatoria mediante la producción de citoquinas proinflamatorias como IL-1 β , IL-6, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y especies reactivas de oxígeno (ROS). Este subtipo favorece la inhibición del crecimiento tumoral.

-El subtipo **M2** (activación alternativa) se encarga de la producción de citoquinas antiinflamatorias como IL-10, IL-13 y TGF- β . Posee capacidades promotoras de crecimiento tumoral.

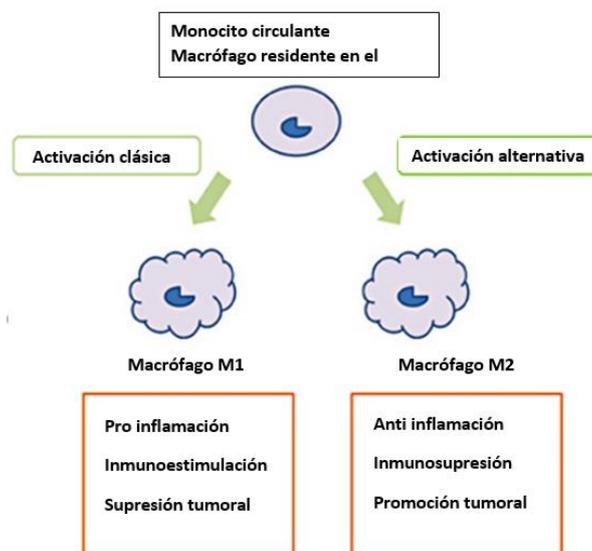


Figura 2: Polarización de los macrófagos (Zhong X, Chen B, Yang Z. 2018).

Se ha descrito que los TAM pueden cambiar entre los subtipos M1 y M2 dependiendo de los estímulos presentes en el TME (13). Esta capacidad se conoce como la plasticidad de los macrófagos. Así, la polarización hacia macrófagos M1 es inducida por la presencia de interferón- γ (IFN- γ), lipopolisacáridos (LPS) o TNF- α en el TME. Mientras que la diferenciación hacia macrófagos M2 se produce por la presencia de IL-4 e IL13. Los inductores pueden coincidir independientemente de la diferenciación a macrófagos M1 o M2 que adquieran los monocitos y la polarización se inicia mediante la unión de los inductores y sus respectivos receptores, produciéndose un proceso de señalización intracelular (24).

Los macrófagos pueden adquirir una variedad de fenotipo durante las diferentes etapas de la progresión del tumor. En las etapas iniciales del crecimiento del tumor pueden presentar propiedades proinflamatorias que favorecen el fenotipo M1, y cuando las células tumorales invaden y producen metástasis, convertirse en un fenotipo M2. A partir de esta premisa se podría realizar un enfoque terapéutico dirigido al cambio de macrófagos de fenotipo M2 a fenotipo M1 para frenar el crecimiento tumoral (13).

La presencia de TAM es abundante en tejidos que presenten escasa vascularización, necrosado e hipóxico, ejerciendo un fuerte efecto procarcinogénico en muchos tumores sólidos (13).

Dentro de las propiedades funcionales de los TAM, se encuentran la supresión de una reacción inmune, la estimulación de la angiogénesis, la remodelación de la matriz extracelular (MEC), estimulan la proliferación de células cancerosas al producir factores de crecimiento, favorecen la inestabilidad genética de estas mediante la generación de ROS y compuestos intermedios de nitrógeno (13).

7.1. EFECTO DE LOS MACRÓFAGOS ASOCIADOS A TUMORES SOBRE EL MICROENTORNO TUMORAL DEL CÁNCER COLORRECTAL.

Varios estudios han demostrado que los TAM están implicados en la progresión del CCR a través de la modulación del TME. Los TAM contribuyen al desarrollo del CCR de manera dependiente del estrés oxidativo, a través de la enzima NADPH peroxidasa, que potencia el estado redox y la capacidad angiogénica del TME. Se ha encontrado también que los TAM promueven la invasión de las células a través de la expresión MMP-9, la cual induce la expresión de proteínas de transición epitelial-mesenquimatosa (E-cadherina, β -catenina, vimentina y SNAIL) (13).

Cuando se establece la masa tumoral en el CCR, la MEC sufre alteraciones en su estructura y se comienza a usar el término de microentorno patológico, caracterizado por una estructura anisotrópica de las fibras y un aumento del estroma proceso denominado desmoplasia, que conlleva un depósito de colágeno sobre el tejido tumoral. Además, la MEC contiene proteínas y moléculas secretadas por células del tumor y estroma con una capacidad proteolítica muy elevada (17). Este hecho produce una degradación de la MB, la cual libera factores angiogénicos, estimuladores del crecimiento y quimiotácticos que regulan el crecimiento tumoral, la angiogénesis y la migración celular. La pérdida de la integridad de la MB se correlaciona con un mayor potencial metastásico. Directamente vinculado a los cambios mencionados anteriormente sobre las propiedades bioquímicas, en la MEC se produce una alteración en su arquitectura, condicionada por un aumento de la rigidez. Dicho cambio se produce por un aumento de la actividad de la lisil oxidasa (LOX). Las células que expresan altos niveles de proteína LOX enzimáticamente activa presentan una mayor capacidad de proliferación, invasión y de hacer metástasis, dato que apoya la correlación entre un estroma más rígido y la agresividad del cáncer (13).

Dentro de este microentorno patológico también se producen cambios en las células tumorales, los fibroblastos asociados al cáncer (CAF), células inflamatorias como los TAM y las células endoteliales. Esto produce una expresión diferencial de proteasas y citoquinas en general. Las células tumorales secretan enzimas degradativas o inducen al huésped a producir enzimas proteolíticas para degradar la MEC, como la metaloproteínasa de matriz (MMP), o las

catepsinas. Por su parte, los CAF producen y secretan factores de crecimiento y citoquinas que promueven la supervivencia del tumor. Así mismo, los TAM participan en la formación del estroma tumoral mediante la secreción de factores de crecimiento angiogénicos, citoquinas y otras MMP; (la mayor parte de MMP-2) (13). Las MMP son esenciales para la ruptura de las fibras de colágeno y para la degradación y organización de la MEC que finalmente facilita la migración de células tumorales (25).

