



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de Ciències

Memòria del Treball de Fi de Grau

Papel de las Rho GTPasas en la invasión de celulas de glioma

Daniela Rosero Soler

Grau de Bioquímica

Any acadèmic 2018-19

Treball tutelat per Príam de Villalonga Smith
Departament Biologia Fonamental i Ciències de la Salut

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Paraules clau del treball:
Glioma, Rho GTPasa, invasividad, Rac1, RhoA, Cdc42

Abstract:

Los gliomas constituyen el tipo más común de tumor cerebral primario. En el caso de los gliomas de alto grado el pronóstico es altamente desfavorable y la tasa de supervivencia es baja, esto se debe en parte a la gran capacidad invasiva que tienen las células de este tipo de tumores. Las Rho GTPasas son miembros de la superfamilia de proteínas Ras que juegan un papel importante en la dinámica del citoesqueleto de actina y, por lo tanto, en la motilidad celular. Lograr entender qué papel desempeñan estas proteínas, sus efectores y/o sus reguladores en las células invasivas de glioma podría dar a conocer nuevas dianas terapéuticas para mejorar el pronóstico de los pacientes diagnosticados con algún tipo de glioma de alto grado. El objetivo de este trabajo es revisar los avances que se han producido hasta ahora en el conocimiento del papel de las Rho GTPasas en el proceso de invasión de células de glioma.

Gliomas are the most common type of primary brain tumor. In the case of high-grade gliomas, the prognosis is unfavorable, and the survival rate is low, this is partly due to the high invasive capacity of the cells of this type of tumors. Rho GTPases are members of the Ras superfamily of proteins. Rho proteins play an important role in actin cytoskeleton dynamics and, therefore, in cell motility. Understanding the role of these proteins, their effectors and / or their regulators in invasive glioma cells could provide new therapeutic targets to improve the prognosis of patients diagnosed with some type of high-grade glioma. The objective of this work is to review the advances that have been made so far in the knowledge of the role of Rho GTPases in the process of glioma cell invasion.

Índice:

Abstract:	3
Abreviaturas:	5
Introducción:.....	5
Definición y clasificación de los gliomas.	5
Rho GTPasas: definición y función.....	8
Objetivo del trabajo:	9
Métodos y técnicas:.....	10
Búsqueda de la literatura:	10
Resultados:	11
Características del proceso invasivo de los gliomas:.....	11
Rac 1:	15
RhoA:.....	17
Cdc42:	19
Discusión:.....	21
Bibliografía:	23

Abreviaturas:

- **GBM:** Glioblastoma
- **IDH1:** Isocitrato Deshidrogenasa 1
- **GEF:** Factores Intercambiadores de Guanina
- **GAP:** Proteínas Activadoras de GTPasas
- **GDI:** Inhibidores de la Disociación de Guanina
- **ECM:** Matriz Extracelular
- **FAK:** Quinasa de Adhesión Focal
- **GSC:** Células Madre de Glioma
- **TM:** Microtúbulos Tumorales
- **PI3K:** Fosfatidil Inositol 3 Quinasa
- **mDia:** *Mammalian formin Diaphanous-related*
- **ROCK:** Proteína Quinasa asociada a Rho
- **CA:** Constitutivamente Activo
- **IMM:** *Small-Molecule Intramimic*

Introducción:

Definición y clasificación de los gliomas.

Las células de la neuroglia son un componente muy importante del sistema nervioso central ya que son las responsables de dar soporte mecánico y aportar energía a las neuronas, así como también se encargan de la recogida de sustancias de desecho, este conjunto de células está formado por los astrocitos, los oligodendrocitos y las células ependimarias, entre otras (Snell, 2007; Unidad de Neurocirugía RGS, 2018). Los gliomas pueden surgir a partir de los tres tipos celulares mencionados anteriormente, por lo que existen diferentes tipos de gliomas como: (i) los astrocitomas, que son los más comunes y dentro de los que se incluye el astrocitoma, astrocitoma anaplásico y el glioblastoma (GBM), el más frecuente de todos los gliomas. Por otro lado, tenemos también, (ii) los ependimomas que comprende el ependimoma anaplásico, ependimoma mixopapilar y el subependimoma y (iii) los oligodendrogliomas que agrupan el oligodendroglioma, oligodendroglioma anaplásico y el oligoastrocitoma anaplásico (Mayo Clinic, 2017).

Los gliomas son llamados tumores intra-axiales debido a que aparecen en el interior del parénquima del cerebro y son el tipo de tumor cerebral primario más frecuente, aproximadamente el 33% de los tumores cerebrales son gliomas (The Johns Hopkins University, no date). Desde 1979, la Organización Mundial de la Salud creó un sistema de clasificación para asignar un grado a los tumores cerebrales primarios según las células a partir de la que se origina, el potencial de crecimiento y la agresividad del tumor (Sinning, 2017).

