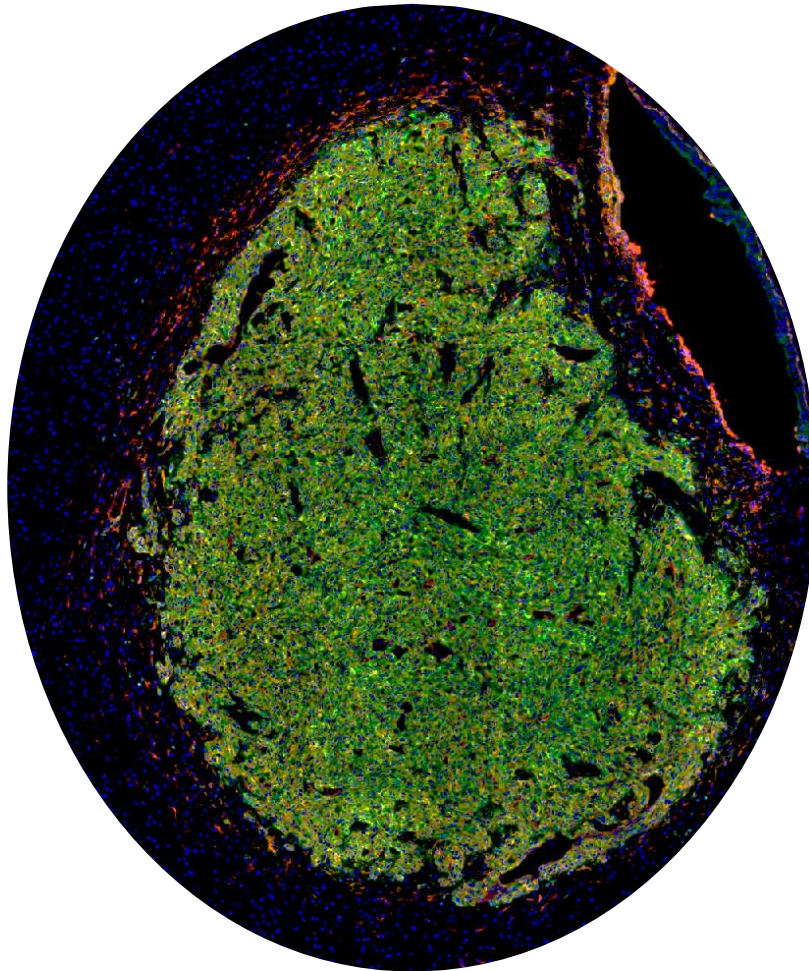




***IMPLICACIÓN DE LA GALECTINA-3 EN LA
RESPUESTA INMUNE GLIAL CONTRA EL
CÁNCER CEREBRAL***



Maria Isabel Quintero Mora

Tutor: Manuel Sarmiento Soto

Facultad de Farmacia

Universidad de Sevilla

Curso 2019/2020



TRABAJO FIN DE GRADO

GRADO EN FARMACIA

***IMPLICACIÓN DE LA GALECTINA-3
EN LA RESPUESTA INMUNE GLIAL
CONTRA EL CÁNCER CEREBRAL***

TRABAJO FIN DE GRADO DE CARÁCTER BIBLIOGRÁFICO

MARIA ISABEL QUINTERO MORA

TUTOR: MANUEL SARMIENTO SOTO

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

SEVILLA, JULIO DE 2020

RESUMEN

Según la Organización Mundial de la Salud, existen casi 200 subtipos de tumores cerebrales. Estos se pueden clasificar atendiendo a su origen molecular, zona de desarrollo o grado de evolución. Sin embargo, para simplificar esta compleja clasificación podrían dividirse únicamente en dos grandes grupos: tumores cerebrales primarios y secundarios. Entre todos ellos, tanto el Glioblastoma (primario) como las metástasis (secundario) que alcanzan el Sistema Nervioso Central (SNC) son los subtipos con la mayor tasa de mortalidad. De hecho, la esperanza de vida en este tipo de pacientes se mide únicamente en meses.

Una de las características intrínsecas a todos los tumores cerebrales es la presencia de una gran respuesta inflamatoria. De entre toda la miríada de células del sistema inmune implicadas en la activación, mantenimiento y atenuación de dicho proceso inflamatorio, se encuentran las células de la glía: astrocitos y microglía.

Las células de la glía poseen una gran plasticidad funcional que les permite llevar a cabo infinidad de procesos una vez son activadas por la presencia de las células tumorales. Su espectro de activación es complejo, abarcando desde un perfil pro-inflamatorio (anti-tumoral), hasta un estado opuesto con un marcado perfil inmunosupresivo (pro-tumoral).

En este trabajo trataremos de describir el papel de las células gliales durante el desarrollo y progresión de tumores primarios y secundarios (metástasis) del SNC. En concreto, nos centraremos en una importante molécula, la Galectina-3, como actor principal de los mecanismos de activación glial. Galectina -3 es una proteína liberada tanto por las células gliales como por las células tumorales, que posee un importante papel en el tipo de activación microglial y en el progreso de la respuesta neuroinflamatoria durante el crecimiento tumoral. Debatiremos sobre el uso potencial de la modulación de Galectina-3 como nueva inmunoterapia contra tumores primarios y secundarios del SNC.

Palabras clave: microglía, glioblastoma, Gal-3, metástasis cerebral, inmunoterapia.

ÍNDICE

	Pag.
I. Introducción.....	3
I.1- Glioblastoma: el tumor cerebral más agresivo y letal.....	3
I.2- Metástasis cerebral: más frecuente que los tumores primarios.....	4
I.3- Células de la Glía y su papel en el cáncer cerebral.....	6
I.4- Astrogliá.....	7
I.4.1- Diferenciación en fenotipos A1/A2.....	7
I.5- Microglía.....	8
I.5.1- Diferenciación en fenotipo M1 / M2.....	9
I.6- Galectinas.....	11
I.7- Galectina-3 y cáncer.....	12
I.8- Inmunoterapia aplicada a los tumores cerebrales.....	14
II. Objetivos de la revisión.....	16
III. Metodología.....	16
IV. Resultados y discusión.....	17
IV.1- Papel de la Astrogliá en la respuesta inmune tumoral.....	17
IV.2- Papel de la microglía en la respuesta inmune tumoral.....	19
IV.3- Papel de la Galectina-3 con el cáncer cerebral.....	20
IV.4- Relación de la microglía y la galectina-3 en el cáncer Cerebral.....	22
V. Conclusiones.....	24
VI. Bibliografía.....	25

INTRODUCCIÓN

I.1 Glioblastoma: el tumor cerebral más agresivo y letal.

Los gliomas son tumores primarios del Sistema Nervioso Central (SNC) que constituyen casi el 50 % de la totalidad de los tumores cerebrales y poseen la mayor tasa de mortalidad en adultos (Thakkar et al., 2014; Matias et al., 2018).

Existen distintas clasificaciones de gliomas según la Organización Mundial de la Salud (OMS), dividiéndolos en distintos grados del I a IV según criterios histológicos y grados de malignidad. Los de grado I normalmente son poco difusos presentando una morfología bien circunscrita y calificados como benignos. En cambio, los de grado II a IV son malignos y se infiltran difusamente en el cerebro (Louis et al., 2007; Le Mercier et al., 2010). Algunos ejemplos de estas clasificaciones serían astrocitomas pilocíticos (grado I), astrocitomas difusos (grado II), astrocitomas anaplásicos (grado III) y glioblastomas (grado IV) (Louis et al., 2007; Le Mercier et al., 2010).

La gran mayoría de los gliomas pertenecen al grupo de los glioblastomas. Son clasificados por la OMS como el astrocitoma de mayor malignidad debido a su corta esperanza de vida, alrededor de tan solo 15 meses (Urbanska et al., 2014; Matias et al., 2018).

Una de las causas por las que se originan los gliomas son mutaciones genéticas y alteraciones epigenéticas tanto en astrocitos y oligodendrocitos, como también en las células progenitoras neurales (Zong et al., 2015; Matias et al., 2018).

Las claves para el diagnóstico del glioblastoma son características como pleomorfismo celular, patrón de crecimiento difuso, atipia nuclear, actividad mitótica, proliferación microvascular y necrosis (Urbanska et al., 2014; Matias et al., 2018). Estas características se deben a la inestabilidad genómica y la desregulación de vías de señalización molecular claves como mTOR, RAS/MAPK o p53 (Mao et al., 2012). A su vez, debido a estas características anómalas, estos tumores adquieren diversos mecanismos de resistencia a la quimio- y radioterapia (Matias et al., 2018).

El tratamiento del glioblastoma es altamente agresivo, basado principalmente en resección quirúrgica, radioterapia y quimioterapia (Temozolamida); aunque lamentablemente suele tener un mal pronóstico en la mayoría de los casos. Con el tratamiento estándar actual, la expectativa media de supervivencia es de alrededor de 15 meses, debido en gran medida a mecanismos de resistencia/recidiva: tras el tratamiento

más del 90% de los casos dan lugar a un tumor recurrente, y con alta heterogeneidad intratumoral (Lefranc et al., 2005; Le Mercier et al., 2010). La heterogeneidad de estos tumores se debe a la interacción entre diferentes subpoblaciones de células tumorales y células del estroma, como astrocitos y células microgliales, facilitando la progresión, resistencia, metástasis y recurrencia tumoral. Todo esto acompañado de la ausencia de resección total y su intrínseca capacidad invasiva argumentan la escasa eficacia terapéutica (Roos et al., 2017; Matias et al., 2018).

El paso limitante de las nuevas terapias dirigidas al cerebro es atravesar la barrera hematoencefálica (BHE) (Dubois et al., 2014; Matias et al., 2018), compuesta por células endoteliales, pericitos, astrocitos, neuronas y membrana basal. Uno de los principales protagonistas en el mantenimiento de la integridad de la BHE son los astrocitos (Zhao et al., 2017; Matias et al., 2018). Conforme progresa el glioma, la BHE se ve alterada, lo que lleva a la activación de las células tanto de la astrogliá como de la microglía, las cuales producen altos niveles de moléculas proinflamatorias como el óxido nítrico (NO) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), que potencian la desintegración estructural de la BHE (Zhao et al., 2017; Matias et al., 2018). En presencia de células tumorales, también se puede producir la activación de los astrocitos por la liberación de interleucinas (IL-1 β , IL-6, TNF α , etc.) y, en consecuencia, se interrumpen las uniones astrocitos-BHE (Guan et al., 2018; Matias et al., 2018). Todo esto deja en evidencia el importante papel de las células gliales tanto en la integridad cerebral como su contribución al desequilibrio de la BHE en condiciones patológicas.

