

GLIOBLASTOMA Y AUTOFAGIA: ALGUNOS EJEMPLOS DEL PAPEL DE LAS CATEPSINAS EN LA CAPACIDAD INFILTRATIVA DEL TUMOR

Juan M. ESTEVE-ESTEVE

Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular

1. INTRODUCCIÓN: GLÍA, GLIOMAS Y ASTROCITOMAS

La glía o neuroglia la constituye un conjunto de tipos celulares no neuronales (principalmente astrocitos y oligodendrocitos en el sistema nervioso central (SNC) y células de Schwann y anficitos en el sistema nervioso periférico (SNP)) de procedencia embrionaria neuroectodérmica. Las células de la glía se localizan adosadas íntimamente a las neuronas, envolviéndolas y separándolas entre sí y del resto de elementos del tejido nervioso. En el caso de los astrocitos, también se localizan adosados a otros astrocitos, a vasos (formando la membrana limitante glial perivascular) y a meningocitos de la piamadre meníngea (formando la membrana limitante glial superficial). A diferencia de las neuronas, las células gliales no generan potenciales de acción ni forman sinapsis, pero, además de tener una función general estructural de sostén del tejido nervioso, presentarán diversas funciones específicas (por ejemplo, transporte de nutrientes a las neuronas, homeostasis química y formación de la vaina de mielina en axones) dependiendo del tipo celular glial. Los tumores de la neuroglía o gliomas son las neoplasias del SNC primarias más frecuentes en adultos. Dentro de los gliomas, los más comunes son los de origen astrocítico o astrocitomas, y, de entre ellos, el glioblastoma multiforme (previamente) o glioblastoma (actualmente). En los últimos años, los estudios en torno al glioblastoma se han centrado en sus propiedades de invasión y evasión inmune. Alteraciones de la autofagia (el proceso de digestión intracelular en

lisosomas de orgánulos y agregados proteicos) se han asociado a procesos patológicos como el cáncer y, concretamente, el glioblastoma. El contenido enzimático de estos lisosomas incluye a las proteasas catepsinas, y diferentes evidencias experimentales han mostrado una relación entre estas catepsinas y el desarrollo del glioblastoma.

A partir de la bibliografía, y previo análisis de las características histológicas y algunas clínicas del glioblastoma, son objetivos de este trabajo: i) describir el proceso de autofagia (de enorme interés actual en investigación biomédica); ii) presentar algunas evidencias experimentales que demuestran la contribución de las catepsinas (que intervienen en la autofagia) en el desarrollo del glioblastoma, concretamente en su capacidad de invasión, y iii) mostrar diferentes rutas de señalización intracelular que controlan los niveles de las catepsinas en este tumor.

2. ANATOMÍA PATOLÓGICA DE LOS ASTROCITOMAS: EL GLIOBLASTOMA

Según la OMS, los tumores astrocitarios o astrocitomas se clasifican en cuatro grados histológicos de malignidad para su diagnóstico anatomopatológico, a saber, de bajo grado: G-I (astrocitoma pilocítico) y G-II (astrocitoma difuso de bajo grado); y de alto grado ambos difusos: G-III (astrocitoma anaplásico) y G-IV (glioblastoma, en adelante GB), siendo este último el de peor pronóstico. Además de no tener un crecimiento difuso o de sí presentarlo, las lesiones de grado I a IV se clasifican, en general, según vayan de mayor a menor grado de diferenciación, de menor a mayor frecuencia de mitosis y de atipia, y según no se presente o tengan proliferación endotelial/necrosis. En este sentido, a nivel celular/histológico, el GB que nos ocupa muestra un comportamiento infiltrativo difuso (que se manifiesta en bordes mal definidos), un alto grado de proliferación y una marcada atipia, añadiéndose a los grados anteriores necrosis en las áreas de mayor densidad celular y proliferación de células endoteliales que origina vasos anómalos característicos. El GB presentará un crecimiento local, pero con una alta capacidad de infiltración o compresión de las estructuras circundantes, aunque es infrecuente que metastaticen (resultando sorprendente que no salgan del SNC, cuando muchos astrocitos están realmente tapiando los vasos sanguíneos, contactando con ellos a través de los pies perivascuales; en este sentido, pensamos que sería interesante estudiar algún caso clínico de GB fuera del SNC para analizar en qué aspectos es diferente a los otros). A nuestro juicio, probablemente estas dos propiedades, a saber, su crecimiento difuso y su alta supervivencia/recidiva durante su desarrollo y frente al tratamiento, sean lo más característico del GB, así como de mucho interés para estudiar. Finalmente, decir que es muy raro encontrarlo en médula espinal e incluso en regiones del