En un estudio en ratones se ha estudiado el papel de los TAM en la remodelación de la MEC. Para ello se ha analizado la expresión de 46 proteínas relacionadas con la MEC. Se encontró que la MEC de tumores TAM positivos era tumorigénica, pero no la MEC de aquellos tumores que eran deficientes en TAM. Las proteínas relacionadas con los componentes de la MEC del colágeno que estaban sobre-expresadas en los TAM, estaban implicadas en la maduración del colágeno del tumor. Se halló que los TAM se acoplaban en los márgenes invasivos del tumor y contribuían a la construcción de una MEC de rico en colágeno en etapas iniciales del desarrollo del CCR (13).

Otro estudio analizó el impacto de la MEC del CCR humano en la polarización de macrófagos, mostrando que los macrófagos educados en la MEC del tumor se convierten en macrófagos M2 en el TME. Se encontró que los macrófagos que se diferenciaban dentro de la matriz del tumor regulaban positivamente los marcadores antiinflamatorios (IL-10, TGF- β y CCL18) mientras que los marcadores proinflamatorios se encontraban regulados a la baja (IL-6 y TNF). Por otra parte, MMP1, una metaloproteinasa de matriz atribuida a la polarización tipo M2 de los TAM, se incrementó en las matrices de tumores. Estos hallazgos sugieren que las matrices descelularizadas derivadas de tumores inducen significativamente una polarización de macrófagos antiinflamatoria tipo M2. Un fenómeno importante a destacar fue el descubrimiento de que los TAM residentes en la MEC estimularon la invasión de células colorrectales a través de la quimioquina CCL18 (13).

Por otra parte, las células tumorales pueden activar a las células endoteliales que mediante la secreción autocrina de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y angiopoyetina consigue la angiogénesis tumoral y vasculogénesis (25).

8. MACRÓFAGOS ASOCIADOS A TUMORES Y RELACIÓN CON CÁNCER COLORRECTAL

En el contexto tumoral, como ya se ha comentado anteriormente, los TAM se polarizan hacia el fenotipo M2. Las funciones tumorigénicas que presentan incluyen la producción de factores de crecimiento como el EGF, TGF-beta y VEGF, que favorecen el desarrollo de las células tumorales y la angiogénesis. Los TAM adicionales producen enzimas proteolíticas como las MMP que degradan las proteínas de la MEC, favoreciendo así la expansión y progresión tumoral (26).

8.1. DOBLE ROL DE LOS MACRÓFAGOS ASOCIADOS A TUMORES.

Abundantes estudios han indicado que la presencia de un gran infiltrado de macrófagos facilita el crecimiento, la progresión y la agresividad de los CCR; y se correlaciona con una mala supervivencia de los pacientes. Los pacientes que presentan una infiltración elevada de TAM M2 en el estroma tumoral tienen un riesgo relativo de recidiva y mortalidad mayor del doble que aquellos que presenten menor infiltración (13).

Los macrófagos M1 se asociaron negativamente con la capacidad metastásica del tumor, mientras que se encontró una correlación positiva entre la proporción de macrófagos M2 con la aparición de metástasis hepáticas y linfáticas, y el grado de diferenciación tumoral. Se cree que la cantidad de macrófagos M2 y la proporción M2 / M1 son predictores precisos de la aparición de metástasis hepáticas en pacientes con CCR (13).

Pero en contraposición a los estudios que han demostrado dicha correlación, otras investigaciones han encontrado una relación opuesta si los TAM M2 se localizaban en el frente tumoral; es decir, en la parte delantera del tumor, hecho que se ha indicado como resultado pronóstico favorable. Esta reacción se entiende como la expresión de una fuerte reacción de la defensa inmune, particularmente en las primeras etapas de la carcinogénesis (27).

Esta ambigüedad en los resultados puede ser debida a una "participación variable" de los TAM en varias localizaciones en diversas etapas de la carcinogénesis o una distribución diferente de subpoblación M2 TAM. Solo en el CCR el resultado de las actividades de los TAM resulta en una influencia pro o antitumoral, al ser un tumor dependiente de la inflamación (27). Otro trabajo que estudió en 205 tumores primarios la presencia de macrófagos M1 y macrófagos M2 encontró una elevada infiltración de macrófagos M2 en tumores de menor grado y en pacientes con menos metástasis en los ganglios linfáticos, independientemente de si la micro-localización era en el estroma tumoral o en el epitelio del cáncer. Además, se observó un beneficio en la supervivencia en aquellos pacientes que presentaban M2 altos. Respecto al recuento de macrófagos M1, este estudio no mostró ningún impacto en las características clínico-patológicas o en la supervivencia (28).

8.2. EFECTO DEL METABOLISMO DE LOS TAM EN EL CRECIMIENTO DEL CCR

El metabolismo del tumor tiene un papel fundamental en el mantenimiento y crecimiento del tumor y en la diseminación de futuras metástasis (29).

La programación metabólica, proporciona a las células tumorales sustratos y energía esenciales, característica importante en la progresión tumoral. Los cambios metabólicos en el TME incluyen la reprogramación metabólica en células estromales y células tumorales (30).

En primer lugar, los macrófagos se activan. Los M1 lo hacen a través de la estimulación con IFN γ y ligandos de receptor de tipo toll (TLR), como los lipopolisacáridos; obteniendo un fenotipo proinflamatorio determinado por la secreción de citoquinas proinflamatorias y especies reactivas de oxígeno. Además, los macrófagos M1 poseen actividad bactericida y antitumoral. Por otro lado, las IL-4 e IL-13 conducen a la polarización de los macrófagos hacia un fenotipo antiinflamatorio M2. Alternativamente, los macrófagos activados participan en la remodelación tisular, la inmunosupresión y muestran actividad fagocítica y protumoral. Impuestos por el microambiente, los macrófagos adaptan su fenotipo metabólico para cumplir su función en la homeostasis y la inflamación (29).

El metabolismo que presentan los TAM M1 se caracteriza por la glucólisis aeróbica, la síntesis de ácidos grasos y un ciclo del ácido tricarboxílico (TCA) truncado. En la glucólisis aeróbica se convierte la glucosa en lactato. Presentan un flujo incrementado a través de la vía fosfato pentosa (PPP), generando NADPH que se utiliza para la generación de glutatión antioxidante y los mediadores inflamatorios (NO) y especies reactivas de oxígeno. El TCA se interrumpe y produce la acumulación de citrato, el cual sirve como precursor para la síntesis del ácido itacónico, metabolito específico de macrófagos polarizados con IFN γ y lipopolisacáridos, además conduce a la generación de ácidos grasos, NO y ROS. Por otro lado, también se produce la acumulación de succinato, que lleva a la estabilización de HIF-1 α y la transcripción de los genes proinflamatorios y glucolíticos (29).