- Tumores de grado I: son tumores de bordes definidos, las células parecen casi normales. Son tumores de crecimiento lento y la probabilidad de que se conviertan en tumores de mayor malignidad es baja. Los tumores de grado I pueden ser eliminados en su totalidad mediante neurocirugía.
- Tumores de grado II: límites del tumor imprecisos o de extensión difusa, crecimiento lento. Algunos pueden dar lugar a tumores de mayor malignidad.
- Tumores de grado III: tumores invasivos con células anaplásicas y una mayor tasa de crecimiento.
- Tumores de grado IV: son tumores con una tasa de mitosis elevada, presentan angiogénesis y áreas de necrosis.

Los tumores infiltrantes (grado II, III y IV) además de la cirugía, para su eliminación completa suele ser necesario recurrir a radioterapia y quimioterapia (Sinning, 2017).

Según la clasificación de tumores del sistema nervioso central del 2016 por la Organización Mundial de la Salud (OMS), el diagnóstico de estos tumores además de basarse en parámetros microscópicos también debe tener en cuenta parámetros moleculares (Louis *et al.*, 2016). Esta nueva clasificación afecta principalmente a tumores gliales del adulto y a tumores embrionarios (meduloblastomas). Entre los rasgos que destacan en los estudios moleculares están: la mutación de IDH1 en los gliomas difusos; co-delección 1p/19q en los oligodendrogliomas, entre otros (Ramírez García, 2017). Según esta nueva clasificación los gliomas se clasifican en focales (BRAF-1) y en difusos con IDH mutado o nativo (Fig 1.).

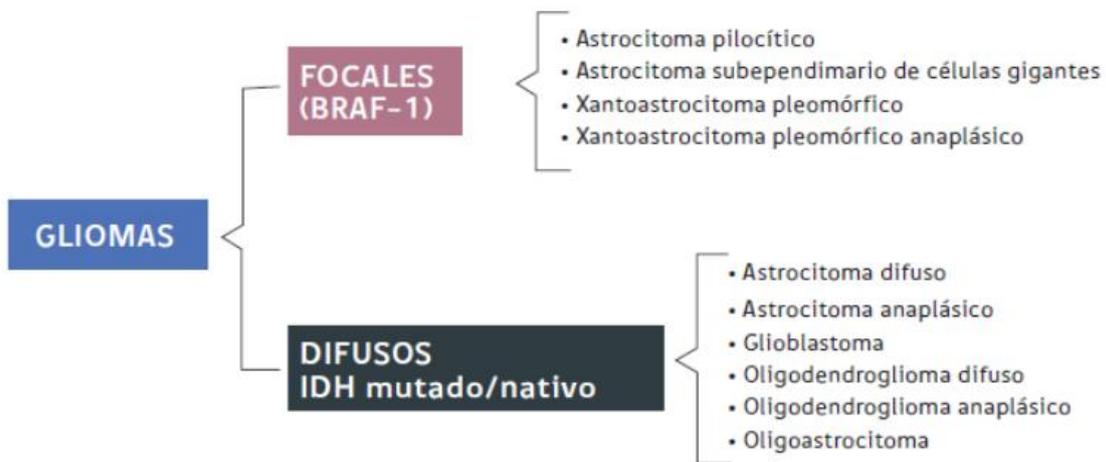


Figura 1. Clasificación actual de los gliomas según la Organización Mundial de la Salud (OMS). Imagen recuperada de “Clasificación de los tumores del SNC, patrones genéticos y moleculares” de Ramírez García, J.R.

Los gliomas de alto grado, son tumores con una pronóstico desfavorable a pesar de los años que se lleva investigando, esto se debe a que son altamente invasivos por lo que es difícil tratarlos quirúrgicamente, por ejemplo, en el caso de pacientes a los que se les diagnostica con GBM (astrocitoma de grado IV) por primera vez el tiempo estimado de supervivencia es inferior al año y medio, mientras que el caso de pacientes con tumores recurrentes, este tiempo disminuye a sólo 6 meses (Khalil et al., 2014; Sharma, Juthani, & Vogelbaum, 2017). En los gliomas de grado IV, la tasa de supervivencia para aquellos que tienen IDH mutado es del 31%, mientras que para aquellos que presentan un IDH nativo esta tasa desciende a un 15% (Parsons et al., 2008). Los GBM, que es el tipo de glioma más agresivo, se suelen tratar con resección quirúrgica seguida de quimioterapia con temozolomida y radioterapia, sin embargo, en vista de las bajas tasas de supervivencia se hace necesario seguir investigando nuevas dianas terapéuticas que permitan mejorar el pronóstico de los pacientes con gliomas de alto grado.

Rho GTPasas: definición y función.