I.2 Metástasis cerebral.

Las metástasis cerebrales son los tumores intracraneales más frecuente en adultos y tienen una elevada morbilidad y mortalidad (Fecci et al., 2019). De entre todos los tumores primarios que poseen la capacidad de viajar al cerebro, los más comunes son los de pulmón, mama y melanoma.

Conforme mejoran las terapias, la tasa de supervivencia a estos tumores aumenta, pero lamentablemente esto lleva consigo también el incremento en la incidencia de metástasis. Estas metástasis suelen acompañarse de síntomas neurológicos que empeoran dramáticamente la calidad de vida y la supervivencia del paciente (Sociedad Americana del Cáncer. Centro de Estadística del Cáncer. Atlanta, GA; 2018).

Las células metastásicas son genéticamente distintas a las del tumor primario del que proceden y adquieren capacidades adicionales como la de atravesar la BHE e ingresar en el parénquima cerebral (Brastianos et al., 2015). Para ello utilizan catepsinas y metaloproteinasas de matriz que desintegran la estructura de la matriz extracelular (Sevenich et al., 2014; Fecci et al., 2019). También modifican las uniones intercelulares entre los componentes de la BHE, produciendo citocinas, quimiocinas y factores solubles. Además, algunas células metastásicas promueven la muerte celular endotelial con el fin de interrumpir la integridad de la BHE (Strilic et al., 2016; Fecci et al., 2019).

La metástasis es un proceso secuencial altamente complejo (Figura 1). Consta de varios pasos entre los que se incluyen el arresto de las células tumorales circulantes en las ramificaciones vasculares, la extravasación hacia el espacio perivascular, y crecimiento angiogénico o cooptación vascular (Fecci et al., 2019).

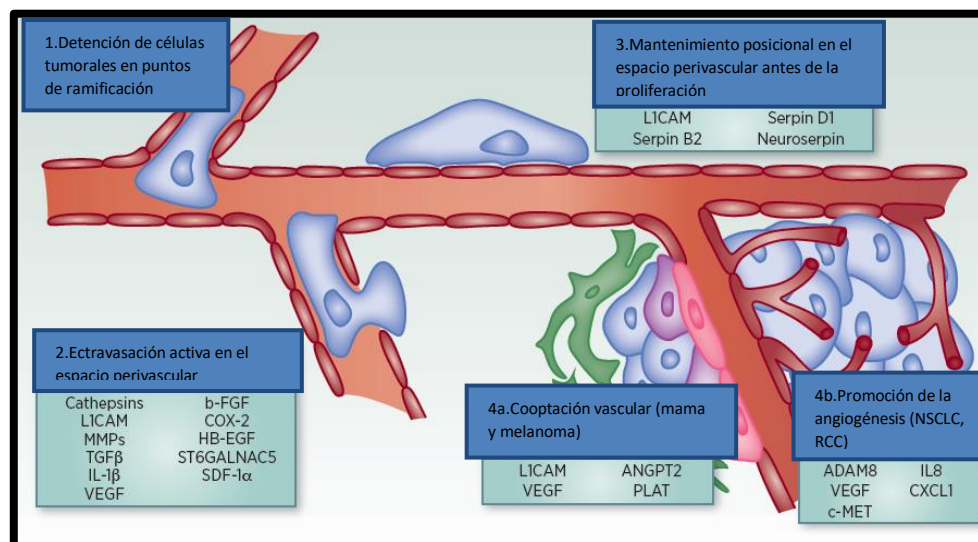


Figura 1. Etapas de las metástasis cerebrales. Modificada de Fecci PE. et al, 2019.

Existen numerosos estudios que implican la importancia de astrocitos y microglía en el inicio y progresión de las metástasis cerebrales. Las células gliales están activas en todas las fases de la enfermedad y su interacción con las células tumorales es un importante campo de estudio en el campo de la oncología médica. Las interacciones entre las células metastásicas y los astrocitos y la microglía pueden prevenir el daño neuronal, pero también pueden inducir la supervivencia de las células cancerosas. A lo largo del trabajo, se describirán las complejas interacciones de las células gliales con las células tumorales y el proceso inflamatorio desencadenado durante la progresión de la enfermedad.

I.3 Células de la Glía y su papel en el cáncer cerebral

Tanto las células tumorales como las células cerebrales residentes (por ej. astrocitos, macrófagos, microglía, células endoteliales y linfocitos) (Figura 2) forman parte del microambiente tumoral. Una muestra de la importancia y compleja interacción entre estos tipos celulares es que la microglía y los macrófagos componen un elevado porcentaje de la masa tumoral total (30-50%) (Watters et al., 2005; Wu et Watabe, 2017). Está descrito como estas células al ser activadas potencian el crecimiento y la invasión tumoral (Graeber et al., 2002; Wu et Watabe, 2017). En otros estudios se ha observado que la falta de estas células microgliales/macrófagos no disminuyen los tumores, pero si su diseminación metastásica (Robinson-Smith et al., 2007; Wu et Watabe, 2017). Por estos motivos, estudios acerca de la manipulación de estos tipos celulares puede llevar a descubrir nuevas terapias que limiten el crecimiento tumoral. Del mismo modo, cada vez son más numerosos los estudios que tratan de caracterizar el papel de los astrocitos tanto en el inicio como en la progresión del Glioblastoma y las metástasis cerebrales. A continuación, se describirá en más detalle la importancia de estos tipos celulares en los tumores del SNC.

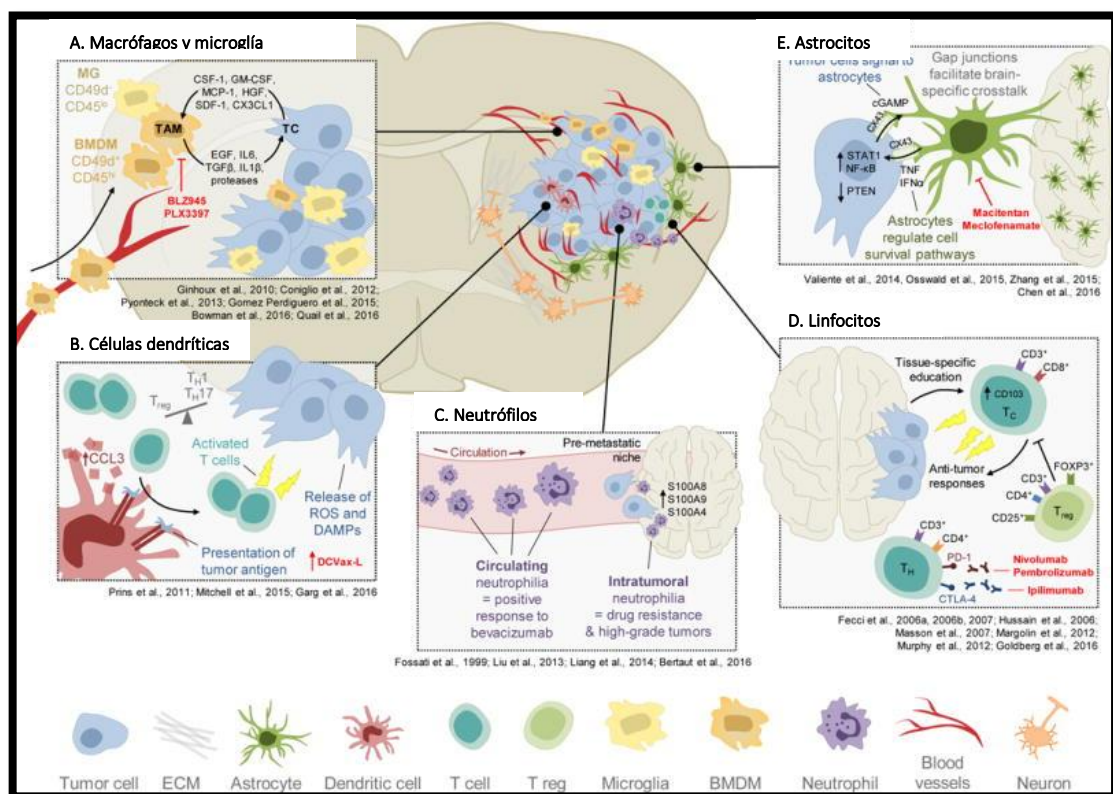


Figura 2. Células implicadas en la respuesta ante tumores cerebrales. Modificada de Quail et Joyce, 2017.

I.4 Astroglía

Los astrocitos forman en torno al 50% de las células cerebrales. En presencia de tumores, estos forman un característico halo o anillo de activación implicado en el avance de la enfermedad (Placone et al., 2016). Existen varios estímulos que forman un papel importante en dicha activación, como son los patrones moleculares asociados al peligro (DAMP), que se encargan de activar tanto astrocitos como microglía en las metástasis cerebrales (Wasilewski et al., 2017; Wu et Watabe, 2017).

En condiciones estándar, los astrocitos participan en varias funciones fisiológicas del SNC como son el mantenimiento de la barrera hematoencefálica, el flujo sanguíneo, modulación de la plasticidad sináptica y regulación de la homeostasis energética (Priego et Valiente, 2019). Sin embargo, también está descrito como los astrocitos se activan durante diversas patologías del SNC, entre los que se encuentran los tumores cerebrales (Liddelow et al., 2017; Priego et Valiente, 2019). En la fase aguda (más inicial) de la enfermedad limitan el daño, en cambio cuando la lesión se vuelve crónica, los astrocitos comienzan a jugar un papel pernicioso favoreciendo la progresión tumoral (Priego et Valiente, 2019). En el caso de las metástasis, restringen la colonización cerebral en las fases tempranas, ejerciendo un efecto anti-metastásico (Valiente et al., 2014; Wasilewski et al., 2017), pero en cambio, en etapas posteriores ejercen un papel pro-metastásico, afectando a la capacidad de recuperación del daño del SNC.

I.4.1 Diferenciación en fenotipos A1/A2

Tanto en numerosas enfermedades neurológicas como en presencia de tumores cerebrales, los astrocitos reaccionan diferenciándose en dos subtipos tipos según su fenotipo de activación: A1 y A2.