encéfalo distintas del cerebro; pero en cerebro, el GB puede presentarse en cualquier localización.

Estudios genéticos en las células de los GB han encontrado mutaciones en distintos genes, como *P53*, *RB*, el que codifica para el factor de crecimiento α derivado de plaquetas *PDGF- α* (así como para su receptor), *MDM2* y el que lo hace para el receptor del factor de crecimiento epidérmico *EGFR*, entre otros. Estas mutaciones suponen una pérdida o un aumento de actividad de las proteínas codificadas y la consiguiente alteración de la ruta de señalización intracelular asociada, lo que podría explicar a nivel molecular algunas características del GB, como su alta frecuencia mitótica y su capacidad de supervivencia/recurrencia durante su desarrollo y frente a las diferentes opciones terapéuticas. Además, es desde hace tiempo conocido que aquellos GB que tienen metilado el gen de la metil guanina metiltransferasa (*MGMT*) (que codifica para un enzima que interviene en la reparación del DNA) son más sensibles a la quimioterapia con temozolomida y a la radioterapia, por un mecanismo de letalidad sintética.

3. TERAPÉUTICA Y PRONÓSTICO DEL GLIOBLASTOMA

A pesar de la resección quirúrgica del tumor, seguida de radioterapia con quimioterapia e incluso tratamientos adyuvantes, el análisis epidemiológico sigue mostrando un pronóstico nefasto para los pacientes con GB. Su rápido crecimiento, la baja acumulación local de moléculas terapéuticas (debido a la barrera hematoencefálica) y su capacidad para sobrevivir a las mismas y a *ambientes hostiles*, pueden ser factores clave para explicar la frecuente recidiva del tumor. Pero también que, después del tratamiento, las células tumorales *hiperresistentes* descritas como *cancer stem cells* (CSC) en general, y *glioblastoma stem cells* (GSC) en particular, permanecen y se dividen, dando lugar a la recurrencia del tumor, ahora con una población aumentada en GSC. De ahí que tenga una importancia de primer orden encontrar dianas moleculares/celulares de interés, como podrían ser la autofagia y sus enzimas proteolíticos clave, las catepsinas, e incluso terapias dirigidas a alteraciones genéticas específicas en pacientes individuales de GB, sobre las que focalizar nuevos tratamientos en estos tumores de baja supervivencia.

4. AUTOFAGIA Y CÁNCER: EL GLIOBLASTOMA

4.1. Autofagia y cáncer

La autofagia es el proceso de digestión intracelular en orgánulos de la ruta lisosomal, de orgánulos y agregados proteicos con las corres-

pondientes regiones citoplasmáticas circundantes. Puede darse tanto mediante la formación de autofagosomas (macroautofagia) como sin ellos. En este texto, y como ocurre normalmente en la bibliografía, utilizamos el término autofagia para referirnos a este tipo de autofagia que es la macroautofagia (pero en los artículos, será el contexto el que nos lo dirá definitivamente). La autofagia tiene lugar en condiciones fisiológicas al eliminar, por ejemplo, orgánulos excedentes, obsoletos y/o dañados, y agregados proteicos anormales, lo que permite mantener una función celular óptima así como disminuir la posibilidad de daño celular por parte de estructuras alteradas. En este sentido, la autofagia es responsable de la renovación subcelular, manteniendo así la homeostasis de la célula. En tanto que por autofagia se eliminan orgánulos, un planteamiento que pensamos podría resultar interesante sería activar la autofagia en enfermedades cuyas mitocondrias estén dañadas, como por ejemplo en melas; no obstante, habría de ser una activación selectiva, para que la maquinaria autofágica reconociese las mitocondrias dañadas en melas y no las sanas. Pero la autofagia también se activa en condiciones de estrés celular, como, por ejemplo, bajo privación de nutrientes, en hipoxia o en tumores sometidos a radioterapia y/o quimioterapia.

