Edusfarm 9 *(2017), 75-101*
ISSN: 1886-6271

Rebut: 21 de novembre de 2017
Acceptat: 30 de novembre de 2017

IMPLICACIONS BIOLÒGIQUES DE LES INTEGRINES EN CÀNCER I POSSIBLES TERÀPIES

Balaguer Pérez, Maria;[a,1] Tebar Ramon, Francesc[b]
[a] Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació, Universitat de Barcelona.
Av. Joan XXIII, 27-31, 08028 Barcelona, Spain
[b] Departament de Biomedicina, Unitat de Biologia Cel·lular, Centre de Recerca Biomèdica CELLEX, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Casanova 143, 08036 Barcelona, Spain

Abstract
Integrins are cell surface adhesion receptors responsible for cell-extracellular matrix adhesions. They are composed of an α subunit and a β subunit, and their binding to extracellular and intracellular ligands allows for communication between the extracellular matrix and the cytoskeleton. Integrins are involved in regulating various cellular processes, like motility and cell survival, and have been related to the development of diseases such as cancer, especially the process of metastasis. Intracellular trafficking of these proteins is regulated by different families of GTPases and is important for the regulation of their functions, and their availability in the plasma membrane and other cellular compartments. In certain pathological conditions their expression is altered, and this leads to a series of events that promote disease progression. Among others, they regulate the activation and expression of some growth factor receptors, which in turn control functional roles of integrins. Given their involvement in the various stages of tumour development and subsequent metastatic colonization, integrins seem to be a good target for cancer treatment.

Keywords: integrins, cancer, metastasis, endocytosis, intracellular trafficking.

Resumen
Las integrinas son unos receptores de adhesión situados en la superficie celular responsables de la unión de las células con la matriz extracelular. Están formadas por una subunidad α y una subunidad β, y su unión a ligandos extracelulares e intracelulares permite la comunicación entre la matriz extracelular y el citoesqueleto. Las integrinas están implicadas en la regulación de distintos procesos celulares como la movilidad y la supervivencia de las células, y también se han relacionado con el desarrollo de patologías como el cáncer, especialmente con el proceso de metástasis. El tráfico intracelular de estas proteínas está controlado por distintas familias de GTPasas y es importante para la regulación de su función, así como para la disponibilidad en la membrana plasmática y en otras localizaciones celulares. En determinadas situaciones patológicas su expresión se ve alterada, lo que pone en marcha una serie de acontecimientos que favorecen la progresión de la enfermedad. Entre otros aspectos, regulan la activación y expresión de algunos receptores de factores de crecimiento, que a su vez modulan aspectos funcionales de las integrinas. Dada su implicación en las distintas etapas del desarrollo de tumores y la posterior colonización metastásica, representan un buen objeto de estudio a la hora de buscar posibles estrategias terapéuticas para el tratamiento del cáncer.

Palabras clave: integrinas, cáncer, metástasis, endocitosis, tráfico intracelular.

Resum
Les integrines són uns receptors d'adhesió situats a la superfície cel·lular responsables de la unió de les cèl·lules amb la matriu extracel·lular. Estan formades per una subunitat α i una subunitat β, i la seva unió a lligands extracel·lulars i intracel·lulars permet la comunicació entre la matriu extracel·lular i el citoesquelet. Les

[1] Graduada en farmàcia (balaguer.perez@cofb.net).

©Universitat de Barcelona

integrines estan implicades en la regulació de diferents processos cel·lulars com la mobilitat i la supervivència de les cèl·lules, i també s'han relacionat amb el desenvolupament de patologies com ara el càncer, especialment amb el procés de metàstasi. El tràfic intracel·lular d'aquestes proteïnes està controlat per diferents famílies de les GTPases i és important per a la regulació de la seva funció, així com la disponibilitat a la membrana plasmàtica i en altres localitzacions cel·lulars. En determinades situacions patològiques, la seva expressió es veu alterada i això posa en marxa una sèrie d'esdeveniments que afavoreixen la progressió de la malaltia. Entre d'altres, regulen l'activació i l'expressió d'alguns receptors de factors de creixement, que alhora modulen aspectes funcionals de les integrines. Atesa la seva implicació en les diferents etapes del desenvolupament de tumors i la posterior colonització metastàtica, representen un bon objecte d'estudi a l'hora de cercar possibles estratègies terapèutiques per al tractament del càncer.

Paraules clau: integrines, càncer, metàstasi, endocitosi, tràfic intracel·lular.

1. Introducció

El càncer és un conjunt de malalties que poden afectar qualsevol part de l'organisme i és una de les principals causes de mort arreu del món. És un procés de creixement i disseminació incontrolat de les cèl·lules que va més enllà dels límits normals. Una característica dels tumors malignes o neoplàsies és que poden envair teixits propers i difondre's a altres òrgans. Aquesta última fase és la que es coneix com metàstasi, i és la principal causa de mort deguda al càncer (World Health Organization, 2017).

Les integrines juguen un paper important en aquesta patologia, ja que són proteïnes d'adhesió presents a la membrana plasmàtica (PM, *plasma membrane*) que reconeixen la matriu extracel·lular (ECM, *extracellular matrix*), l'ambient en què es troba la cèl·lula. En general, aquelles cèl·lules que no tenen prou adherència són més metastàtiques i, per tant, faciliten que hi hagi un pitjor pronòstic. Així doncs, al llarg d'aquest treball s'explicaran en detall els diferents conceptes presentats i com les integrines són un bon objecte d'estudi a l'hora de cercar noves teràpies contra aquesta malaltia (Weinberg, 2007).

Aquest treball és una revisió bibliogràfica en què l'objectiu principal és analitzar quines són les implicacions biològiques de les integrines en el càncer i quines possibles teràpies es podrien aplicar. En aquest sentit, el treball analitza: i) els mecanismes del tràfic intracel·lular de les integrines; ii) el paper que juguen les integrines en el càncer; iii) la relació existent entre les integrines i dos tipus de càncer: el de mama i el glioblastoma, i iv) les possibles estratègies existents que presenten les integrines com a dianes terapèutiques en el tractament de la malaltia.

1.1. Integrines

Les integrines són receptors transmembrana situats a la superfície cel·lular implicats en la unió de les cèl·lules entre elles així com amb l'ECM. Paral·lelament, regulen diferents processos cel·lulars com la migració i la invasió mitjançant l'activació de diferents vies de senyalització (Weinberg, 2007; Alberts *et al.*, 2008). D'aquesta manera, es pot determinar que les tres funcions principals de les integrines són: unir les cèl·lules físicament a l'ECM, informar les cèl·lules si s'ha produït el contacte a diferents components de l'ECM i facilitar la mobilitat creant noves unions amb l'ECM i eliminant les existents (Weinberg, 2007).

Aquestes proteïnes d'adhesió es componen de dues subunitats, una alfa i una beta, unides per enllaços no covalents. Fins ara es coneixen 18 glicoproteïnes α i 8 β que, en combinar-se, donen lloc a 24 heterodímers amb propietats, funcions, especificitats i dis-

©Universitat de Barcelona

tribució diferents (Alberts *et al.*, 2008). Els dos dominis són importants per a la funció de les integrines i afecten la seva senyalització mitjançant interaccions específiques amb proteïnes citosòliques (Mai *et al.*, 2011). La seva expressió es veu afectada quan les cèl·lules es transformen, com és el cas del càncer (Onodera *et al.*, 2013).

El domini extracel·lular s'uneix a seqüències específiques, com per exemple l'RGD (R, arginina; G, glicina; D, àcid aspàrtic), de diversos components de l'ECM o de lligands situats a la superfície d'altres cèl·lules, i l'afinitat i especificitat d'aquesta unió es veu afectada per la presència de cations divalents com ara el magnesi i el calci (taula 1). D'altra banda, la regió intracel·lular interacciona amb el citoesquelet a través de proteïnes citosòliques, com per exemple la talina (Alberts *et al.*, 2008). Per tant, les integrines participen en la comunicació cel·lular entre l'ECM i el citoesquelet.

Aquests receptors transmembrana són regulats per diferents aspectes: canvis conformacionals, formació d'agrupacions a la PM i tràfic intracel·lular. A més, els mecanismes de regulació són diferents en funció de les integrines i del tipus cel·lular (Margadant *et al.*, 2011).

Les integrines poden presentar tres possibles conformacions: inactiva, intermèdia i activa, i han de tenir la capacitat de canviar d'estat constantment per tal de formar i trencar unions (Alberts *et al.*, 2008). La conformació activa és la que té una alta afinitat pel lligand, mentre que és baixa en les altres dues conformacions. Un enllaç iònic entre els dominis citoplasmàtics de les subunitats α i β és qui manté l'estat inactiu, i l'activació requereix la ruptura d'aquest pont salí i la conseqüent separació de les dues glicoproteïnes (Campbell i Humphries, 2011).

Taula 1. Taula resum d'algunes integrines i els seus lligands de l'ECM (adaptada de Koistinen i Heino, 2013)

INTEGRINES	LLIGANDS
α1β1, α2β1	Col·lagen
α1β1, α2β1, α3β1, α6β1 α6β4	Laminina
α4β1, α5β1 αvβ3 αvβ6	Fibronectina
αvβ3 αvβ5	Vitronectina

Com a conseqüència de la seva activació, les integrines poden transmetre senyals de forma bidireccional. Parlem d'*outside-in* si l'activació s'inicia per la unió de lligands de l'ECM, com ara el col·lagen i la fibronectina, i d'*inside-out* si la unió és a proteïnes intracel·lulars. La senyalització de dins cap a fora modula l'afinitat per lligands extracel·lulars, de manera que pot afavorir la formació de noves unions amb l'ECM i així promoure la mobilitat cel·lular (Weinberg, 2007; Alberts *et al.*, 2008). S'ha descrit que aquelles integrines que no es troben unides a l'ECM posen en marxa una forma d'apoptosi anomena-

©Universitat de Barcelona

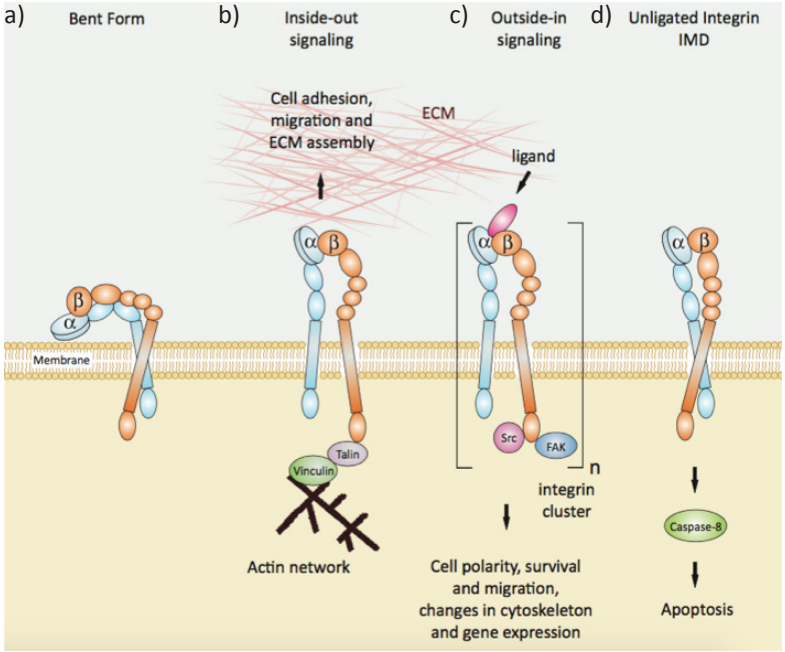

Figura 1 . Representació dels estats conformacionals i la senyalització de les integrines. (A) Conformació inactiva. (B i C) Conformacions actives, senyalització de dins cap a fora i de fora cap endins, respectivament, i processos cel·lulars regulats. (D) Mort mediada per una integrina no lligada (figura adaptada de Mas-Moruno et al., 2010).

da mort mediada per integrines (IMD, *integrin mediated death*) mitjançant l'activació de la caspasa 8 (figura 1) (Mas-Moruno *et al.*, 2010).

1.2. Matriu extracel·lular

L'ECM envolta les cèl·lules i està formada per proteïnes i polisacàrids que són sintetitzats per la pròpia cèl·lula i secretats per exocitosi. Entre algunes de les seves funcions destaquen la formació, la consistència i l'estructura dels teixits, que actua de reservori de molècules de senyalització, modula la comunicació entre la cèl·lula i l'entorn i és el substrat per on les cèl·lules es mouen (Lodish, 2000).

1.3. Membrana plasmàtica

La PM és un compartiment dinàmic on els receptors estan sotmesos constantment al seu recanvi per processos d'internalització i posterior reciclatge, en resposta a estímuls externs i als requeriments cel·lulars. Les integrines són un dels components que pateixen aquest tràfic intracel·lular, i el seu recanvi a la PM és necessari per a regular la mobilitat de les cèl·lules (Onodera *et al.*, 2013; Alanko i Ivaska, 2016).