Los astrocitos A1 se producen como respuesta a una lesión del SNC. Este fenotipo es inducido *in vitro* por la expresión de IL-1, TNF- α y C1q, a partir de la microglía activada. Regulan genes de la cascada del complemento nocivos para la sinapsis. Además, pierden la capacidad de formar sinapsis y la capacidad fagocítica entre otras funciones clásicas de los astrocitos, pero adquieren una función neurotóxica que les permite destruir neuronas y oligodendrocitos diferenciados maduros.

Por el contrario, los astrocitos A2 se activan en condiciones de isquemia y regulan al alza muchos factores neurotróficos, lo que produce un aumento de la supervivencia neuronal y reparación de tejidos (Herrmann et al., 2008; Liddel et al., 2017). En líneas generales, a pesar de las complejas interacciones entre las células tumorales y los astrocitos, diversos estudios parecen indicar que, tanto en tumores cerebrales primarios como secundarios, las células de la glía promueven un ambiente protumoral (inmunosupresivo, A2) que contribuye a generar una respuesta anti-inflamatoria (Henrik Heiland et al., 2019). Por último, cabe mencionar que la clasificación en los subtipos A1 y A2 es una simplificación conceptual de un comportamiento mucho más complejo en el que, como veremos a continuación en el caso de la microglía, coexisten distintos marcadores pertenecientes a ambos espectros de activación.

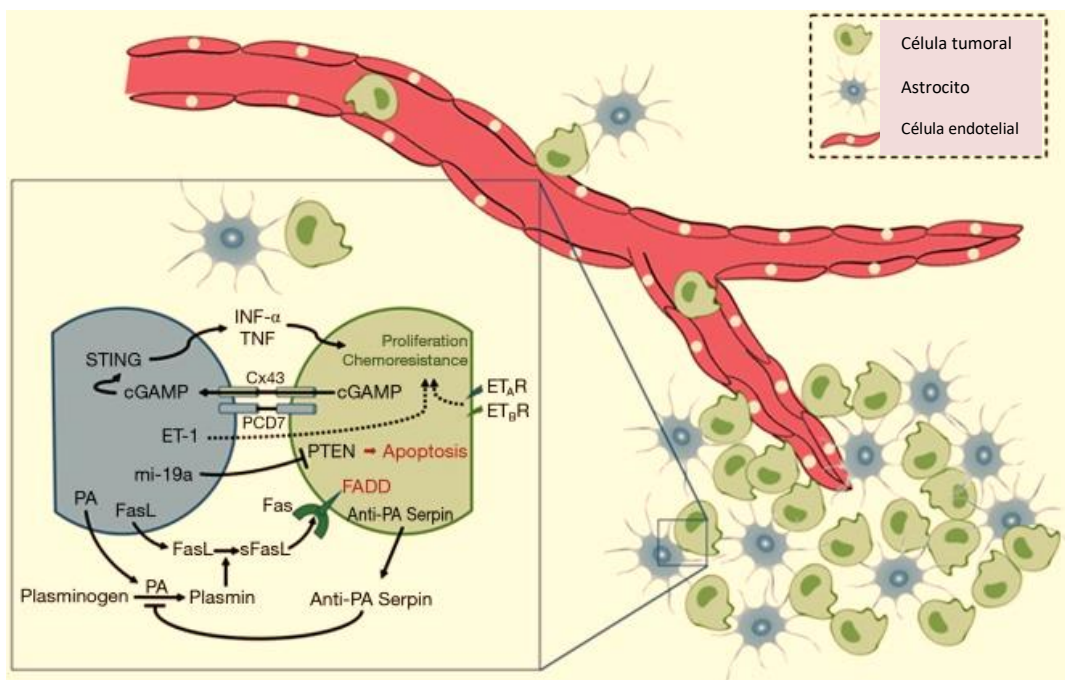


Figura 3. Regulación de la progresión del cáncer por los astrocitos. Modificada de Dai W et al, 2016.

1.5 Microglía

La microglía son los macrófagos residentes del SNC, constituyendo el principal componente del sistema inmune cerebral (Hanisch et Kettenmann, 2007; Wu et Watabe, 2017). Su función innata antitumoral está basada en la fagocitosis y liberación de factores citotóxicos (Parkhurst et al., 2013; Wu et Watabe, 2017). Además, se ha descrito su papel durante la angiogénesis tumoral, metástasis, latencia y recidiva (Graeber et al., 2002). Los

distintos estados de activación de la microglía están ampliamente influenciados por los factores solubles liberados desde el tumor, transformándolas generalmente en elementos inmunosupresores, sirviendo de soporte para el mantenimiento y progresión de la enfermedad (Wu et Watabe, 2017; Matias et al., 2018).

En el caso de las metástasis cerebrales, la microglía se relaciona directamente con la progresión y colonización de células metastásicas del tejido cerebral. Las enzimas, citocinas y factores de crecimiento derivadas de la activación microglial regulan la proliferación e invasión tumoral, inmunosupresión y angiogénesis del tumor cerebral tanto primario como secundario (Graeber et al., 2002; Wu et Watabe, 2017).

Tanto las células microgliales como los macrófagos son reclutados en las proximidades o el interior de las masas tumorales. Sin embargo, no existen marcadores infalibles que distingan de forma inequívoca entre unos y otros, por ello se usa el término general “microglía / macrófagos” o TAM (microglia/macrófago asociado al tumor). Estudios recientes con las técnicas más avanzadas de biología molecular y “single-cell”, han caracterizado marcadores de superficie celular más específicos que indicaron que la proporción de células microgliales en la zona intratumoral es mucho mayor que la de macrófagos (Muller et al., 2015; Wu et Watabe, 2017).

I.5.1 Diferenciación en fenotipo M1 / M2

Del mismo modo que ocurre con los astrocitos, las células de la microglía pueden también dividirse en dos grandes subgrupos según su estado de activación. Tanto microglía como macrófagos pueden diferenciarse en fenotipo M1 (clásico) y fenotipo M2 (alternativo). El fenotipo clásico se caracteriza por poseer acción antitumoral produciendo citocinas proinflamatorias (IL-2 y 12, interferón gamma y TNF- α), especies reactivas de oxígeno y sobre-expresan el transductor de señal y el activador de transcripción-1 (STAT1). Este último potencia aún más la producción de citocinas inflamatorias que alteran la función de proteínas, ADN o ARN, o inician la peroxidación lipídica suprimiendo así el crecimiento tumoral (Wei et al., 2013; Wu et Watabe, 2017). Las células microgliales M1 activas pueden exponer antígenos a las células Th1 para así potenciar la diferenciación citotóxica de las células T (Wu et Watabe, 2017).

El fenotipo microglial M2, suele estar activado por citocinas tipo II (algunas IL y TGF- β) y diversas quimiocinas (Sica et al., 2006; Wu et Watabe, 2017). Este subtipo tiene una

acción pro-tumoral produciendo inmunosupresión y elevados niveles de STAT3 (Wei et al., 2013), cuya activación se asocia con la inducción de un ambiente anti-inflamatorio (Jones et al., 2016). STAT3 reduce la producción de moléculas de superficie, necesarias para la presentación de antígenos que van a inducir el crecimiento y la invasión del tumor (Wu et Watabe, 2017). Este fenotipo potencia la acción de células Th2 y sobre-expresión de IL-10 (citocina antiinflamatoria), que participa en la creación de un microambiente inmunosupresor, aumentando así la supervivencia del tumor (Zhang et al., 2007; Wu et Watabe, 2017). Por lo tanto, el tipo de polarización de la microglía / macrófagos afecta dramáticamente al crecimiento de los tumores cerebrales.

En el caso de los Glioblastomas, las células microgliales son reclutadas adquiriendo habilidades invasivas y de migración (Wang et al., 2017; Matias et al., 2018). En la misma línea de pensamiento, diversos estudios sugieren que, en líneas generales, los tumores cerebrales producen las citoquinas IL-4, IL-6, IL-10 y TGF- β que inducen la activación neta del fenotipo M2 (Wu et Watabe, 2017).

En el caso de las metástasis cerebrales, estas células promueven la colonización de células circulantes de cáncer de mama en el cerebro (Pukrop et al., 2010; Wu et Watabe, 2017). En cambio, las células microgliales M1 activas potencian la apoptosis de células metastásicas de cáncer de pulmón (He et al., 2006; Wu et Watabe, 2017). De nuevo, es importante resaltar la coexistencia y el equilibrio entre los fenotipos M1 / M2 de las células microgliales / macrófagos y como este balance influye significativamente en el crecimiento y la invasión tumoral.

En definitiva, queda patente la extraordinaria plasticidad de las células microgliales en su respuesta ante la presencia de células tumorales. Definir su activación dentro de los espectros M1 o M2, en vista de los últimos estudios, es una definición incompleta y anticuada. La co-existencia de biomarcadores típicamente englobados en los fenotipos M1 y M2 ha quedado demostrada en distintos estudios basados tanto en tumores cerebrales primarios como secundarios. Por todo esto, investigaciones futuras deberán estar encaminadas en el estudio de ciertas familias o “clusters” de biomarcadores expresados en las células presentes en el microambiente tumoral, y que formen parte de aquellas rutas de señalización que favorezcan o inhiban el crecimiento del tumor. Ese conocimiento nos permitirá desarrollar terapias específicas y personalizadas para el tratamiento de esta terrible enfermedad.

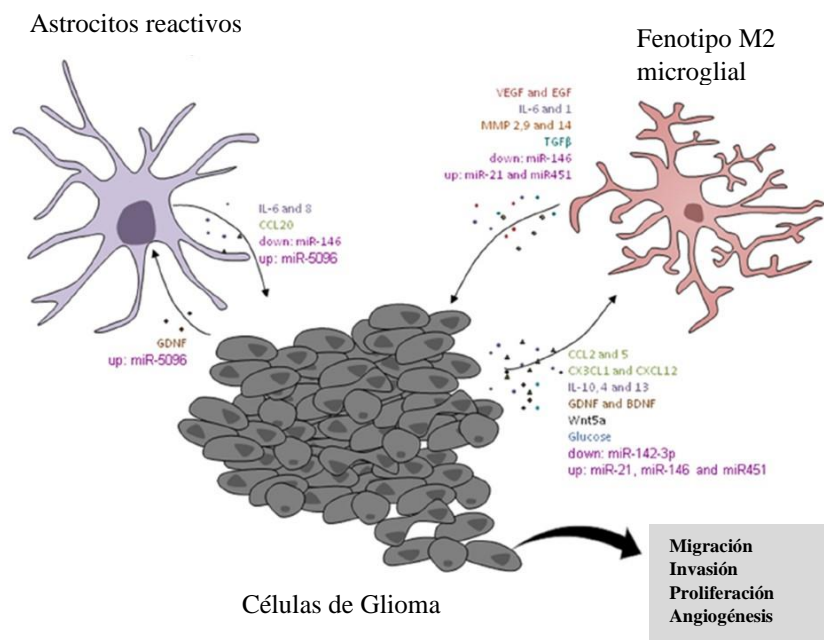


Figura 4. Implicación de astrocitos y microglía en la progresión tumoral. Modificada de Matias et al., 2018.

