

Adam Huczynski¹, Janina Markowska², Rodryg Ramlau²,
Stefan Sajdak³, Sebastian Szubert³, Katarzyna Stencel²

Received: 12.10.2016

Accepted: 04.11.2016

Published: 30.11.2016

Salinomycyna – przełom w leczeniu raka jajnika?

Salinomycin – a breakthrough in the treatment of ovarian cancer?

¹ Zakład Biochemii, Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Poznań, Polska

² Katedra i Klinika Onkologii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań, Polska

³ Klinika Ginekologii Operacyjnej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań, Polska

Adres do korespondencji: Prof. dr hab. n. med. Janina Markowska, Katedra i Klinika Onkologii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Szamarzewskiego 82/84, 60-569 Poznań

¹ Department of Biochemistry, Faculty of Chemistry, Adam Mickiewicz University, Poznań, Poland

² Department of Oncology, Poznań University of Medical Sciences, Poznań, Poland

³ Department of Gynecologic Surgery, Poznań University of Medical Sciences, Poznań, Poland

Correspondence: Professor Janina Markowska, MD, PhD, Department of Oncology, Poznań University of Medical Sciences, Szamarzewskiego 82/84, 60-569 Poznań, Poland

Streszczenie

Uważa się, że główną przyczyną chemiooporności, przerzutów i nawrotów raka jajnika są komórki macierzyste raka. Jest to obecna w guzie mała populacja komórek (stanowiąca mniej niż 2% jego masy), których właściwości pozwalają im przetrwać chemo- i radioterapię. Komórki te mają zdolność do samoodnowy, nie podlegają apoptozie, wykazują nadekspresję genów *ABC* kodujących białka transportowe, enzymu ALDH1A1 i korzystają z różnych szlaków sygnalowania (Wnt, Notch, Hedgehog). Komórki macierzyste raka można zidentyfikować oraz izolować z guza na podstawie charakterystycznych biomarkerów (CD44⁺, CD133⁺, CD117⁺, Bmi1, Oct-4, nestyna). Wykazano, że salinomycyna, antybiotyk uzyskany ze *Streptomyces albus*, eliminuje komórki macierzyste raka, które są odporne na leczenie cytostatykami. Salinomycyna powoduje apoptozę tych komórek poprzez wiele mechanizmów, w tym poprzez zakłócenie jonowego bilansu Na⁺/K⁺ w błonach biologicznych, hamowanie szlaku Wnt i oporności na działanie transporterów, wzrost aktywności kaspaz, aktywację szlaku MAPKp38 oraz hamowanie jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF-κB. Salinomycyna jest aktywna w wielu rodzajach nowotworów. Może okazać się przełomem w terapii nowotworów chemioopornych.

Słowa kluczowe: komórki macierzyste raka, rak jajnika, salinomycyna

Abstract

It is believed that cancer stem cells are the primary cause of cancer chemotherapy resistance, metastasis and relapse. The cancer stem cells form a small population of cells present in the tumor (accounting for less than 2% of the tumor mass) and have properties which enable them to survive chemo- and radiotherapy. These cells have the ability to self-renew, do not undergo apoptosis, display overexpression of the ALDH1A1 enzyme and *ABC* genes which encode transport proteins, and furthermore make use of various signaling pathways (Wnt, Notch, Hedgehog). Cancer stem cells may be identified and isolated from the tumor based on the characteristic biomarkers (CD44⁺, CD133⁺, CD117⁺, Bmi1, Oct-4, nestin). It has been demonstrated that salinomycin, an antibiotic obtained from *Streptomyces albus*, eliminates cancer stem cells, which are resistant to treatment with cytostatics. Salinomycin causes apoptosis of these cells through a number of mechanisms, including the disruption of the Na⁺/K⁺ ion balance in biological membranes, inhibition of the Wnt pathway and resistance to transporters, increase in the activity of caspases, activation of the MAPKp38 pathway and inhibition of the nuclear transcription factor NF-κB. Salinomycin has an effect on many types of cancer. It may turn out to be a breakthrough in the therapy of chemotherapy-resistant cancers.