Pel que fa a l'activació de les vies de senyalització intracel·lulars, s'inicia quan les integrines s'uneixen als lligands extracel·lulars i s'agrupen a la PM formant complexos multiproteics de senyalització anomenats adhesions focals (FA, *focal adhesion*). Això comporta l'activació i fosforilació d'una cinasa relacionada amb les FA anomenada FAK (*focal adhesion kinase*) o PTK2, que està associada als dominis citoplasmàtics de les subunitats β

©Universitat de Barcelona

de les integrines. Un dels residus fosforilats constitueix un lloc d'unió per a la tirosina cinasa Src, que fosforilarà altres residus de FAK als quals s'uniran altres molècules de senyalització que continguin el domini SH2 (*Src homology-2 domain*). Això condueix a l'activació de vies de senyalització com ara PI3K-Akt i Raf-MEK-Erk (Weinberg, 2007; Alanko i Ivaska, 2016; Bianconi *et al.*, 2016).

Per tant, les integrines convergeixen en les vies de senyalització juntament amb els receptors tirosina cinasa (RTK, *receptor tyrosine kinase*) i els factors de creixement (GF, *growth factor*) implicats en aquestes vies, com ara el factor de creixement epidèrmic (EGF, *epidermal growth factor*), el factor de creixement transformant beta (TGF-β, *transforming growth factor beta*) o el factor de creixement endotelial vascular (VEGF, *vascular endothelial growth factor*), entre d'altres.

S'ha descrit que les integrines, a banda d'activar aquests receptors mitjançant la senyalització creuada, en regulen el tràfic intracel·lular i el posterior reciclatge a la PM. D'aquesta manera, regulen aspectes tan importants en càncer com són la proliferació, la supervivència, la migració i la invasió, i la metàstasi.

2. Resultats i discussió

2.1. Tràfic intracel·lular d'integrines

El tràfic dinàmic a la membrana regula diversos aspectes funcionals de les integrines, com ara la formació d'adhesions amb l'ECM i l'assemblatge del citoesquelet d'actina durant la migració cel·lular (Ata i Antonescu, 2017). Aquest procés està molt relacionat amb la senyalització cel·lular a diferents nivells, i algunes alteracions en la seva regulació estan implicades en la formació de tumors (Onodera *et al.*, 2013; Alanko i Ivaska, 2016).

Tenint en compte les interaccions amb l'ECM, les integrines juguen un paper important en els processos d'adhesió i migració cel·lulars (Ata i Antonescu, 2017). Per tant, el control de la disponibilitat d'aquestes proteïnes d'adhesió a la membrana és clau per a la seva funció (Bridgewater *et al.*, 2012).

Les agrupacions d'integrines a la PM formen els contactes focals, que maduren a FA, unes estructures més grans que proporcionen les forces de tracció necessàries per a la migració cel·lular (Ata i Antonescu, 2017). La renovació d'aquests complexos d'adhesió requereix una regulació dinàmica de les unions de les integrines amb els seus lligands, i és fonamental per a controlar la mobilitat cel·lular (Margadant *et al.*, 2011).

Així doncs, el tràfic intracel·lular d'integrines és un procés dinàmic important utilitzat per les cèl·lules per a regular les interaccions amb l'ECM i els processos cel·lulars com la disseminació, la migració, la invasió i la citocinesi. Aquest procés regula el desassemblatge de les FA, la renovació de la matriu, així com la redistribució de les integrines a nous llocs d'adhesió, ja que són internalitzades i reciclades a fi de situar-se al front d'avanç de les cèl·lules per facilitar-ne la mobilitat i la invasió (Margadant *et al.*, 2011; Bridgewater *et al.*, 2012; Alanko *et al.*, 2015; De Franceschi *et al.*, 2015).

2.1.1. Mecanismes moleculars del tràfic intracel·lular d'integrines

El tràfic intracel·lular de les integrines es troba regulat de forma important per molts membres de la superfamília de les Ras-GTPases. Entre aquests, destaquen tres famílies de proteïnes: Rab (*Ras-related in brain protein*), Arf (*ADP-ribosylation factor*) i Rho, que

©Universitat de Barcelona

regulen el tràfic vesicular, el tràfic de receptors i la modulació del citoesquelet d'actina, respectivament. Aquestes proteïnes ciclen entre dues conformacions: activa quan estan unides a GTP (guanosina trifosfat) i inactives quan es troben unides a GDP (guanosina difosfat). L'activació de les GTPases dependrà d'unes proteïnes anomenades GEF (*guanine nucleotide exchange factor*), bescanviadores de GDP per GTP, i la inhibició la promouran les proteïens GAP (*GTPase-activating protein*) en estimular l'activitat GTPasa intrínseca que presenten les GTPases (Onodera *et al.*, 2013; De Franceschi *et al.*, 2015).

2.1.1.1. Internalització d'integrines

La internalització des de la PM té lloc mitjançant endocitosi, que pot ser dependent o independent de clatrina (Margadant *et al.*, 2011; Onodera *et al.*, 2013; Ata i Antonescu, 2017). La clatrina és una proteïna implicada en el recobriment de les vesícules que són endocitades des de la PM i de les quals en circulen entre l'aparell de Golgi i els endosomes (Royle, 2006).

L'endocitosi mediada per clatrina és un dels mecanismes més estudiats, i es basa en la interacció d'un motiu conservat dels dominis citoplasmàtics de les subunitats β de les integrines, l'NPXY (N, asparagina; P, prolina; X, qualsevol aminoàcid; Y, tirosina), amb proteïnes adaptadores de clatrina, com ara DAB i NUMB, a través del seu domini d'unió a fosfotirosina. Això permet el reclutament de receptors transmembrana als sots recoberts de clatrina de la PM, facilitant-ne així l'endocitosi (Caswell *et al.*, 2009; Bridgewater *et al.*, 2012). Alguna mutació en aquest motiu pot conduir a una desregulació de la internalització (Margadant *et al.*, 2011).

2.1.1.2. Tràfic endocític de les integrines

Un cop internalitzats, aquests receptors poden seguir dues vies: reciclatge o degradació. Les vesícules que provenen de la PM i contenen les integrines es fusionaran amb el primer compartiment endocític, els endosomes primerencs (EE, *early endosome*), on es decideix si seran dirigits als endosomes tardans (LE, *late endosome*) i lisosomes per a ser degradats o bé si seran reciclats a la PM. Normalment no són degradats, sinó que són contínuament retornats a la PM mitjançant dues possibles rutes: una de ràpida regulada per Rab4 i Rab5 i una de més lenta, passant pel compartiment de reciclatge (PNRC, *perinuclear recycling compartment*), regulada per Rab11 i Arf6 (Caswell *et al.*, 2009; Onodera *et al.*, 2013).

El *short-loop* o reciclatge ràpid està regulat per GF i és dependent de la GTPasa Rab4. En aquest cas, les integrines com ara l'$\alpha v\beta 3$ són majoritàriament reciclades directament des dels EE. En el reciclatge *long-loop* o lent, les integrines són transportades al PNRC, ric en endosomes que contenen Rab11 i Arf6, abans de ser retornades a la PM. Els heterodímers $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 6\beta 4$ i $\alpha v\beta 3$ són reciclats per mitjà d'aquesta via (figura 2) (Bridgewater *et al.*, 2012; Onodera *et al.*, 2013).

Aquestes dues vies faciliten el recanvi d'adhesions, proveint la cèl·lula d'un grup constant i fresc d'integrines per unir-se a l'ECM i formar noves unions (De Franceschi *et al.*, 2015).

Així mateix, s'ha descrit que l'estat d'activació de les integrines participa en la regulació de la seva internalització. Per exemple, les subunitats $\beta 1$ inactives són internalit-

©Universitat de Barcelona

Edusfarm 9 (2017), 75-101
ISSN: 1886-6271

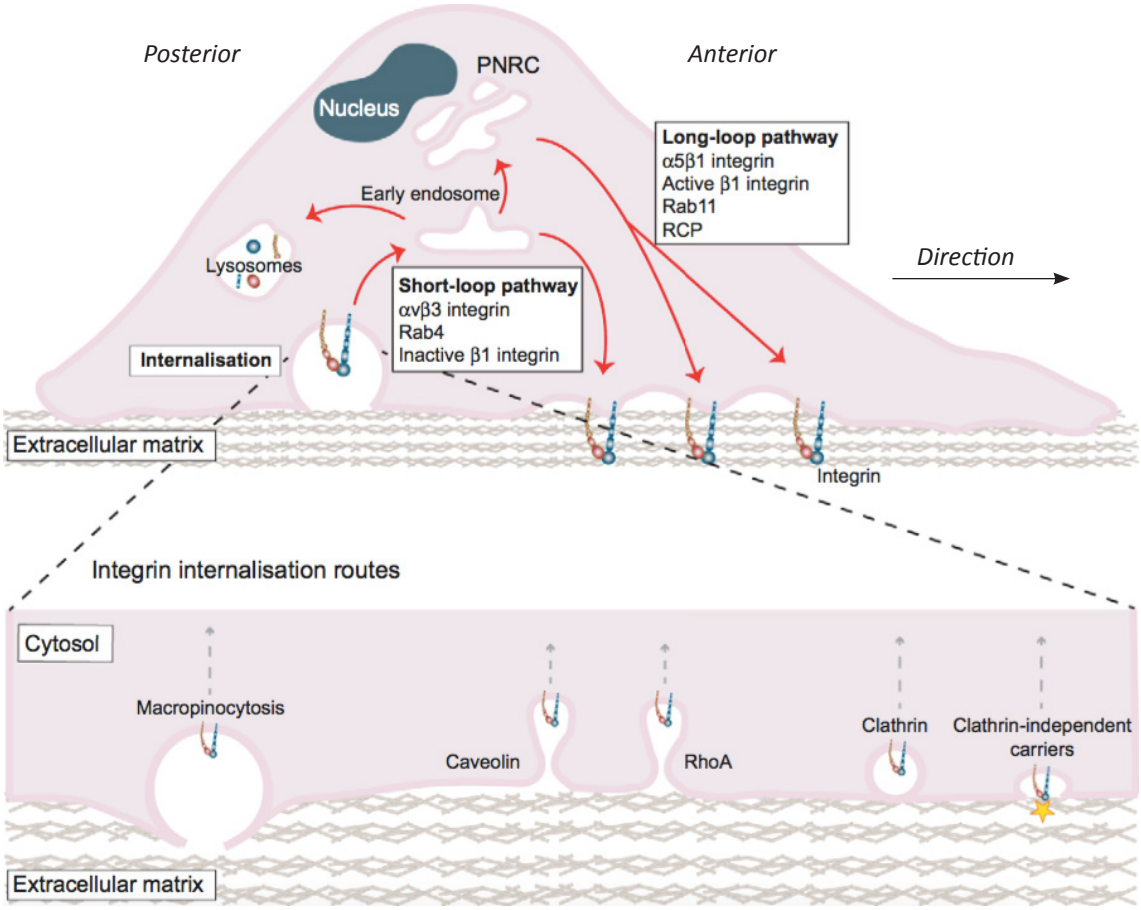

Figura 2. Vies de reciclatge de les integrines a la PM. Les integrines són internalitzades seguint diferents rutes, tal com es mostra a la figura, com ara les dependents i les independents de clatrina. Un cop internalitzades a l'extrem posterior de la cèl·lula arriben als EE, on podran ser reciclades al front d'avanç mitjançant una via lenta regulada per Rab11, que utilitza sobretot la integrina α5β1, o una via ràpida dependent de Rab4 que fa servir la integrina αvβ3 (figura adaptada de De Franceschi et al., 2015)

zades i posteriorment reciclades de nou cap a la PM més ràpidament que les que es troben en un estat actiu. Això es deu al fet que segueixen vies de reciclatge diferents: les inactives segueixen la via de reciclatge *short-loop*, mentre que les actives són reciclades seguint la via lenta, passant pel PNRC abans de tornar a la PM (figura 2). Tot això determina, en part, la seva localització: majoritàriament a nivell intracel·lular quan es troben actives i a la PM quan es troben en un estat inactiu (Arjonen *et al.*, 2012).

D'altra banda, les subunitats α tenen un motiu conservat, GFFKR (G, glicina; F, fenilalanina; K, lisina; R, arginina), important en el tràfic d'integrines que recluta GTPases com Rab21 o p120RasGAP (o RASA1, *Ras p21 protein activator 1*), regulant així el reciclatge d'aquests heterodímers (Margadant *et al.*, 2011; Onodera *et al.*, 2013).