I.6 Galectinas

Las Galectinas pertenecen a la superfamilia de las lectinas (Klyosov et al., 2008). Se caracterizan por su alta afinidad por los carbohidratos de tipo azúcares beta-galactósidos y por poseer una secuencia de homología correspondiente al dominio de reconocimiento de carbohidratos (CRD) de en torno a 130 aminoácidos con estructura de lámina beta, responsable de la unión a beta-galactósidos (Le Mercier et al., 2010; Klyosov et al., 2008).

Las galectinas están presentes en gran variedad de células, como macrófagos, células T y B, células dendríticas, etc. Actualmente son conocidas 15 galectinas que están enumeradas según la cronología de su descubrimiento (Liu et al., 2005; Le Mercier et al., 2010). Según la estructura de su CRD se diferencian tres grupos: prototipos, repetición en tándem y quimera (Wang et al., 2019a). Para ser biológicamente activas, las galectinas mono-CRD pueden presentarse como monómeros (galectina -5, -7, -10) o como homodímeros (galectina-1, -2, -11, -13, -14, -15) (Le Mercier et al., 2010). En este trabajo profundizaremos sobre el grupo quimera, formado únicamente por *la Gal-3*, que tiene un solo CRD conectado a un dominio N- terminal único de aproximadamente 120 aminoácidos, rico en prolina y glicina (Houzelstein et al., 2004; Le Mercier et al., 2010). Las galectinas pueden encontrarse tanto fuera de las células interactuando con la

superficie celular y la matriz extracelular de glicoproteínas, como dentro interactuando con citoplasma y proteínas nucleares (Elola et al., 2007; Le Mercier et al., 2010).

Las galectinas participan en numerosos procesos celulares como la adhesión celular, apoptosis o regulación del crecimiento celular (Elola et al., 2007; Le Mercier et al., 2010). Existen grandes evidencias científicas de la importancia de estas moléculas en la biología del cáncer (Le Mercier et al., 2010). Por ejemplo, cada vez son más numerosos los estudios que unen el papel inmunomodulador de Gal-3 sobre la activación microglial en diferentes enfermedades del SNC, como indican recientes estudios del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla donde se ha unido el papel Gal-3/Trem2 en la progresión de la enfermedad de Alzheimer y en modelos de Parkinson (Boza-Serrano et al., 2014; Boza-Serrano et al., 2019)

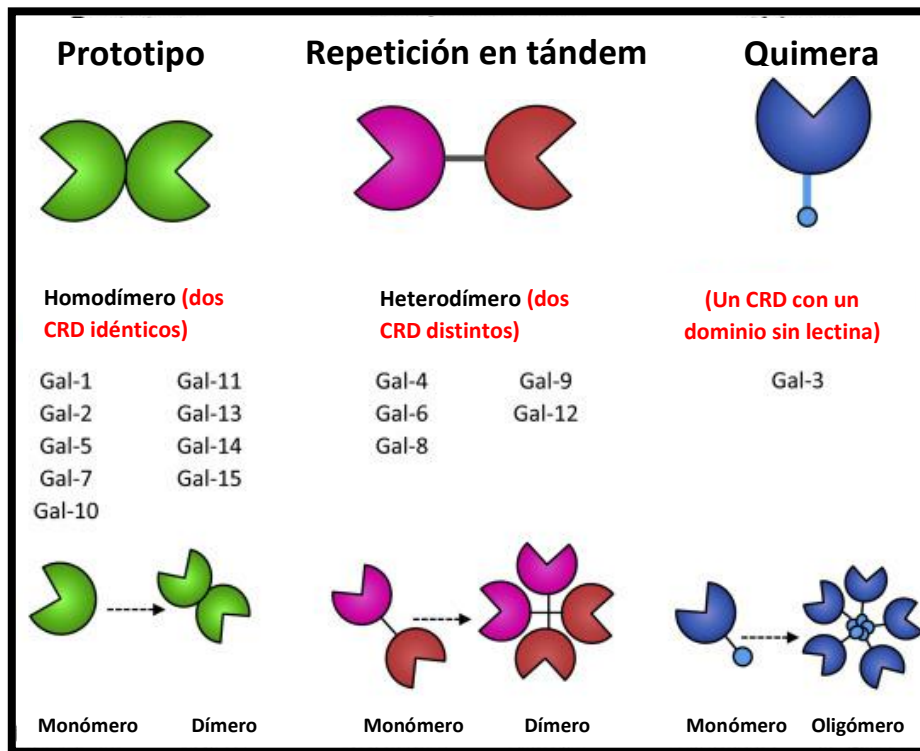


Figura 5. Clasificación de las galectinas según la estructura de su CRD. Modificada de Wang et al 2019a.

I.7 Galectinas y Cáncer

La estructura oligomérica única de la Gal-3 le confiere funciones distintivas tanto en situaciones de homeostasis como en procesos patológicos, incluido el cáncer. La Gal-3 constituye un mecanismo regulador importante del microambiente del tumor (TME, por sus siglas en inglés) al interferir en la sinapsis inmunológica, uniéndose por ejemplo a la

superficie celular del receptor de los linfocitos T (TCR) e inhibiendo su activación (Grigorian et Demetriou, 2010; Farhad et al., 2018). Por tanto, el aumento de Gal-3 en el TME potencia la inmunosupresión y contribuye al crecimiento tumoral.

Según su localización, la Gal-3 ejerce efectos apoptóticos cuando se sitúa de forma extracelular y efectos antiapoptóticos cuando se sitúa en el citoplasma o núcleo. Gal-3 extracelular potencia la apoptosis de células T mediante la unión a los receptores de glucoproteína CD45 y CD71 (Stillman et al., 2006). Mientras que el aumento de Gal-3 intracelular inhibe la apoptosis activada por el anticuerpo anti-Fas y la estaurosporina (Yang et al., 1996); además de regular el crecimiento celular y aumentar la señalización TCR (Yang et al., 1996; Farhad et al., 2018).

Por otro lado, los macrófagos también regulan la expresión de Gal-3 en función de su fenotipo. De manera que los macrófagos M1 inhiben la expresión de Gal-3, mientras que los macrófagos M2, activados por IL-4 / IL-13, aumentan significativamente su expresión (Novak et al., 2012; Farhad et al., 2018). Todo esto sugiere que Gal-3 podría ser un factor clave en la activación de los fenotipos M2 de macrófagos, con su consiguiente implicación en la creación de un ambiente pro-tumoral (Farhad et al., 2018). En concreto, este mecanismo describe como la Gal-3 es activada por IL-4; una vez activada, forma parte de un circuito de retroalimentación que al unirse a CD98 y al complejo de integrina $\beta 1$, impulsa la activación del fenotipo M2. Esta activación puede ser bloqueada por un inhibidor extracelular de unión a carbohidratos Gal-3, bis- (3-desoxi-3- (3-metoxibenzamida) -D-galactopiranosil) sulfano, y también es inhibida por la delección de Gal-3, CD98 o la inhibición de PI3K mediante ARN interferente (siRNA) (MacKinnon et al., 2008; Farhad et al., 2018).

Varios estudios también han demostrado que la expresión de Gal-3 aumentan durante la progresión del cáncer, lo que da lugar a la supresión de la respuesta inmune y la promoción de la progresión del tumor, su invasividad y su potencial metastásico (Cardoso et al., 2016; Farhad et al., 2018). La supresión de Gal-3 en tumores sólidos, acompañado del bloqueo del punto de control de células T o los agonistas de células T, aumenta la inmunidad antitumoral y mejora la regresión tumoral. Todos estos datos colocan a terapias contra Gal-3 como una verdadera posibilidad en el desarrollo de nuevas estrategias contra el cáncer.

En el contexto específico del cáncer cerebral, la Gal-3 se expresa en oligodendrocitos, células endoteliales, macrófagos y células gliales (Deininger et al., 2002; Le Mercier et al., 2010). A. Raz y colaboradores, demostraron la relación entre la expresión de las galectinas y la malignidad de tumores del SNC, describiendo la asociación directa entre el nivel de expresión de la Gal-3 y el grado de astrocitoma (Bresalier et al., 1997; Le Mercier et al., 2010). En cambio, otros estudios como los de Gordower y colaboradores, mostraron que la expresión de la Gal-3 disminuye en la mayoría de tumores astrocíticos. Esta contradicción de resultados se debe en parte a que la presencia de Gal-3 nos es exclusiva de las células tumorales, ya que también es expresada por células endoteliales, macrófagos o células microgliales (Deininger et al., 2002; Le Mercier et al., 2010). También se demostró que los niveles de Gal-3 eran mayores en glioblastoma y astrocitomas pilocíticos que en otros tumores como oligodendrogliomas, oligodendrogliomas anaplásicos y difusoastrocitomas, de naturaleza menos agresiva que los anteriores.

Los estudios de Gal-3 en el contexto de los tumores cerebrales son escasos y con resultados variables. En la sección de resultados y discusión, se profundizará en los diversos estudios basados en Gal-3 y se resumirán los principales valores de esta importante molécula en la modulación de la activación de la microglía durante la progresión de los tumores cerebrales.

I.8 Inmunoterapia aplicada a los tumores cerebrales

Cabe destacar como en la última década, en conjunción con las terapias clásicas en el tratamiento tumoral como la quimio- y radioterapia, se ha unido un tercer tipo de estrategia denominada **Inmunoterapia**. La re-educación del sistema inmune para dirigir el ataque de las células de nuestro organismo contra el tumor se ha convertido en una importante rama dentro del campo de la oncología. Las células microgliales son un componente clave dentro del SNC en la respuesta inmune innata. Estas células expresan el complejo mayor de histocompatibilidad principal clase II en el microambiente inflamatorio tanto del glioblastoma como de las metástasis cerebrales, que producen la activación de los linfocitos T. Esto demuestra la importancia de la microglia para la activación de la respuesta inmune específica (adaptativa), que abarca tanto los linfocitos T y B.