En ambos casos, tanto para mantener la homeostasis celular como en situaciones de estrés, la autofagia actúa como un mecanismo de supervivencia, disminuyendo la posibilidad de toxicidad celular por parte de estructuras dañadas permanentes, o por ausencia de nutrientes o en presencia de agentes físicos/químicos/farmacológicos externos. Toxicidad que podría desembocar en carcinogénesis o llevar a necrosis celular o a la activación de programas de muerte *apoptótica*. Para evitar esto, la autofagia conduce a la formación de precursores metabólicos y a la producción de ATP o, en su caso, a la denominada muerte celular autofágica: una autofagia excesiva en niveles y/o en el tiempo puede desembocar en la muerte de la célula, siendo numerosas las evidencias experimentales sobre la interrelación entre las rutas de señalización intracelular de apoptosis y autofagia. Por tanto, aunque la autofagia primariamente es un mecanismo de supervivencia, también puede actuar en sentido contrario y llevar a la muerte de la célula. En el cáncer en general, y en el GB en particular, vamos a encontrar trabajos que sitúan a la función autofágica tanto en uno como en otro plato de esta balanza: a partir de estudios donde se demuestra que la autofagia es un mecanismo de supervivencia para las células tumorales, el beneficio para el paciente se lograría inhibiéndola; sin embargo, si la autofagia es un mecanismo de muerte para las células tumorales, el beneficio se conseguiría activándola.

La autofagia está en un continuo y regulado dinamismo, denominado flujo autofágico, que conlleva una serie de pasos consecutivos que a nivel morfológico implican: i) la formación de una doble membrana

o fagóforo, que va creciendo hasta cerrarse; ii) la formación de una vesícula de doble membrana o autofagosoma (resultado del cierre del fagóforo) con porciones de citoplasma en su interior, y iii) la fusión del autofagosoma con un lisosoma primario o lisosoma, que es la vesícula de membrana única que contiene los enzimas hidrolíticos (entre ellos, las proteasas catépsinas), dando lugar a un autofagolisosoma o autolisosoma, donde ambos, la doble membrana y el contenido del autofagosoma, serán degradados. Este flujo autofágico está conducido y regulado por rutas de señalización intracelular con múltiples proteínas. Entre estas rutas, *upstream* de la formación del fagóforo, el complejo inhibidor de la autofagia de la kinasa mTOR tiene un papel central (aunque la autofagia también puede ser inducida sin pasar por mTOR): la activación de mTOR por PI3K-I/Ak o por MAPK/Erk1/2, por ejemplo, inhibe la autofagia; y la inhibición de mTOR por AMPK (que se activa por déficit energético intracelular), por ejemplo, hace que mTOR inhiba menos la autofagia. Respecto al proceso mismo de formación del autofagolisosoma a partir del fagóforo, decir que está dirigido y controlado, entre otros, por los denominados genes de autofagia (*autophagy-related genes*), que codifican para proteínas muy conservadas en la escala evolutiva. Proteínas importantes que intervienen en este flujo autofágico son SQSTM1/P62 y LC3-II (homólogo a ATG8-II en levadura) [la unión de fosfatidiletanolamina (PE) a LC3-I (citósólico) da lugar a LC3-II, la forma lipídada de LC3 que se va a unir a la membrana del autofagosoma, siendo por esto un buen marcador de autofagosomas].