Així doncs, la proteïna Rab21 s'uneix a una regió dels dominis α de la majoria de les integrines propera al motiu conservat GFFKR, promovent la internalització als EE. Quan RASA1 s'uneix a aquesta seqüència dels heterodímers α-/β1 a través del seu domini GAP substitueix Rab21, de manera que promou el reciclatge des dels EE fins a la PM, regulant així la mobilitat cel·lular (Mai *et al.*, 2011). S'ha descrit que l'expressió de Rab21 mutat impedeix la internalització dels heterodímers. D'altra banda, en absència de p120RasGAP,

©Universitat de Barcelona

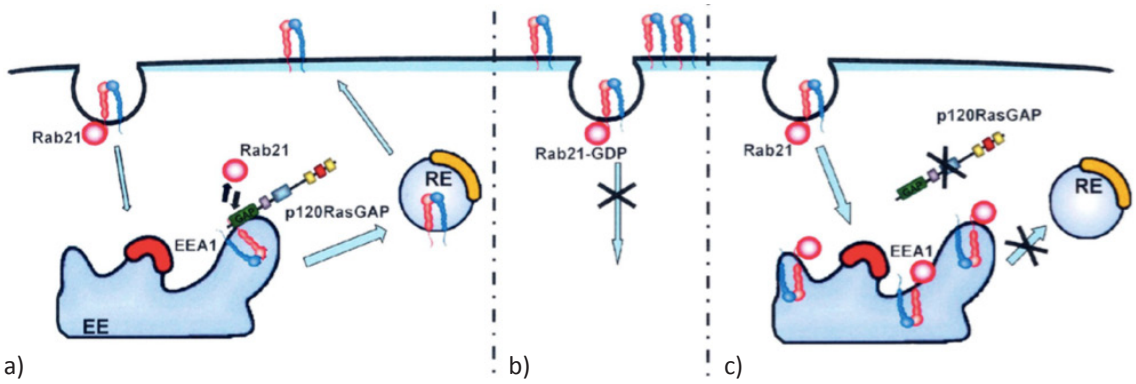

Figura 3. Mecanisme del tràfic d'integrines controlat per Rab21 i p120RasGAP. (A) Rab21 s'uneix a la subunitat α de les integrines i media l'endocitosi als EE, on p120RasGAP competirà amb Rab21 i promourà el reciclatge del receptor a la PM. (B) Mutacions de la proteïna Rab21 que la mantenen unida a GDP i impedeixen la internalització de les integrines. (C) Quan p120RasGAP no hi és present, les integrines s'acumulen als EE i no poden ser retornades a la PM (figura adaptada de Mai et al., 2011)

les integrines no poden sortir dels EE i, per tant, no són retornades a la PM per mitjà d'aquesta via (figura 3) (Mai *et al.*, 2011).

Aquests estudis indiquen que les integrines poden regular la mobilitat cel·lular mitjançant el seu reciclatge a la PM i, per tant, mostren la importància del tràfic endocític en aquests processos cel·lulars.

Pel que fa a la degradació, les integrines internalitzades són destinades als LE i als lisosomes, on la proteïna Rab5 és substituïda per Rab7, que promou la maduració dels EE a LE (Onodera *et al.*, 2013).

2.1.2. Participació de les integrines en la citocinesi

Les vies de tràfic de les integrines poden influir en la senyalització de les GTPases Rho i afectar la migració cel·lular i la citocinesi (Bridgewater *et al.*, 2012).

La citocinesi és el procés de divisió cel·lular que té lloc a l'última fase de la mitosi i consisteix en la separació i la segmentació del citoplasma en dues cèl·lules filles.

Com s'ha comentat, el motiu conservat GFFKR de les subunitats α és important en el tràfic d'integrines, i això es deu en gran mesura a la implicació de Rab21 en l'endocitosi, en concret durant la citocinesi (Pellinen *et al.*, 2008).

A la telofase tardana, les vesícules que expressen Rab21 circulen per portar la integrina $\alpha5\beta1$ des de diferents punts de la cèl·lula fins al solc de divisió per tal de contribuir a l'escissió i completar la separació de les cèl·lules filles. Un cop situades al centre, aquestes integrines s'uneixen a l'ECM i això promou l'activació de RhoA, que recluta efectors de Rho i permet la contracció de l'anell citocinètic, fent així que es completi la citocinesi (figura 4) (Caswell *et al.*, 2009).

A més, durant la divisió cel·lular després de la mitosi transporten aquest heterodímer des del punt d'escissió fins al front d'avanç de les noves cèl·lules per tal que aquestes es moguin en direccions contràries (Pellinen *et al.*, 2008; Caswell*et al.*, 2009)

©Universitat de Barcelona

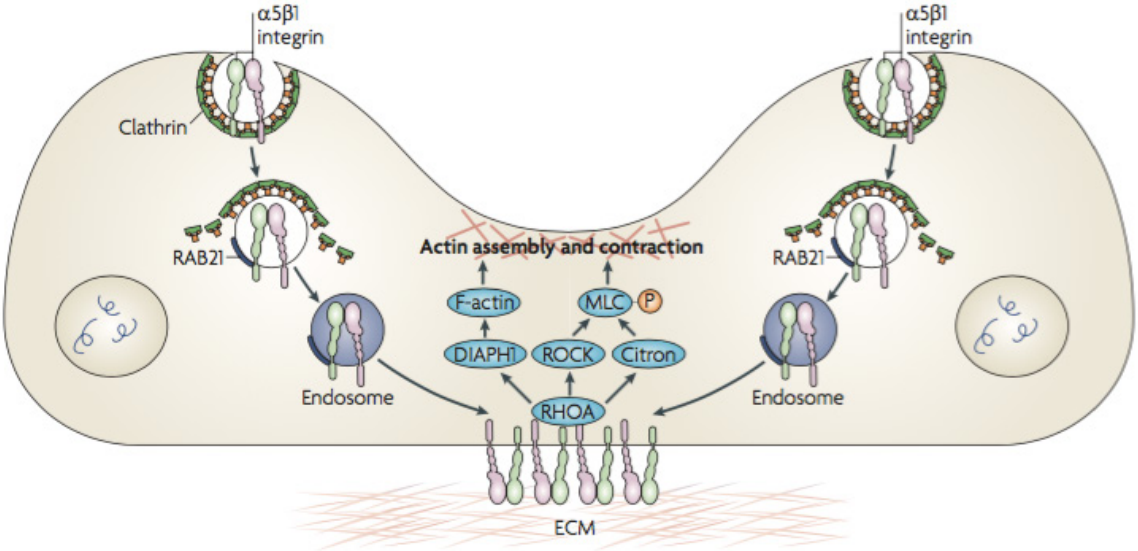

Figura 4. Tràfic de les integrines durant la citocinesi. A la telofase tardana, la proteïna α5β1 és internalitzada seguint la via dependent de clatrina. Les vesícules Rab21 s'uneixen al solc de divisió i promouen l'alliberament de la integrina. Un cop situades al centre, les integrines α5β1 s'uneixen a l'ECM i faciliten la finalització de la citocinesi. A la figura també s'hi pot veure representada la GTPasa Rho i els seus efectors (Caswell *et al.*, 2009).

2.1.3. Senyalització des d'endosomes

Fins fa uns anys es creia que la senyalització d'integrines només tenia lloc des de les FA fins a la PM, però recentment s'ha vist que aquests receptors senyalitzen també des dels endosomes. S'ha demostrat que aquesta senyalització que té lloc lluny de la PM contribueix a processos relacionats amb el càncer com la resistència a l'*anoikis* o el creixement independent d'ancoratge, facilitant així el desenvolupament de metàstasi. Això es deu al fet que FAK pot ser activat als endosomes i és capaç d'intervenir en aquests processos (Alanko *et al.*, 2015; Alanko i Ivaska, 2016).

2.1.3.1. Estructura de la cinasa FAK

FAK és una cinasa d'adhesió focal d'expressió ubiqua que regula funcions cel·lulars com la migració i la polaritat cel·lular, entre d'altres. Pel que fa a la seva estructura, consta de tres dominis: FERM (*band 4.1*, *ezrin*, *radixin*, *moesin*) a l'extrem N-terminal, FAT (*focal adhesion-targeting*) a l'extrem C-terminal i un domini cinasa al centre (Alanko i Ivaska, 2016).

Les unions de les integrines amb l'ECM i la conseqüent agrupació dels heterodímers produeix un augment de la producció de PI(4,5)P_2 a la PM, i això facilita el reclutament de FAK a les FA. El domini FAT és l'encarregat d'unir FAK a les FA, i ho fa interaccionant amb altres components com ara la talina (Alanko i Ivaska, 2016).

La present cinasa FAK es troba al citoplasma en un estat d'autoinhibició, i la unió entre FERM i el PI(4,5)P_2 resulta en una autofosforilació a la posició Y397, responsable de l'activació de FAK. Aquesta fosforilació constitueix un lloc d'unió per a altres tirosina cinases com ara Src (Alanko i Ivaska, 2016). El complex FAK-Src fosforila altres residus de

©Universitat de Barcelona

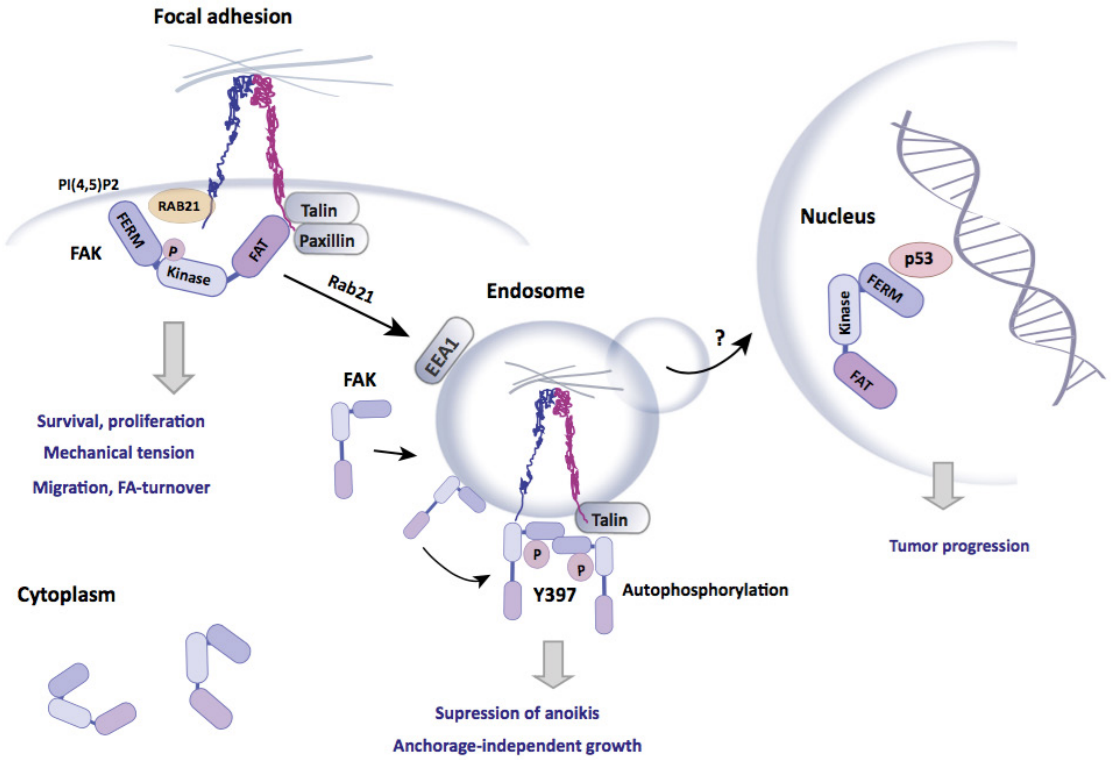

Figura 5. Localització cel·lular de FAK i les conseqüents funcions. En aquest esquema es poden observar les implicacions de FAK en els tres compartiments esmentats: PM, endosomes i nucli (Alanko i Ivaska, 2016).

tirosina de FAK i condueix a l'activació de diferents vies de senyalització moleculars (Mitra *et al.*, 2005).

El domini FERM és el que participa en la localització de FAK als endosomes, i quan el complex FAK-Src arriba a aquests compartiments, una de les dianes que s'activa és p120RasGAP, que, com ja s'ha comentat, promou el reciclatge de les integrines (Mitra *et al.*, 2005).

2.1.3.2. Funcions i localització cel·lular de FAK

S'han descrit diferents funcions de FAK en diversos compartiments cel·lulars, com ara a la PM, als endosomes i al nucli. Aquestes funcions varien segons les vies de senyalització activades en les distintes localitzacions (figura 5) (Alanko i Ivaska, 2016).

A la PM, FAK és responsable del desassemblatge de les FA, de manera que aquesta pèrdua d'adhesions contribueix a una major migració cel·lular (Alberts *et al.*, 2008).