Las Rho GTPasas son una familia de pequeñas proteínas G monoméricas, pertenecientes a la superfamilia de las proteínas Ras. La subfamilia de las proteínas Rho se caracteriza porque la mayoría actúan como interruptores moleculares que regulan la dinámica de los filamentos de actina del citoesqueleto. Existen 20 genes que codifican para proteínas Rho en la especie humana (tabla 2.), la mayoría de estas proteínas se encuentran activas y son capaces de estimular diversos efectores corriente-abajo cuando están unidas a GTP, y se encuentran inactivas al estar unidas a GDP. Existen tres tipos de proteínas encargadas de la compleja regulación de la actividad de las Rho GTPasas: GEFs, que las activan; las GAPs, que catalizan la hidrólisis de GTP a GDP actuando como inhibidor de las Rho GTPasas; y los GDIs, que disminuye los niveles de GTPasas activas (Ridley, 2015). Se conocen aproximadamente 80 GEFs y más de 70 GAPs lo que da a entender que tanto la actividad como la localización de las Rho GTPasas están regulados por una multitud de complejas vías de señalización que dependerán del contexto espaciotemporal en el que se encuentren (Sadok and Marshall, 2014)

Tabla 2. Clasificación y función de los miembros de la familia de Rho GTPasas en mamíferos.

Subclase	Efecto en el citoesqueleto	Miembro de la familia Rho
Subclase Cdc42	flipodios	Cdc42, RhoO (TC10), RhoJ (TCL)
Subclase RhoUV	filopodios y lamelipodios	RhoU, RhoV
Rac	Lamelipodios	Rac1, Rac2, Rac3, RhoG
RhoBTB	estabilidad proteica	RhoBTB1, RhoBTB2, RhoBTB3
RhoH	--	RhoH
Subclase Rho	regulación positiva de fibras de estrés y adhesiones focales	RhoA, RhoB, RhoC
Rnd	regulación negativa de fibras de estrés y adhesiones focales	Rnd1, Rnd2, Rnd3
RhoF	Transporte de vesícula, filopodios	RhoD, RhoF

Esquema de los miembros de la familia de las Rho GTPasas en mamíferos clasificados en subclases y según la función que cumplen respecto al citoesqueleto. Nota: basada en la información encontrada en "Boureux, A., Vignal, E., Faure, F. and Fort, P., Evolution of the Rho family of ras-like GTPases in eukaryotes" <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2665304/>

Las Rho GTPasas más estudiadas son: Rac1, RhoA y Cdc42 que también son los miembros de esta familia de GTPasas mejor conservadas a través de la evolución de las especies eucariotas, ya que se pueden encontrar tanto en animales como en plantas y hongos (Boureaux *et al.*, 2007). Se ha establecido que Rac es capaz de promover la formación de lamelipodios en respuesta a la estimulación por ciertos factores de crecimiento como PDGF, los lamelipodios se pueden observar frecuentemente en la región apical de grupos de células, dirigiendo la migración (Sadok and Marshall, 2014; Ridley, 2015). Por otra parte, RhoA posee la capacidad de formar las fibras de estrés de actina y con esto ensamblar adhesiones focales cuando es estimulado por factores de crecimiento (Ridley and Hall, 1992). Se descubrió que Cdc42 promueve la formación de filopodios que están implicados en la migración celular dirigida, pueden iniciar el contacto célula-célula cuando las células epiteliales se están acercando unas a otras y también están relacionados con el proceso de angiogénesis (Ridley, 2015).

Las Rho GTPasas son importantes en diversos procesos celulares, ya que pueden regular el metabolismo lipídico, los microtúbulos y estructuras de actina, las proteínas reguladoras del ciclo celular y de la apoptosis, entre otros. Todo esto es posible gracias a que los diferentes miembros de la familia de las Rho GTPasas está relacionado con un gran número de efectores celulares, por lo que una alteración en estas proteínas efectoras o en las proteínas reguladoras de las Rho podría dar lugar a diferentes enfermedades, entre estas el cáncer (del Pulgar *et al.*, 2005).

Objetivo del trabajo:

El objetivo principal de este trabajo es hacer un estudio bibliográfico de los avances más recientes que se han establecido en la relación que existe entre la capacidad altamente invasiva de los gliomas de alto grado y las GTPasas Rho.

Métodos y técnicas:

Desde hace más de 15 años, se busca la relación que puede existir entre la Rho GTPasas y la capacidad invasiva de los gliomas de alto grado, hoy en día conocer el papel exacto que pueden tener las proteínas Rho GTPasas podría ser un gran avance a la hora de establecer nuevas dianas terapéuticas que permitan mejorar el pronóstico de pacientes que con gliomas de alto grado.