El fenotipo metabólico de los macrófagos M2 produce principalmente ATP a través de un ciclo de TCA oxidativo acoplado a la fosforilación oxidativa. Para realizar el ciclo de TCA se basan en la oxidación de ácidos grasos y el metabolismo de la glutamina. Presentan una vía PPP y una glucólisis disminuida. Además, convierten la L-arginina en urea y L-ornitina, que sirve como precursor de la prolina (28). Se ha demostrado que el metabolismo de los TAM favorece el crecimiento tumoral a través de la expresión de la hidrolasa AB -5 (ABHD5). La ABDH5 es un coactivador lipolítico de la lipasa de triglicéridos adiposos, que participa en la lipólisis de los triglicéridos en diglicéridos y ácidos grasos libres, se encarga de la función mitocondrial de los macrófagos y mantiene el fenotipo M2 (30).

Se revela que la expresión de ABHD5 está incrementada en los TAM. Los estudios formulan un novedoso mecanismo que vincula el metabolismo de lípidos y poliaminas en los TAM con el crecimiento de CCR (30).

Las células CCR reprograman los TAM aumentando la expresión de ABHD5. El aumento de ABHD5 suprime la acumulación de ROS, esto conlleva a la inhibición de la producción de espermidina sintasa (SRM) produciendo así la supresión de la síntesis de espermidina dependiente de C / EBPε, hecho que favorece finalmente el crecimiento de CCR. Se caracteriza a la ABHD5 como un regulador del metabolismo de la espermidina (30).

La expresión de ABHD5 en diferentes células ejerce diferentes funciones a través de diferentes mecanismos. Se ha demostrado que la deficiencia de ABHD5 promueve el desarrollo de tumores colorrectales mediante la inducción de la glucólisis y la transición epitelio-mesenquimatoso (30).

Otro fenómeno de interés que este estudio encontró fue que la expresión de ABHD5 en células CCR o TAM era opuesta. Las células tumorales y las células estromales asociadas (como por ejemplo los TAM) en el mismo microambiente compiten por los nutrientes importantes, como la glucosa, ácidos grasos y aminoácidos. Las células tumorales son dominantes en dicha competencia, dejando a las células estromales con carencias de algunos nutrientes. Este suceso hace que expresen de forma opuesta genes relacionados con el metabolismo y se modifiquen las vías metabólicas (30).

8.3. LOS TAM Y SU ASOCIACIÓN CON LA ANGIOGÉNESIS TUMORAL EN EL CCR.

La angiogénesis tumoral genera neovascularización como respuesta a la necesidad de nutrientes y oxígeno, y como vía para eliminar los desechos del metabolismo y el dióxido de carbono. Esta nueva vasculatura surge para poder sostener el crecimiento neoplásico (31).

Esta angiogénesis implica la degradación de la membrana basal del vaso original, la activación de células endoteliales, la migración, la proliferación y la formación de nuevos capilares; todo ello controlado por factores angiogénicos (32). Histológicamente, los vasos sanguíneos resultantes dentro del tumor presentan una morfología aberrante, con una proliferación endotelial anormal y apoptosis (31).

Se ha demostrado que los niveles de TAM se encuentran íntimamente asociados con crecimiento de nuevos vasos sanguíneos en tejidos donde tiene lugar el proceso de tumorigénesis. La angiogénesis tumoral es estimulada por la hipoxia, y los TAM se reclutan precisamente en áreas hipóxicas del tejido tumoral, y en concreto en el tejido necrótico.

Los TAM expresan el factor 1 inducible por la hipoxia (HIF-1α), que regula la transcripción del gen VEGF, asociado a la angiogénesis en sitios de hipoxia; y pueden producir un gran número de moléculas (VEGF, TNF α, IL-1β, IL-8, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento de fibroblastos básico, timidina fosforilasa, MMP...) que en conjunto favorecen la angiogénesis y proporcionan nutrición al tumor (13).

La infiltración de macrófagos y la densidad de neovasos se ha correlacionado con el estadio clínico y las metástasis a los ganglios linfáticos. La presencia de TAM induce mediadores proinflamatorios como IL-1 e IL-6 que aumentan la producción de factores de crecimiento relacionados con la angiogénesis (13) y se correlacionan con la extensión del lecho microvascular en pacientes con cáncer colorrectal (33).

9. MACRÓFAGOS ASOCIADOS A TUMORES COMO OBJETIVO TERAPÉUTICO

En general se pueden llevar a cabo 2 aproximaciones terapéuticas: disminuir la cantidad de TAM presente en el tejido tumoral o cambiar el fenotipo protumoral (M2) hacia el estado tumoricida (M1).

Las estrategias antitumorales dirigidas contra los TAM se basan en:

- I. Inhibir el reclutamiento de macrófagos
- II. Suprimir la supervivencia de TAM
- III. Potenciar la actividad tumoricida de los TAM M1
- IV. Bloquear la actividad protumoral de los M2.

I. La inhibición del reclutamiento de macrófagos mediante la modulación de citoquinas quimiocinas liberadas por el tumor y por el estroma, las cuales facilitan el reclutamiento de macrófagos. Un ejemplo es la CCL2 (C-C motif chemokine ligand), cuya sobreexpresión se ha correlacionado con un aumento de la infiltración de TAM y un mal pronóstico en cánceres humanos; como alternativa se puede neutralizar su receptor, el CCR2. Otros quimioatrayentes son el factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), VEGF, CXCL-12 y CCL5; o los inhibidores de HIF que pueden considerarse candidatos antitumorales no solo por su potencial para inhibir la angiogénesis, sino también por sus efectos en el reclutamiento de macrófagos (34).

II. Suprimir la supervivencia de los TAM protumorales. Se han probado dos estrategias alternativas. Una es inducir directamente la apoptosis de macrófagos usando reactivos químicos (bifosfonatos, clodronato, ácido zoledrónico o Dasatinib) anticuerpos monoclonales conjugados con inmunotoxinas o bacterias atenuadas; o, por otro lado, activar células inmunes como los linfocitos T para reconocer y anular a los TAM (34).

Se está investigando la aplicación clínica de la vacuna BCG (bacilo Calmette-Guérin) en el tratamiento de pacientes con CRC. Aunque el modo de acción de la vacunación con BCG en la regresión tumoral no está completamente aclarado, se cree que implica una activación inespecífica de las respuestas inmunitarias contra los tumores, y una mayor producción de citoquinas proinflamatorias de macrófagos como el TNF α e IL-12. La estimulación in vitro de macrófagos con BCG apoya estos resultados (35).