En el año 2018, los padres de la inmunoterapia (Allison y Honjo), compartieron el premio Nobel de Fisiología y Medicina por sus avances en el campo de la inmunoterapia oncológica. Ellos fueron los primeros en describir los puntos de control inmunoreguladores (“immune checkpoints”). Las células microgliales expresan los ligandos de diversos receptores que inhiben la actividad de los linfocitos T: PD1 con PD-L1 por un lado y CD80-86 con CTLA-4 por otro (Magnus et al., 2005; Soto et Sibson, 2018). Estos ligandos, al interaccionar con PD1 o CTLA-4 pueden inhibir la respuesta antitumoral de las células T y colaborar en la generación del microambiente pro-tumoral. Las células microgliales también pueden actuar como transportadores activos de las células cancerosas, lo que contribuye a la invasión y metástasis de tejidos cerebrales (Berghoff et al., 2015b; Soto et Sibson, 2018). Lorger y compañía demostraron mediante una serie de estudios el efecto beneficioso de tratamientos anti-PD-1 / anti-CTLA-4 en metástasis cerebrales de melanoma de ratón, al contribuir a la infiltración tumoral de células T CD8+.

Algunos estudios sugieren que la microglia expresa un fenotipo más proinflamatorio en el desarrollo del cáncer, mientras que los macrófagos derivados de la médula ósea (BMDM) ejercen una acción más antiinflamatoria (Xing et al., 2018; Soto et Sibson., 2018). Varios estudios han demostrado que el factor estimulante de colonias de macrófagos-1 (CSF-1) puede regular esta modulación fenotípica, de manera que mediante inhibidores de CSF1-R se pueden inhibir marcadores fenotípicos M2 en BMDM de cánceres primarios.

En la actualidad, más de un centenar de ensayos clínicos están o han sido basados en el estudio de diversas estrategias inmunoterapéuticas para el tratamiento de los tumores cerebrales. El estudio de la activación de la microglía y su impacto en la activación o represión de la respuesta inmune es fundamental para entender y diseñar nuevas estrategias inmunoterapéuticas, en la que la Gal-3 puede ejercer un papel primordial en redirigir el ataque de las células del sistema inmune contra las células cancerosas.

II. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN

Este trabajo se ha basado en los estudios acerca del papel de las células gliales durante los dos tipos de tumores cerebrales más agresivos y letales, glioblastoma y metástasis cerebral. Nos hemos centrado fundamentalmente en el papel de la microglía ante la presencia de las células cancerosas y como la liberación de Galectina 3 en el microambiente tumoral tiene una gran influencia en la activación de las células del sistema inmune y su consiguiente impacto en el progreso de la enfermedad. En modo resumido, los objetivos de este trabajo fueron:

1. Actualizar el estado de los trabajos dirigidos a estudiar el Glioblastoma y la Metástasis cerebral.
2. Definir el papel crucial de las células gliales en la respuesta inmune contra estos tumores cerebrales
3. Explicar el perfil inmunomodulador de la Galectina 3 sobre la activación de las células gliales, centrándonos principalmente en la microglia.
4. Proponer y desarrollar posibles tratamientos basados en la modulación de la galectina-3 como una potencial terapia contra los tumores cerebrales.

III. METODOLOGÍA

La bibliografía se ha basado en una búsqueda de conceptos generales sobre el cáncer cerebral, centrándonos en glioblastoma y metástasis cerebral. También se ha hecho uso de textos electrónicos (por ej. Asociación Española Contra el Cáncer y La American Society of Clinical Oncology). Se ha usado la biblioteca virtual de la Universidad de Sevilla para acceder a libros y artículos científicos relacionados con inmunología y cáncer. Finalmente, para la obtención de artículos de revisión se usó la base de datos Pubmed. Se consultaron las referencias bibliográficas de los artículos seleccionados más relevantes para incrementar nuestra área de búsqueda.

En Pubmed se establecieron una serie de filtros de búsqueda para seleccionar los artículos más relevantes. Algunos filtros fueron el tipo de publicación (generalmente revisión o artículo científico), año de publicación y palabras clave como microglia, inmunoterapia o Galectina-3. Todo esto nos ayudó a restringir nuestra búsqueda de las fuentes bibliográficas a contenidos actuales, de impacto y gran relevancia.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1 Papel de la Astroglía en la respuesta inmune tumoral.

Numerosos trabajos han descrito la activación astrogial tanto en tumores primarios (GBM) como en distintos tipos de metástasis cerebrales. Estas células están en constante comunicación con el ambiente tumoral, interaccionando con un amplio abanico de células del sistema inmune (Priego et al., 2018).

Una de las vías de activación mejor descritas de los astrocitos está dirigida por el transductor de señal y el activador de la activación de la transcripción 3 (STAT3). Esta vía de activación astrogial ha sido descrita como una de los impulsores de tumores mesenquimatosos (Cooper et al., 2012; McFarland et Benveniste, 2019). STAT3 también pueden regular la expresión de microglía / macrófagos CD74+ mediante la expresión del factor inhibidor de migración de macrófagos (MIF). Esto reduce la producción de INF- γ en el microambiente tumoral e induce la polarización del fenotipo M2 de macrófago / microglía, lo que propicia la formación de un nicho tumoral inmunosuprimido (Priego et Valiente, 2019). La actividad supresora en las metástasis cerebrales se atribuyó a la subpoblación de astrocitos que activan precisamente la vía STAT3. Estos astrocitos producen moléculas inmunosupresoras y disminuye la activación de las células T CD8+, reduciendo su actividad citotóxica. También actúan como barrera para evitar la infiltración de las células T CD8+ a la masa tumoral (Priego et al., 2018; McFarland et Benveniste, 2019). En definitiva, a esta subpoblación de astrocitos STAT3+ se les atribuye un papel fundamental en la infiltración de macrófagos / microglía pro-tumorales en el TME.

La interacción de los astrocitos con los componentes del sistema inmune puede producir consecuencias en la proliferación tumoral debido a la producción de citocinas y otros factores de crecimiento. Una de estas citocinas inmunosupresoras expresadas en la superficie celular es el ligando 1 de muerte celular programada (PD-L1) que contribuye a un agotamiento de las células T y así inhibir la respuesta inmune (Priego et Valiente, 2019). El uso de terapias que modifiquen la comunicación entre astrocitos y células del sistema inmune para obtener mayores efectos antitumorales pueden producir efectos secundarios debido al aumento del daño tumoral directo a causa de la expresión de moléculas neurotóxicas de astrocitos o indirecto por el aumento de la expresión y activación de células T CD8+.

Se ha observado que en pacientes con tumor cerebral enriquecidos en STAT3+ en el ambiente tumoral obtienen respuestas disminuidas a la inmunoterapia. Esto puede deberse a que las células cancerosas tengan un mecanismo para estimular la producción de astrocitos STAT3+, reduciendo así la respuesta antitumoral de las células T (Zhao et al., 2019; Priego et Valiente, 2019). La actividad de los astrocitos reactivos STAT3+ produce una alteración de las funciones inmunes innatas (macrófagos / microglía) y adaptativas (células T CD8+). Un tratamiento enfocado a la inhibición de la vía de señalización STAT3+ en el ambiente tumoral puede contribuir a disminuir la señalización pro-tumorigénica y la carga metastásica cerebral.

De hecho, actualmente existen varios ensayos clínicos basados en la inhibición selectiva de STAT3. Por ejemplo, la silibilina es un producto proveniente de algunas plantas como el extracto de semillas del cardo mariano (*Silybum marianum*) que atraviesa la barrera hematoencefálica y actúa como inhibidor de la actividad STAT3+, modificando su capacidad de unión al ADN (Lee et al., 2015; McFarland et Benveniste, 2019). Esto produce efectos en el crecimiento tumoral que se deben a la supresión de factores microambientales. Legasil[®], un medicamento con la silibilina como compuesto activo, se encuentra actualmente en fase II de ensayos clínicos contra la metástasis cerebral. La silibilina actúa específicamente en el cerebro, de forma que su acción es ejercida sobre la metástasis cerebral pero no en el tumor primario, extracerebral. Esto podría involucrar la reactivación de genes supresores de metástasis (Thiolloy et Rinker-Schaeffer 2011; Bosch-Barrera et al., 2016) y la inhibición de genes involucrados en la supervivencia y crecimiento de células cancerosas (Lasorella et al., 2014; Bosch-Barrera et al., 2016). El mecanismo por el que puede producirse ese efecto anti-metastásico es que mediante su inhibición se reduzca la expresión de factores proinflamatorios, disminuyendo a su vez las reacciones inflamatorias locales y potenciando la incorporación de elementos inmunes en el lecho tumoral y mejorando el control inmunológico (Yang et al., 2015; Bosch-Barrera et al., 2016).

Por otro lado, la reducción del edema peritumoral en carcinoma de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) de metástasis cerebrales puede deberse al efecto inmunoestimulador del bloqueo de STAT3 por la silibilina (Hong et al., 2015; Bosch-Barrera et al., 2016). Varias investigaciones sostienen que la silibilina puede dar lugar a efectos reguladores no ligados a STAT3 sobre genes que participan en la promoción y mantenimiento de células madre cancerosas, además de en el microambiente inflamatorio activo inmunitario

(Bosch-Barrera et al., 2016). Demostrar la capacidad de la silibilina de agotar las células madres cancerosas responsables del inicio de la metástasis y suprimir su nicho inflamatorio podría convertir formulaciones como Legasil® en una importante herramienta en la clínica.

En definitiva, los astrocitos son alterados por los glioblastomas y las metástasis cerebrales, volviéndolos altamente reactivos (Guan et al., 2018; Matias et al., 2018). Estos en última instancia acaban liberando factores que contribuyen al crecimiento del glioblastoma. Se ha demostrado que la astroglia peritumoral sobre-expresan enzimas como la Arginasa-1, que potencia la proliferación del tumor debido a su influencia en la creación de un ambiente inmunosupresivo (Zhang et al., 2015; Matias et al., 2018). Por lo que en definitiva, se ha demostrado que inhibir ciertos mecanismos de activación de los astrocitos puede ser una buena alternativa para controlar el crecimiento de ciertos tumores cerebrales (Matias et al., 2018).