Tot i que es desconeixen els mecanismes que transposen FAK al nucli, aquí promou la progressió de tumors, bé induint la degradació del gen supressor de tumors p53 o regulant la transcripció de quimiocines per escapar de la immunitat antitumoral (Alanko i Ivaska, 2016).

Cal fer un esment especial al FAK endosomal, atès que té dues funcions clau en el procés del càncer: la supressió de l'*anoikis* i el creixement independent d'ancoratge (Alanko i Ivaska, 2016).

©Universitat de Barcelona

En primer lloc, la mort cel·lular programada és indispensable per a un correcte desenvolupament i per a l'homeòstasi tissular, de manera que un fracàs de les cèl·lules per patir apoptosi pot conduir al desenvolupament d'un càncer (Alanko i Ivaska, 2016).

El creixement dependent d'ancoratge permet assegurar que les cèl·lules només sobreviuen i proliferen quan es troben en les condicions adequades. Així mateix, l'adhesió a l'ECM mediada per integrines i la senyalització resultant són crítiques per a les cèl·lules sanes, ja que la pèrdua d'adhesió porta les cèl·lules a una forma específica d'apoptosi anomenada *anoikis*. S'ha vist que el FAK actiu als endosomes inhibeix l'*anoikis* i que, per tant, facilita la progressió del tumor (Alberts *et al.*, 2008; Alanko i Ivaska, 2016).

3.1. Expressió d'integrines i càncer

La principal diferència pel que fa al comportament entre les cèl·lules sanes i les tumorals és que en aquestes últimes hi ha receptors i/o altres components de senyalització que estan constitutivament activats, de manera que les cèl·lules tumorals desobeeixen les restriccions de la divisió cel·lular i d'envair altres teixits. Diferents estudis han demostrat l'associació entre la regulació de l'expressió d'integrines i el càncer. Els canvis que es produeixen en el patró d'expressió durant la transformació maligna varien en funció del tipus de càncer, entre els tumors individuals i, fins i tot, entre distintes cèl·lules d'un mateix tumor. Així, la inestabilitat genòmica tan característica del càncer condueix a una expressió variable de les molècules d'adhesió cel·lular i, per tant, pot ser que les funcions de les integrines variïn al llarg del procés tumoral. La presència d'integrines com ara $\alpha v\beta 3$, $\alpha v\beta 5$, $\alpha 5\beta 1$ i $\alpha v\beta 6$ en determinats tumors es correlaciona amb la progressió de la malaltia. Tant si es tracta d'un augment com d'una disminució de l'expressió d'integrines, aquestes variacions participen en la formació de fenotips invasius. Per exemple, els heterodímers $\alpha v\beta 3$, $\alpha 5\beta 1$ i $\alpha v\beta 6$ en situacions normals presenten nivells d'expressió baixos, mentre que estan sobreexpressats en alguns tumors (Ganguly *et al.*, 2013; Koistinen i Heino, 2013).

3.1.1. Metàstasi

La metàstasi és un procés que comprèn diferents etapes que fan possible que les cèl·lules d'un tumor primari disseminin i formin tumors secundaris en parts distants de l'organisme (figura 6). Per dur a terme aquesta colonització es precisen activitats cel·lulars coordinades com ara l'angiogènesi, la migració, la invasió i la supervivència, i per això és imprescindible la presència d'interaccions dinàmiques de les cèl·lules. És evident, per tant, que les molècules d'adhesió com ara les integrines participen en la regulació d'aquest procés, i ho fan juntament amb receptors de factors de creixement (GFR, *growth factor receptor*) i proteases com les metal·loproteïnases de la matriu (MMP, *matrix metalloproteinases*) i l'activador de plasminogen tipus urocinasa (uPA, *urokinase-type plasminogen activator*) (Ganguly *et al.*, 2013; Seguin *et al.*, 2015).

D'una banda, la participació de les integrines en la migració, tant de cèl·lules sanes com de canceroses, es va suggerir a partir del seu patró d'expressió, ja que normalment es localitzen a les protrusions de l'extrem anterior de les cèl·lules en moviment. Per a poder migrar, les cèl·lules han de generar la força necessària, mitjançant la polimerització d'actina, per avançar en una mateixa direcció i s'han de poder desplaçar a través del col·lagen que envolta el tumor. Perquè això sigui possible, han de degradar l'ECM, i això requereix proteases com ara les MMPs, que són produïdes per les cèl·lules tumorals i per cèl·lules inflamatòries de l'estroma. S'ha observat que hi ha una relació directa entre l'ac-

©Universitat de Barcelona

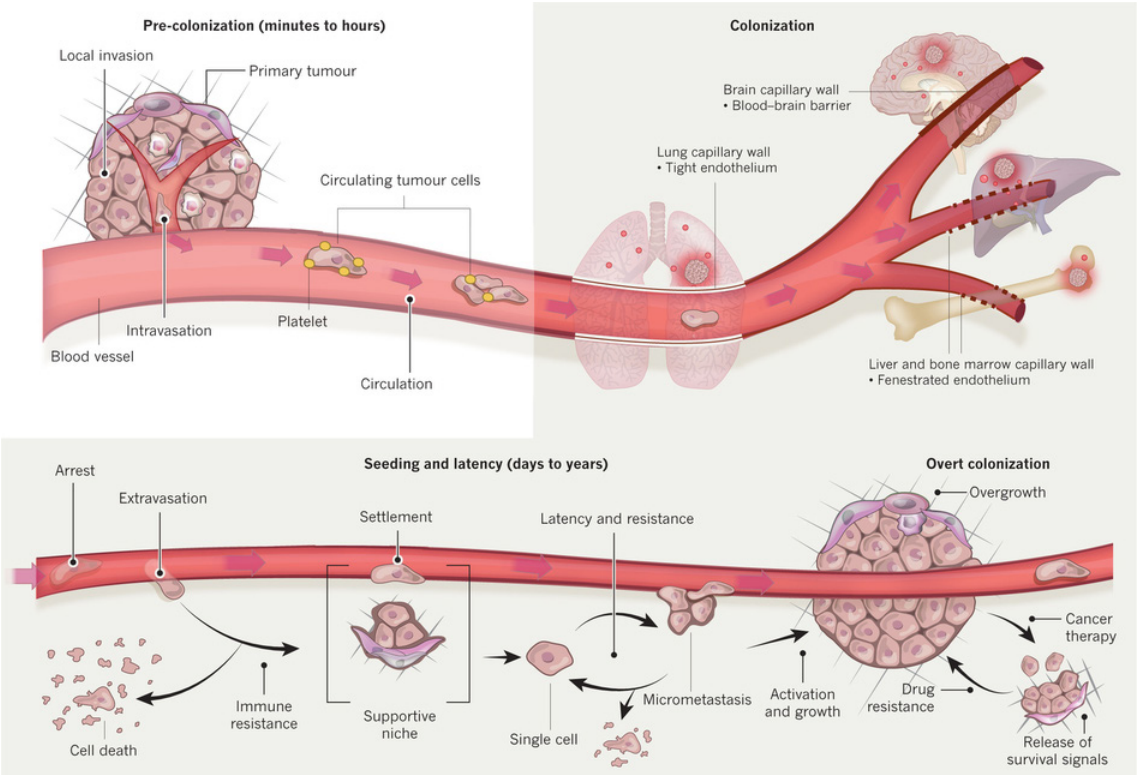

Figura 6. Procés de la colonització metastàtica. Tal com mostra la figura, la metàstasi és un procés patològic en el qual intervenen diferents esdeveniments, des de la intravasació de les cèl·lules del tumor primari als vasos sanguinis fins a la colonització d'altres localitzacions per tal que creixin els tumors secundaris (Massagué i Obenauf, 2016).

tivitat d'aquestes proteases i els nivells d'expressió de les integrines. Així, una reducció de l'expressió de les integrines resulta en una disminució de l'activitat de les MMP i, per tant, en una reducció del comportament invasiu de les cèl·lules tumorals. D'altra banda, les integrines intervenen en l'augment de l'expressió d'un altre tipus de proteasa, la uPA, i de l'activitat del seu receptor en diferents tumors (White i Muller, 2007; Martin *et al.*, 2012).

També són molt importants alguns canvis fenotípics en les cèl·lules, com per exemple l'anomenada transició epiteli-mesènquima (EMT, *epithelial-mesenchymal transition*), que requereix el trencament d'unions entre cèl·lules i la pèrdua de polaritat cel·lular, la reorganització del citoesquelet i l'adquisició de marcadors mesenquimals. Aquest procés promou els primers passos de la invasió i metàstasi, i contribueix a la transformació dels tumors cap a un major grau de malignitat (Ganguly *et al.*, 2013; Seguin *et al.*, 2015; Paolillo *et al.*, 2016).

El TGF-β és un dels principals inductors de l'EMT, i s'ha vist que certes integrines participen en aquest procés. Es troba inactiu a l'ECM unit a dues proteïnes: el pèptid associat a latència (LAP, *latency associated peptide*) i la proteïna d'unió a TGF-β latent (LTBP, *latent TGF-β-binding protein*). Les integrines que reconeixen el motiu RGD interaccionen amb aquesta seqüència tripeptídica de la proteïna LAP i provoquen un canvi conformacional del TGF-β que permetrà la unió als seus receptors i donarà lloc a una reducció de l'expressió de proteïnes epitelials i a un augment de l'expressió de proteïnes mesenquimals. Per tant, aquest GF regula la capacitat d'invasió, l'angiogènesi i l'evasió del sistema immunitari (Bianconi *et al.*, 2016; Paolillo *et al.*, 2016).

©Universitat de Barcelona

Amb referència al creixement de tumors secundaris, depèn de l'origen del tumor primari, així com de la presència d'integrines i dels lligands extracel·lulars apropiats. Aquests dos últims determinen que les cèl·lules responguin a un ambient concret i comencin així la colonització metastàtica (White i Muller, 2007; Ganguly *et al.*, 2013).

3.1.2. Càncer de mama

El càncer de mama és el tumor maligne més comú en dones arreu del món, tot i que també afecta homes, i el segon tipus de càncer més freqüent després del de pulmó (Team, 2017; Asociación Española Contra el Cáncer, 2017).

S'origina al teixit de la glàndula mamària i pot iniciar-se en diferents localitzacions, donant lloc a diverses modalitats histopatològiques del carcinoma de mama. Els càncers ductals comprenen la majoria dels casos, i són aquells que comencen als conductes galactòfors que condueixen la llet fins al mugró. D'altra banda, hi ha els càncers lobulars, que s'originen a les glàndules que produeixen la llet (Team, 2017; Asociación Española Contra el Cáncer, 2017).

Aquest tipus de càncer es pot difondre a través dels sistemes sanguini i/o limfàtic i arribar a diferents parts de l'organisme. A més, les cèl·lules del càncer de mama poden créixer als nòduls limfàtics i facilitar així la migració. Tot i que no és igual per a tots els casos, és freqüent que en aquestes situacions es desenvolupi metàstasi (Team, 2017; Asociación Española Contra el Cáncer, 2017). Normalment, les metàstasis més freqüents de les neoplàsies de mama són a l'os, el pulmó i el cervell. Aquests creixements a localitzacions secundàries són els responsables que es tracti de malalties força debilitants i amb un elevat grau de mortalitat.

La realització de diferents estudis al llarg dels anys ha permès anar descobrint el paper de les integrines en aquesta neoplàsia. S'han realitzat assajos *in vitro* i *in vivo* i s'han anat descrivint les implicacions de certs tipus d'integrines en el desenvolupament del càncer de mama. A continuació es posaran de manifest els heterodímers més rellevants i les seves implicacions (taula 2).

3.1.2.1. Integrines i càncer de mama

Les integrines tenen un paper molt important en la regulació del creixement i la diferenciació de les cèl·lules mamàries epitelials. La interacció d'aquestes proteïnes d'adhesió amb la membrana basal, que envolta els conductes mamaris i els alvèols, regula processos com la proliferació, la diferenciació i la supervivència de les cèl·lules mamàries epitelials (Taddei *et al.*, 2003; White i Muller, 2007).

Així doncs, l'expressió i l'adhesió produïdes per les integrines tenen un paper important durant el creixement del tumor mamari. A més, la seva activitat és clau per a la disseminació dels tumors primaris cap a altres localitzacions (figura 7) (White i Muller, 2007).