El mejor conocido y uno de los activadores más potentes de macrófagos a través del receptor tipo Toll (TLR) 4 es el lipopolisacárido (LPS), que se origina en la membrana externa de las bacterias gram negativas. Sin embargo, la aplicación de LPS en pacientes se ve obstaculizada por su toxicidad y efectos secundarios graves, como hipotensión, fiebre, coagulación sanguínea diseminada y shock letal. Una alternativa al LPS podrían ser los péptidos muramilo (peptidoglicanos derivados de la pared celular de bacterias gram positivas) con propiedades similares a las del LPS, pero efectos secundarios menos graves (35).

La otra estrategia de la que hemos hablado anteriormente es evocar respuestas inmunitarias adquiridas en las que los linfocitos T citotóxicos actúan eliminando a los TAM a través del ataque a las moléculas de su membrana, es decir, regular al alza las moléculas de membrana de los TAM para que puedan ser reconocidas por los linfocitos T (34).

III. La potenciación de la actividad tumorigénica M1 de los TAM se debe a la plasticidad para la polarización lo que proporciona un potencial para que los TAM se vuelvan a polarizar desde el tipo M2 promotor de tumores al tipo M1 tumorigénica (34).

La repolarización permite adjudicarles la competencia de reeducarlos para que adquieran propiedades antitumorales. La reeducación de los TAM se puede realizar mediante la interrupción de ciertas vías moleculares que contribuyen a la repolarización de M1 a M2 y estimular las vías que promueven la repolarización de M2 a M1 como estrategia para mejorar la actividad tumorigénica M1 (23). Estas vías se explican a continuación:

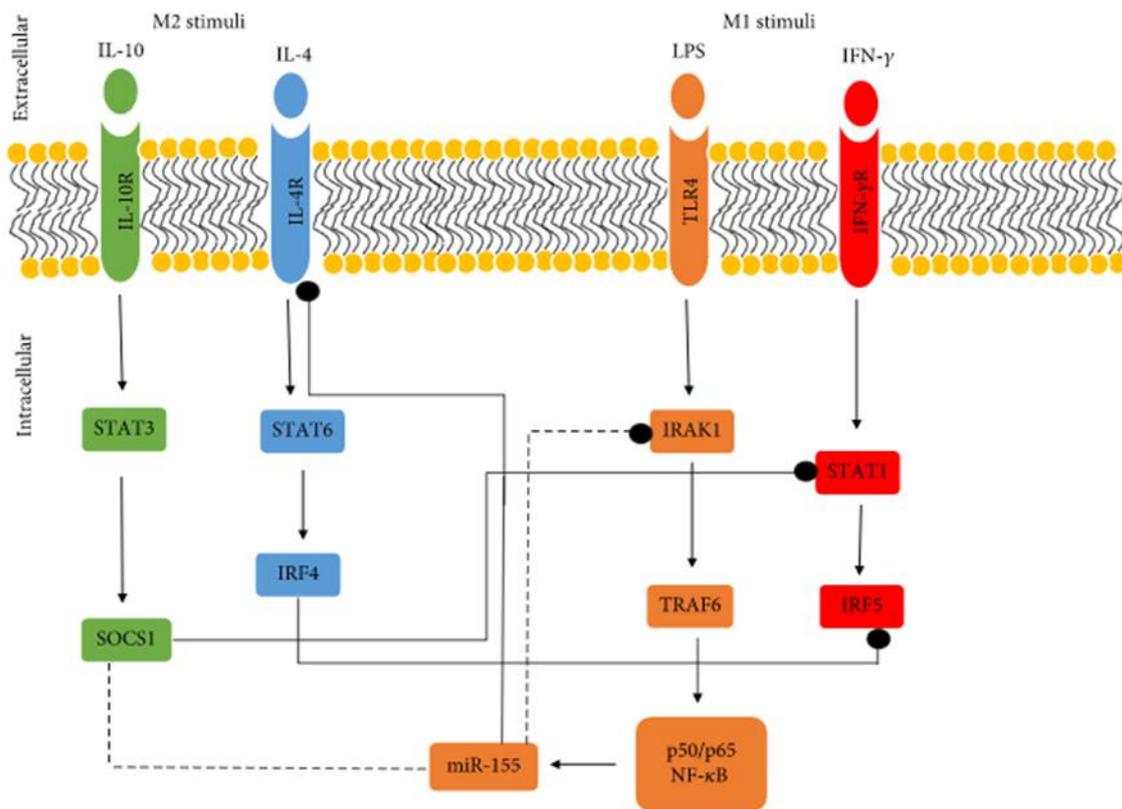


Figura 3: Polarización de macrófagos M1 y M2 en presencia de señales microambientales (Yahaya MAF, Lila MAM, Ismail S, Zainol M, Afizan NARNM. 2019)

- Los M2 se activan por los factores transcripcionales, STAT3 y STAT6, permitiendo la promoción del cáncer. Si bloqueamos la expresión de STAT3 podemos reeducar los TAM hacia el fenotipo inhibidor tumoral M1. El FLLL32, un análogo de la dicetona de la curcumina se diseñó para unirse a la molécula STAT3 y así inhibir su fosforilación, y, por tanto, bloquear la vía STAT 3. (24)

- Otra vía de intervención es a través de la vía NF-κB que es un factor de transcripción. En las células en reposo, los dímeros de NF-κB se unen a las proteínas IκB (IκBα, -β y -ε), lo que inhibe su capacidad de unión al ADN y las retiene en un estado latente. Su papel es determinante para garantizar la actividad tumoricida M1 y la expresión de citoquinas proinflamatorias (36).

La vía NF-κB puede modular positivamente la transcripción de citoquinas de respuesta Th1 en la mayoría de las circunstancias. Se sabe que la activación atenuada de NF-κB en los TAM media su propiedad inmunosupresora M2; mientras que la reactivación de NF-κB puede redirigir los TAM a un fenotipo tumoricida tipo M1. Agentes como los agonistas de los receptores tipo Toll (TLR), anticuerpos anti-CD40 y anti-IL-10R pueden activar NF-κB (34).