4.2. Complejidad de los estudios de autofagia en el cáncer

En la actualidad, el número de trabajos sobre autofagia en las bases de datos es elevadísimo, y los referidos a su función en el cáncer se han incrementado notablemente en la última década. Y es que el proceso de autofagia ofrece en sí mismo una posibilidad de regulación de la evolución tumoral en nuestro beneficio, *a pesar de*, como hemos dicho arriba, su papel dual.

Una conclusión general que podemos sacar, a partir de esta amplia bibliografía, es que, a pesar de que las rutas de señalización y los mecanismos de autofagia están bastante conservados en la evolución, como hemos visto, el que la autofagia esté: i) aumentada o disminuida, o ii) tenga una función de supervivencia o de muerte en las células, en determinadas situaciones, por ejemplo, en condiciones de estrés y, particularmente, durante el desarrollo tumoral, está lejos de ser conocido con exactitud.

Esto da cuenta de las numerosas variables en juego respecto a la autofagia en el cáncer. No solo las anteriores, más específicas del tema

que nos ocupa, sino también otras, propias de todo estudio en biología del cáncer, por ejemplo: i) el propio proceso de carcinogénesis (con cuatro pasos clave a nivel celular, a saber, aumento de la proliferación, resistencia a la muerte, invasión y colonización); ii) a nivel molecular, la alteración de los niveles/actividad de oncoproteínas y proteínas supresoras de tumores implicadas (proteínas fundamentalmente relacionadas con los procesos biológicos anteriores de ciclo celular, muerte celular programada, invasión y supervivencia); también algunas variables puestas de manifiesto y estudiadas más recientemente, como por ejemplo; iii) el microambiente biomolecular del tumor; iv) la interrelación de las células tumorales con los tipos celulares vecinos (tumorales o no), y relacionada con las anteriores, v) la heterogeneidad intratumoral (e intertumoral) tanto dentro de las propias células tumorales como de tipos celulares normales. Lógicamente, esta complejidad se ve incrementada con las características propias del GB, contempladas desde diferentes áreas de conocimiento: bioquímica, biología celular, histología, anatomía patológica, farmacología, biomedicina y medicina.

A esta complejidad *intrínseca* se le añade la debida a los múltiples: i) métodos descritos para caracterizar autofagia y su interpretación; ii) sistemas (modelos) experimentales (*in vitro*, *ex vivo*, *in vivo*), y iii) organismos objeto de estudio con su variación intraespecífica (el problema de la existencia de diferentes tejidos, que se manifiesta, por ejemplo, en la autofagia debido a que muchos de sus reguladores son diferencialmente expresados según el tipo celular); y variación interespecífica (debido a la heterogeneidad genética y a la historia clínica (enfermo o no, edad, dieta, medicación,...), entre otros. En este sentido, resulta fundamental la adecuación de estas últimas variables a la pregunta a resolver.

4.3. Sistemas experimentales de interés para estudios de autofagia en cáncer

Los primeros trabajos sobre el papel de la autofagia en el GB aparecen a partir de mediados de la primera década de este siglo, si bien su número se ha incrementado notablemente en la última década. Aunque se realizaron muchos estudios en líneas celulares (y se siguen realizando), son de mayor interés traslacional las evidencias experimentales que se obtienen fuera de los estudios *in vitro*. En este sentido, los resultados a partir de biopsias clínicas de pacientes y de xenografías de GB humano, pensamos que sería lo más alineado con la realidad de este tumor, lo más próximo a lo real para acelerar poder acelerar la aplicación de tratamientos contra el GB. Respecto a los estudios clínicos, a pesar de disponer de moléculas aprobadas para su uso clínico en el tratamiento de otras patologías, que se ha demostrado son también reguladoras de la autofagia (como rapamicina, los inhibidores lisosomales cloroquina

e hidroxiclороquina, además de colchicina y cisteamina, la baja selectividad en sus dianas y sus efectos adversos importantes impiden su uso para hacer estudios clínicos en autofagia. En cualquier caso, los estudios clínicos son un paso posterior, y primero hay que conocer el estado de la autofagia en el GB con el objetivo de mejorar la prueba clínica. En definitiva, lo recomendable es que los estudios sobre la autofagia en humanos tengan diversos orígenes biológicos. Según esto, pensamos que sería interesante una actualización sobre el papel de la autofagia en el GB, pero con resultados obtenidos solo a partir de biopsias y de modelos *in vivo* preclínicos.