IV.2 Papel de la microglía en la respuesta inmune tumoral

Para la eliminación de agentes perniciosos, las células microgliales alteran su expresión génica y producen especies reactivas de oxígeno (ROS), óxido nítrico, citocinas proinflamatorias y quimiocinas. Durante su estado de activación, la microglía además de producir agentes citotóxicos para acabar con los patógenos o células cancerosas, también liberan una serie de factores de crecimiento tales como EGF (endotelial growth factor), VEGF (vascular endotelial growth factor) o CSF-1 (colony stimulating factor-1), que potencian la supervivencia celular, crecimiento y mejora de la función neuronal (Parkhurst et al., 2013; Wu et Watabe, 2017). Cuando dicho estado de activación se mantiene en el tiempo, puede producir efectos secundarios que contribuyan a la neurodegeneración y aparición de neoplasias (Wei et al., 2013; Wu et Watabe, 2017).

Las células del glioblastoma actúan sobre las GAM (glioma-associated microglia/macrophages) estimulándolas con el fin de producir moléculas inmunosupresoras que estimulen el crecimiento tumoral, como son por ejemplo IL-10, metaloproteinasas (MMP), quimiocinas y arginasa-1 (Matias et al., 2018). En conjunto, glioblastoma y GAMs producen quimiocinas como proteína quimiotáctica monocito-1 (MCP-1) que son quimioatrayentes de quimiocinas receptor tipo 2, Ly-6C y células supresoras derivadas de mieloides (MDSC) (Chang et al., 2016; Matias et al., 2018). Este

último tipo celular es especialmente relevante por su capacidad de liberar citocinas inmunosupresoras que promueven el crecimiento tumoral. Estudios basados en la inhibición de la función de MDSC aumenta la respuesta inmunitaria antitumoral (Zhang et al., 2018; Matias et al., 2018).

Otro papel importante de la microglía es su influencia en la regulación de los puntos de control inmune (“immune check-points”). Los GAMs son una de las principales células presentadores de antígenos, y se ha descrito que producen ligandos de receptores de muerte programados (PD-L1) bloqueando así a las células T mediante la señalización PD-1 / PD-L1 (Preusser et al., 2015; Matias et al., 2018). También es muy importante su papel en la regulación del eje CTLA-4/B7, ya que la microglía bajo condiciones patológicas expresa los ligandos co-inhibitorios CD80 (B7-1) como CD86 (B7-2), ambos ligandos naturales del marcador inmunosupresor CTLA-4 expresado en los linfocitos T citotóxicos (Almolda et al., 2010)

En la colonización metastásica, la estructura de la barrera hematoencefálica se ve alterada debido a la extravasación paracelular y transcelular de células tumorales y producción de factores solubles que afectan a los tejidos, como las citocinas (Wilhelm et al., 2013; Soto et Sibson, 2018). La microglía puede ayudar a reparar la BHE expresando altos niveles del receptor purinérgico P2RY12 que ejerce de agente quimiotáctico en las lesiones del SNC (Lou et al., 2016; Soto et Sibson, 2018). Mientras es reparada la BHE, la microglía ejerce de barrera física, agregándose alrededor de los vasos dañados por regulación positiva de E-cadherina.

Como consecuencia de adoptar un fenotipo antiinflamatorio, la microglía puede desempeñar un papel pro-tumorigénico en el desarrollo del cáncer y la metástasis (Roesch et al., 2018; Soto et Sibson, 2018). De manera que aumenta la expresión de citocinas antiinflamatorias y de factores de crecimiento, disminuye la fagocitosis, produce quimiotaxis de monocitos periféricos e inhibe el desarrollo de las células T en el TME (Quail y Joyce, 2013; Soto et Sibson, 2018).

IV.3 Papel de la Galectina-3 con el cáncer cerebral

Es importante destacar la escasez de estudios que relacionen directamente el papel de la Galectina-3 con distintos tipos de tumores en el SNC. Sin embargo, en varios estudios para otro tipo de tumores, se ha demostrado el papel antiapoptótico de Gal-3 aumentando

la resistencia de las células a la radio y quimioterapia (Fukumori et al., 2007; Le Mercier et al., 2010). Gal-3 posee un dominio Asp-Trp-Gly-Arg que es crítico en la acción antiapoptótica de Bcl-2 (Erasimus et al., 2016; Wang et al., 2019b). Las drogas contra el cáncer pueden inducir daño en el ADN, provocando la translocación de la Gal-3 fosforilada del núcleo al citoplasma y regular así la fosforilación del promotor de muerte asociado a Bcl-xL / Bcl-2 (Bad), que constituye la vía intrínseca de la apoptosis, tras quimioterapia (Le Mercier et al., 2010; Wang et al., 2019b). Además, la Gal-3 suprime la activación mitocondrial, lo que evita que se produzca la liberación de citocromo c y antagoniza con los efectos antiapoptóticos de Bcl-2 mediante la activación de caspasas (Le Mercier et al., 2010; Wang et al., 2019b). Todo esto nos lleva a pensar que la Gal-3 puede actuar claramente en vías de inhibición de muerte celular.

La Gal-3 influye en la migración de células de glioma ya que se observó que se encontraba más expresada en los bordes invasivos de glioblastomas que en las zonas del núcleo (Camby et al., 2001; Le Mercier et al., 2010). Además, se ha demostrado que la Gal-3 aumenta la angiogénesis con la activación del factor inducible de hipoxia 1 (Zeng et al., 2007; Le Mercier et al., 2010).

Del mismo modo, la alta expresión de Gal-3 en glioblastoma potencia la sobreexpresión del proto-oncogen RAS, que instiga la tumorigénesis y progresión de las células cancerosas del glioblastoma (Wang et al., 2015; Wang et al., 2019b). Esto puede estar relacionado con el bajo tiempo de supervivencia de pacientes con este cáncer y la sobreexpresión de dicho oncogen.

En cuanto a los mecanismos de regulación de la Gal-3, se propuso Runx-2, que pertenece a la familia Runx de factores de transcripción que se encuentran en células de glioma humano. La modulación in vitro de los niveles de expresión de Runx-2 fue acompañado de una reducción de al menos el 50% de los niveles de Gal-3 a nivel de ARNm y proteínas, dependiendo de la línea celular tumoral glial (Vladimirova et al., 2008; Le Mercier et al., 2010).

Todo esto resume el papel de la galectina 3 en la progresión de los tumores primarios, convirtiéndola en un interesante biomarcador para la mejora y desarrollo de terapias personalizadas para pacientes que sufran diversos tipos de tumores. El hecho de ser una molécula cuya aplicación clínica (para enfermedades del SNC no cancerosas) está en sus

primeras etapas, la convierte en una diana terapéutica novedosa cuyo alto potencial está aún por descubrir.

IV.4 Relación de la microglía y la galectina-3 en el cáncer cerebral

Los niveles de expresión de Gal-3 en la microglía van en directa relación con la progresión del glioma. De manera que en proliferación neoplásica temprana y en presencia de microtumores, rara vez se expresa Gal-3 en la microglía; mientras que en glioma o metástasis cerebrales se Gal-3 se encuentra sobre-expresada en la microglía. Por esto, el estudio de los niveles de Gal-3 en determinado tipo de biopsias, serviría para una mejora en la estratificación de los pacientes (Binh et al., 2013).

La expresión de Gal-3 en las células microgliales aumenta ante estímulos inflamatorios. Varios estudios han demostrado que la Gal-3 induce la fosforilación de JAK, en particular de JAK2. Este a su vez provoca la fosforilación de STAT1, STAT3 y STAT5 (Schindler et Plumlee, 2008; Jeon et al., 2010). Esto provoca la activación de la microglía, y de los astrocitos. Por lo que se concluyó que la Gal-3, mediante la activación de la vía JAK-STAT, puede inducir la activación de la microglía y astrocitos que posteriormente contribuían a la generación de un ambiente inmunosupresor en el tumor (Jeon et al., 2010).

Por otro lado, es muy importante estudiar los mecanismos que dirigen los distintos fenotipos de activación de la microglía a sus espectros M1 y M2. Por un lado, existen estudios que describen que los receptores tipo Toll (TLR) tienen un papel importante en la respuesta a estímulos inflamatorios (Burguillos et al., 2015). Existen ensayos que muestran que al administrar Gal-3 o LPS se produce un aumento estadísticamente significativo en genes microgliales relacionados con la vía de señalización TLR4. En las células microgliales tratadas con Gal-3 también se producen cambios en la expresión de factores de fenotipo M1 (iNOS) y fenotipo M2 (CD206, TGF- β , Ym 1/2, actividad de arginasa-1). Se observa la inducción de la expresión de la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y la disminución de los niveles de marcadores M2 (Burguillos et al., 2015). Estos resultados apoyan la hipótesis de que la Gal-3 induce en la microglía el fenotipo proinflamatorio M1.

Al silenciar la expresión de TLR4 en células microgliales BV2, tras tratamiento con Gal-3, se redujo la expresión de iNOS, lo que sugiere que estos tienen una vía de señalización

común. También se observó que en ausencia de TLR4, los niveles de citocinas normalmente aumentados en presencia de Gal-3, disminuían. Se demostró así el papel fundamental de TLR4 en la liberación de citocinas inducida por Gal-3, y su potencial impacto en el ambiente inflamatorio tumoral. Por ejemplo, existen estudios que sugieren que los TLR están involucrados en el crecimiento tumoral y la metástasis a través de la expresión de la citocina TGF- β (Beier et Kristensen, 2017) y su impacto en las células madre tumorales de glioblastoma.

Por último, estudios piloto en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Sevilla están demostrando el papel clave de la expresión de Gal-3 tanto en las células microgliales como en células tumorales y su impacto tanto en los fenotipos M1 y M2 microgliales, como en la expresión de “immune check-points”. Una sobre-expresión de Gal-3 en las células microgliales, promueve el crecimiento tumoral, resistencia a apoptosis, y la creación de un ambiente tumoral inmunosupresivo.