En la vía NFκB se pueden dar 2 rutas:

- La clásica en la cual se produce la polarización M1 que se produce a través de la unión de la IL-1R y todas las TRL (excepto la TRL3) a través de una proteína adaptadora MyD88, lo que conlleva a la activación NF-κB y la transcripción de citoquinas proinflamatorias (TNFA, IL-1B e IL-6). La polarización M2 se efectúa a través de las IL-10, IL-4 e IL-13 que se unen a sus tirosin quinazas receptoras y a través de JAK estimulan la activación de STAT3 y STAT6 mediante los cuales se induce la expresión de varios genes M2. Sin embargo, inhiben la activación de STAT1 y NF κB (36).

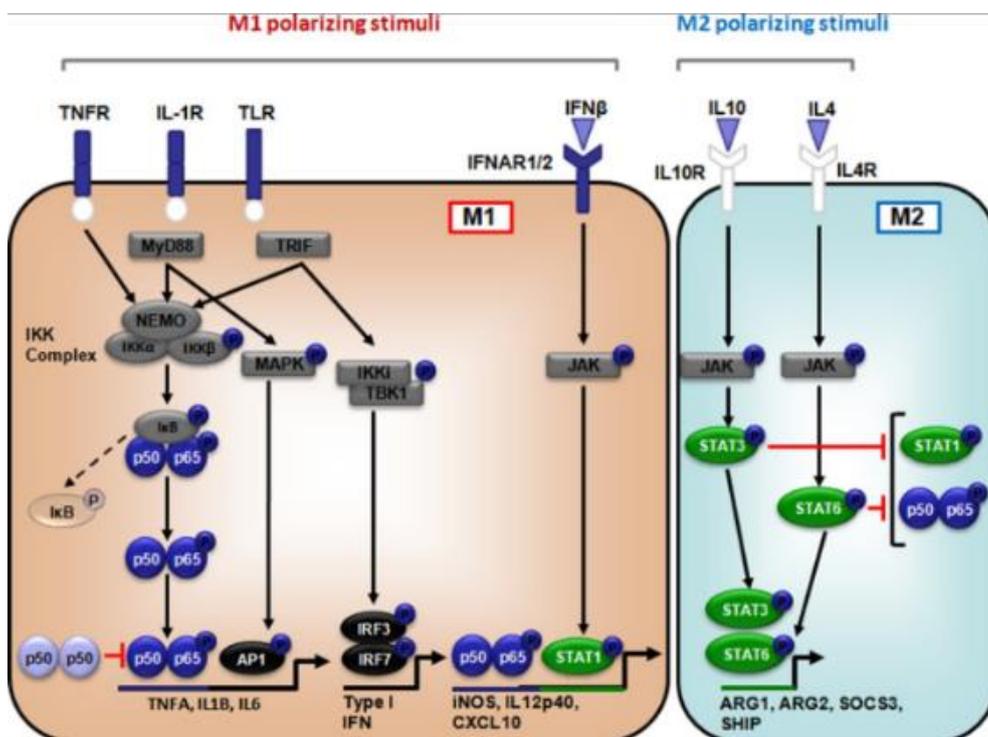


Figura 4: Rutas clásica NF-κB (Biswas SK, Lewis CE. 2010)

- La ruta no clásica se activa a través de la interacción entre TAM y las células tumorales. Ambos tipos celulares expresan ligandos (RANKL, LT α , LT β , LIGHT) y receptores (RANK, LT β R). La liberación de los ligandos de los TAM activa la vía no canónica mediante la unión a los receptores en las células tumorales para promover las metástasis a través de la inhibición del gen supresor de tumores, MASPIN. De manera similar, los ligandos LT β R de las células tumorales pueden activar genes protumorales en TAM, como CXCL12 y VEGFC (36).

La regulación de la función de los TAM por NF κ B puede ser dependiente del contexto. Así, La activación de NF κ B durante la etapa inicial del tumor conduciría a la producción de citoquinas inflamatorias (TNF- α y la IL-1 β); mientras que tumores establecidos liberan citoquinas antiinflamatorias (IL-10 y TGF- β), y participan en la remodelación de tejidos y la angiogénesis. La plasticidad de la función NF- κ B parece coincidir con la plasticidad de los TAM durante la progresión del tumor (36).

- También se ha observado el papel de IFN- γ en la reversión de las propiedades inmunosupresoras y pro-tumorales de los TAM humanos. Se ha propuesto que los IFN desencadenan la activación de STAT1 y luego la transcripción de los genes que codifican las citoquinas proinflamatorias, como IL-12, óxido nítrico sintasa 2 (NOS2) y CXCL-10, en TAM (34).

La terapia con IFN- γ induce mayor citotoxicidad a los macrófagos hacia las células tumorales. Se ha descubierto que el IFN- γ reprograma el metabolismo celular y regula la traducción, ambos elementos clave que participan en la activación de macrófagos inflamatorios (35).

Los macrófagos se acumulan en áreas hipóxicas de tumores sólidos, donde promueven el crecimiento tumoral y suprimen la respuesta inmunitaria antitumoral. Una forma de activar localmente su capacidad citotóxica es transfectar macrófagos ex vivo con genes que codifican IFN- γ endógeno bajo un promotor inducido por hipoxia. Se utiliza la hipoxia ambiental local como una señal, los macrófagos modificados pudieron aumentar la producción de IFN- γ , lo que llevó a un aumento de la producción de NO y una mayor fagocitosis de estos macrófagos in vitro (35).

Diferentes ensayos clínicos han obtenido resultados contradictorios. Los primeros ensayos de fase I mostraron que pacientes con neoplasias malignas avanzadas podían tolerar los tratamientos con dosis altas de IFN- γ , pero solo mostraron una respuesta clínica limitada. El tratamiento con IFN- γ para prevenir la recaída del tumor después de la cirugía curativa en pacientes con cáncer de colon primario no produjo un aumento significativo en la supervivencia general del paciente (35).

- Varias citoquinas también se encuentran involucradas en la repolarización de TAM, una de estas es el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) (34).

Se ha evidenciado que GM-CSF combinado con IFN- γ puede favorecer la repolarización hacia macrófagos de perfil inflamatorio M1. Este hecho supone que GM-CSF podría alcanzar un perfil como agente terapéutico en el CCR. Se ha descubierto una correlación entre la secreción de GM-CSF por células de CCR y un mejor pronóstico.

Es importante destacar que el tratamiento con GM-CSF podría actuar como un arma de doble filo, ya que se ha demostrado que GM-CSF aumenta el número de células supresoras derivadas mieloides, dificultando la inducción de respuestas inmunitarias efectivas. El tratamiento con IFN- γ todavía se estudia ampliamente en diferentes contextos clínicos (35).