Búsqueda de la literatura:

Para la búsqueda de la literatura se emplearon las bases de datos computarizadas PubMed/MEDLINE (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), principalmente, y Google Scholar (<https://scholar.google.es/>). Para empezar, se realizaron búsquedas relacionadas con los gliomas y su clasificación e incidencia y búsquedas entorno a las proteínas Rho GTPasas: sus características y los miembros más estudiados de esta familia. Finalmente, para el cuerpo del trabajo se hicieron búsquedas avanzadas en PubMed relacionando los gliomas, las Rho GTPasas y la invasión/migración tumoral. Las palabras claves más empleadas en los motores de búsqueda fueron:

- Glioma
- Glioma classification
- Rho GTPases AND invasion/migration
- Rho GTPases AND cancer
- Rho GTPases AND glioma
- Glioma AND Rho GTPases AND invasion/migration

Empleando estas palabras claves, se encontraron diversos artículos que podían ser de utilidad para el trabajo. Para acotar la búsqueda se seleccionaron sólo los artículos de revisión. También se acotó la búsqueda a los últimos cinco años.

La introducción se realizó a partir de la búsqueda de las siguientes palabras claves, centrándonos en los gliomas y las Rho GTPasas y sus aspectos más generales como clasificación y características.

Palabras clave	Publicaciones (PubMed)	Publicaciones (Google Scholar)
Glioma	8371	393000
Glioma classification	243	--
Rho GTPases + cancer	5887	--
glioma + Rho GTPases	274	21800

Para el desarrollo del trabajo, se revisó que en los artículos se relacionara la capacidad invasiva de los gliomas con algún miembro de la familia de las Rho GTPasas. En el caso de las búsquedas realizadas en Google Scholar se seleccionaron también los artículos con mayor cantidad de citas y los más recientes (últimos cinco años). De esta manera, se seleccionaron un total de 8 artículos para basar el presente trabajo y a partir de las referencias bibliográficas de éstos se encontraron más artículos de interés para el trabajo que también fueron empleados.

Palabras clave	Publicaciones (PubMed)	Publicaciones (Google Scholar)
glioma + Rho GTPases + invasion	8	--
glioma + Rho GTPases + migration	10	--
glioma+ Rac	5	6270
Glioma+ RhoA	28	6720
Glioma+Cdc42	12	4560

Resultados:

Características del proceso invasivo de los gliomas:

En general, el proceso de invasión por parte de las células tumorales depende de diversos factores como la interacción con la matriz extracelular (ECM) y con

células adyacentes y diferentes procesos de motilidad celular. La motilidad es una capacidad que presentan las células sólo en determinados estadios, como durante el desarrollo embrionario, y es un proceso que está altamente controlado por diversas proteínas, por lo tanto, que una célula tumoral presente esta capacidad sugiere que dicho proceso de regulación está alterado (Demuth and Berens, 2004).

En el caso de las células de glioma, se observa que principalmente invaden zonas extracelulares del cerebro como las áreas alrededor de los vasos sanguíneos o las zonas de parénquima cerebral, rara vez metastatizan fuera del cerebro y no lo hacen a través del sistema circulatorio ni el linfático (Manini et al., 2018). Las células de glioma a la hora de invadir lo hacen preferentemente de manera individual de forma ameboide o mesenquimal y para esto siguen diferentes rutas. Esta forma de invasión es la más efectiva y es casi imposible de detectar por técnicas de diagnóstico por imagen (Manini et al., 2018).

La célula genera protrusiones, gracias a la elevada polimerización de los filamentos de actina, dirigidas en el sentido de la migración, para poder avanzar segregan metaloproteasas para degradar la ECM, de manera que crean nuevos caminos a través de los cuales la célula puede avanzar. Esto es posible gracias a los grupos de integrinas presentes en las protrusiones o pseudópodos que interactúan con la ECM, estas integrinas reclutan proteínas señalizadoras, lo que desencadena la fosforilación/desfosforilación de las adhesiones focales gracias a la acción de la FAK. Es en las zonas de contacto focal entre la célula y la ECM donde se comenzarán a reclutar las proteasas que finalmente acaban degradando la ECM para favorecer el progreso de la invasión (Manini et al., 2018).