V. CONCLUSIONES

1. Las células microgliales y los astrocitos están activados en glioblastomas y metástasis cerebrales. Su fenotipo de activación es clave para el progreso de la enfermedad.
2. La activación de la microglía junto con la de astrocitos produce un ambiente inmunosupresor que contribuye a la progresión del tumor. Esta activación puede ser modulada controlando los niveles de Gal-3 en el microambiente tumoral.
3. Estudios previos sugieren un gran potencial para Gal-3 como herramienta terapéutica del cáncer. Todo esto es posible mediante la regulación de la expresión de factores que induzcan fenotipos proinflamatorios en astrocitos y microglía e inhiban el microambiente inmunosupresivo producido por la presencia de las células tumorales.
4. El hecho de que la microglía ocupe hasta un tercio de la masa tumoral, la convierte en objeto clave de estudio en el campo de la oncología médica. Nuevos estudios que relacionen la activación microglial, la expresión de Gal-3 y la progresión del tumor podrían convertir a la Gal-3 microglial en un importante biomarcador de la progresión de la enfermedad.
5. Gal-3 regula la expresión de Bcl-2 actuando sobre las rutas apoptóticas. Esto la convierte en una potencial molécula diana de estudios quimioterapéuticos por su potencial para reducir los efectos antiapoptóticos y la resistencia terapéutica.
6. Estudios recientes del papel de la Gal-3 en la expresión de los “immune checkpoints” por parte de las células tumorales y microgliales, la convierten en un biomarcador importante en el avance de nuevas inmunoterapias oncológicas.

VI. BIBLIOGRAFÍA

-Almolda B, González B, Castellano B. Activated microglial cells acquire an immature dendritic cell phenotype and may terminate the immune response in an acute model of EAE. *J Neuroimmunol*. 2010;223(1-2):39-54.

- American Cancer Society. Centro de Estadística del Cáncer [en línea]. [Consultado en Abril 2020]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es.html>.

- Beier CP et Kristensen BW. TLR4 in glioblastoma-when cancer stem cells ignore "danger signals". *Stem Cell Investig*. 2017;4:66.

- Berghoff AS, Kiesel B, Widhalm G, Rajky O, Ricken G, Wöhrer A et al. Programmed death ligand 1 expression and tumor-infiltrating lymphocytes in glioblastoma. *Neuro Oncol*. 2015b;17(8):1064-1075.

- Binh NH, Satoh K, Kobayashi K, Takamatsu M, Hatano Y, Hirata A et al. Galectin-3 in preneoplastic lesions of glioma. *J Neurooncol*. 2013;111(2):123-132.

-Bosch-Barrera J, Sais E, Cañete N, Marruecos J, Cuyàs E, Izquierdo A et al. Response of brain metastasis from lung cancer patients to an oral nutraceutical product containing silibinin. *Oncotarget*. 2016;7(22):32006-32014.

- Boza-Serrano A, Ruiz R, Sanchez-Varo R, García-Revilla J, Yang Y, Jimenez-Ferrer I et al. Galectin-3, a novel endogenous TREM2 ligand, detrimentally regulates inflammatory response in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*. 2019;138(2):251–273.

- Boza-Serrano A, Reyes JF, Rey NL, Leffler H, Bousset L, Nilsson U et al. The role of Galectin-3 in α -synuclein-induced microglial activation. *Acta Neuropathol Commun*. 2014;2:156.

- Brastianos PK, Carter SL, Santagata S, Cahill DP, Taylor-Weiner A, Jones RT et al. Genomic Characterization of Brain Metastases Reveals Branched Evolution and Potential Therapeutic Targets. *Cancer Discov*. 2015;5(11):1164-1177.

- Bresalier RS, Yan PS, Byrd JC, Lotan R, Raz A. Expression of the endogenous galactose-binding protein galectin-3 correlates with the malignant potential of tumors in the central nervous system. *Cancer*. 1997;80(4):776-787.

- Burguillos MA, Svensson M, Schulte T, Boza-Serrano A, Garcia-Quintanilla A et Kavanagh E. Microglia-Secreted Galectin-3 Acts as a Toll-like Receptor 4 Ligand and Contributes to Microglial Activation. *Cell Rep*. 2015;10(9):1626-1638.

- Camby I, Belot N, Rorive S, Lefranc F, Maurage CA, Lahm H et al. Galectins are differentially expressed in supratentorial pilocytic astrocytomas, astrocytomas, anaplastic astrocytomas and glioblastomas, and significantly modulate tumor astrocyte migration. *Brain Pathol*. 2001;11(1):12-26.

- Cardoso AC, Andrade LN, Bustos SO, Chammas R. Galectin-3 Determines Tumor Cell Adaptive Strategies in Stressed Tumor Microenvironments. *Front Oncol*. 2016;6:127.

- Chang AL, Miska J, Wainwright DA, Dey M, Rivetta CV, Yu D et al. CCL2 Produced by the Glioma Microenvironment Is Essential for the Recruitment of

Regulatory T Cells and Myeloid-Derived Suppressor Cells. *Cancer Res.* 2016;76(19):5671-5682.

- Cooper LA, Gutman DA, Chisolm C, Appin C, Kong J, Rong Y et al. The tumor microenvironment strongly impacts master transcriptional regulators and gene expression class of glioblastoma. *Am J Pathol.* 2012;180(5):2108-2119.

- Dai W, Zhu H, Chen G, Gu H, Gu Y, Sun X et al. Orchestration of the crosstalk between astrocytes and cancer cells affects the treatment and prognosis of lung cancer sufferers with brain metastasis. *J Thorac Dis.* 2016; 8(11): 1450-1454.

- Deininger MH, Trautmann K, Meyermann R, Schluesener HJ. Galectin-3 labeling correlates positively in tumor cells and negatively in endothelial cells with malignancy and poor prognosis in oligodendroglioma patients. *Anticancer Res.* 2002;22(3):1585-1592.

- Dubois LG, Campanati L, Righy C, D'Andrea-Meira I, Spohr TC, Porto-Carreiro I et al. Gliomas and the vascular fragility of the blood brain barrier. *Front. Cell. Neurosci.* 2014;8:418.

- Elola MT, Wolfenstein-Todel C, Troncoso MF, Vasta GR, Rabinovich GA. Galectins: matricellular glycan-binding proteins linking cell adhesion, migration, and survival. *Cell Mol Life Sci.* 2007;64(13):1679-1700.

- Erasmus H, Gobin M, Niclou S, Van Dyck E. DNA repair mechanisms and their clinical impact in glioblastoma. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2016;769:19-35.

- Farhad M, Rolig AS et Redmond WL. The role of Galectin-3 in modulating tumor growth and immunosuppression within the tumor microenvironment. *Oncoimmunology.* 2018;7(6):e1434467.

- Fecci PE, Champion CD, Hoj J, McKernan CM, Goodwin CR, Kirkpatrick JP et al. The Evolving Modern Management of Brain Metastasis. *Clin Cancer Res.* 2019; 25 (22): 6570-6580.

- Fukumori T, Kanayama HO, Raz A. The role of galectin-3 in cancer drug resistance. *Drug Resist Updat.* 2007;10(3):101-108.

- Graeber MB, Scheithauer BW, Kreutzberg GW. Microglia in brain tumors. *Glia.* 2002; 40:252–9.

- Grigorian A, Demetriou M. Manipulating cell surface glycoproteins by targeting N-glycan-galectin interactions. *Methods Enzymol.* 2010;480:245-266.

- Guan X, Hasan MN, Maniar S, Jia W, Sun D. Reactive Astrocytes in Glioblastoma Multiforme. *Mol Neurobiol.* 2018;55(8):6927-6938.

- Hanisch UK, Kettenmann H. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat Neurosci.* 2007;10:1387–94.

- He BP, Wang JJ, Zhang X, Wu Y, Wang M, Bay B-H et al. Differential reactions of microglia to brain metastasis of lung cancer. *Mol Med.* 2006;12(7-8):161-170.

-Henrik Heiland DH, Ravi VM, Behringer SP, Frenking JH, Wurm J, Joseph K et al. Tumor-associated reactive astrocytes aid the evolution of immunosuppressive environment in glioblastoma. *Nat Commun.* 2019;10(1):2541.

- Herrmann JE, Imura T, Song B, Qi J, Ao Y, Nguyen TK et al. STAT3 is a critical regulator of astrogliosis and scar formation after spinal cord injury. *J Neurosci.* 2008; 28:7231–43.

- Hong D, Kurzrock R, Kim Y, Woessner R, Younes A, Nemunaitis J et al. AZD9150, a next-generation antisense oligonucleotide inhibitor of STAT3 with early evidence of clinical activity in lymphoma and lung cancer. *Sci Transl Med.* 2015;7(314):314ra185.

- Houzelstein D, Gonçalves IR, Fadden AJ, Sidhu SS, Cooper DNW, Drickamer K et al. Phylogenetic analysis of the vertebrate galectin family. *Mol Biol Evol.* 2004;21(7):1177-1187.

- Jeon SB, Yoon HJ, Chang CY, Koh HS, Jeon SH et Park EJ. Galectin-3 exerts cytokine-like regulatory actions through the JAK-STAT pathway. *J Immunol.* 2010; 185(11): 7037-7046.

- Jones LM, Broz ML, Ranger JJ, Ozcelik J, Ahn R, Zuo D et al. STAT3 Establishes an Immunosuppressive Microenvironment during the Early Stages of Breast Carcinogenesis to Promote Tumor Growth and Metastasis. *Cancer Res.* 2016;76:1416–28.

- Klyosov A. Galectins and their functions in plain language. En: Klyosov A.; Witczak Z.; Platt D. *Galectins.* 1^a ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2008. p. 9-33.

- Lasorella A, Benezra R, Iavarone A. The ID proteins: master regulators of cancer stem cells and tumour aggressiveness. *Nat Rev Cancer.* 2014;14(2):77-91.

- Le Mercier M, Fortin S, Mathieu V, Kiss R, Lefranc F. Galectins and Gliomas. *Brain Pathol.* 2010;20(1):17-27.

- Lee Y, Park HR, Chun HJ, Lee J. Silibinin prevents dopaminergic neuronal loss in a mouse model of Parkinson's disease via mitochondrial stabilization. *J Neurosci Res.* 2015;93(5):755-765.

- Lefranc F, James S, Camby I, Gaussin JF, Darro F, Brotchi J et al. Combined cimetidine and temozolomide, compared with temozolomide alone: significant increases in survival in nude mice bearing U373 human glioblastoma multiforme orthotopic xenografts. *J Neurosurg.* 2005;102:706–714.