Key words: cancer stem cells, ovarian cancer, salinomycin

WSTĘP

Mimo postępów biologii molekularnej oraz identyfikacji mechanizmów związanych ze wzrostem, podziałem, przerzutowaniem i odpowiedzią na chemioterapię odsetek 5-letnich przeżyć w zaawansowanym raku jajnika wynosi zaledwie 30–50%⁽¹⁾. Choć 50–70% pacjentek po operacji cytoredukcyjnej i następnej chemioterapii uzyskuje całkowitą odpowiedź na leczenie, to 80% z nich doznaje nawrotu choroby, która jest bardziej agresywna i oporna na leczenie chemiczne^(2,3).

KOMÓRKI MACIERZYSTE RAKA – WŁAŚCIWOŚCI

Obecnie uważa się, że główną przyczyną nawrotów raka, jego chemooporności i przerzutów są komórki macierzyste raka (*cancer stem cells*, CSCs). Jest to mała populacja komórek, stanowiąca mniej niż 2% masy guza. Często komórki te nazywa się komórkami inicjującymi raka (*cancer initiating cells*, CICs), ponieważ różnorodność fenotypów histologicznych raka jajnika wskazuje, że ich komórka pierwotna ma cechy multipotencjalne, charakterystyczne dla komórek pnia^(4–7).

CSCs w tkankach raka jajnika jako pierwsi wykryli Bapat i wsp.⁽⁸⁾ W ostatnich 10 latach badania nad CSCs są coraz liczniejsze i zyskują większą rolę strategiczną w leczeniu nowotworów. Wykazano, że CSCs mają szereg właściwości, które pozwalają im przetrwać w niedogodnych warunkach. Do takich cech należą:

- zdolność do samoodnowy, związana głównie z ekspresją onkogenu *BMi1*, który bierze udział w syntezie czynników transkrypcyjnych^(7,9);
- przebywanie w stanie nieaktywnym, jako *dormant cells* (drzemiące komórki), z których większość znajduje się w fazie G0/G1^(10–12);
- brak apoptozy regulowanej za pomocą p53 i *BMi1* – utrata supresorowego p53 w rakach jajnika koreluje z opornością wielolekową, a wyciszenie *BMi1* zwiększa wrażliwość na cytostatyki, w tym na cisplatynę^(5,6);
- nadekspresja genów *ABC* (*ATP-binding cassette family*) kodujących białka transportowe, np. P-gp i ABCG2 (*breast cancer resistance protein*, BCRP), związana z opornością na paklitaksel i doksorubicynę – mechanizm działania tych białek polega na „wypompowaniu” leku z komórki^(4,6,10,11,13);
- zdolność do naprawy DNA^(10,12);
- ekspresja i aktywność dehydrogenazy aldehydowej (ALDH1A1), enzymu utleniającego aldehydy, związana z opornością na taksany i platynę – ALDH1A1 uczestniczy także w konwersji retinolu do kwasu retinowego, kierując szlakami różnicowania; uważa się również, że ma związek z chemoopornością jajnikowych CSCs^(3,14,15);
- możliwość wykorzystania różnych szlaków sygnałowania, w tym kanonicznego Wnt/ β -katenina, Notch

INTRODUCTION

Despite progress in molecular biology and the identification of mechanisms associated with the growth, division, metastasis and response to chemotherapy, the 5-year survival rate in advanced ovarian cancer is only 30–50%⁽¹⁾.

Although 50–70% of patients achieve a complete response to treatment after cytoreduction surgery and subsequent chemotherapy, 80% of patients experience a relapse in which the disease is more aggressive and resistant to chemotherapy^(2,3).

CANCER STEM CELLS – PROPERTIES

It is currently believed that the primary cause of cancer relapse, chemotherapy resistance and metastasis are cancer stem cells (CSCs). It is a small population of cells which accounts for less than 2% of the tumor mass. These cells are often called cancer initiating cells (CICs), since the variety of histological phenotypes of ovarian cancer indicates that the original cell is multipotential, this being a characteristic feature of stem cells^(4–7).