Al igual que las células madres neurales, las células de glioma prefieren migrar empleando estructuras cerebrales preexistentes, en base a esto se han determinado varias rutas de invasión que las células de glioma pueden emplear (Fig 2) (de Gooijer, Guillén Navarro, Bernards, Wurdinger, & van Tellingen, 2018), como:

- Los conductos de sustancia blanca compuestos en su mayoría por axones mielínicos y el cuerpo calloso, que es la estructura más grande de estos conductos, es una gran red de fibras nerviosas que conecta ambos hemisferios cerebrales y, por lo tanto, suele ser empleado por las células de glioma para invadir el hemisferio opuesto del cerebro donde se genera el tumor (de Gooijer et al., 2018).
- El espacio perivascular que rodea los vasos sanguíneos, donde las células tumorales tienden a desplazar a los astrocitos y tienen mejor acceso a nutrientes y oxígeno.
- El parénquima cerebral que debido a su alta densidad supone una barrera física de importancia contra la invasión, sin embargo, como ya se mencionó antes, las células de glioma son capaces de modificar la ECM para continuar su invasión (Manini et al., 2018).
- Espacio leptomeningeo o subaracnoideo

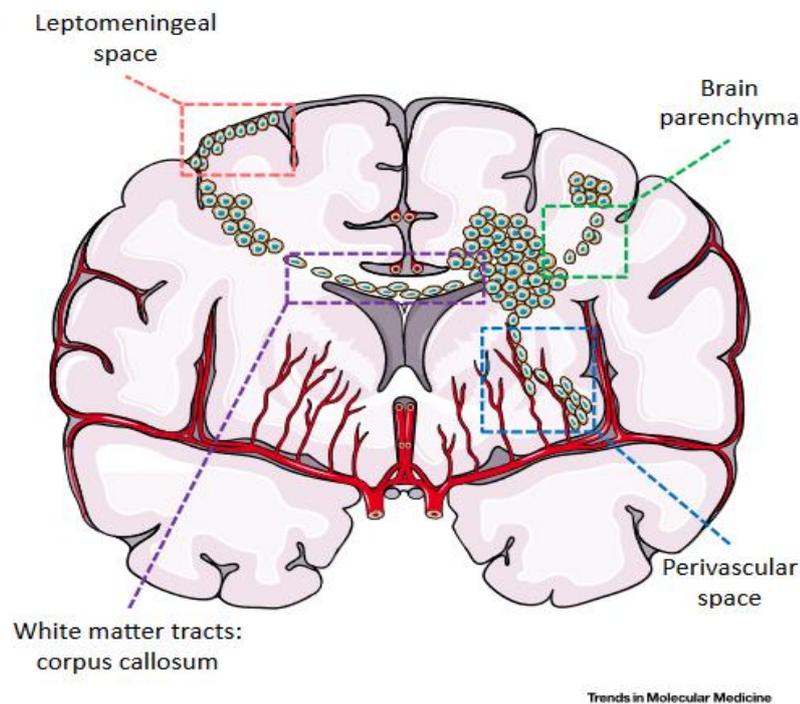


Figura 2. Esquema representativo de las rutas de invasión seguidas por las células de glioma. Las células prefieren migrar a través de estructuras cerebrales ya existentes como el espacio leptomeningeo, el parénquima cerebral, el cuerpo calloso o el espacio perivascular. De Gooijer, M.C., Guillén Navarro, M., Bernards, R., Wurdinger, T. & van Tellingen, O. (2018). *An Experimenter's Guide to Glioblastoma Invasion. Trends in Molecular Medicine*. Imagen recuperada de <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.07.003>.

Las características que presentan estas células tumorales invasivas hacen pensar que son las Glioma Stem Cells (GSC) las responsables del inicio, la capacidad invasiva y de la recurrencia del tumor. Las GSC están muy influenciadas por el microambiente que las rodea, al cual se le conoce como microambiente tumoral (TME) y a su vez este TME está influenciado por las GSC, esta relación promueve la proliferación, la angiogénesis y la invasión (Manini et al., 2018).

En relación a la invasión y el papel de las proteínas Rho GTPasas, se ha descubierto que las células de glioma son capaces de regular algunos miembros de esta familia como Rac1, Cdc42 o RhoA en función de la ruta de invasión preferente. En un estudio, en el que se empleó la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) se observó en las imágenes obtenidas que las células en la periferia del tumor que presentaban varias protrusiones tenían mayor actividad de Rac1. También se observó que las células que invaden vía el parénquima cerebral tienen mayores niveles de Rac1 y Cdc42 y una menor actividad de RhoA (Hirata et al., 2012). Por lo que es interesante seguir investigando si existen patrones similares en las otras rutas de invasión seguida por las células de glioma.

Recientemente, se ha descubierto la existencia de unas protrusiones de membrana dinámicas formadas principalmente por actina y conexina 43, que pueden medir aproximadamente 50 μm o más de longitud y que además son ultradelgadas y se extienden a partir del tejido formado por los gliomas de alto grado. Se considera que estas estructuras tienen una gran importancia en la invasión y en la proliferación de estas células tumorales y son conocidas como TM (Osswald et al., 2015). Estos TM forman una especie de red que es capaz de conectar las células tumorales entre sí, permitiéndoles mejorar su homeostasis y capacidad invasiva gracias a la comunicación que se establece entre ellas. También se considera que los TM son responsables de la resistencia que este tipo de tumores presentan a la radioterapia (Weil et al., 2017a).