5. CATEPSINAS Y GLIOBLASTOMA

A pesar de todo lo expuesto con anterioridad, los estudios realizados en los últimos aproximadamente quince años sobre el rol de la autofagia en el GB, con (*por*) la complejidad subyacente a que hemos hecho referencia arriba no ha permitido concluir inequívocamente si la autofagia tiene una función *prosupervivencia* o *promuerte* en las células del GB, o, más bien, en qué sentido regular, y óptimamente, los niveles de un proceso con tantos pasos, altamente regulado, como la autofagia, para que resulte en beneficio para el paciente. Se están buscando posibles *targets* de actuación sobre la autofagia en el GB, y se continúan realizando ensayos clínicos para estas moléculas. La falta de consenso respecto a su papel dual en el desarrollo y tratamiento del GB, hace que traslademos nuestra atención desde la autofagia en su totalidad hacia un componente molecular individual de la misma que son las catepsinas. Las catepsinas podrían constituir un *target* más fácil y específico, susceptible de regulación, que el proceso de autofagia entero. El posible papel de las catepsinas en el GB apenas está revisado en la bibliografía. Mostramos a continuación algunas evidencias experimentales que sugieren o demuestran que estas catepsinas tienen una función en el GB.

5.1. Catepsinas y cáncer: el glioblastoma

Las catepsinas (*CTS* para el gen que la codifica, *CTS* para la proteína) son proteasas lisosomales, clásicamente divididas en dos grandes grupos según el residuo del centro activo importante para su actividad: 1) las de cisteína (como *CTSB*, *CTSL* y *CTSS*), y 2) las de ácido aspártico (como *CTSD*). *CTS* actúan tanto en el proceso de autofagia como de heterofagia, y se localizan en el compartimento lisosomal, pero también fuera del mismo, libres.

Diferentes evidencias básicas y clínicas relacionan a las *CTS* con alguna etapa del desarrollo tumoral en general y del GB en particular.

Así, se ha observado que algunas CTS, como la CTSL, son sobreexpresadas y excretadas por células tumorales, lo que sugiere una posible función en su evolución. Además, la detección de metaloproteinasas de la matriz y de CTSB nos mide la agresividad de un tumor. En relación con el GB, CTSB es un marcador de mal pronóstico en pacientes con GB. *CTSS* está sobreexpresado en diferentes tipos de cáncer, incluyendo astrocitomas, y se ha demostrado que es un factor pronóstico de supervivencia en GB.

A partir de la bibliografía, concluimos que las CTS han sido implicadas para actuar en diferentes puntos de la progresión tumoral en general y del GB en particular. De entre todos estos puntos, los estudios de los últimos años sobre CTS y GB parecen centrarse en: i) la evasión inmune del GB; ii) su resistencia a la toxicidad molecular y recurrencia, y iii) su capacidad de invasión. Dada la importancia diferencial del comportamiento infiltrativo difuso del GB (a nuestro juicio, probablemente sea lo más característico), nos vamos a centrar en este último aspecto, presentando a continuación algunos ejemplos que sugieren o demuestran el papel de las CTS en la invasividad del GB.

5.2. Ejemplos del papel de las catepsinas en la invasión del glioblastoma

Se ha demostrado que diversos factores contribuyen al comportamiento invasivo del GB, a saber, la activación de la ruta de señalización de la fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K), factores de crecimiento y proteasas, entre estas últimas las CTS.