CSCs were first discovered in ovarian cancer tissues by Bapat *et al.*⁽⁸⁾ Over the last decade there has been an increasing number of studies on CSCs, which have played a growing strategic role in cancer treatment. It has been demonstrated that CSCs have a number of properties which enable them to survive in unfavorable conditions. These include:

- the ability to self-renew, associated primarily with the expression of the *BMi1* oncogene, which participates in the synthesis of transcription factors^(7,9);
- maintaining a state of inactivity as dormant cells, the majority of which are in the G0/G1 phase^(10–12);
- the lack of apoptosis regulated by p53 and *BMi1* – the loss of suppressive p53 in ovarian cancer correlates with multi-drug resistance and silencing *BMi1* increases sensitivity to cytostatics, including cisplatin^(5,6);
- overexpression of *ABC* genes (*ATP-binding cassette family*), which encode transport proteins, e.g. P-gp and ABCG2 (*breast cancer resistance protein*, BCRP), associated with resistance to paclitaxel and doxorubicin – the mechanism of action of these proteins pumps the drug out of the cell^(4,6,10,11,13);
- ability to repair DNA^(10,12);
- expression and activity of aldehyde dehydrogenase (ALDH1A1), an enzyme which oxidizes aldehydes, associated with resistance to taxanes and platinum; ALDH1A1 also takes part in the conversion of retinol to retinoic acid, directing the differentiation pathways; it is also believed to be associated with chemotherapy resistance of ovarian CSCs^(3,14,15);
- ability to use various signaling pathways for survival, including the canonical Wnt/ β -catenin, Notch and Hedgehog – the Wnt/ β -catenin pathway regulates growth and

i Hedgehog, w celu przeżycia – szlak Wnt/ β -katenina reguluje wzrost i zapewnia zdolność do samoodnowy CSCs, Notch wpływa nie tylko na przeżywalność, lecz także na interakcje CSCs z innymi komórkami, a Hedgehog uczestniczy w proliferacji i różnicowaniu CSCs^(4,10,14,16).

MARKERY KOMÓREK MACIERZYSTYCH RAKA

Komórki macierzyste raka można zidentyfikować oraz izolować na podstawie specyficznych biomarkerów. Liczne badania na liniach komórkowych i modelach zwierzęcych wykazały, że do najczęściej wykrywanych molekularnych markerów jajnikowych CSCs należą: CD44, CD133, CD117, Oct-4 (POUSF1) i nestyna.

CD44 jest glikoproteiną powierzchni komórek. Bierze udział w adhezji komórkowej. Wiąże składowe macierzy komórkowej i poprzez jej degradację CSCs zyskują potencjał przerzutowy. CD44 wzmacnia syntezę GSH (glutationu), przez co CSCs nabywają właściwości neutralizujące wolne rodniki tlenowe (*reactive oxygen species*, ROS) i prezentują złośliwy fenotyp. Ponadto CD44 przez interakcję z kwasem hialuronowym przy udziale czynnika transkrypcyjnego Nanog powoduje chemiooporność CSCs, która została potwierdzona zarówno w hodowlach komórkowych, jak i na modelach zwierzęcych^(3,8,12,17–21).

CD133 jest przezbłonową glikoproteiną uczestniczącą w transporcie leków. W badaniach tkanek pochodzących z raka jajnika wykazano większą ekspresję CD133 w rakach nawrotowych i przerzutowych niż w ogniskach pierwotnych. Stwierdzono korelację ze złą prognozą w raku jajnika^(3,17,22,23).

CD117 (c-Kit) jest receptorem kinazy tyrozynowej typu III, występującym również na komórkach embrionalnych i komórkach *dormant cells*. Marker ten związany jest z opornością na leczenie chemiczne raka jajnika^(3,6,17).