- Liddel SA, Guttenplan KA, Clarke LE, Bennett FC, Bohlen CJ, Schirmer L et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature.* 2017;541(7638):481–487.

- Liu FT, Rabinovich GA. Galectins as modulators of tumour progression. *Nat Rev Cancer.* 2005;5(1):29-41.

- Lou N, Takano T, Pei Y, Xavier AL, Goldman SA, Nedergaard M. Purinergic receptor P2RY12-dependent microglial closure of the injured blood-brain barrier. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(4):1074-1079.

- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK. *WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System.* Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2007.

- MacKinnon AC, Farnworth SL, Hodgkinson PS, Henderson NC, Atkinson KM, Leffler H et al. Regulation of alternative macrophage activation by galectin-3. *J Immunol.* 2008;180(4):2650-2658.
- Mao H, Lebrun DG, Yang J, Zhu VF et Li M. Deregulated signaling pathways in glioblastoma multiforme: molecular mechanisms and therapeutic targets. *Cancer Invest.* 2012;30(1):48-56.
- Matias D, Balça-Silva J, da Graça GC, Wanjiru CM, Macharia LW, Nascimento CP et al. Microglia/Astrocytes-Glioblastoma Crosstalk: Crucial Molecular Mechanisms and Microenvironmental Factors. *Front. Cell. Neurosci.* 2018; 12: 235.
- McFarland BC, Benveniste EN. Reactive astrocytes foster brain metastases via STAT3 signaling. *Ann Transl Med.* 2019; 7 (Suppl 3): S83.
- Muller A, Brandenburg S, Turkowski K, Muller S, Vajkoczy P. Resident microglia, and not peripheral macrophages, are the main source of brain tumor mononuclear cells. *Int J Cancer.* 2015;137:278–88.
- Novak R, Dabelic S, Dumic J. Galectin-1 and galectin-3 expression profiles in classically and alternatively activated human macrophages. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1820(9):1383-1390.
- Parkhurst CN, Yang G, Ninan I, Savas JN, Yates JR, Lafaille JJ et al. Microglia promote learning-dependent synapse formation through brain-derived neurotrophic factor. *Cell.* 2013;155(7):1596-1609.
- Placone AL, Quiñones-Hinojosa A, Searson PC. The role of astrocytes in the progression of brain cancer: complicating the picture of the tumor microenvironment. *Tumour Biol.* 2016;37(1):61-69.
- Preusser M, Berghoff AS, Wick W, Weller M. Clinical Neuropathology mini-review 6-2015: PD-L1: emerging biomarker in glioblastoma?. *Clin Neuropathol.* 2015;34(6):313-321.
- Priego N, Valiente M. The Potential of Astrocytes as Immune Modulators in Brain Tumors. *Front Immunol.* 2019;10:1314.
- Priego N, Zhu L, Monteiro C, Mulders M, Wasilewski D, Bindeman W et al. STAT3 labels a subpopulation of reactive astrocytes required for brain. *Nat Med.* 2018;24(7):1024-1035.
- Pukrop T, Dehghani F, Chuang HN, Lohaus R, Bayanga K, Heermann S et al. Microglia promote colonization of brain tissue by breast cancer cells in a Wnt-dependent way. *Glia.* 2010;58:1477–89.
- Quail DF et Joyce JA. The microenvironmental landscape of brain tumors. *Cancer Cell.* 2017; 3 (3): 326-341.
- Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat Med.* 2013;19(11):1423-1437.
- Robinson-Smith TM, Isaacsohn I, Mercer CA, Zhou M, Van Rooijen N, Husseinzadeh N et al. Macrophages mediate inflammation-enhanced metastasis of ovarian tumors in mice. *Cancer Res.* 2007;67:5708–16.

- Roesch S, Rapp C, Dettling S, Herold-Mende C. When Immune Cells Turn Bad-Tumor-Associated Microglia/Macrophages in Glioma. *Int J Mol Sci.* 2018;19(2):436.
- Roos A, Ding Z, Loftus JC, Tran NL. (2017). Molecular and microenvironmental determinants of glioma stem-like cell survival and invasion. *Front. Oncol.* 2017;7:120.
- Schindler C, Plumlee C. Interferons and the JAK-STAT pathway. *Semin Cell Dev Biol.* 2008;19(4):311-318.
- Sevenich L, Bowman RL, Mason SD, Quail DF, Rapaport F, Elie BT et al. Analysis of tumour- and stroma-supplied proteolytic networks reveals a brain-metastasis-promoting role for cathepsin S. *Nat Cell Biol.* 2014;16(9):876-88.
- Sica A, Schioppa T, Mantovani A, Allavena P. Tumour-associated macrophages are a distinct M2 polarised population promoting tumour progression: potential targets of anti-cancer therapy. *Eur J Cancer.* 2006;42(6):717-727.
- Soto MS et Sibson NR. The Multifarious Role of Microglia in Brain Metastasis. *Front Cell Neurosci.* 2018;12:414.
- Stillman BN, Hsu DK, Pang M, Brewer CF, Johnson P, Liu F-T et al. Galectin-3 and galectin-1 bind distinct cell surface glycoprotein receptors to induce T cell death. *J Immunol.* 2006;176(2):778-789.
- Thakkar JP, Dolecek TA, Horbinski C, Ostrom QT, Lightner DD, Barnholtz-Sloan JS et al. Epidemiologic and molecular prognostic review of glioblastoma. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2014;23(10):1985–1996.
- Thiolloy S, Rinker-Schaeffer CW. Thinking outside the box: using metastasis suppressors as molecular tools. *Semin Cancer Biol.* 2011;21(2):89-98.
- Urbanska K, Sokołowska J, Szmidi M, and Sysa, P. Glioblastoma multiforme - an overview. *Contemp. Oncol.* 2014;18(5), 307–312.
- Valiente M, Obenauf AC, Jin X, Chen Q, Zhang XH, Lee DJ et al. Serpins promote cancer cell survival and vascular co-option in brain metastasis. *Cell* 2014;156(5):1002-16.
- Vladimirova V, Waha A, Lückerrath K, Pesheva P, Probstmeier R. Runx2 is expressed in human glioma cells and mediates the expression of galectin-3. *J Neurosci Res.* 2008;86(11):2450-2461.
- Wang H, Song X, Huang Q, Xu T, Yun D, Wang Y et al. LGALS3 Promotes Treatment Resistance in Glioblastoma and Is Associated with Tumor Risk and Prognosis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2019b; 28 (4): 760-769.
- Wang H, Xu T, Jiang Y, Xu H, Yan Y, Fu D et al. The challenges and the promise of molecular targeted therapy in malignant gliomas. *Neoplasia.* 2015;17(3):239-255.
- Wang Q, Hu B, Hu X, Kim H, Squatrito M, Scarpace L et al. Tumor Evolution of Glioma-Intrinsic Gene Expression Subtypes Associates with Immunological Changes in the Microenvironment. *Cancer Cell.* 2017;32(1):42-56.e6.
- Wang WH, Lin C-Y, Chang MR, Urbina AN, Assavalapsakul W, Thitithanyanont A et al. The role of galectins in virus infection - A systemic literature review. *J Microbiol Immunol Infect.* 2019a; S1684-1182 (19)30149-5.

- Wasilewski D, Priego N, Fustero-Torre C, Valiente M. Reactive Astrocytes in Brain Metastasis. *Front Oncol.* 2017;7:298.
- Watters JJ, Schartner JM, Badie B. Microglia function in brain tumors. *J Neurosci Res.* 2005;81:447–55.
- Wei J, Gabrusiewicz K, Heimberger A. The controversial role of microglia in malignant gliomas. *Clin Dev Immunol.* 2013;2013:285246.
- Wilhelm I, Molnár J, Fazakas C, Haskó J, Krizbai IA. Role of the blood-brain barrier in the formation of brain metastases. *Int J Mol Sci.* 2013;14(1):1383-1411.
- Wu SY., Watabe K. The roles of microglia/macrophages in tumor progression of brain cancer and metastatic disease. *Front Biosci.* 2017; 22: 1805-1829.
- Xing F, Liu Y, Wu SY, Wu K, Sharma S, Mo Y-Y et al. Loss of XIST in Breast Cancer Activates MSN-c-Met and Reprograms Microglia via Exosomal miRNA to Promote Brain Metastasis. *Cancer Res.* 2018;78(15):4316-4330.
- Yang H, Yamazaki T, Pietrocola F, Zhou H, Zitvogel L, Ma Y et al. STAT3 Inhibition Enhances the Therapeutic Efficacy of Immunogenic Chemotherapy by Stimulating Type 1 Interferon Production by Cancer Cells. *Cancer Res.* 2015;75(18):3812-3822.
- Yang RY, Hsu DK, Liu FT. Expression of galectin-3 modulates T-cell growth and apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(13):6737-6742.
- Zhang E, Gu J, Xu H. Prospects for chimeric antigen receptor-modified T cell therapy for solid tumors. *Mol Cancer.* 2018;17(1):7.
- Zhang L, Handel MV, Schartner JM, Hagar A, Allen G, Curet M et al. Regulation of IL-10 expression by upstream stimulating factor (USF-1) in glioma-associated microglia. *J Neuroimmunol.* 2007; 184:188–97.
- Zhang ZM, Yang Z, Zhang Z. Distribution and characterization of tumor-associated macrophages/microglia in rat C6 glioma. *Oncol Lett.* 2015;10(4):2442-2446.
- Zhao J, Chen AX, Gartrell RD, Silverman AM, Aparicio L, Chu T et al. Immune and genomic correlates of response to anti-PD-1 immunotherapy in glioblastoma. *Nat Med.* 2019;25(3):462-469.
- Zhao X, Chen R, Liu M, Feng J, Chen J, Hu K. Remodeling the blood-brain barrier microenvironment by natural products for brain tumor therapy. *Acta Pharm Sin B.* 2017;7(5):541-553.
- Zeng Y, Danielson KG, Albert TJ, Shapiro IM, Risbud MV. HIF-1 alpha is a regulator of galectin-3 expression in the intervertebral disc. *J Bone Miner Res.* 2007;22(12):1851-1861.
- Zong H, Parada LF, Baker SJ. Cell of origin for malignant gliomas and its implication in therapeutic development. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2015;7(5):a020610. Published 2015 Jan 29.