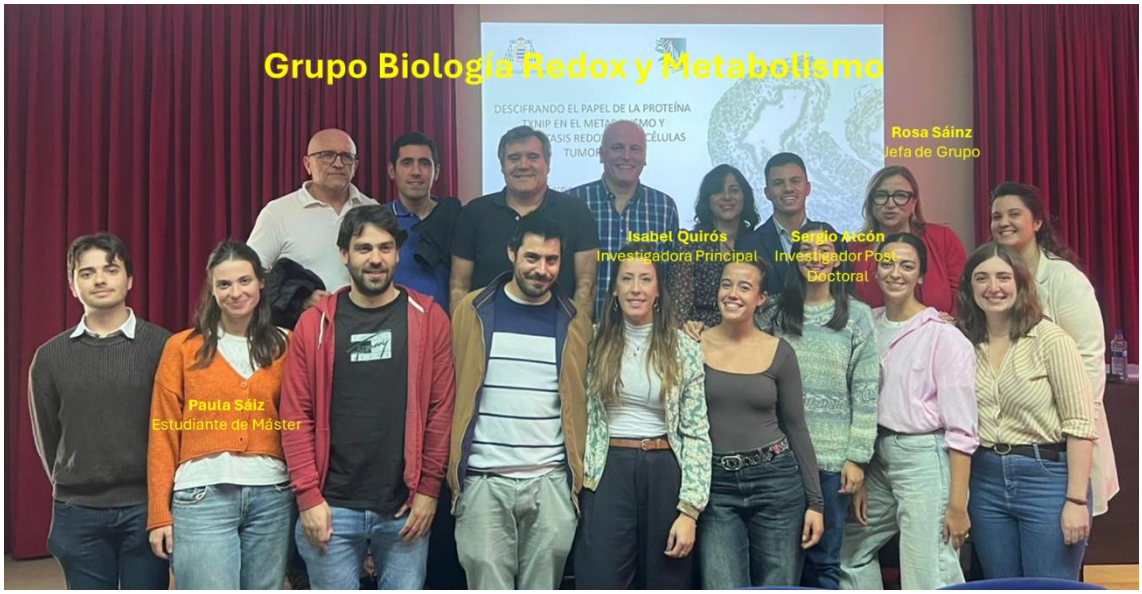
Título del proyecto: Buscando las debilidades de la vasculatura del glioma pediátrico de alto grado

I. Investigador principal: Isabel Quirós

II. Foto de todos los investigadores participantes con los nombres a pie de foto



Actualmente en el proyecto dentro del grupo Biología Redox y Metabolismo se encuentran involucrados en el proyecto a parte de la investigadora principal Isabel Quirós González, la jefa de grupo Rosa Sáinz, el investigador postdoctoral Segio Alcón y la estudiante de máster Paula González Saiz.

III. Presupuesto total del proyecto y ayuda recibida por parte de Galbán:
El presupuesto del proyecto fue de 37.000 euros, la ayuda recibida 42.000 euros, la diferencia se destina a labores administrativas en el ISPA y FINBA, las entidades a las que se adscribe el proyecto.

IV. Estado de la cuestión, planteamiento, hipótesis inicial y objetivos principales

El Glioma Pediátrico de Alto Grado es un tumor con una supervivencia muy baja y limitadas opciones terapéuticas. Esta circunstancia se debe a la escasa investigación que hay glioma pediátrico vs glioma adulto que no da explicación a las diferencias biológicas existentes entre ambos tipos de tumor. Algunas de estas diferencias corresponden al porcentaje de respuesta frente a las terapias que hacen diana en los vasos sanguíneos que alimentan al tumor o terapia anti-angiogénica.

En este contexto el objetivo fundamental es validar que las herramientas de monitorización redox (referidas al metabolismo del oxígeno) a nivel sistémico y celular y la imagen optoacústica tienen valor diagnostico o informativo para el

glioma pediátrico y que permiten observar o predecir el efecto de terapias antiangiogénicas y/o con antioxidantes.

OBJETIVO 1: Definir la estructura y función vascular del glioma pediátrico, caracterizando el estado redox de cada componente celular y el estado redox sistémico de los modelos animales. Se emplearán células humanas de glioma pediátrico solas y en combinación con astrocitos en cultivo y en xenoinjerto en ratones desnudos. Se estudiará la estructura del tumor en presencia y ausencia de astrocitos en cultivos 3D y en los modelos de ratón con xenoinjerto. En estos últimos se empleará la imagen in vivo para estudiar la estructura vascular, la oxigenación de la sangre y la presencia de edema o hemorragia. Se estudiará en el modelo 3D el efecto del inmovilizado de eritrocitos en las células de glioma y los astrocitos.