La subunitat $\beta 1$ és predominant en les cèl·lules mamàries epitelials, i la seva expressió es veu alterada en els carcinomes de mama, contribuint així a diversos fenotips malignes com ara l'EMT, l'angiogènesi i la metàstasi. S'ha vist que és necessària per a la formació de tumors de mama i que està implicada en la resistència a fàrmacs i en la recaiguda, així com en el creixement independent d'ancoratge (Onodera*et al.*, 2013; Seguin *et al.*, 2015; Paula i Lopes, 2017). En el càncer de mama invasiu, l'expressió està augmentada, i això resulta en una major proliferació i transformació cel·lulars (Bianconi*et al.*, 2016;

©Universitat de Barcelona

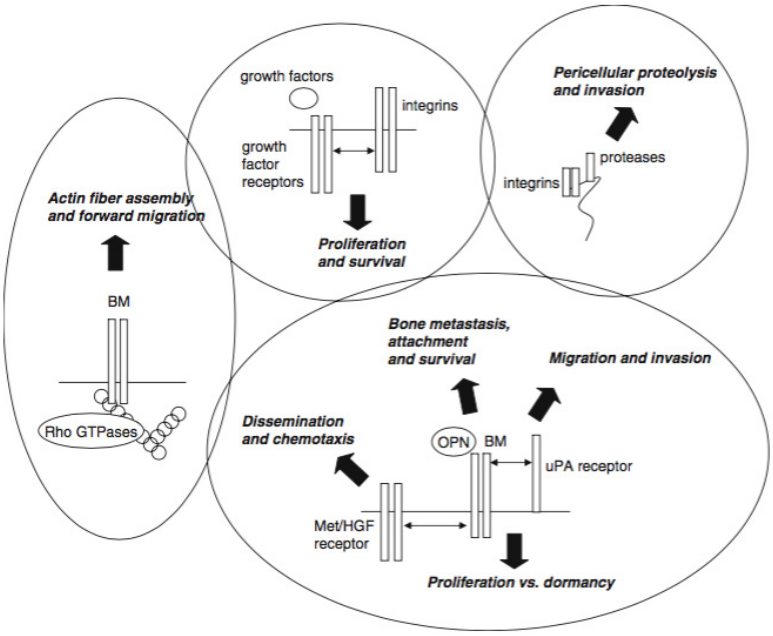

Figura 7. Paper de les integrines en la metàstasi del càncer de mama. Diferents integrines estan implicades en el procés de metàstasi del càncer de mama mitjançant la interacció amb distintes molècules. Amb proteïnes Rho per a afavorir la mobilitat cel·lular; amb GFR, promovent la proliferació i la supervivència cel·lulars; amb proteases, afavorint la degradació de la matriu i la invasió, i amb glicoproteïnes com l'osteopontina per a promoure la metàstasi a l'os (White i Muller, 2007).

Paula i Lopes, 2017). La subunitat β1 contribueix, juntament amb la subunitat α6, a la migració de les cèl·lules mare del càncer[2] (CSC, *cancer stem cell*), i totes dues es consideren marcadors de les cèl·lules mare del càncer de mama (Seguin *et al.*, 2015). Així, la integrina α6β1 produeix la interacció entre l'estroma i les CSCs, de manera que afavoreix la senyalització entre l'ECM i les cèl·lules, i comporta una major activitat de les CSCs quant a viabilitat, diferenciació i metàstasi (Paula i Lopes, 2017).

També l'heterodímer α5β1 és important en el desenvolupament i la progressió del càncer, i la seva associació amb FAK comporta l'activació d'aquesta cinasa que condueix a la inducció de l'expressió i l'activitat de les MMP-2 i MMP-9, afavorint la migració i la invasió (Ganguly *et al.*, 2013).

D'altra banda, l'expressió de l'α3β1 és superior en les cèl·lules metastàtiques en comparació amb les d'un carcinoma primari, i regula la migració i invasió de les cèl·lules mitjançant el control de la producció de les MMPs 2 i 9 i la reorganització del citoesquelet (Koistinen i Heino, 2013).

Pel que fa al *cross talk* entre els GFR i les integrines, l'associació entre la subunitat β1 i el receptor del factor de creixement epidèrmic (EGFR, *epidermal growth factor receptor*) promou un augment de l'autofosforilació d'aquest últim receptor i l'activació

[2] Subpoblació de cèl·lules tumorals amb capacitat per iniciar tumors. Són importants per al manteniment del tumor, la metàstasi i la resistència a fàrmacs.

©Universitat de Barcelona

de les conseqüents vies de senyalització. Així doncs, s'ha pogut observar que, en bloquejar la capacitat d'unió de β1, en resulta una atenuació de la senyalització de l'EGFR i, per tant, una disminució de la progressió del cicle cel·lular (White i Muller, 2007). Així mateix, l'EGF i el seu receptor (EGFR o ERBB1), així com el receptor HER2/neu (o ERBB2), produeixen una regulació a l'alça de la funció de β1 i de la progressió del tumor (Koistinen i Heino, 2013).

Amb referència a la subunitat β3, s'ha vist que, com a resultat de la seva interacció amb Src independentment de FAK, es produeix un augment del creixement independent d'ancoratge i de metàstasi a nòduls limfàtics (Seguin *et al.*, 2015).

L'αvβ3 contribueix a les propietats de les CSCs: formació de tumors, iniciació i metàstasi; i s'ha vist que hi ha un augment de la seva expressió tant a les cèl·lules tumorals com a les endotelials angiogèniques. S'ha descrit que la seva expressió produeix un augment de lade les MMPs en el càncer de mama invasiu (White i Muller, 2007). A més, resulta ser clau en la metàstasi a l'os, juntament amb les integrines α2β1 i α4β1 (Seguin *et al.*, 2015; Bianconi*et al.*, 2016), ja que promou l'adhesió i la migració a aquest òrgan. La colonització de la matriu òssia pot ser deguda a la interacció amb l'osteopontina, una glicoproteïna secretada per la matriu que afavoreix la resorció òssia i que està sobreexpressada en alguns carcinomes (Ganguly *et al.*, 2013). Aquesta proteïna promou la progressió tumoral en el càncer de mama induint el creixement de les CSCs, la invasió i la disseminació metastàtica (Paolillo*et al.*, 2016).

Taula 2. Taula resum de les implicacions de les integrines en càncer de mama

INTEGRINA	RESULTAT
α3β1	↑ Migració i invasió
α5β1	↑ Desenvolupament i progressió ↑ Migració
α6β1	↑ Migració i activitat de les CSCs
αvβ3	Contribueix a les propietats de les CSCs ↑ Metàstasi a l'os

S'ha relacionat la capacitat de metastatitzar amb l'acumulació de proteïnes de l'ECM en un nínxol metastàtic.[3] Així doncs, els lligands de les integrines són protagonistes de les conseqüències que comporten les interaccions amb els seus receptors (taula 3) (Seguin *et al.*, 2015).

[3] Microambient que afavoreix la supervivència i el creixement de les cèl·lules tumorals disseminades a les localitzacions on creixeran els tumors secundaris.

©Universitat de Barcelona

Taula 3. Taula resum dels efectes en la colonització metastàtica que resulten de la interacció d'algunes integrines amb certs lligands (Seguin *et al.*, 2015).

LLIGAND	RECEPTOR	RESULTAT DE LA UNIÓ
TENASCINA C	β1 β3	Colonització dels pulmons
PERIOSTINA	αvβ3 αvβ5	Metàstasi als nòduls limfàtics
L1-CAM*	αvβ3	Metàstasi al pulmó
VCAM-1**	α4β1	Disseminació metastàtica cap als nòduls limfàtics

*Molècula d'adhesió cel·lular L1 (L1-CAM, cell adhesion molecule L1), **Molècula d'adhesió cel·lular vascular 1 (VCAM-1, vascular cell adhesion molecule 1).

3.1.3. Glioblastoma

El glioblastoma (GBM), també anomenat astrocitoma de grau IV, és un tumor del sistema nerviós central (CNS, *central nervous system*) que s'origina als astròcits, un dels tipus cel·lulars que forma part de la glia.[4] Representa aproximadament el 50% del total de gliomes, afecta més freqüentment a l'edat adulta (45-65 anys) i és més prevalent en homes (American Brain Tumor Association, 2014 i 2017).

És el tumor cerebral primari maligne més freqüent, i es caracteritza per ser de creixement molt ràpid, agressiu i recurrent, de manera que és la neoplàsia cerebral més letal. Un cop diagnosticat, l'esperança de vida acostuma a ser curta, normalment d'uns mesos (Desgrosellier i Cheresh, 2010). Creix a partir de teixit cerebral normal i té un fenotip heterogeni i invasiu (American Brain Tumor Association, 2017). El que el diferencia de la resta de gliomes és la presència de proliferació i necrosi endotelial i el creixement anormal de vasos sanguinis al voltant del tumor. A més, és altament invasiu a nivell local i rarament metastatitza (Chamberlain *et al.*, 2012).

Hi ha dos subtipus de GBM: primari i secundari. El GBM primari es desenvolupa de nou ràpidament i normalment afecta pacients majors de cinquanta anys. El secundari és menys freqüent i resulta de la progressió d'astrocitomes de baix grau a GBM; acostuma a donar-se en pacients més joves i són habituals mutacions del gen supressor de tumors p53. S'ha vist que diferents famílies de GFR estan expressades a les cèl·lules de GBM, entre les quals destaquen l'EGFR i el receptor del factor de creixement derivat de plaquetes (PDGFR, *platelet-derived growth factor receptor*) per la seva sobreexpressió en GBM primari i secundari, respectivament. A més, el VEGF es troba àmpliament expressat a les cèl·lules de GBM (Wen i Kesari, 2008; Lathia *et al.*, 2010; Chamberlain *et al.*, 2012; Martin*et al.*, 2012).

En el GBM, la via de p53 —com moltes vegades en diferents tipus de tumors— acostuma a estar alterada. L'activació d'aquest gen supressor de tumors, per exemple per senyals d'estrès, dona lloc a diferents respostes com ara l'aturada del cicle cel·lular, l'apop-

[4] Conjunt de cèl·lules glials que donen suport a les neurones.

©Universitat de Barcelona

tosi, la diferenciació i reparació del DNA, entre d'altres (Martin *et al.*, 2012). Així, el fet que aquesta via estigui alterada facilita la progressió neoplàstica.

3.1.3.1. Integrines i glioblastoma

Les integrines són importants en el creixement, l'angiogènesi, la migració i la invasió del GBM, de manera que juguen un paper clau en l'agressivitat del tumor. Les vies de senyalització activades per aquestes molècules promouen la capacitat d'invasió i supervivència de les cèl·lules de GBM, i ho fan modificant el microambient del cervell per afavorir la formació del nínxol tumoral,[5] que és crític per al manteniment i la progressió del tumor. La migració és fa mitjançant interaccions entre cèl·lules, així com la formació i l'eliminació d'unions amb l'ECM, i hi ha una invasió força agressiva del teixit del voltant. Pel que fa a l'angiogènesi patològica, és essencial per al creixement del tumor i difereix de l'angiogènesi normal pel fet que els vasos formats a partir del GBM són estructuralment anormals, els falta la barrera hematoencefàlica i són notablement més dèbils (Chamberlain *et al.*, 2012; Martin *et al.*, 2012; Paolillo*et al.*, 2016).

D'altra banda, els increments de l'expressió d'integrines s'han relacionat amb la resistència a teràpies convencionals com són la radioteràpia i la quimioteràpia (Chamberlain *et al.*, 2012; Martin *et al.*, 2012).

Gràcies a diferents estudis, s'ha pogut anar esbrinant la implicació de les integrines en el GBM. Tot seguit es comentaran alguns d'aquests receptors i la seva relació amb la malaltia (taula 4).

La subunitat $\beta1$ controla la invasió de les cèl·lules de GBM, i s'ha vist que els heterodímers $\alpha2\beta1$, $\alpha3\beta1$ i $\alpha5\beta1$ estan sobreexpressats en les cèl·lules de glioma multiresistents a diferents fàrmacs i són responsables de l'increment de la capacitat d'adhesió, migració i invasió (Martin *et al.*, 2012). Les cèl·lules de GBM secreten proteases, i s'ha descrit que hi ha una relació entre els nivells de MMP-9 i el grau de malignitat del tumor. De la mateixa manera, s'ha observat que l'expressió del receptor de l'uPA (uPAR) està incrementada en els gliomes de major grau. Les integrines estan associades a la senyalització de l'uPAR, i la seva interacció amb les subunitats $\beta1$ i $\beta3$ promou la migració i la invasió cel·lulars (Veeravalli i Rao, 2012).

L'$\alpha3\beta1$ es troba sobreexpressada en gliomes malignes i es localitza a les zones d'invasió de les cèl·lules tumorals, de manera que afavoreix també la capacitat de migració i invasió d'aquestes cèl·lules (Kawataki *et al.*, 2007).

Pel que fa al receptor $\alpha5\beta1$, s'ha vist que nivells d'expressió elevats de la subunitat $\alpha5$ en càncers cerebrals estan associats a un fenotip més agressiu, i això comporta una disminució de la supervivència dels pacients amb GBM. Aquest heterodímer juga un paper important en la resistència a fàrmacs, ja que modula l'activitat del gen supressor de tumors p53: un increment de la seva expressió inhibeix l'estimulació de p53. Per tant, un augment de l'expressió d'$\alpha5\beta1$ es correlaciona amb una major agressivitat del tumor i un pitjor pronòstic de la malaltia (Martin *et al.*, 2012).