Desde hace más de veinte años, se han ido aportando resultados de la existencia de una asociación entre las CTS y el GB. Se tiene sólida evidencia, fundamentalmente histológica, a partir de biopsias y modelos *in vitro* (cultivos celulares primarios y líneas celulares), de que la regulación positiva de catepsinas en astrocitomas está asociada con astrocitomas de alto grado, y, concretamente, con su capacidad invasiva: i) los niveles de mRNA y proteína, así como la actividad de CTSB, son mayores en cultivos de astrocitomas de alto grado comparado con cultivos de astrocitomas de bajo grado y de cerebro normal; ii) en biopsias de glioma, los niveles de CTSB se correlacionan positivamente con evidencias clínicas de invasión; iii) los niveles de CTSD están elevados en astrocitomas de alto grado; iv) CTSL está también significativamente incrementada en astrocitomas de alto grado con respecto a los de bajo grado y cerebro normal; v) las actividades de inhibidores endógenos de cistein peptidasas son más altas en astrocitomas de bajo grado que en los de alto grado, y vi) hay una correlación entre la expresión incrementada de *CTSS* y la invasividad de células del GB. Todos estos datos revelan la existencia de una asociación casual o causal entre las CTS y el proceso de invasión propio del GB.

Recientemente, siguen apareciendo datos como que las CTS están asociadas con la invasión del GB. En este sentido, se ha documentado un incremento significativo de la invasividad y de la CTSL en células de glioma humano U251 con respecto a los controles después de ser sometidas a rayos X. Además, en las líneas celulares de GB U87-MG y U21-MG, el tratamiento con *PHA-767491 hydrochloride* (un inhibidor de la proteína quinasa 7 relacionada con el ciclo de división celular, que fosforila a nivel del complejo de replicación del DNA, siendo necesaria para el inicio de la replicación), atenúa la invasividad al tiempo que la expresión de varios mRNAs y miRNAs, en concreto tiene lugar un descenso significativo de la expresión y de los niveles de CTSS (el mayor descenso de todos los mRNA cuya expresión resultaba reducida correspondía a CTSS). El que este trabajo se haya realizado *in vitro* y el que se utilice un inhibidor farmacológico (susceptible de falta de especificidad, como todo bloqueante farmacológico) para CTSS, hace que este estudio quede en una asociación entre CTSS y el comportamiento invasivo del GB.

Como acabamos de ver, diferentes resultados indican que las CTS están asociadas a la invasión tisular provocada por el GB. No solo eso, sino que también se ha podido demostrar que esta asociación es causal, que las catepsinas intervienen en el comportamiento invasivo del GB, como mostramos a continuación. De hecho, ya hace tiempo que se tuvieron las primeras evidencias, por ejemplo: i) que el anticuerpo anti-CTSD inhibe parcialmente la invasión del GB, y ii) que la capacidad invasiva del GB baja significativamente cuando se transfecta con siRNA para *CTSL* o cuando se utilizan anticuerpos contra CTSL. Más recientemente, se ha documentado un incremento significativo de la invasividad y de la CTSL en células de glioma humano U251 con respecto a los controles, después de silenciar el gen *CTSL*; el incremento, causado por rayos X, de la migración e invasión por parte de la línea celular de glioma humano U251, se reducía en presencia del inhibidor farmacológico específico de CTSL Z-FY-CHO, pero también mediante transfección con siRNA contra CTSL. Estos datos demuestran que las CTS están implicadas en el proceso de invasión propiamente dicho.

Además de lo anterior, también se han postulado o caracterizado diferentes rutas de señalización que controlan la función de las CTS en la invasión del GB. Rutas que no son específicas para las CTS. Así, por ejemplo, en el último estudio que hemos expuesto, el silenciamiento génico de *CTSL* producía una bajada de la invasión, pero también de quinasas Rho, lo que ha llevado a hipotetizar que la inhibición de la expresión de *CTSL* podría disminuir la invasión por medio de la reducción de la actividad RhoA y CDC42. En otro ejemplo, en la línea celular de GB humano LN-18 y en cultivos primarios realizados a partir del procesamiento de muestras de tejido tumoral de GB de pacientes, el tratamiento con diferentes inhibidores de la ruta de mTOR (como la ra-