OBJETIVO 2: Susceptibilidad vascular a tratamientos: predicción, seguimiento y mejora de respuesta. Emplear métodos de medida del estado redox para identificar respuesta la sensibilidad de las células endoteliales a Bevacizumab solas o en presencia de medios condicionados procedentes de los modelos de glioma de alto grado (células de glioma con o sin astrocitos) y el papel de los eritrocitos confinados en esta respuesta. Se monitorizará la subida o bajada de marcadores del estado redox en respuesta a la terapia. En modelos animales de xenoinjerto se monitorizarán los cambios redox y de oxigenación en respuesta a tratamiento con Bevacizumab, la presencia de edemas y la influencia de los astrocitos en la respuesta. Nuestro objetivo es detectar marcadores de predicción o seguimiento de respuesta y si la alteración preventiva o coadyuvante del estado redox mediante dieta antioxidante puede ayudar a aumentar la eficacia del tratamiento.

V. Resultados y Desviaciones del Plan de Investigación

Objetivo 1: Definir el estado redox de los distintos compartimentos celulares y el estado redox sistémico de organismos con glioma pediátrico. El inicio del proyecto se vio retrasado por la descatalogación de las líneas celulares por parte de la compañía (Sigma-Merk-Millipore) tras contactar con la empresa para confirmar la ausencia de línea alternativa y ausencia de oferta desde otras compañías, se optó por solicitar líneas a otros laboratorios. Se solicitaron células al Dr Chris Jones (ICR, Londres), Virginie Neirinckx (GIGA Institute, Lieja) y Marta Alonso Roldán (Clínica Universidad de Navarra). Tras varios envíos fallidos, se obtuvieron a través de la doctora Alonso Roldán 2 líneas SF188 y PTB24 ambas de varón. Se obtuvieron asimismo en consecuencia la línea IM-HU de varón a la empresa Inoprot. Esto supuso un importante

retraso ya que no se pudo comenzar la fase experimental hasta Mayo. Lo cual repercutió en los experimentos con modelos animales que aún no se han podido comenzar. Para suplir la falta de datos se introdujo un nuevo apartado dentro de esta línea de investigación que fue la solicitud a la Red Nacional de Bancos de Tumores de muestras de pacientes de glioma pediátrico de alto grado para el estudio histológico de su vasculatura y marcadores redox posibles. A esta solicitud oficial contestaron 2 centros, uno el Hospital Universitario Central de Asturias que proporcionó un caso y el Hospital San Joan de Deu que nos contestó tras 5 meses de espera y nos permitió meter la solicitud el pasado 16 de Noviembre.

A pesar de las dificultades descritas la primera parte del primer objetivo está muy avanzada De esta manera el nivel basal redox de estas células es distinto, podemos afirmar que las células tumorales de glioma pediátrico presentan unos niveles redox y una actividad mitocondrial superiores a los astrocitos y que el co-cultivo entre células de glioma y astrocitos equilibra dichos niveles (Figura panel A). Estos cambios afectan de manera desigual al crecimiento de las células de glioma con un efecto potenciador en una de ellas (SF188) y sin cambios en la línea PTB24 (Figura panel B), pero si parecen afectar al grado de activación de los astrocitos. Actualmente estamos estudiando la implicación biológica de dichos cambios.

También podemos afirmar que en contra de los que indicaba la bibliografía la presencia de glóbulos rojos en el cultivo, como modelo del edema presente en los gliomas, disminuye el estrés oxidativo en las células tumorales y los astrocitos (Figura panel C). El impacto de este cambio parece afectar al crecimiento de las células, y además, altera la expresión de las proteínas que dan forma a las células y permiten su movimiento, las proteínas del citoesqueleto como la actina. Aumentar la actina podría favorecer la invasión del tejido circundante, sorprendentemente disminuye también la actividad mitocondrial.