Rac 1:

La función principal de las proteínas Rac es la regulación de la organización del citoesqueleto, el crecimiento celular y el mantenimiento de las células madres durante el proceso de desarrollo, las proteínas Rac están formadas por 4 miembros: Rac1, Rac2, Rac3 y RhoG (Lai *et al.*, 2017).

La proteína Rac1 es uno de los miembros más estudiados de la familia de las Rho GTPasas, es uno de los principales reguladores del citoesqueleto en relación con la endocitosis y al tráfico de vesículas, la progresión en el ciclo celular, la migración y la adhesión celular (Cardama *et al.*, 2014). El estudio realizado por Salhia *et al.*, sugiere que existe una relación entre Rac1 y la migración e invasividad de los gliomas demostrando que en los astrocitomas de alto grado existe una hiperactivación de esta proteína en comparación a los gliomas de bajo grado, se observó que dicha proteína se encuentra localizada en la membrana plasmática de células de GBM, pero no en astrocitomas de bajo grado. El estudio sugiere que la hiperactivación de Rac1 se debe a la acción de sus GEF como Trio, Ect2, Vav3, que se encuentran sobre expresados. Aparentemente los niveles de Rac1 en GBM están regulados a nivel postranscripcional, ya sea por un aumento en la estabilidad de su ARNm, en su tasa de traducción o en la estabilidad proteica (Jarzynka *et al.*, 2007; Salhia *et al.*, 2008). Según este mismo estudio realizado *in vitro*, sobre líneas celulares de GBM (U87MG y SNB19), el hecho de que Trio, Ect2 y Vav3 se encuentren sobre expresados en GBM, favorece la invasividad de las células tumorales, lo que convierte a estos GEF en posibles dianas terapéuticas (Salhia *et al.*, 2008).

En el caso de los GBM, una de las vías de señalización que más frecuentemente se ve alterada es la vía de PI3K a causa de la pérdida parcial o total de la expresión de PTEN (causa más común); mutaciones en los receptores de factores de crecimiento o bien mutaciones en la propia enzima (Brennan *et al.*, 2013). P-Rex1 es también un GEF y por lo tanto un activador de Rac, cuya actividad se ve favorecida en presencia de fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfato (PIP3), un segundo mensajero de la vía de la PI3K (Welch *et al.*, 2002). Recientemente, un estudio realizado *in vivo* demostró que P-Rex1 se

encuentra sobre expresado en varios GBM y se relaciona esta proteína con la capacidad invasiva de las células tumorales de GBM, al igual que ya se ha hecho con otros tipos de cánceres como el cáncer de próstata (Qin *et al.*, 2009; Gont *et al.*, 2017). El hecho de que P-Rex1 se encuentre sobre expresado en este tipo de tumores podrían ser un puente de unión entre una de las mutaciones más comunes presentes en el GBM y las proteínas Rac, que como ya se ha visto anteriormente, juega un papel muy importante en la estructuración del citoesqueleto y la motilidad celular, por lo tanto, relaciona directamente las alteraciones en la vía de PI3K con la gran capacidad de invasión de los GBM (Gont *et al.*, 2017).

Otro GEF cuyos niveles también se ven alterados en los gliomas de alto grado, es Dock7, perteneciente a la familia de DOCK, su función es la de activar a la proteína Rac. Según otro estudio, los niveles de Dock7 se están significativamente más elevados en astrocitomas de alto grado en comparación con tejido nervioso no tumoral, se observa también que al comparar los niveles de Dock7 de pacientes con una esperanza de vida corta (media 401 días) y pacientes con una esperanza de vida más larga (media 952 días), empleando la base de datos GSE4290, los niveles de expresión de Dock7 son más elevados en el primer grupo. En dicho estudio, se sugiere que Dock7 es el responsable de mediar la activación de Rac a través HGF, un factor de crecimiento capaz de activar a Rac1 en diferentes tejidos (Murray *et al.*, 2014).

Por otro lado, las semaforinas son una familia de proteínas que actúan como quimiorrepelentes que guían el crecimiento axonal, se ha observado que la semaforina3A interactúa con el receptor neuropilin1, un receptor que ya había sido relacionado con la invasión de células de GBM. La interacción entre este ligando y su receptor promueve la activación de Rac1 (Bagci *et al.*, 2009). Por otra parte, se ha observado que la semaforina5A y su receptor plexin-b3 son capaces de inhibir de manera significativa la migración e invasión de células de glioma a través de la inactivación de Rac1 gracias a la acción de RhoGDI α y a la estimulación de la diferenciación de las células de glioma. En los casos de los astrocitomas de alto grado, se ha observado que, a diferencia de la semaforina3A, la semaforina5A tiene una expresión reducida (Li, Law and Lee,

2012; Fortin Ensign *et al.*, 2013), lo que también podría explicar la hiperactivación en este tipo de gliomas.