pamicina) regula varios factores del microambiente tumoral, entre ellos, reduce los niveles de mRNA de la diana de NF κ B CTSB (la reducción es pequeña en comparación con la de otros *targets* de NF κ B) y suprime la capacidad de migración e invasión del GB; ahora bien, estos inhibidores serán más o menos específicos y, además, como su uso altera varios factores (y no solo CTSB, tal como se demuestra en el artículo), al final no sabemos si CTSB simplemente está asociada a la invasión o bien contribuye a ella. También se ha visto, en varias líneas celulares de GB y en xenografías en animales, que la expresión, los niveles de proteína y la actividad de CTSB, de las quinasas p-FAK y p-ERK y la invasión son dependientes de la ruta de señalización de la proteína quinasa asociada a Rho ROCK. Este trabajo indica que CTSB está asociada con la invasión del GB, pero no demuestra si contribuye a ella, pues vemos que se produce un incremento tanto de la expresión de CTSB como de la invasión, pero no inhibiendo directamente CTSB sino que después del tratamiento con cafeína (y el problema del grado de inespecificidad de los inhibidores químicos) se inhiben todos los elementos de la ruta de señalización ROCK-CTSB/FAK/ERK, incluida la CTSB, así como la invasión, la proliferación y el tamaño del tumor; en definitiva, aquí no se ve el papel de CTSB en la invasión porque no se inhibe específicamente CTSB. Por último, en células de GB aisladas de un paciente, la interacción del péptido de la familia de las relaxinas *C1q/TNF-related protein 8* (CTRP8) con su receptor de membrana asociado a proteínas G *relaxin/insulin-like family peptide receptor 1* (RXFP1 receptor) expresado en GB humano, activa una ruta de señalización intracelular específica, de la que son miembros PI3K y las proteína quinasas PKC δ y PKC ζ , para estimular finalmente: i) la expresión de CTSB, y ii) la degradación de matriz extracelular y la migración a través de la matriz de células del GB ambas mediadas por CTSB. Este mecanismo podría explicar, al menos en parte, el patrón fenotípico invasivo del GB.

6. CONCLUSIONES

Dado que, la resección quirúrgica del GB, seguida de radioterapia con quimioterapia e incluso tratamientos adyuvantes, apenas ha venido mejorando el ya de por sí nefasto pronóstico de los pacientes, la autofagia en general, y las catepsinas en particular, podrían ser una posible diana para futuras y eficaces terapias contra el GB. La autofagia, primariamente, es un mecanismo de supervivencia celular, pero también puede actuar en sentido contrario y llevar a la célula a la muerte. En el cáncer en general, y en el GB en particular, nos vamos a encontrar con trabajos que sitúan el papel de la autofagia en uno u otro de estos dos planos: a partir de estudios donde se demuestra que la autofagia es un mecanismo de supervivencia para las células tumorales, el beneficio para el paciente se lograría inhibiéndola; sin embargo, si la autofagia

es un mecanismo de muerte para las células tumorales, el beneficio se conseguiría activándola. Este papel dual, no consensuado, para la autofagia en el desarrollo y tratamiento del GB, hace que dirijamos nuestra mirada a un componente individual de la misma: las proteasas lisosomales CTS. Diferentes evidencias básicas y clínicas relacionan a las CTS con alguna etapa del desarrollo tumoral en general y del GB en particular. Dada la importancia del comportamiento infiltrativo difuso del GB, hemos presentado algunos ejemplos que sugieren o demuestran el papel de las CTS en la invasividad del GB. Así, por ejemplo: i) en biopsias de glioma, los niveles de CTSB se correlacionan positivamente con evidencias clínicas de invasión; ii) los niveles de CTSD están elevados en astrocitomas de alto grado, y iii) hay un incremento significativo de la invasividad y de la CTSL en células de glioma humano U251 después de ser sometidas a rayos X. Todos estos datos revelan la existencia de una asociación, casual o causal, entre las CTS y el proceso de invasión propio del GB. Se ha demostrado que esta asociación es causal: las catepsinas contribuyen al fenómeno invasivo del GB. Como ejemplos: i) el anticuerpo anti-CTSD inhibe parcialmente la invasión del GB, y ii) la capacidad invasiva del GB baja significativamente cuando se transfecta con siRNA para *CTSL* o cuando se utilizan anticuerpos contra CTSL. Por último, también se han postulado o caracterizado diferentes rutas de señalización que controlan la función de las CTS en la invasión del GB.