L'heterodímer $\alpha v\beta3$ també es troba àmpliament expressat i promou la migració i la invasió de les cèl·lules d'aquest tumor. La seva expressió, juntament amb la integrina

[5] Microambient on resideixen les cèl·lules mare i que en regula el manteniment i l'equilibri entre l'autorenovació i la diferenciació.

©Universitat de Barcelona

αvβ5, està associada a l'angiogènesi en molts tipus de tumors. Les cèl·lules endotelials durant l'angiogènesi expressen nivells elevats d'aquestes integrines, i això estimula la proliferació d'aquestes cèl·lules i permet que siguin fàcilment accessibles als vasos sanguinis, promovent alhora la migració. Així doncs, un increment de l'expressió d'aquestes integrines es correlaciona amb una baixa supervivència (Martin *et al.*, 2012; Paolillo *et al.*, 2016).

Respecte al *cross talk* entre les integrines i els GFR, els heterodímers αvβ3, αvβ5 i α5β1 interaccionen amb receptors com l'EGFR i el PDGFR per promoure'n la màxima activació i aconseguir així una major transducció del senyal, de tal manera que es produeix un augment de la migració, la proliferació, la supervivència cel·lular i l'angiogènesi (Martin *et al.*, 2012).

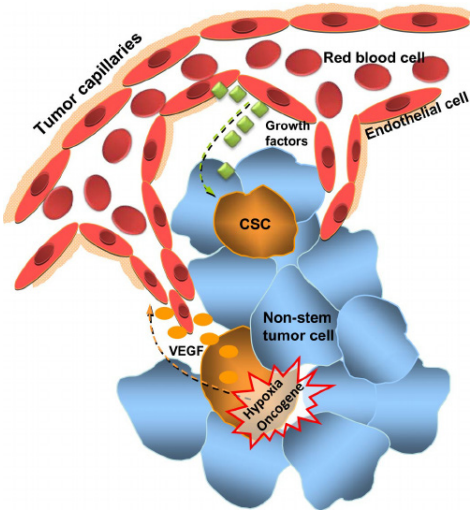

Figura 8. Cèl·lules mare del càncer al nínxol perivascular. Les CSCs i, per tant, les GSC estimulen la formació de nous vasos sanguinis mitjançant la secreció de factors proangiogènics com el VEGF. Aquesta secreció es veu afavorida quan la cèl·lula es troba en una situació d'hipòxia o quan s'activen determinats oncogens (Li *et al.*, 2009).

Les cèl·lules mare del glioblastoma (GSC, *glioblastoma stem cell*) són multipotents amb capacitat d'autorenovar-se que tenen un paper important en la iniciació i el manteniment del tumor, així com en l'angiogènesi. Es troben a l'espai perivascular, el qual ajuden a mantenir mitjançant la secreció de factors proangiogènics com ara el VEGF. D'aquesta manera, es crea un microambient que promou la seva autorenovació, a més de la formació de nous vasos sanguinis. S'ha vist que aquesta relació recíproca entre les GSC i els vasos sanguinis afavoreix la tumorigènesi (figura 8) (Li *et al.*, 2009; Lathia *et al.*, 2010; Paolillo *et al.*, 2016).

La subunitat α6 es troba expressada en uns nivells alts a les GSC. És molt important per al manteniment d'aquestes cèl·lules i en aquest tipus cel·lular es troba coexpressada amb la subunitat β1 (Hamidi*et al.*, 2016). La seva presència a la superfície de les cèl·lules de GBM augmenta la disseminació, la proliferació i la invasió cel·lulars i disminueix l'apoptosi; i s'ha observat que es correlaciona inversament amb la supervivència dels pacients (Lathia *et al.*, 2010).

Tanmateix, com més elevats són els nivells d'expressió d'aquesta subunitat, més capacitat d'autorenovació. Un altre aspecte a destacar de les cèl·lules que expressen l'α6 és la capacitat de diferenciar-se en els tres tipus cel·lulars del CNS: neurones, astròcits i oligodendròcits. Paral·lelament, tenen una major habilitat per formar tumors secundaris que les cèl·lules que expressen nivells baixos d'aquesta subunitat (Lathia *et al.*, 2010; Martin *et al.*, 2012; Seguin *et al.*, 2015).

La malignitat i la progressió del GBM estan lligades a la senyalització del TGF-β, que juga un paper important en la supervivència de les GSC i, per tant, representa una bona diana per a la reducció de la recurrència i capacitat d'invasió del GBM (Paolillo *et al.*, 2016).

Tot i que es tracta de dos tipus de tumors molt diferents, moltes de les integrines que intervenen en el desenvolupament del càncer de mama i del GBM coincideixen quant a expressió, així com en els processos cel·lulars resultants. Així, els receptors d'adhesió co-

©Universitat de Barcelona

Taula 4. Taula resum de les implicacions de les integrines en glioblastoma.

INTEGRINES	RESULTAT
$\alpha 3\beta 1$	↑ Capacitat d'adhesió, migració i invasió
$\alpha 5\beta 1$	↑ Agressivitat ↑ Resistència a fàrmacs ↓ Supervivència del pacient
$\alpha 6\beta 1$	Contribueix al manteniment de les GSC ↑ Proliferació ↓ Apoptosi
$\alpha v\beta 3$	↑ Migració, invasió i angiogènesi ↓ Supervivència del pacient
$\alpha v\beta 5$	↑ Angiogènesi i invasió ↓ Supervivència del pacient

mentats es troben sobreexpressats en totes dues patologies i promouen tant l'angiogènesi com la migració i la invasió de les cèl·lules tumorals per tal de colonitzar altres localitzacions.

3.2. Possibles teràpies en càncer dirigides contra integrines

Tot i la creixent investigació i els avenços en el desenvolupament de nous fàrmacs contra el càncer, aquesta segueix sent una de les principals causes de mort arreu del món. L'heterogeneïtat de les cèl·lules tumorals, la manca d'especificitat i la resistència a fàrmacs són alguns dels motius que dificulten el desenvolupament de tractaments eficaços per a combatre aquesta malaltia (Dissanayake *et al.*, 2017). El fet de no evitar adequadament la metàstasi és la principal causa de mort associada al càncer, i és per això que un dels grans reptes de l'oncologia és la cerca d'agents útils que siguin capaços de prevenir la invasió tumoral (Chamberlain *et al.*, 2012).

Com s'ha comentat a les seccions anteriors, les integrines estan implicades en l'adhesió i la supervivència cel·lulars, de manera que la desregulació d'aquests receptors està associada a malalties com ara el càncer. Això fa d'aquestes proteïnes d'adhesió una diana clau per al tractament d'aquesta malaltia (Desgrosellier i Cheresh, 2010; Chamberlain *et al.*, 2012; Ganguly *et al.*, 2013).

Gràcies a les diferències que presenten les cèl·lules tumorals de les sanes és possible dissenyar molècules que vagin dirigides a una diana present en el tumor, i això permet reduir els efectes adversos associats al tractament. Així doncs, s'han desenvolupat antagonistes que interaccionen específicament amb receptors que es troben sobreexpressats a la superfície de les cèl·lules tumorals, com ara les integrines (Dissanayake *et al.*, 2017). Aquests compostos bloquegen la seva funció i, per tant, l'adhesió cel·lular de manera que, gràcies als efectes que presenten sobre les cèl·lules tumorals i les no tumorals associades al tumor, com ara les endotelials angiogèniques, inhibeixen el creixement tumoral i la metàstasi (Desgrosellier i Cheresh, 2010).

©Universitat de Barcelona

Paral·lelament, s'han desenvolupat altres estratègies dirigides a integrines com els sistemes d'alliberació de fàrmacs (DDS, *drug delivery system*), que dirigeixen el tractament a les cèl·lules tumorals de manera més específica, reduint així els efectes adversos associats a les teràpies convencionals (Dissanayake *et al.*, 2017).

3.2.1. Antagonistes d'integrines

Alguns dels agents terapèutics que s'han desenvolupat són pèptids, anticossos monoclonals i molècules petites antagonistes d'integrines (SMIA, *small molecule integrin antagonist*) (Avraamides *et al.*, 2008; Campbell i Humphries, 2011). Els SMIA, a diferència dels altres dos, són actius per via oral i presenten una major estabilitat, ja que, en no tenir enllaços peptídics, són menys sensibles a ser degradats per proteases (Chamberlain *et al.*, 2012).

En un principi, es creia que aquests inhibidors competien amb el lligand per la unió al receptor, però es va veure que alguns actuen per mecanismes al·lostèrics, ja sigui estabilitzant l'estat en què el receptor no està ocupat pel lligand o bé prevenint el canvi de conformació necessari perquè s'hi uneixi (Shimaoka i Springer, 2003; Campbell i Humphries, 2011). D'aquesta manera, no es desencadena la senyalització mediada per les integrines. Per tant, l'avantatge que presenten els inhibidors al·lostèrics respecte als competitius és que no tenen propietats d'agonistes, raó per la qual no implicaran cap efecte no desitjat que pogués estar relacionat amb el mecanisme d'acció (Campbell i Humphries, 2011).

Entre d'altres integrines, l'αvβ3, l'αvβ5 i l'α5β1 són unes de les més implicades en l'angiogènesi i la invasió cel·lulars i, per tant, representen una bona diana per a la teràpia contra el càncer (Devarai Santhosh *et al.*, 2014). Així doncs, a continuació es comentaran breument algunes molècules dissenyades per a bloquejar aquests receptors i que han demostrat inhibir l'angiogènesi i el creixement tumoral (taula 5).

3.2.1.1. Teràpia dirigida contra la integrina αvβ3

S'ha observat que tant les cèl·lules tumorals com les de l'endoteli angiogènic presenten nivells d'expressió elevats del receptor αvβ3, que està implicat en processos com l'angiogènesi i la metàstasi (Shimaoka i Springer, 2003; Ganguly *et al.*, 2013; Das *et al.*, 2017). A més, aquesta integrina es troba expressada als osteoclasts, de manera que està implicada en la resorció òssia que es produeix per aquestes cèl·lules (Liu *et al.*, 2008).

L'etaracizumab és un anticòs monoclonal humanitzat que es va desenvolupar a partir d'un precursor: la vitaxina, i va ser un dels primers a ser sotmès a assajos clínics per tal de provar la seva utilitat en la teràpia contra el càncer. Entre els efectes observats, destaquen la inhibició de l'angiogènesi, la inhibició del creixement tumoral gràcies a l'efecte directe sobre les cèl·lules del tumor i una alteració en la resorció òssia. Aquesta última activitat s'atribueix al fet que l'etaracizumab inhibeix l'adhesió dels osteoclasts. Per tant, aquest anticòs també sembla ser eficaç per disminuir la metàstasi a l'os (Desgrosellier i Cheresh, 2010; Ganguly *et al.*, 2013).

3.2.1.2. Teràpia dirigida contra les integrines αvβ3 i αvβ5

Aquests dos heterodímers són importants en la regulació de l'angiogènesi i del creixement tumoral. Tots dos presenten uns nivells d'expressió elevats a les cèl·lules de dife-

©Universitat de Barcelona

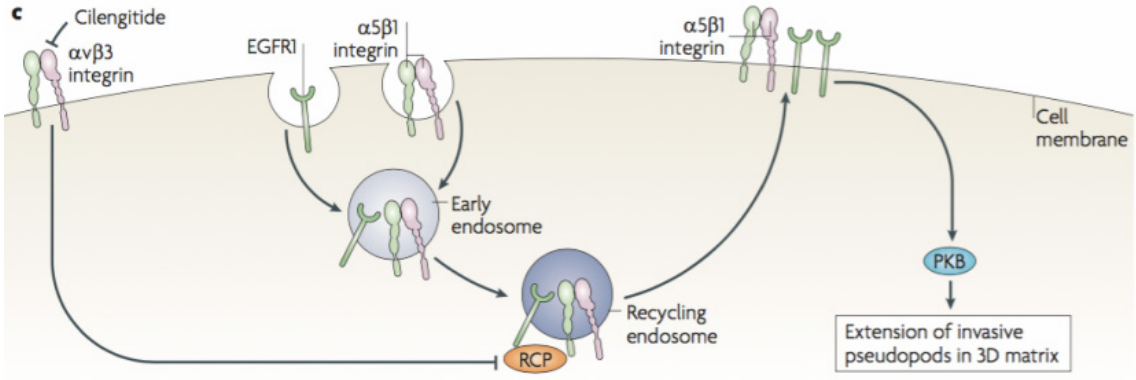

Figura 9. Paper de les integrines en el tràfic de RTK com ara l'EGFR. El bloqueig de la senyalització de la integrina αvβ3 promou el reciclatge a la PM de la integrina α5β1 i l'EGFR mitjançant l'associació amb l'RCP, incrementant els nivells d'aquests dos receptors a la superfície cel·lular (Caswell*et al.*, 2009).

rents neoplàsies en comparació amb les cèl·lules sanes, i això els proposa com una diana interessant (Desgrosellier i Cheresh, 2010).

