



MEMÒRIA

25è RETORN SOCIAL DE LA RECERCA
CÀNCER

VALIDACIÓ DELS CANALS DE CALCI COM A DIANES TERAPÈUTIQUES CONTRA EL GLIOBLASTOMA PRIMARI I RECURRENT

Dr. Carles Cantí Nicolàs

IRBLI Institut de Recerca Biomèdica de Lleida

Dra. Marta Maria Alonso Roldán

Clínica Universitaria de Navarra - Universidad de Navarra

1. Resum

El glioblastoma multiforme (GBM) és un càncer incurable, amb una supervivència mitjana inferior a 14 mesos, malgrat el tractament estàndard, que inclou cirurgia, radioteràpia i quimioteràpia. Recentment, s'ha revelat que diferents canals de calci de la membrana plasmàtica contribueixen a la proliferació i supervivència cel·lulars del GBM, la qual cosa els etiqueta com a dianes quimioterapèutiques potencials. L'aplicació de determinats blocadors farmacològics d'un tipus de canals —els canals de tipus T (TTCC o família Cav3)— redueix la viabilitat de les cèl·lules canceroses, i s'han portat a terme alguns assajos clínics per determinar la tolerància dels pacients amb GBM a aquests fàrmacs. Tanmateix, nosaltres hem demostrat que aquests compostos tenen una selectivitat limitada davant els TTCC en cèl·lules canceroses.

Aquí hem estudiat els efectes d'atacar els TTCC i altres canals de calci sobre la fisiologia i viabilitat del GBM. Primer, hem analitzat l'expressió de diferents canals de calci dependents de voltatge, subunitats reguladores i canals de potassi dependents de calci en línies cel·lulars de GBM per provar els efectes de la seva inhibició farmacològica o gènica. Als experiments *in vitro*, les cèl·lules de GBM exposades al compost derivat de la tetralina NNC-55-0396 (NNC) presenten activació de respostes a l'estrès del reticle i de l'autofàgia, processos adaptatius cel·lulars implicats en la resistència tumoral. El nostre treball ha definit el mode d'acció d'NNC i de compostos relacionats, els quals causen una mort cel·lular massiva de les cèl·lules tumorals mitjançant la mobilització de calci des dels magatzems del reticle endoplasmàtic, cosa que activa la via d'estrès IRE1 α i desregula a múltiples nivells el flux autofàgic. D'altra banda, en models preclínics del GBM en ratolí hem observat una millora en la supervivència dels animals després del tractament amb NNC. També hem analitzat els efectes de silenciar alguns dels nostres gens d'interès en un model del GBM en *Drosophila melanogaster*. Els GBM generats en la mosca silenciat pel gen ortòleg de Cav3, *Ca-a1T*, mostren un nombre més baix de cèl·lules glials, així com una activació més baixa de les vies proproliferatives.

2. Resultats

Hem descobert que les cèl·lules de GBM expressen canals de calci de les famílies Cav1, Cav2 i Cav3, així com subunitats auxiliars, β i $\alpha 2\delta$. Addicionalment, hem trobat evidències que Cav3.1 forma tàndems funcionals amb dos tipus de canals de potassi dependents de calci expressats a les cèl·lules de GBM: KCa1.1 i KCa3.1.

Ens hem centrat en l'estudi del possible atac dels canals Cav3 en el GBM. En l'àmbit de la farmacologia, hem observat que un compost de la família de les tetralines, NNC-55-0396, amb propietats de blocador de canals de tipus T, afecta la viabilitat cel·lular, i hem desxifrat la seva manera d'actuar: actua de manera inespecífica (és a dir, actua en cèl·lules tumorals sobre dianes moleculars que no són els canals que s'esperava que bloqueés). Malgrat això, hem descobert que aquests compostos indueixen una mort massiva de cèl·lules del GBM en cultiu, de manera dependent a la via IRE1 α d'estrès de reticle, i interrompen el procés autofàgic (el qual modifiquen doblement, induint-lo i bloquejant-lo alhora). Finalment, experiments *in vivo* indiquen que NNC-55-0396 augmenta moderadament la supervivència dels ratolins amb GBM, els tumors dels quals presenten una important infiltració de macròfags.

D'altra banda, pel que fa a l'aproximació del silenciament gènic de Cav3.1 *in vivo*, utilitzant el model del GBM en *Drosophila melanogaster*, hem demostrat que els canals Ca- $\alpha 1T$ (ortòleg de la família Cav3), *cacophony* (ortòleg de Cav2) i *slowpoke* (ortòleg de KCa1.1) regulen la proliferació de les cèl·lules del GBM. A més, hem descobert que la senyalització per *Ca- $\alpha 1T$* implica les vies PI3K i ERK i que la seva expressió està augmentada en el model de glioma en *Drosophila*, fet que promou nivells intracel·lulars de calci superiors amb una possible implicació oncogènica.

3. Rellevància i possibles implicacions futures

Els nostres resultats demostren que canals de calci de tipus T (família de Cav3) tenen un paper rellevant en la fisiologia tumoral, i els reafirmen com a dianes d'acció gènica o farmacològica contra el GBM, juntament amb altres canals (de potassi dependents de calci) amb els quals formen tàndems funcionals. A més, les nostres dades demostren que la citotoxicitat deguda a l'aplicació de blocadors farmacològics dels canals

esmentats es produeix mitjançant un mecanisme inespecífic que involucra l'estrès de reticle endoplasmàtic i l'autofàgia, per tant, desregula així dos mecanismes adaptatius clau per a la resistència tumoral.

Malgrat que l'aplicació clínica d'aquestes troballes no és immediata, el nostre treball contribueix a establir les bases de noves quimioteràpies encarades a reduir la resistència del GBM als tractaments actuals. És important destacar que les dianes moleculars objecte del nostre estudi també tenen papers fisiològics clau en la resta de components cel·lulars de l'ambient tumoral, incloent-hi les neurones, la micròglia i els astròcits. Així, els nostres resultats s'emmarquen en un camp emergent que pretén controlar el creixement tumoral a través de la modulació de canals iònics i proteïnes associades, utilitzant unes eines farmacològiques desenvolupades en la recerca neurològica (particularment de l'epilèpsia i de la fisiologia del dolor).