RhoA:

RhoA está involucrado en diferentes funciones celulares como la adhesión celular, supervivencia, migración celular, división celular, transporte de vesículas y la expresión de diversos genes. En cuanto a la motilidad celular, RhoA actúa activando a dos proteínas: mDia (*mammalian formin diaphanous-related*) y ROCK (proteína quinasa asociada a Rho). mDia está relacionada con la polimerización de los filamentos de actina, favoreciendo la adición de monómeros de actina por el extremo de crecimiento rápido del filamento (Wheeler & Ridley, 2004) y ROCK, además de favorecer el crecimiento de los filamentos de actina, también es capaz de inducir la contracción celular gracias a la actomiosina, la cual es importante en el proceso de desprendimiento de la parte posterior de las células, lo que permite la migración celular (Wheeler & Ridley, 2004). La acción conjunta de mDia y de ROCK es importante en la regulación de los microtúbulos y en la formación de las fibras de estrés.

En el caso de los gliomas de alto grado, como el GBM, se ha demostrado que tanto mDia como ROCK pueden estar involucrados en el establecimiento de la dirección que seguirán las células durante el proceso de invasión (de Gooijer *et al.*, 2018). Se ha demostrado que la inhibición de mDia provoca la pérdida de la migración direccional en células U251, pero no inhibe la migración aleatoria *in vitro* (Arden *et al.*, 2015). Por otra parte, se ha demostrado que como estrategia terapéutica para el tratamiento de GBM es mucho más efectivo la activación de mDia a través de sus agonistas, como IMM (*Small-Molecule Intramimics*), una pequeña molécula capaz de evitar la auto-inhibición de mDia. Con la activación de mDia se inhibe la motilidad celular y también se disminuye la invasión por parte de las células del GBM cuando están dispuestas de forma esferoide, tanto en modelos *in vivo* como *ex vivo* (Arden *et al.*, 2015).

Un estudio con neuroesferas derivadas de gliomas de alto grado IDH1-*Wild type* de diversos pacientes, donde también se evalúan los efectos del agonismo de mDia con IMM, tanto en la invasividad como en la formación de los TM (protrusiones ricas en microtúbulos estabilizados, F-actina y conexina 43,

mencionados anteriormente), determinó que en estas muestras clínicamente más relevantes, IMM es capaz de inhibir la invasión, provocando la transformación de las células de los bordes de las neuroesferas a una morfología ameboide no móvil y también inhibe la formación de los TM enriquecidos, a los que se les responsabiliza de la quimioresistencia de los gliomas de alto grado y de su gran invasividad (Petree et al., 2019). Se observó también que IMM no es citotóxico y además los efectos observados eran reversibles al eliminar a IMM, demostrando que IMM era el responsable de dichos efectos, por lo tanto podría emplearse como tratamiento de un sólo agente (Petree et al., 2019).

Los gliomas de alto grado tienen tendencia a desplazarse a la zona subventricular de los ventrículos laterales, aunque en el caso del GBM no se sabe si se desplaza hasta dicha zona o si este es su punto de origen (Qin et al., 2017). Sin embargo, un estudio ha demostrado que las células precursoras neurales presentes en la zona subventricular secretan pleiotrofina, un factor de crecimiento que junto con otras proteínas actúa como quimioatrayente para las células de glioma (Qin et al., 2017). La pleiotrofina es capaz de activar la vía Rho/ROCK. ROCK, como ya se mencionó antes, favorece la motilidad celular es por este motivo, que se considera que la pleiotrofina actúa como quimioatrayente al activar esta ruta. También cabe destacar que el uso de inhibidores de ROCK disminuyó la invasión en la zona subventricular, involucrando aún más la activación de ROCK con la invasión de esta zona concreta del cerebro (Qin et al., 2017). Este hecho es importante teniendo en cuenta que el contacto entre el glioma y la zona subventricular está asociada con una mayor mortalidad y mayor recurrencia en el caso del GBM (Mistry et al., 2017).

StarD13 es un GAP de Rho que funciona inhibiendo la actividad de RhoA y de Cdc42 y que, además, actúa como un supresor tumoral en algunos tipos de cáncer como el carcinoma hepatocelular (Khalil et al., 2014), sin embargo, en el caso de los astrocitomas, el *knock down* de StarD13 resultó positivo en el sentido que esto disminuía la migración de las células tumorales, aparentemente, la disminución de la expresión de este GAP provoca que haya una reorganización de los filamentos de actina en fibras de estrés y aumenta el

número de adhesiones focales, hechos que dificultan el desprendimiento de las células de la matriz celular. Estos efectos se relacionan con la acción de RhoA CA (Khalil et al., 2014).