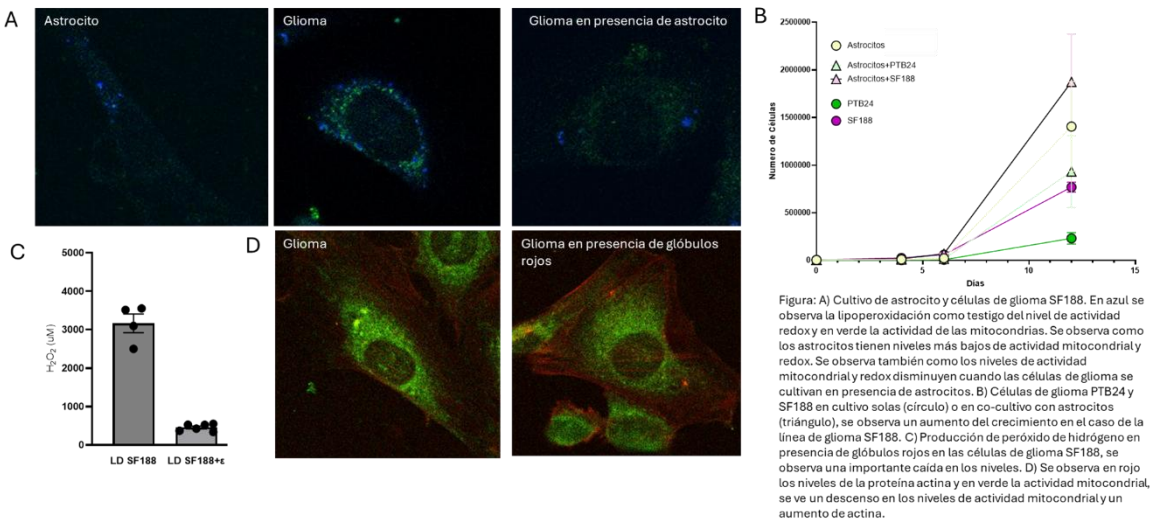


Figura: A) Cultivo de astrocito y células de glioma SF188. En azul se observa la lipoperoxidación como testigo del nivel de actividad redox y en verde la actividad de las mitocondrias. Se observa como los astrocitos tienen niveles más bajos de actividad mitocondrial y redox. Se observa también como los niveles de actividad mitocondrial y redox disminuyen cuando las células de glioma se cultivan en presencia de astrocitos. B) Células de glioma PTB24 y SF188 en cultivo solas (círculo) o en co-cultivo con astrocitos (triángulo), se observa un aumento del crecimiento en el caso de la línea de glioma SF188. C) Producción de peróxido de hidrógeno en presencia de glóbulos rojos en las células de glioma SF188, se observa una importante caída en los niveles. D) Se observa en rojo los niveles de la proteína actina y en verde la actividad mitocondrial, se ve un descenso en los niveles de actividad mitocondrial y un aumento de actina.

Este año se concluirá la parte in vitro del objetivo 1) y se realizará la parte in vivo del objetivo 1). Para optimizar recursos se realizará simultáneamente el objetivo 1 y el grupo referido al tratamiento con antioxidantes de la dieta del objetivo 2. En este experimento se realizará la búsqueda de candidatos de seguimiento y evolución de la enfermedad teniendo como partida los cambios observados en los resultados in vitro. A pesar de que las limitaciones técnicas y administrativas ocurridas durante los primeros seis meses de proyecto que han retrasado sustancialmente la investigación creemos que a lo largo de este año podremos concluir gran parte del proyecto, al tener puesta a punto gran parte de la tecnología necesaria. Igualmente nuestra intención es solicitar financiación a otras agencias financiadoras que nos permitan concluir el proyecto en su totalidad en años sucesivos.

IV. Posibilidad de aplicación clínica horizonte de investigación.

Actualmente el proyecto está en una fase descriptiva, y está proporcionando información a nivel biológico básico. No obstante nuestra patente de monitorización del estado redox en sangre está dando muy buenos resultados en otras patologías y creemos que podrá aportar información muy interesante en el modelo in vivo, asimismo la imagen optoacústica podrá aportar información muy valiosa. No obstante el proceso de implementación en clínica requiere de mucha validación in vitro e in vivo que iriía más allá del marco temporal del presente proyecto. Estamos convencidos de la futura utilidad de los resultados que obtengamos, pero en un plazo medio largo.

VI. Publicaciones y/o enlaces web correspondientes.

Los resultados preliminares han sido enviados al Congreso Europeo de Imagen Molecular del presente año (EMIM2026 21st European Molecular Imaging Meeting –

e-smi.eu) y serán presentados en la sesión “Tumour Metabolism, Acidosis & Redox Biology”.