BMI1, Oct-4 (POUSF1), nestyna są białkami stanowiącymi portret markerowy CSCs w raku jajnika. BMI1 wykazuje aktywność proteasomu. Uczestniczy w samoodnowie CSCs, podobnie jak Oct-4 (czynnik transkrypcyjny) i nestyna, składnik białek włóknistych cytoszkieletu komórki. Wszystkie te białka związane są z opornością na leczenie cytostatykami^(12,17,24).

Według Shah i Landena⁽⁴⁾ nie ma dotąd zgody co do uniwersalnego markera lub zespołu markerów pozwalających zidentyfikować populację CSCs oporną na leczenie raka jajnika; unikają one bowiem terapii cytostatykami na wiele sposobów, opisanych powyżej. Niemniej gromadzi się coraz więcej dowodów na to, że istnienie terapii eradycznej CSCs jest możliwe.

Massard i wsp.⁽¹⁰⁾ twierdzą, że CSCs – będące przyczyną niepowodzeń w leczeniu – należy albo doprowadzić do zróżnicowania w dojrzałe formy, albo wyeliminować. Eliminacja CSCs wydaje się realna w przypadku leczenia salinomycyną.

ensures the self-renewal of CSCs, Notch affects not only the survival of CSCs, but also their interactions with other cells. Hedgehog participates in the proliferation and differentiation of CSCs^(4,10,14,16).

CANCER STEM CELL MARKERS

Cancer stem cells may be identified and isolated based on specific biomarkers. Numerous studies on cell lines and animal models have demonstrated that the most commonly detected molecular markers of ovarian CSCs include: CD44, CD133, CD117, Oct-4 (POUSF1) and nestin.

CD44 is a cell surface glycoprotein. It participates in cell adhesion. CD44 binds the components of the cell matrix and through its degradation CSCs achieve a metastatic potential. The CD44 glycoprotein increases the synthesis of GSH (glutathione), due to which CSCs acquire the ability to neutralize reactive oxygen species (ROS) and present the malignant phenotype. In addition, CD44 interacts with hyaluronic acid with the use of the Nanog transcription factor; as a result, CD44 causes chemotherapy resistance in CSCs, which has been confirmed both in cell cultures and in animal models^(3,8,12,17–21).

CD133 is a transmembrane glycoprotein participating in drug transport. Studies on ovarian cancer tissues demonstrated a higher expression of CD133 in relapse and metastatic cancers than in primary lesions. A correlation with poor prognosis for ovarian cancer was found^(3,17,22,23).

CD117 (c-Kit) is a type III tyrosine kinase receptor which is also present in embryonic cells and dormant cells. This marker is associated with ovarian cancer chemotherapy resistance^(3,6,17).

BMI1, Oct-4 (POUSF1) and nestin are proteins constituting the marker picture of ovarian CSCs. BMI1 displays the activity of a proteasome. It participates in CSC renewal, similarly to Oct-4 (transcription factor) and nestin, a component of fibrous proteins of the cell cytoskeleton. All of these proteins are associated with resistance to cytostatics^(12,17,24).

According to Shah and Landen⁽⁴⁾ there has been no consensus so far regarding a universal marker or collection of markers which permit the identification of a cancer stem cell population resistant to ovarian cancer therapy; this is because these cells evade cytostatic therapy using the various methods described above. However, a growing body of evidence has been accumulated showing that CSC eradication therapy is possible.

Massard *et al.*⁽¹⁰⁾ claim that CSCs, which are the cause of treatment failure, should be either allowed to differentiate into mature forms or eliminated. The elimination of CSCs seems possible with the use of salinomycin.

SALINOMYCIN – PROPERTIES, ANTICANCER ACTION

Salinomycin is an ionophore antibiotic (an ion carrier). It was first isolated from the bacterial strain *Streptomyces*