L'intetumumab és un anticòs monoclonal humà que s'uneix competitivament als dos receptors i fa efectes antitumorals i antiangiogènics (Desgrosellier i Cheresh, 2010; Devarai Santhosh *et al.*, 2014).

El cilengitide és un pèptid RGD cíclic (cRGD) que inhibeix l'adhesió i la invasió de diferents cèl·lules tumorals. S'ha demostrat que per tal d'obtenir una major eficàcia hi han de ser presents tant la integrina αvβ3 com l'αvβ5 (Christenheit *et al.*, 2016). Tot i que a la fase II dels assajos clínics va demostrar tenir eficàcia antitumoral i una baixa toxicitat, els resultats de la fase III no van ser gaire favorables. Es va observar que concentracions baixes d'aquest compost estimulen el creixement tumoral i l'angiogènesi perquè promouen la migració cel·lular (Reynolds *et al.*, 2009; Paolillo *et al.*, 2016).

El mecanisme que es va proposar per donar explicació a tot això es basa en el fet que la inhibició de la integrina αvβ3 per part del cilengitide, entre d'altres, promou el tràfic i el posterior reciclatge a la PM de diferents RTK. D'una banda, promou el reciclatge via Rab4 del VEGFR, de manera que hi haurà una major expressió d'aquest GFR a la PM i, per tant, una major senyalització. D'altra banda, la inhibició d'aquesta integrina promou l'associació de la proteïna RCP (*Rab-coupling* protein), un membre de la família Rab11, amb la integrina α5β1 i RTK com l'EGFR. Això resulta en el reciclatge d'aquests dos receptors a la PM i, per tant, en un augment de la senyalització de l'EGFR (figura 9) (Caswell *et al.*, 2008; Caswell *et al.*, 2009; De Franceschi *et al.*, 2015).

El cilengitide era una molècula especialment esperançadora en el cas del GBM, ja que semblava que podria ser efectiva en l'augment del temps de supervivència dels pacients. En aquest tumor cerebral, s'ha vist que hi ha uns nivells elevats de vitronectina, un dels lligands d'αvβ3 que conté la seqüència tripeptídica RGD, i és per això que el tumor és susceptible a cilengitide. D'altra banda, es va avaluar el possible benefici de combinar-lo amb teràpies estàndard com la radioteràpia o la quimioteràpia amb temozolomida, però no es va observar cap avantatge en la supervivència global ni en la supervivència lliure de progressió respecte a la monoteràpia (Desgrosellier i Cheresh, 2010; Stupp *et al.*, 2014).

©Universitat de Barcelona

3.2.1.3. Teràpia dirigida contra la integrina α5β1

La integrina α5β1 està sobreexpressada en alguns tumors i participa en la supervivència i la proliferació cel·lulars (Desgrosellier i Cheresh, 2010; Ganguly *et al.*, 2013; Das *et al.*, 2017).

El volociximab és un anticòs monoclonal quimèric que s'uneix i inhibeix l'activitat d'aquesta integrina, de manera que inhibeix l'angiogènesi i el creixement tumoral. A més, indueix l'apoptosi mitjançant la inhibició de l'adhesió entre cèl·lules epitelials i l'ECM. En els estudis de fase I va resultar ser efectiu, però en la fase II no va demostrar aportar prou eficàcia clínica (Desgrosellier i Cheresh, 2010; Ganguly *et al.*, 2013; Das *et al.*, 2017).

Taula 5. Taula resum dels antagonistes de les integrines desenvolupats per al tractament del càncer. En aquesta taula es mostren els inhibidors de les integrines que s'han desenvolupat, l'efecte que produeixen en bloquejar l'activitat del receptor i els resultats que es van obtenir en els assajos clínics.

ANTAGONISTA	INTEGRINA	EFECTE	RESULTAT
Etaracizumab	α3β1	– Inhibició de l'angiogènesi i del creixement tumoral – Possible inhibició de la metàstasi òssia	– No suposa cap millora clínica quant a la supervivència
Intetumumab	αvβ3 i αvβ5	– Inhibició de l'angiogènesi i del creixement tumoral – Inducció de l'apoptosi	– No suposa cap millora clínica quant a la supervivència
Cilengitide	αvβ3 i αvβ5	– Inhibició de l'adhesió i invasió cel·lulars	– A dosis baixes estimula la migració cel·lular, l'angiogènesi i el creixement tumoral – En combinació amb teràpies estàndard no va mostrar cap avantatge
Volociximab	α5β1	– Inhibició de l'angiogènesi i del creixement tumoral	– No aporta prou eficàcia clínica

3.2.2. Sistemes d'alliberació de fàrmacs dirigits a integrines

D'altra banda, s'ha optat per DDS com una altra teràpia dirigida a integrines. Es tracta de sistemes conjugats que consten d'un pèptid que fa de vehicle i que conté la seqüència que serà reconeguda per la integrina, de manera que el conjugat en qüestió serà dirigit a la cèl·lula que expressa el receptor. Això permet reduir la toxicitat sistèmica deguda a la baixa especificitat del fàrmac, característica dels agents quimioteràpics usats habitualment en el tractament del càncer (Bianconi *et al.*, 2016; Dissanayake *et al.*, 2017).

©Universitat de Barcelona

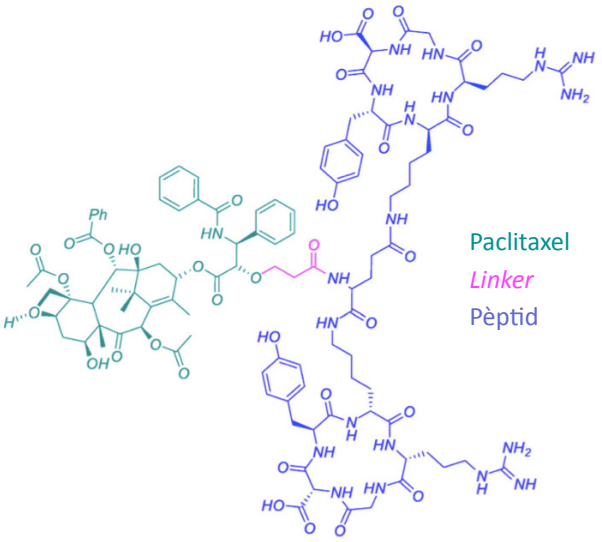

Figura 10. Sistema conjugat integrat pel citostàtic paclitaxel, un *linker* i un pèptid RGD cíclic (figura adaptada de Dissanayake *et al.*, 2017).

Entre alguns quimioteràpics que s'han conjugat amb pèptids RGD-mimètics hi ha la doxorubicina, la camptotecina i el paclitaxel (figura 10). És molt important que el *linker* sigui estable fins a arribar a les cèl·lules tumorals i, un cop internalitzats, aquests conjugats s'hidrolitzin per tal que el fàrmac en qüestió pugui actuar (Alloatti *et al.*, 2012; Dissanayake *et al.*, 2017).

De la mateixa manera, s'ha desenvolupat un altre tipus de DDS que consisteix en la conjugació de virus oncolítics amb pèptids que contenen la seqüència RGD i amb agents quimioteràpics. Com en el cas anterior, això permet que el fàrmac entri a les cèl·lules tumorals gràcies al reconeixement entre la seqüència conjugada amb el virus i el fàrmac i les integrines (Bianconi *et al.*, 2016).

Per exemple, un d'aquests conjugats està format per doxorubicina, el virus del mosaic del tabac i un cRGD, i l'han anomenat *cRGD-TMV-hydra-DOX*. Gràcies a l'afinitat selectiva entre el cRGD i el receptor αvβ3, la molècula conjugada entra a les cèl·lules tumorals mitjançant endocitosi mediada per la integrina (Bianconi *et al.*, 2016; Tian *et al.*, 2016).

Un altre cas és el de la conjugació de l'adenovirus amb l'interferó gamma (IFN-γ) i un motiu RGD. L'IFN-γ és una citocina amb activitat antiproliferativa que comporta una inhibició del creixement o mort cel·lular. Per tant, l'entrada de la molècula a les cèl·lules comporta la mort d'aquestes darreres. De la mateixa manera, el motiu RGD és el que afavoreix l'entrada a les cèl·lules del tumor mitjançant les integrines (Bianconi *et al.*, 2016).

Malgrat el desenvolupament i els estudis duts a terme, cap dels antagonistes descrits s'ha aprovat per a ús clínic en teràpia contra el càncer (taula 5) (Christenheit *et al.*, 2016).

No obstant això, es creu que tot i que aquests tractaments que van dirigits a les integrines no han mostrat efectes prou rellevants, la combinació amb altres agents terapèutics podria ser útil per tal de retardar la progressió de la malaltia, ja que permetria disposar de mecanismes complementaris (Chamberlain *et al.*, 2012; Bianconi *et al.*, 2016). N'és un bon exemple la combinació de tractaments per tal de pal·liar l'efecte agonista no desitjat dels inhibidors de les integrines αvβ3 i αvβ5. Atès que l'αvβ3 no és l'única molè-

©Universitat de Barcelona

cula implicada en l'angiogènesi, la teràpia combinada d'antagonistes d'integrines amb inhibidors d'altres molècules angiogèniques com VEGF i EGF o amb inhibidors dels RTK, entre d'altres, donaria millors resultats quant a la inhibició de l'angiogènesi i del creixement tumoral (Liu *et al.*, 2008).

Així mateix, la combinació amb altres agents quimioteràpics mitjançant DDS ha demostrat aportar beneficis en comparació amb la monoteràpia, obrint així un nou camp per cercar possibles estratègies que puguin resultar útils per al tractament d'aquesta malaltia (Dissanayake *et al.*, 2017).

4. Conclusions

1. El tràfic intracel·lular d'integrines és important per regular els nivells d'aquests receptors a la membrana plasmàtica i els processos cel·lulars en què estan implicats, com per exemple la mobilitat cel·lular. Gràcies a la seva internalització poden senyalitzar des de diferents localitzacions cel·lulars.
2. Variacions en l'expressió d'integrines estan implicades en processos patològics com és el càncer, i estan especialment involucrades en el procés de metàstasi, ja que afavoreixen la migració i la invasió cel·lulars.
3. Tant en el càncer de mama com en el glioblastoma, els nivells d'expressió de les integrines comentades estan augmentats i això afavoreix la progressió i malignitat dels tumors.
4. Les integrines són uns receptors d'adhesió que constitueixen una bona diana per al tractament del càncer i, en particular, de la colonització metastàtica.

S'estan desenvolupant molècules prometedores per al tractament d'aquestes patologies, i en un futur podrien resultar útils emprades en combinació amb altres estratègies terapèutiques.

Bibliografia

Alanko, J., Ivaska, J. (2016) «Endosomes: Emerging Platforms for Integrin-Mediated FAK Signalling». *Trends in Cell Biology* (Elsevier Ltd), 26(6), pp. 391-398. Doi: 10.1016/j.tcb.2016.02.001.

Alanko, J., Mai, A., Jacquemet, G., Schauer, K., Kaukonen, R., Saari, M., Goud, B., Ivaska, J. (2015) «Integrin endosomal signalling suppresses anoikis». *Nature Cell Biology*, 17(11), pp. 1412-1421. Doi: 10.1038/ncb3250.

Alberts, B., Wilson, J., Hunt, T. (2008) *Molecular biology of the cell*. Nova York [etc.], Garland Science.

Alloatti, D., Giannini, G., Vesci, L., Castorina, M., Pisano, C., Badaloni, E., Cabri, W. (2012) «Camptothecins in tumor homing via an RGD sequence mimetic». *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22(20), pp. 6509-6512. Doi: 10.1016/j.bmcl.2012.07.061.

American Brain Tumor Association (2014). Chicago. Disponible a: http://www.abta.org/brain-tumor-information/types-of-tumors/glioblastoma.html%0D (Accedit: 30 maig 2017).

American Brain Tumor Association (2017). Glioblastoma and malignant astrocytoma. Disponible a: http://www.abta.org/brain-tumor-information/types-of-tumors/glioblastoma [accés: 30.5.2017].

Arjonen, A., Alanko, J., Veltel, S., Ivaska, J. (2012) «Distinct Recycling of Active and Inactive β1 Integrins». *Traffic*, 13(4), pp. 610-625. Doi: 10.1111/j.1600-0854.2012.01327.x.

©Universitat de Barcelona

Asociación Española Contra el Cáncer (2017). Disponible a: https://www.aecc.es/es/todo-sobre-cancer/tipos-cancer/cancer-mama/que-es-cancer-mama [accés: 30.5.2017].

