



MEMORIA

25.º RETORNO SOCIAL DE LA INVESTIGACIÓN
CÁNCER

VALIDACIÓN DE LOS CANALES DE CALCIO COMO DIANAS TERAPÉUTICAS CONTRA EL GLIOBLASTOMA PRIMARIO Y RECURRENTE

Dr. Carles Cantí Nicolàs

IRBLI Institut de Recerca Biomèdica de Lleida

Dra. Marta Maria Alonso Roldán

Clínica Universitaria de Navarra - Universidad de Navarra

1. Resumen

El glioblastoma multiforme (GBM) es un cáncer incurable, con una supervivencia media de 14 meses, a pesar del tratamiento estándar, que incluye cirugía, radiación y quimioterapia. Recientemente, se ha revelado que diferentes canales de calcio de la membrana plasmática contribuyen a la proliferación y supervivencia de las células GBM, lo que los convierte en dianas quimioterapéuticas potenciales. La aplicación de determinados bloqueantes farmacológicos de un tipo de canales, los canales de tipo T (TTCC o familia Cav3), reduce la viabilidad de las células cancerosas, y se han desarrollado ensayos clínicos para determinar la tolerancia de los pacientes de GBM a estos fármacos. Sin embargo, nosotros hemos demostrado que estos compuestos tienen una selectividad limitada frente a los TTCC en células cancerosas.

Aquí hemos estudiado el potencial de atacar los TTCC y otros canales de calcio en el GBM. En primer lugar, hemos analizado la expresión de diferentes canales de calcio dependientes de voltaje, subunidades reguladoras y canales de potasio dependientes de calcio en líneas celulares de GBM para probar los efectos de su inhibición farmacológica o genética. En los experimentos *in vitro*, las células de GBM expuestas al compuesto derivado de tetralina NNC-55-0396 presentan activación de respuestas al estrés de retículo y de la autofagia, procesos de adaptación celular implicados en la resistencia tumoral. Nuestro trabajo ha definido el modo de acción de NNC y compuestos relacionados, los cuales provocan la muerte celular de células tumorales mediante la movilización de calcio de los almacenes del retículo endoplasmático, lo que activa la vía de estrés IRE1 α y desregula a múltiples niveles el flujo autofágico. Por otro lado, en modelos preclínicos del GBM en ratón, hemos observado una mejora en la supervivencia de los animales después del tratamiento con NNC. También hemos analizado los efectos de silenciar algunos de nuestros genes de interés en un modelo de GBM en *Drosophila melanogaster*. Los GBM generados en la mosca y silenciados por el gen ortólogo de Cav3, *Ca-a1T*, muestran un número menor de células gliales, así como una menor activación de vías proproliferativas.

2. Resultados

Hemos descubierto que las células de GBM expresan canales de calcio de las familias Cav1, Cav2 y Cav3, junto con subunidades auxiliares, β y $\alpha 2\delta$. Además, hemos hallado evidencias de que Cav3.1 forma tándems funcionales con dos tipos de canales de potasio dependientes de calcio expresados en células de GBM: KCa1.1 y KCa3.1. Nos hemos centrado en el estudio de los canales Cav3 en el GBM. En el frente farmacológico, hemos observado que un compuesto de la familia de las tetralinas, NNC-55-0396, con propiedades de bloqueante de los canales Cav3, afecta a la viabilidad celular, y hemos descrito su modo de acción: actúa de forma inespecífica (es decir, en células tumorales actúa sobre objetivos moleculares distintos de los canales que se espera que bloquee). A pesar de ello, hemos descrito que este compuesto induce la muerte de células GBM en cultivo, de forma dependiente de la vía IRE1 α de estrés de retículo e interrumpe la autofagia (por lo que desempeña un doble papel, induciéndola y a la vez bloqueándola). Experimentos *in vivo* indican además que NNC-55-0396 aumenta moderadamente la supervivencia de los ratones con GBM, cuyos tumores presentan una importante infiltración de macrófagos.

Por otro lado, sobre el enfoque de silenciamiento génico de Cav3.1 *in vivo*, utilizando el modelo del GBM en *Drosophila melanogaster*, se demuestra que los canales Ca-a1T (ortólogo de la familia Cav3), *cacophony* (ortólogo de Cav2) y *slowpoke* (ortólogo de KCa1.1) regulan la proliferación celular del GBM. Además, hemos descubierto que la señalización por *Ca-a1T* involucra las vías PI3K y ERK y que su expresión aumenta en el modelo de glioma en *Drosophila*, lo que promueve niveles intracelulares superiores de calcio con posible implicación oncogénica.

3. Relevancia y posibles implicaciones futuras

Nuestros resultados demuestran que los canales de calcio tipo T (familia Cav3) desempeñan un papel relevante en la fisiología tumoral y los reafirman como dianas de acción genética o farmacológica contra el GBM, junto con otros canales (de potasio dependientes de calcio) con los que forman tándems funcionales. Además, nuestros datos demuestran que la citotoxicidad asociada a la aplicación de bloqueadores farmacológicos de estos canales se produce a través de un mecanismo inespecífico que

involucra el estrés del retículo endoplásmico y la autofagia, mecanismos adaptativos de resistencia tumoral.

Aunque su aplicación clínica no es inmediata, nuestro trabajo contribuye a establecer las bases para nuevas quimioterapias destinadas a reducir la resistencia del GBM a los tratamientos actuales. Es importante destacar que las dianas moleculares objeto de nuestro estudio también desempeñan un papel fisiológico en el entorno tumoral, incluyendo las neuronas, la microglía y los astrocitos. Así, nuestros resultados se enmarcan en un campo emergente que pretende controlar el crecimiento tumoral a través de la modulación de canales iónicos y proteínas asociadas, utilizando agentes farmacológicos desarrollados en la investigación neurológica (particularmente en la epilepsia y la fisiología del dolor).