SALINOMYCYN – WŁAŚCIWOŚCI, DZIAŁANIE PRZECIWNOWOTWOROWE

Salinomycyna jest antybiotykiem jonoforowym (nośnikiem jonowym). Po raz pierwszy została wyizolowana ze szczepu bakteryjnego *Streptomyces albus* przez Miyazakiego i wsp.⁽²⁵⁾ w 1974 roku w Japonii, podczas badań przesiewowych nad antybiotykami. Salinomycyna zakłóca bilans jonowy Na⁺/K⁺ w błonach biologicznych, co prowadzi do apoptozy komórek. W roku 2009 Gupta i wsp.⁽²⁶⁾ ogłosili, iż antybiotyk ten jest blisko 100 razy bardziej efektywny w eradykacji komórek macierzystych raka piersi niż taksol. W roku 2010 Naujokat i wsp.⁽²⁷⁾ wykryli, że salinomycyna indukuje apoptozę w opornych na leczenie chemiczne komórkach białaczki. Następnie Lu i wsp.⁽²⁸⁾ wykazali, że indukcja apoptozy komórek nowotworowych w przewlekłej białaczce limfocytarnej odbywa się na drodze hamowania szlaku sygnalizacyjnego Wnt, który odgrywa rolę w samoodnawianiu się komórek macierzystych^(4,10,29). Salinomycyna wykazuje oporność na działanie transporterów przezbłonowych ABC – ze względu na wielkość cząsteczki (75 kDa) – a zatem nie ulega wydalaniu („wypompowaniu”) z komórki. Poza tym ma hamujący wpływ na MDR1^(11,30,31). Opisano także, że salinomycyna powoduje różnicowanie się CSCs i na tej drodze może doprowadzać do ich eliminacji. Udowodniono, że CSCs odporne na działanie taksolu, 5-fluorouracylu i cisplatyny są podatne na działanie salinomycyny⁽²⁶⁾.

W przeglądzie Antoszczaka i Huczyńskiego⁽³²⁾ została opisana aktywność przeciwnowotworowa salinomycyny w wielu typach raka – zarówno na liniach komórkowych, jak i w modelach zwierzęcych oraz u ludzi.

Pionierem w leczeniu nowotworów salinomycyną jest prof. Cord Naujokat z Heidelbergu, który leczył 40-letnią kobietę z przerzutowym rakiem piersi oraz 82-letnią kobietę z rozsianym rakiem sromu i uzyskał dobrą odpowiedź na leczenie⁽²⁷⁾. Objawy uboczne terapii salinomycyną są niewielkie: drżenie rąk i przemijająca łagodna tachykardia w czasie 30–60 minut po podaniu leku⁽²⁷⁾.

AKTYWNOŚĆ SALINOMYCYN W RAKU JAJNIKA

Parajuli i wsp.⁽³³⁾ w 2013 roku wykazali, że salinomycyna niszczy CSCs jajnika odporne na cisplatynę w warunkach *in vitro* i *in vivo*. Droga, którą odbywa się eliminacja CSCs, to wzrost ekspresji receptora śmierci DR5 (*death receptor 5*) i kaspazy 8, enzymu wykonawczego apoptozy. Ta sama grupa badaczy wskazała również na inną drogę eliminacji CSCs w komórkach raka jajnika opornych na cisplatynę. Podanie salinomycyny do linii komórkowych *in vitro* i *in vivo* hamowało jądrowy czynnik transkrypcyjny (NF-κB) biorący udział w apoptozie⁽³⁴⁾. Podobne badania przeprowadzili Zhang i wsp.⁽³⁵⁾ na sześciu ludzkich liniach komórkowych raka jajnika opornych na leczenie cisplatyną; stosowali różne dawki salinomycyny w czasie 24–72 godzin.

albus by Miyazaki *et al.*⁽²⁵⁾ in 1974 in Japan during antibiotic screening studies. Salinomycin disrupts the Na⁺/K⁺ ion balance in biological membranes, which leads to cell apoptosis. In 2009 Gupta *et al.*⁽²⁶⁾ announced that this antibiotic was nearly 100 times more effective in the eradication of breast cancer stem cells than taxol. In 2010 Naujokat *et al.*⁽²⁷⁾ discovered that salinomycin induced apoptosis in leukemia cells resistant to chemotherapy. Subsequently, Lu *et al.*⁽²⁸⁾ demonstrated that the induction of apoptosis of cancer cells in chronic lymphocytic leukemia occurred through the inhibition of the Wnt signaling pathway, which plays a role in the self-renewal of stem cells^(4,10,29). Salinomycin displays resistance to the action of the ABC transmembrane transporters due to the size of the molecule (75 kDa), thanks to which it is not pumped out of the cell. Apart from that it inhibits MDR1^(11,30,31). It has also been reported that salinomycin causes CSCs to differentiate and may lead to their elimination through this mechanism. It has been proved that CSCs which are resistant to taxol, 5-fluorouracil and cisplatin are sensitive to salinomycin⁽²⁶⁾.