7. REFERENCIAS

- BRÜEL, Annemarie *et al.* (2015). *Histología*, Madrid, Médica Panamericana.
- BURSTER, Timo *et al.* (2021). «Regulation of MHC I molecules in glioblastoma cells and the sensitizing of NK cells», *Pharmaceuticals (Basel)*, vol. 14, núm. 3, pp. 1-15.
- CHANDRIKA, Goparaju *et al.* (2016). «Suppression of the invasive potential of glioblastoma cells by mTOR inhibitors involves modulation of NFκB and PKC-α signaling», *Scientific Reports*, vol. 4, núm. 6, pp. 1-14.
- CHENG, Yu-Chen *et al.* (2016). «Caffeine suppresses the progression of human glioblastoma via cathepsin B and MAPK signaling pathway», *The Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 33, pp. 63-72.
- ERBAYRAKTAR, Zubeyde *et al.* (2016). «Cell division cycle 7-kinase inhibitor PHA-767491 hydrochloride suppresses glioblastoma growth and invasiveness», *Cancer Cell International*, vol. 18, núm. 16, pp. 1-10.
- GLOGOWSKA, Aleksandra *et al.* (2013). «C1q-tumour necrosis factor-related protein 8 (CTRP8) is a novel interaction partner of relaxin receptor RXFP1 in human brain cancer cells», *The Journal of Pathology*, vol. 231, núm. 4, pp. 466-479.
- KENIG, Sasa *et al.* (2010). «Glioblastoma and endothelial cells cross-talk, mediated by SDF-1, enhances tumour invasion and endothelial proliferation by increasing expression of cathepsins B, S, and MMP-9», *Cancer Letters*, vol. 289, núm. 1, pp. 53-61.

- KLIONSKY, Daniel J., *et al.* (2021). «Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition)», *Autophagy*, vol. 17, núm. 1, pp. 1-382.
- KLONISCH, Thomas *et al.* (2017). «Structural commonality of C1q TNF-related proteins and their potential to activate relaxin/insulin-like family peptide receptor 1 signalling pathways in cancer cells», *British Journal of Pharmacology*, vol. 174, núm. 10, pp. 1025-1033.
- LARA, Pedro C., y LLORET, Marta (2012). *Principios generales del cáncer*, Madrid, Arán.
- LEVICAR, Natasa *et al.* (2002). «Lysosomal enzymes, cathepsins in brain tumour invasion», *Journal of Neuro-Oncology*, vol. 58, núm. 1, pp. 21-32.
- MITCHELL, Richard N., *et al.* (2017). *Robbins y Cotran. Patología estructural y funcional*, Madrid, Elsevier.
- REMY, Janina *et al.* (2022). «STAT3 enhances sensitivity of glioblastoma to drug-induced autophagy-dependent cell death», *Cancers (Basel)*, vol. 14, núm. 2, pp. 1-23.
- VERHAAK, Roel G., *et al.* (2010). «Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1», *Cancer Cell*, vol. 17, núm. 1, pp. 98-110.
- VISINTIN, Rhett *et al.* (2022). «Intersections of ubiquitin-proteasome system and autophagy in promoting growth of glioblastoma multiforme: Challenges and opportunities», *Cells*, vol. 11, núm. 24, pp. 1-23.
- WELSCH, Ulrich (2021). *Sobotta. Histología*, Madrid, Médica Panamericana.
- XIONG, Yajie *et al.* (2017). «Cathepsin L is involved in X-ray-induced invasion and migration of human glioma U251 cells», *Cellular Signalling*, vol. 29, pp. 181-191, <https://www.cellsignal.com/pathways/autophagy-signaling-pathway> (consultado el 13 de junio de 2024).