- Otra forma de reeducar los TAM es a partir de los factores inductores de hipoxia (HIF), los cuales son capaces de inducir la producción de factores angiogénicos como VEGF e IL-8. Los HIF se encuentran sobre-expresados en los TAM que se localizan en la TME hipóxica (13).

IV. Bloquear la actividad protumoral de los M2

Las rutas STAT3 y STAT6 Tienen un papel principal en la polarización TAM tipo M2. La inhibición de estas dos rutas permitirá el bloqueo de la actividad de los M2. Dentro de los inhibidores de STAT3 se encuentran el Sumatinib y el Sorafenib; y el ácido corosólico y el ácido oleanólico recientemente identificados; actualmente, se han identificado al menos tres inhibidores de STAT6 (AS1517499, leflunomida y TMC-264) (34).

Otras dianas terapéuticas antitumorales son el factor productor de hipoxia (HIF) (33), que es capaz de inducir la producción de factores angiogénicos como VEGF e IL-8(vía descrita anteriormente) (13).

En el contexto metabólico de los TAM también se puede intervenir como objetivo potencial para la terapia antitumoral en el CCR, mediante la actuación a nivel del ejeABHD5 / SRM / espermidina (30).

Se ha sugerido que se use un activador o inhibidor más específico para interrumpir el metabolismo de la poliamina en el tratamiento del tumor. En este estudio se sugiere que los medicamentos específicos para SRM o espermidina podrían ser útiles en el tratamiento del CCR (30).

Al investigar la interacción entre los macrófagos y las células CCR, identificamos múltiples vías que podrían ser aplicables en la disposición del tratamiento del tumor. Los tratamientos prooxidativos, como la radioterapia, pueden potenciar la vía de la espermidina ROS-C / EBP ϵ -SRM en macrófagos, lo que perjudica el crecimiento del CCR. La intervención metabólica de poliaminas específicas, como la espermidina, podría afectar el crecimiento de las células tumorales. Si bien es cierto, el ABHD5 podría no ser fácilmente abordado en el tratamiento del CCR debido a una deficiencia de ABHD5 en la metástasis potenciada por células cancerosas, mientras que la sobreexpresión de ABHD5 en TAM promovió el crecimiento tumoral en el presente estudio (30).

10.CONCLUSIONES

Los macrófagos en el CCR presentan unas funciones características que están determinadas por su relación con el microentorno tumoral. Éstas son su plasticidad para polarizarse hacia un fenotipo protumoral (M2) o antitumoral (M1) y la contribución de su metabolismo al mantenimiento y crecimiento del tumor.

En la progresión del CCR los TAM, en general, presentan un carácter inmunosupresor que contribuye al desarrollo tumoral. Además, gracias a su capacidad promotora de la angiogénesis en condiciones de hipoxia, facilitan la progresión, el crecimiento y la agresividad de los tumores. En clínica, La infiltración de macrófagos y la densidad nuevos vasos se correlaciona con el estadio clínico y las metástasis.

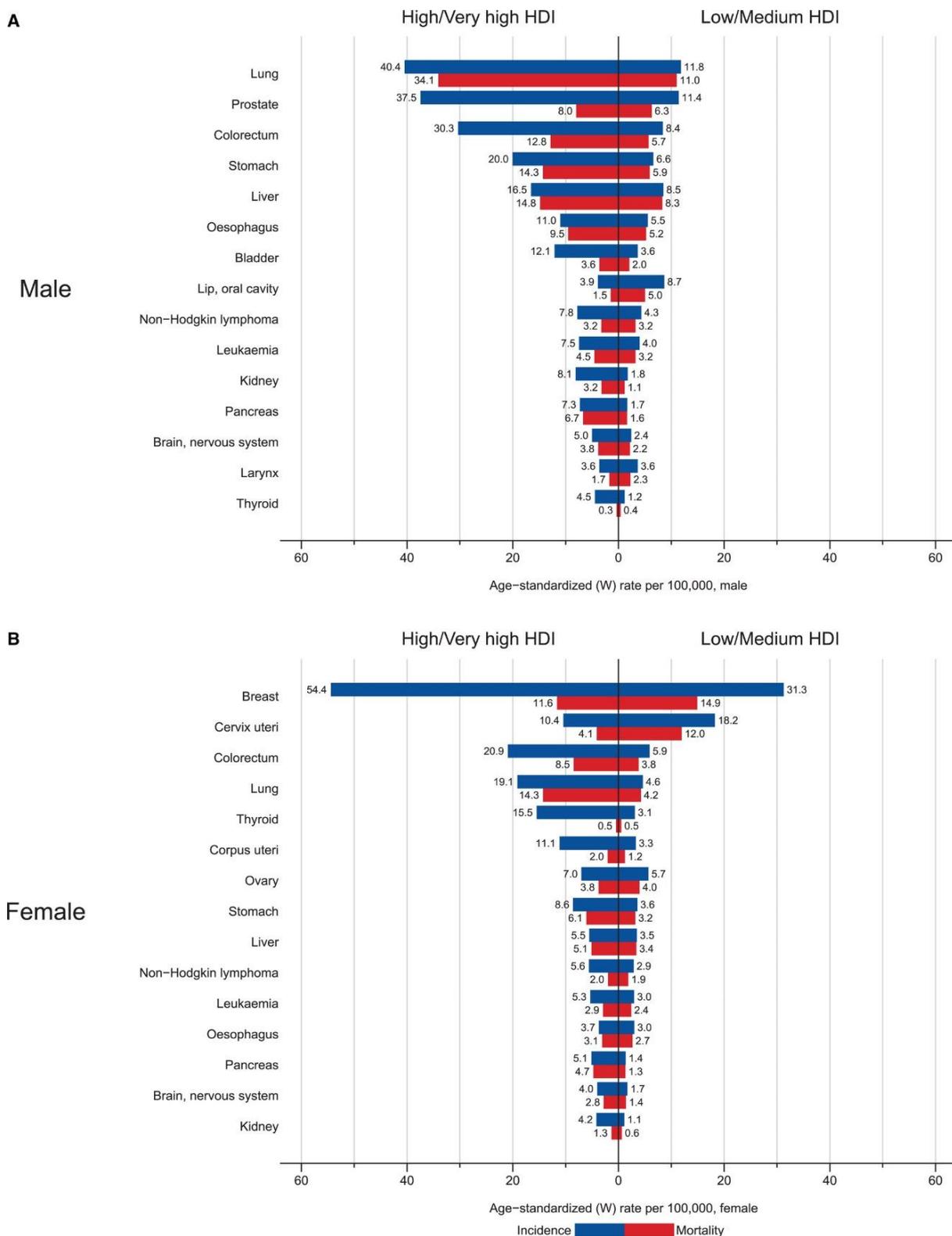
Sin embargo, existen informes contradictorios respecto a su relación con un mejor o peor pronóstico. En general, si los macrófagos se localizan en el frente tumoral, se asociaba a un mejor pronóstico. A pesar de los diversos estudios que se han realizado sobre el papel de los TAM en la progresión tumoral, no se ha llegado a un consenso claro sobre la importancia funcional de los TAM en el tumor sólido y sus metástasis. Se requieren estudios adicionales para entender cómo evoluciona el fenotipo de los macrófagos en las distintas etapas de la progresión del CCR y cómo pueden influir en las diferentes etapas de la tumorigénesis y el desarrollo del CCR.