A review by Antoszczak and Huczyński⁽³²⁾ reports anticancer activity of salinomycin in many types of cancer – in cell lines, animal models as well as people.

A pioneer in the treatment of cancer with salinomycin is Professor Cord Naujokat from Heidelberg, who treated a 40-year-old woman with metastatic breast cancer and an 82-year-old woman with diffuse vulvar cancer and achieved a good treatment response⁽²⁷⁾. The side effects of the therapy are small – hand tremor and transient mild tachycardia within 30–60 minutes of the administration of the drug⁽²⁷⁾.

ACTIVITY OF SALINOMYCIN IN OVARIAN CANCER

In 2013 Parajuli *et al.*⁽³³⁾ demonstrated that salinomycin destroyed ovarian CSCs resistant to cisplatin *in vitro* and *in vivo*. The route to eliminate CSCs leads through an increase in the expression of the death receptor 5 (DR5) and caspase 8, an apoptosis execution enzyme. The same group of researchers also indicated another route of elimination of ovarian cancer stem cells resistant to cisplatin. The administration of salinomycin to *in vitro* and *in vivo* cell lines inhibited the nuclear transcription factor (NF-κB), which takes part in apoptosis⁽³⁴⁾. Zhang *et al.*⁽³⁵⁾ conducted similar research on six human ovarian cancer cell lines resistant to cisplatin; they used various doses of salinomycin within 24–72 hours. The proportion of cells which underwent apoptosis depended on the dose and duration of action of salinomycin. Apoptosis was present in all the cell lines. The authors believe that the induction of apoptosis in CSCs is caused by the activation of MAPKp38, a signaling pathway for cascade-activated enzymes which take part in the differentiation and apoptosis of cells.

In another study, cells with the CD44⁺ and CD117⁺ markers, which are characteristic of CSCs, were isolated from an ovarian cancer cell line culture (OVCAR-3). Various doses

Odsetek komórek ulegających apoptozie zależał od dawki i czasu działania salinomycyny oraz dotyczył wszystkich linii komórkowych. Autorzy uważają, że indukcja apoptozy w CSCs jest spowodowana aktywacją szlaku MAPKp38 – ścieżki sygnalizacyjnej kaskadowo aktywowanych enzymów biorących udział w różnicowaniu i apoptozie komórek.

W innym badaniu z hodowli linii komórkowej raka jajnika (OVCAR-3) wyizolowano komórki o markerach CD44⁺ i CD117⁺, charakterystyczne dla CSCs. Dodawano różne dawki salinomycyny i paklitakselu – kombinacja ta powodowała zahamowanie wzrostu komórek⁽³⁶⁾. Kaplan i Teksen⁽³⁷⁾ przeprowadzili na tej samej linii komórkowej raka jajnika (OVCAR-3) badania z salinomycyną. Inkubacja z salinomycyną zabijała 40% komórek raka, aktywując apoptozę, ale nie wpływała na normalne komórki (grupa kontrolna). Stwierdzono wzrost ekspresji genu apoptotycznego *Bax* i kaspazy 3 (aktywowanej przez kaspazę 8) oraz spadek ekspresji genu antyapoptotycznego *Bcl-2*.

Jak przedstawiono wyżej, salinomycyna jest aktywna w wielu nowotworach. Są podstawy, aby zastosować ją u chorych na raka jajnika. Może to stanowić przełom w leczeniu pacjentek opornych na terapię stosowanymi wcześniej cytostatykami z chorobą nawrotową i przerzutową.

Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji

Piśmiennictwo / References

1. Ferlay J, Soerjomataram J, Ervik M *et al.*: Ovarian cancer statistics. IARC, 2014. Available from: <http://globocan.iarc.fr> [cited 16 January 2015].
2. Chen J, Wang J, Zhang Y *et al.*: Observation of ovarian cancer stem cell behavior and investigation of potential mechanisms of drug resistance in three-dimensional cell culture. *J Biosci Bioeng* 2014; 118: 214–222.
3. Craveiro V, Yang-Hartwich Y, Holmberg JC *et al.*: Phenotypic modifications in ovarian cancer stem cells following Paclitaxel treatment. *Cancer Med* 2013; 2: 751–762.
4. Shah MM, Landen CN: Ovarian cancer stem cells: are they real and why are they important? *Gynecol Oncol* 2014; 132: 483–489.
5. Niero EL, Rocha-Sales B, Lauand C *et al.*: The multiple facets of drug resistance: one history, different approaches. *J Exp Clin Cancer Res* 2014; 33: 37.
6. Tomao F, Papa A, Rossi L *et al.*: Emerging role of cancer stem cells in the biology and treatment of ovarian cancer: basic knowledge and therapeutic possibilities for an innovative approach. *J Exp Clin Cancer Res* 2013; 32: 48.
7. Clarke MF, Dick JE, Dirks PB *et al.*: Cancer stem cells – perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells. *Cancer Res* 2006; 66: 9339–9344.
8. Bapat SA, Mali AM, Koppikar CB *et al.*: Stem and progenitor-like cells contribute to the aggressive behavior of human epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 2005; 65: 3025–3029.
9. Visvader JE, Lindeman GJ: Cancer stem cells: current status and evolving complexities. *Cell Stem Cell* 2012; 10: 717–728.
10. Massard C, Deutsch E, Soria JC: Tumour stem cell-targeted treatment: elimination or differentiation. *Ann Oncol* 2006; 17: 1620–1624.

of salinomycin and paclitaxel were added and this combination inhibited cell growth⁽³⁶⁾. Kaplan and Teksen⁽³⁷⁾ conducted salinomycin studies on the same ovarian cancer cell line (OVCAR-3). Incubation with salinomycin killed 40% of the cancer cells by activating apoptosis, but it did not affect normal cells (the control group). An increase in the expression of the pro-apoptotic gene *Bax* and caspase 3 (activated by caspase 8) and a decrease in the expression of the anti-apoptotic gene *Bcl-2* were found.

As presented above, salinomycin has an effect on many cancers. Evidence suggests that it can be used in patients with ovarian cancer. This may represent a breakthrough in the treatment of patients with relapse or metastatic cancer resistant to a previously used cytostatic therapy.

Conflict of interest

The authors do not report any financial or personal affiliations to persons or organizations that could negatively affect the content of or claim to have rights to this publication.