Ata, R., Antonescu, C. (2017) «Integrins and Cell Metabolism: An Intimate Relationship Impacting Cancer». *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), p. 189. Doi: 10.3390/ijms18010189.

Avraamides, C.J., Garmy-Susini, B., Varner, J.A. (2008) «Integrins in angiogenesis and lymphangiogenesis». *Nature Reviews Cancer*, 8(8), pp. 604-617. Doi: 10.1038/nrc2353.

Bianconi, D., Unseld, M., Prager, G. (2016) «Integrins in the Spotlight of Cancer». *International Journal of Molecular Sciences*, 17(12), pp. 2037. Doi: 10.3390/ijms17122037.

Bridgewater, R.E., Norman, J.C., Caswell, P.T. (2012) «Integrin trafficking at a glance». *Journal of Cell Science*, 125(16), pp. 3695-3701.

Campbell, I.D., Humphries, M.J. (2011) «Integrin Structure, Activation, and Interactions». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(3), pp. a004994-a004994. Doi: 10.1101/cshperspect.a004994.

Caswell, P.T., Chan, M., Lindsay, A.J., McCaffrey, M.W., Boettiger, D., Norman, J.C. (2008) «Rab-coupling protein coordinates recycling of α5β1 integrin and EGFR1 to promote cell migration in 3D microenvironments». *The Journal of Cell Biology*, 183(1), pp. 143-155. Doi: 10.1083/jcb.200804140.

Caswell, P.T., Vadrevu, S., Norman, J.C. (2009) «Integrins: masters and slaves of endocytic transport». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* (Nature Publishing Group), 10(12), pp. 843-853. Doi: 10.1038/nrm2799.

Chamberlain, M.C., Cloughsey, T., Reardon, D.A., Wen, P.Y. (2012) «A novel treatment for glioblastoma: integrin inhibition». *Expert Review of Neurotherapeutics*, 12(4), pp. 421-435. Doi: 10.1586/ern.11.188.

Christenheit, A., Heffeter, P., Selzer, E. (2016) «A Novel Small-Molecule Integrin Antagonist Inhibits Cells Adhesion Followed By Anoikis in Endothelial Cells - A Comparative Analysis with Cilengitide». *Glob J Cancer Ther*, 2(1), pp. 9-18.

Das, V., Kalyan, G., Hazra, S., Pal, M. (2017) «Understanding the Role of Structural Integrity and Differential Expression of Integrin Profiling to Identify Potential Therapeutic Targets in Breast Cancer». *Journal of Cellular Physiology*. Doi: 10.1002/jcp.25821.

De Franceschi, N., Hamidi, H., Alanko, J., Sahgal, P., Ivaska, J. (2015) «Integrin traffic - the update». *Journal of Cell Science*, 128(5), pp. 839-852. Doi: 10.1242/jcs.161653.

Desgrosellier, J.S., Cheresh, D.A. (2010) «Integrins in cancer: biological implications and therapeutic opportunities». *Nature reviews. Cancer* (NIH Public Access), 10(1), pp. 9-22. Doi: 10.1038/nrc2748.

Devarai Santhosh, S.R.E., Kumar, D.S., Jinka, R. (2014) «Pharmacological and Clinical Importance of Integrin Antagonists in Treatment of Cancer». *Journal of Cell Science & Therapy* (OMICS International), 6(1). Doi: 10.4172/2157-7013.1000193.

Dissanayake, S., Denny, W.A., Gamage, S., Sarojini, V. (2017) «Recent developments in anticancer drug delivery using cell penetrating and tumor targeting peptides». *Journal of Controlled Release*, 250, pp. 62-76. Doi: 10.1016/j.jconrel.2017.02.006.

Ganguly, K.K., Pal, S., Moulik, S., Chatterjee, A. (2013) «Integrins and metastasis». *Cell Adhesion & Migration*, 7(3), pp. 251-261. Doi: 10.4161/cam.23840.

Hamidi, H., Pietilä, M., Ivaska, J. (2016) «The complexity of integrins in cancer and new scopes for therapeutic targeting». *British Journal of Cancer*, 115(9), pp. 1017-1023. Doi: 10.1038/bjc.2016.312.

Kawataki, T., Yamane, T., Naganuma, H., Rousselle, P., Andurén, I., Tryggvason, K., Patarroyo, M. (2007) «Laminin isoforms and their integrin receptors in glioma cell migration and invasiveness: Evidence for a role of α5-laminin(s) and α3β1 integrin». *Experimental Cell Research*, 313(18), pp. 3819-3831. Doi: 10.1016/j.yexcr.2007.07.038.

Koistinen, P., Heino, J. (2013) «Integrins in Cancer Cell Invasion». Landes Bioscience.

Lathia, J.D., Gallagher, J., Heddleston, J.M., Wang, J., Eyler, C.E., Macswords, J., Wu, Q., Vasanji, A.,

©Universitat de Barcelona

McLendon, R.E., Hjelmeland, A.B., Rich, J.N. (2010) «Integrin alpha 6 regulates glioblastoma stem cells». *Cell stem cell*. Elsevier, 6(5), pp. 421-432. Doi: 10.1016/j.stem.2010.02.018.

Li, Z., Wang, H., Eyler, C.E., Hjelmeland, A.B., Rich, J.N. (2009) «Turning Cancer Stem Cells Inside Out: An Exploration of Glioma Stem Cell Signaling Pathways». *Journal of Biological Chemistry*, 284(25), pp. 16705-16709. Doi: 10.1074/jbc.R900013200.

Liu, Z., Wang, F., Chen, X. (2008) «Integrin alpha(v)beta(3)-Targeted Cancer Therapy». *Drug development research*. NIH Public Access, 69(6), pp. 329-339. Doi: 10.1002/ddr.20265.

Lodish, H. F. (2000) *Molecular cell biology*. Nova York, W.H. Freeman.

Mai, A., Veltel, S., Pellinen, T., Padzik, A., Coffey, E., Marjomäki, V., Ivaska, J. (2011) «Competitive binding of Rab21 and p120RasGAP to integrins regulates receptor traffic and migration». *The Journal of Cell Biology*, 194(2), pp. 291-306. Doi: 10.1083/jcb.201012126.

Margadant, C., Monsuur, H.N., Norman, J.C., Sonnenberg, A. (2011) «Mechanisms of integrin activation and trafficking». *Current Opinion in Cell Biology*, 23(5), pp. 607-614. Doi: 10.1016/j.ceb.2011.08.005.

Martin, S., Janouskova, H., Dontenwill, M. (2012) «Integrins and p53 pathways in glioblastoma resistance to temozolomide». *Frontiers in oncology* (Frontiers Media SA), 2, p. 157. Doi: 10.3389/fonc.2012.00157.

Mas-Moruno, C., Rechenmacher, F., Kessler, H. (2010) «Cilengitide: the first anti-angiogenic small molecule drug candidate design, synthesis and clinical evaluation». *Anti-cancer agents in medicinal chemistry*, 10(10), pp. 753-768.

Massagué, J., Obenauf, A.C. (2016) «Metastatic colonization by circulating tumour cells». *Nature*, 529(7586), pp. 298-306. Doi: 10.1038/nature17038.

Mitra, S.K., Hanson, D.A., Schlaepfer, D.D. (2005) «Focal adhesion kinase: in command and control of cell motility». *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 6(1), pp. 56-68. Doi: 10.1038/nrm1549.

Onodera, Y., Nam, J.-M., Sabe, H. (2013) «Intracellular trafficking of integrins in cancer cells». *Pharmacology & Therapeutics*, 140(1), pp. 1-9. Doi: 10.1016/j.pharmthera.2013.05.007.

Paolillo, M., Serra, M., Schinelli, S. (2016) «Integrins in glioblastoma: Still an attractive target?». *Pharmacological Research*, 113(Pt A), pp. 55-61. Doi: 10.1016/j.phrs.2016.08.004.

Paula, A.D.C., Lopes, C. (2017) «Implications of Different Cancer Stem Cell Phenotypes in Breast Cancer». *Anticancer Research*, 37(5), pp. 2173-2183. Doi: 10.21873/anticanres.11552.

Pellinen, T., Tuomi, S., Arjonen, A., Wolf, M., Edgren, H., Meyer, H., Grosse, R., Kitzing, T., Rantala, J.K., Kallioniemi, O., Fässler, R., Kallio, M., Ivaska, J. (2008) «Integrin Trafficking Regulated by Rab21 Is Necessary for Cytokinesis». *Developmental Cell*, 15(3), pp. 371-385. Doi: 10.1016/j.devcel.2008.08.001.

Reynolds, A.R., Hart, I.R., Watson, A.R., Welti, J.C., Silva, R.G., Robinson, S.D., Da Violante, G., Gourlaouen, M., Salih, M., Jones, M.C., Jones, D.T., Saunders, G., Kostourou, V., Perron-Sierra, F., Norman, J.C., Tucker, G.C., Hodivala-Dilke, K.M. (2009) «Stimulation of tumor growth and angiogenesis by low concentrations of RGD-mimetic integrin inhibitors». *Nature Medicine*, 15(4), pp. 392-400. Doi: 10.1038/nm.1941.

Royle, S.J. (2006) «The cellular functions of clathrin». *Cellular and molecular life sciences: CMLS* (Europe PMC Funders), 63(16), pp. 1823-1832. Doi: 10.1007/s00018-005-5587-0.

Seguin, L., Desgrosellier, J.S., Weis, S.M., Cheresh, D.A. (2015) «Integrins and cancer: regulators of cancer stemness, metastasis, and drug resistance». *Trends in cell biology* (NIH Public Access), 25(4), pp. 234-240. Doi: 10.1016/j.tcb.2014.12.006.

Shimaoka, M., Springer, T.A. (2003) «Therapeutic antagonists and conformational regulation of integrin function». *Nature Reviews Drug Discovery* (Nature Publishing Group), 2(9), pp. 703-716. Doi: 10.1038/nrd1174.

Stupp, R., Hegi, M.E., Gorlia, T., Erridge, S.C., Perry, J., Hong, Y.-K., Aldape, K.D., Lhermitte, B., Pietsch, T., Grujicic, D., Steinbach, J.P., Wick, W., Tarnawski, R., Nam, D.-H., Hau, P., Weyerbrock, A., Taphoorn, M.J.B., Shen, C.-C., Rao, N., Thurzo, L., Herrlinger, U., Gupta, T., Kortmann, R.-D., Adamska, K., McBain, C., Brandes, A.A., Tonn, J.C., Schnell, O., Wiegel, T.,

©Universitat de Barcelona

Kim, C.-Y., Nabors, L.B., Reardon, D.A., Van den Bent, M.J., Hicking, C., Markivskyy, A., Picard, M., Weller, M. (2014) «Cilengitide combined with standard treatment for patients with newly diagnosed glioblastoma with methylated MGMT promoter (CENTRIC EORTC 26071-22072 study): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial». *The Lancet Oncology*, 15(10), pp. 1100-1108. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70379-1.

Taddei, I., Faraldo, M.M., Teulière, J., Deugnier, M.-A., Thiery, J.P., Glukhova, M.A. (2003) «Integrins in Mammary Gland Development and Differentiation of Mammary Epithelium». *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 8(4), pp. 383-394. Doi: 10.1023/B:JOMG.0000017426.74915.b9.

Team, T. (2017) A.C.S. medical and editorial content. *American Cancer Society*. Disponible a: https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/about/what-is-breast-cancer.html%0D [accés: 30 maig 2017].

Tian, Y., Gao, S., Wu, M., Liu, X., Qiao, J., Zhou, Q., Jiang, S., Niu, Z. (2016) «Tobacco Mosaic Virus-Based 1D Nanorod-Drug Carrier via the Integrin-Mediated Endocytosis Pathway». *ACS Applied Materials & Interfaces* (American Chemical Society), 8(17), pp. 10800-10807. Doi: 10.1021/acsami.6b02801.

Veeravalli, K.K., Rao, J.S. (2012) «MMP-9 and uPAR regulated glioma cell migration». *Cell adhesion & migration* (Taylor & Francis), 6(6), pp. 509-512. Doi: 10.4161/cam.21673.

Weinberg, R.A. (2007) *The Biology of cancer*. 1a ed. Nova York, Garland Science.

Wen, P.Y., Kesari, S. (2008) «Malignant Gliomas in Adults». *New England Journal of Medicine* (Massachusetts Medical Society), 359(5), pp. 492-507. Doi: 10.1056/NEJMra0708126.

White, D.E., Muller, W.J. (2007) «Multifaceted Roles of Integrins in Breast Cancer Metastasis». *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 12(2-3), pp. 135-142. Doi: 10.1007/s10911-007-9045-5.

World Health Organization (2017). Disponible a: http://www.who.int/topics/cancer/en/ [accés: 30 maig 2017].

©Universitat de Barcelona