Gracias al comportamiento dual (protumoral/antitumoral) que pueden tener los macrófagos en el microentorno tumoral, se está evaluando a los mismos como posibles dianas terapéuticas. Por medio de diversas estrategias se pretende disminuir la cantidad de TAM presente en el tejido tumoral o inducir la repolarización hacia el estado tumoricida M1.

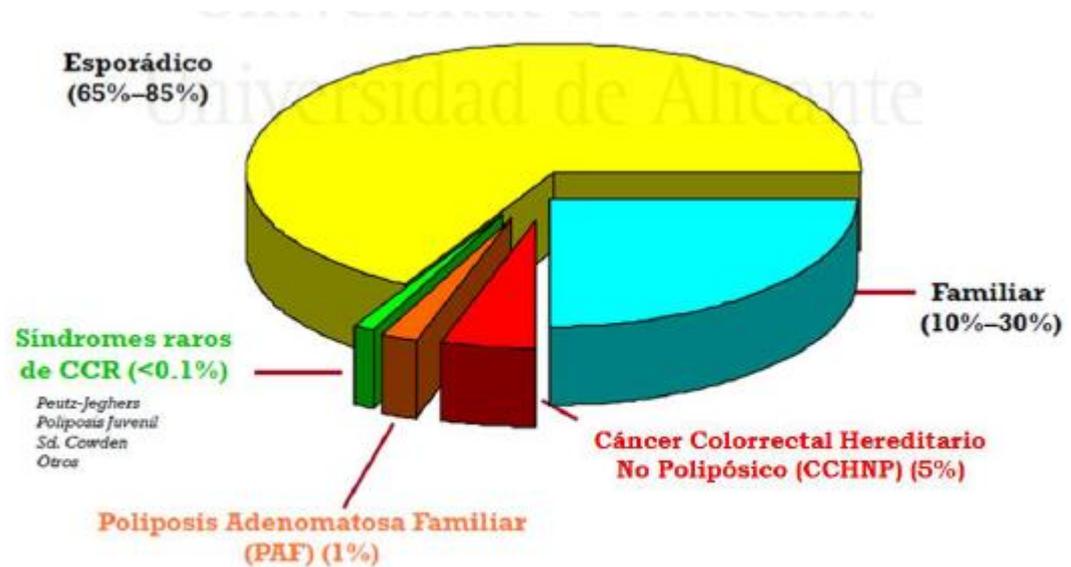
Se requiere una comprensión más completa de las propiedades de los TAM y sus interacciones con el microentorno del tumor, además de mejorar las técnicas de diagnóstico, para facilitar el desarrollo y la aplicación clínica de terapias contra el cáncer dirigidas hacia los macrófagos.

11.ANEXOS

- I. Gráficos de barras de la incidencia y la mortalidad. Tasas estandarizadas por edad según el Índice de desarrollo humano (IDH) de las regiones: HDI alto / Muy alto versus HDI bajo / medio entre (A) hombres y (B) mujeres en 2018. (1)



II. Prevalencia de los distintos tipos de CCR (5).



III. Función de las células del TME (14).

Jugadores celulares	Marcadores principales	Funciones primarias
Fibroblastos asociados a cáncer (CAF)	PDGF *; FAP *; FGFR *; VDR *	Regulación de la inflamación; Participando en la curación de heridas; Integrandos colágeno y proteínas para formar la red de fibra ECM; Escapar del daño;
Célula inmune e inflamatoria	TNF- α ; IL-10; IL-12; TGF- β ; Foxp3 + *; HMGB1 *; CD163 + *; KIR *; PD-1 + *	Tratamiento de la curación de heridas e infecciones; Eliminación de células muertas y restos celulares; Tener doble efecto en la formación de tumores.
La sangre y las redes vasculares linfáticas.	VEGRF3; LYVE-1; CD31; CD34; VEGF *; PlGF *; VEGF-B *; VEGF-C *; VEGF-D *	Requieren nutrientes y oxígeno; Evacuación de desechos metabólicos y dióxido de carbono; Ayudando a escapar de la vigilancia inmune.
Célula adiposa	IAs *; MBD6 *	Produce estrógenos circulantes sanguíneos; Una fuente de energía importante; Relacionarse con la inflamación; Reclutamiento de células inmunes; Apoyar la vasculogénesis.
Célula neuroendocrina	NSE; CgA; Citoqueratinas K18 y K8; PGP9.5; Ki-67; IL-2; KE108 *; DLL3 *; EGF *	Luminarias en extensión y células epiteliales adyacentes; Regula la secreción y la motilidad; Control de la morfogénesis de la ramificación pulmonar; Proporcionar un nicho de protección para un subconjunto de células madre de pulmón.