11. Dean M, Fojo T, Bates S: Tumour stem cells and drug resistance. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 275–284.
12. Zhou N, Wu X, Yang B *et al.*: Stem cell characteristics of dormant cells and cisplatin-induced effects on the stemness of epithelial ovarian cancer cells. *Mol Med Rep* 2014; 10: 2495–2504.
13. Klonisch T, Wiechec E, Hombach-Klonisch S *et al.*: Cancer stem cell markers in common cancers – therapeutic implications. *Trends Mol Med* 2008; 14: 450–460.
14. Kurman RJ, Shih IeM: The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 433–443.
15. Liao J, Qian F, Tchabo N *et al.*: Ovarian cancer spheroid cells with stem cell-like properties contribute to tumor generation, metastasis and chemotherapy resistance through hypoxia-resistant metabolism. *PLoS One* 2014; 9: e84941.
16. Prud'homme GJ: Cancer stem cells and novel targets for antitumor strategies. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 2838–2849.
17. Zeng J, Ruan J, Luo L *et al.*: Molecular portraits of heterogeneity related to cancer stem cells in human ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2014; 24: 29–35.
18. Yu ZH, Liu T, Zhao YH *et al.*: Cisplatin targets the stromal cell-derived factor-1-CXC chemokine receptor type 4 axis to suppress metastasis and invasion of ovarian cancer-initiating cells. *Tumour Biol* 2014; 35: 4637–4644.
19. Catalano V, Turdo A, Di Franco S *et al.*: Tumor and its microenvironment: a synergistic interplay. *Semin Cancer Biol* 2013; 23: 522–532.
20. Nagano O, Okazaki S, Saya H: Redox regulation in stem-like cancer cells by CD44 variant isoforms. *Oncogene* 2013; 32: 5191–5198.
21. Bourguignon LY, Peyrollier K, Xia W *et al.*: Hyaluronan-CD44 interaction activates stem cell marker Nanog, Stat-3-mediated MDR1 gene expression, and ankyrin-regulated multidrug efflux in breast and ovarian tumor cells. *J Biol Chem* 2008; 283: 17635–17651.
22. Silva IA, Bai S, McLean K *et al.*: Aldehyde dehydrogenase in combination with CD133 defines angiogenic ovarian cancer stem cells that portend poor patient survival. *Cancer Res* 2011; 71: 3991–4001.
23. Bapat SA: Human ovarian cancer stem cells. *Reproduction* 2010; 140: 33–41.
24. Neradil J, Veselska R: Nestin as a marker of cancer stem cells. *Cancer Sci* 2015; 106: 803–811.

25. Miyazaki Y, Shibuya M, Sugawara H *et al.*: Salinomycin, a new polyether antibiotic. *J Antibiot (Tokyo)* 1974; 27: 814–821.
26. Gupta PB, Onder TT, Jiang G *et al.*: Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening. *Cell* 2009; 138: 645–659.
27. Naujokat C, Fuchs D, Opelz G: Salinomycin in cancer: a new mission for an old agent. *Mol Med Rep* 2010; 3: 555–559.
28. Lu D, Choi MY, Yu J *et al.*: Salinomycin inhibits Wnt signaling and selectively induces apoptosis in chronic lymphocytic leukemia cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 13253–13257.
29. Eyler CE, Rich JN: Survival of the fittest: cancer stem cells in therapeutic resistance and angiogenesis. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2839–2845.
30. Riccioni R, Dupuis ML, Bernabei M *et al.*: The cancer stem cell selective inhibitor salinomycin is a p-glycoprotein inhibitor. *Blood Cells Mol Dis* 2010; 45: 86–92.
31. Kim JH, Yoo HI, Kang HS *et al.*: Salinomycin sensitizes antimetabolic drugs-treated cancer cells by increasing apoptosis via the prevention of G2 arrest. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 418: 98–103.
32. Antoszczak M, Huczyński A: Anticancer activity of polyether ionophore-salinomycin. *Anticancer Agents Med Chem* 2015; 15: 575–591.
33. Parajuli B, Shin SJ, Kwon SH *et al.*: Salinomycin induces apoptosis via death receptor-5 up-regulation in cisplatin-resistant ovarian cancer cells. *Anticancer Res* 2013; 33: 1457–1462.
34. Parajuli B, Lee HG, Kwon SH *et al.*: Salinomycin inhibits Akt/NF- κ B and induces apoptosis in cisplatin resistant ovarian cancer cells. *Cancer Epidemiol* 2013; 37: 512–517.
35. Zhang B, Wang X, Cai F *et al.*: Antitumor properties of salinomycin on cisplatin-resistant human ovarian cancer cells *in vitro* and *in vivo*: involvement of p38 MAPK activation. *Oncol Rep* 2013; 29: 1371–1378.
36. Chung H, Kim YH, Kwon M *et al.*: The effect of salinomycin on ovarian cancer stem-like cells. *Obstet Gynecol Sci* 2016; 59: 261–268.
37. Kaplan F, Teksen F: Apoptotic effects of salinomycin on human ovarian cancer cell line (OVCAR-3). *Tumour Biol* 2016; 37: 3897–3903.