12.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2018;68(6):394–424.
2. Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut*. 2017;66(4):683–91.
3. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Diet, Nutrition, Physical Activity and Cancer: a Global Perspective [Internet]. Continuous Update Project Expert Report 2018. 2018. 1-53 p.
4. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* [Internet]. Elsevier Inc.; 2011;144(5):646–74.
5. Sievers CK, Grady WM, Halberg RB, Pickhardt PJ. New insights into the earliest stages of colorectal tumorigenesis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;11(8):723–9.
6. Brosens LAA, Offerhaus GJA, Giardiello FM. Hereditary Colorectal Cancer: Genetics and Screening. *Surg Clin North Am*. 2015;95(5):1067–80.
7. Colussi D, Brandi G, Bazzoli F, Ricciardiello L. Molecular pathways involved in colorectal cancer: implications for disease behavior and prevention. *Int J Mol Sci*. 2013;14(8):16365–85.
8. Carethers JM, Jung BH. Genetics and Genetic Biomarkers in Sporadic Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. 2015; 149:1177–1190.
9. Grady WM, Markowitz SD, Hutchison F. Potential Application To Colorectal Cancer Screening. *Dig Dis Sci*. 2016;60(3):762–72.
10. Anderson JC. Pathogenesis and management of serrated polyps: Current status and future directions. *Gut Liver*. 2014;8(6):582–9.
11. Amin MB, Edge S, Greene F, Byrd DR, Brookland RK, Washington MK, Gershenwald JE, Compton CC, Hess KR, et al. (Eds.). *AJCC Cancer Staging Manual* (8th edition). Springer International Publishing: American Joint Commission on Cancer; 2017.
12. Miller KD, Siegel RL, Lin CC, Mariotto AB, Kramer JL, Rowland JH, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2016;66(4):271–89.
13. Zhong X, Chen B, Yang Z. The Role of Tumor-Associated Macrophages in Colorectal Carcinoma Progression. *Cell Physiol Biochem* [Internet]. 2018; 45:356-365
14. Wang M, Zhao J, Zhang L, Wei F, Lian Y, Wu Y, et al. Role of tumor microenvironment in tumorigenesis. *J Cancer*. 2017;8(5):761–73.
15. Vesely MD, Schreiber RD. Cancer Immunoediting: antigens, mechanisms and implications. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;42(2):157–62.

16. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The Three Es of Cancer Immunoediting. *Annu Rev Immunol*. 2004;22(1):329–60.
17. Afik R, Zigmond E, Vugman M, Klepfish M, Shimshoni E, Pasmanik-Chor M, et al. Tumor macrophages are pivotal constructors of tumor collagenous matrix. *J Exp Med [Internet]*. 2016;213(11):2315–31.
18. Lyssiotis CA, Kimmelman AC. Metabolic Interactions in the Tumor Microenvironment. *Trends Cell Biol [Internet]*. Elsevier Ltd; 2017;27(11):863–75.
19. Jiang H, Chess L. Chapter 2 How the Immune System Achieves Self-Nonself Discrimination During Adaptive Immunity [Internet]. 1st ed. Vol. 102, *Advances in Immunology*. Elsevier Inc.; 2009. 95-133 p.
20. Bardoel BW, Van Strijp JAG. Molecular battle between host and bacterium: Recognition in innate immunity. *J Mol Recognit*. 2011;24(6):1077–86.
21. Chinen J, Fleisher TA, Shearer WT. Adaptive Immunity. *Middleton's Allergy Princ Pract Eighth Ed [Internet]*. Elsevier Ltd; 2013;1–2(2):20–9.
22. Morita Y, Iseki A, Okamura S, Suzuki S, Nakauchi H, Ema H. Functional characterization of hematopoietic stem cells in the spleen. *Exp Hematol [Internet]*. ISEH - Society for Hematology and Stem Cells; 2011;39(3):351–359.e3.
23. Franken L, Schiwon M, Kurts C. Macrophages: Sentinels and regulators of the immune system. *Cell Microbiol*. 2016;18(4):475–87.
24. Yahaya MAF, Lila MAM, Ismail S, Zainol M, Afizan NARNM. Tumour-Associated Macrophages (TAMs) in Colon Cancer and How to Reeducate Them. *J Immunol Res. Hindawi*; 2019; 2019:1–9.
25. Crotti S, Piccoli M, Rizzolio F, Giordano A, Nitti D, Agostini M. Extracellular Matrix and Colorectal Cancer: How Surrounding Microenvironment Affects Cancer Cell Behavior? *J Cell Physiol*. 2017;232(5):967–75.
26. Gulubova M, Ananiev J, Yovchev Y, Julianov A, Karashmalakov A, Vlaykova T. The density of macrophages in colorectal cancer is inversely correlated to TGF- β 1 expression and patients' survival. *J Mol Histol*. 2013;44(6):679–92.
27. Waniczek D, Lorenc Z, Śnietura M, Wesecki M, Kopec A, Muc-Wierzgoń M. Tumor-Associated Macrophages and Regulatory T Cells Infiltration and the Clinical Outcome in Colorectal Cancer. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. Springer International Publishing; 2017;65(5):445–54.
28. Koelzer VH, Canonica K, Dawson H, Sokol L, Karamitopoulou-Diamantis E, Lugli A, et al. Phenotyping of tumor-associated macrophages in colorectal cancer: Impact on single cell invasion (tumor budding) and clinicopathological outcome. *Oncoimmunology [Internet]*. Taylor & Francis; 2016;5(4):1–10.
29. Geerarte X, Bolli E, Fendt SM, Van Ginderachter JA. Macrophage metabolism as therapeutic target for cancer, atherosclerosis, and obesity. *Front Immunol*. 2017;8(March).

30. Miao H, Ou J, Peng Y, Zhang X, Chen Y, Hao L, et al. Macrophage ABHD5 promotes colorectal cancer growth by suppressing spermidine production by SRM. *Nat Commun* [Internet]. Nature Publishing Group; 2016;7(May):1–12.
31. Mathonnet M, Perraud A, Christou N, Akil H, Melin C, Battu S, et al. Hallmarks in colorectal cancer: Angiogenesis and cancer stem-like cells. *World J Gastroenterol*. 2014;20(15):4189–96.
32. Badawi MA, Abouelfadl DM, El-Sharkawy SL, Abd El-Aal WE, Abbas NF. Tumor-associated macrophage (TAM) and angiogenesis in human colon carcinoma. *Maced J Med Sci*. 2015;3(2):209–14.
33. Marech I, Ammendola M, Sacco R, Sammarco G, Zuccalà V, Zizzo N, et al. Tumour-associated macrophages correlate with microvascular bed extension in colorectal cancer patients. *J Cell Mol Med*. 2016;20(7):1373–80.
34. Tang X, Mo C, Wang Y, Wei D, Xiao H. Anti-tumour strategies aiming to target tumour-associated macrophages. *Immunology*. 2013;138(2):93–104
35. Braster R, Bögels M, Beelen RHJ, van Egmond M. The delicate balance of macrophages in colorectal cancer; their role in tumour development and therapeutic potential. *Immunobiology* [Internet]. Elsevier GmbH.; 2017;222(1):21–30.
36. Biswas SK, Lewis CE. NF- κ B as a central regulator of macrophage function in tumors. *J Leukoc Biol*. 2010;88(5):877–84.