El papel que puede tener RhoA puede parecer contradictorio ya que se necesita tanto su activación como su inactivación para el proceso de migración, todo depende de su ubicación dentro de la célula. RhoA es necesario para la migración ya que propicia la estabilización de las protrusiones en el extremo celular que dirige la migración y genera la fuerza contráctil a lo largo del cuerpo de la célula necesaria para separarla de la matriz, pero también es importante que RhoA se encuentre inactivo en las adhesiones focales de la parte posterior de la célula, para que así de puedan deshacer estas adhesiones y la cola se pueda retraer (Khalil et al., 2014). Es importante encontrar la manera de impedir la migración a través de RhoA teniendo en cuenta estos patrones de activación/inactivación necesarios para la motilidad celular.

Cdc42:

Cdc42 o proteína del control del ciclo celular 42 es un miembro de la familia de las Rho GTPasas relacionada con la regulación del ciclo celular, descubierta por primera vez en *S. cerevisiae*. La activación de Cdc42 resulta en la estimulación de diversas cascadas de señalización que controlan diversos procesos celulares como la remodelación del citoesqueleto, la polaridad, regulación de la migración o la proliferación (Stengel & Zheng, 2011). Se considera que es una proteína oncogénica y se ha visto que se encuentra sobre expresada en diferentes tumores malignos, también se la ha asociado con la aceleración de la migración y la invasión tumoral a través de la reorganización del citoesqueleto (Shi et al., 2017).

En un estudio donde se investigó el papel que podía tener Cdc42 en la morfología, tumorigenicidad y patrón de crecimiento de células de GBM, se demostró que la activación de la expresión de Cdc42 favorecía la migración y la invasión de células de glioma humano en un modelo ortotópico de glioma (Okura et al., 2016).

En dicho estudio se observó que las células que poseían Cdc42 CA, presentaban mayor número de filopodios que las células con un *Wild type* o las células *Dominant Negative*. También se observó que las células con Cdc42 CA presentaban un mayor número de adhesiones focales. Estas adhesiones focales son importantes porque la interacción entre los receptores de membrana y la EMC está involucrada en el control de la contracción de los filamentos de actina. Para que una célula se expanda, primero es necesario que esté en contacto con la ECM para después poder formar protrusiones que favorecerán la migración. Por lo tanto, si la adhesión a la EMC se ve afectada las células no podrán formar protrusiones como los filopodios. Es debido a esto que el aumento de adhesiones focales inducido por Cdc42 CA puede potenciar la migración y la invasión (Okura et al., 2016).

FAK, que es una proteína quinasa citoplasmática, está presente en diferentes tipos celulares y tiene un papel importante en la activación de diferentes vías de señalización, así como en la potenciación de la migración celular (Natarajan, Hecker, & Gladson, n.d.). Se ha demostrado que la expresión de FAK es elevada en GBM y se observó que FAK fosforilado está colocalizado con las adhesiones focales, debido a que Cdc42 CA es capaz de aumentar la cantidad de adhesiones focales, se ha relacionado la presencia de FAK fosforilado en las adhesiones focales con Cdc42. Se cree que Cdc42 puede controlar la localización de FAK fosforilado, potenciando así la invasividad de los gliomas (Okura et al., 2016).

Según un estudio la disminución en la expresión de unos microRNAs específicos (MiR29a/b/c) puede estar estrechamente relacionada con la sobre expresión de Cdc42 en gliomas (Shi et al., 2017). MiR29a/b/c son tres miembros de una familia de microRNAs humano, que están relacionados con la apoptosis, la diferenciación y la proliferación celular. Actúan como supresor tumoral en diversos casos y su baja expresión ha sido relacionada con diferentes tipos de cáncer como el melanoma, la leucemia, el cáncer de hígado, de colon, entre otros (Kriegel, Liu, Fang, Ding, & Liang, 2012).

Este mismo estudio, destaca que una regulación positiva de estos microRNAs podría disminuir la migración y la invasión de células de glioma al actuar directamente sobre Cdc42 (Shi et al., 2017). En los 147 muestras de glioma

humano de grado I-IV según WHO analizadas en el estudio, se observó que las que mejor pronóstico tenían eran aquellas con niveles más altos de miR-29a/b/c y más bajos de Cdc42, de manera que estas dos moléculas podrían actuar como biomarcadores para futuros pronósticos y podrían jugar un papel importante en la terapia contra este tipo de tumores ya que miR-29a/b/c podría actuar como un supresor tumoral de gliomas astrocíticos (Shi et al., 2017).

Discusión:

Los gliomas de alto grado son difíciles de tratar ya que se caracterizan por la alta invasividad, proliferación y resistencia a la quimioterapia y radioterapia. Identificar qué rutas se encuentran desreguladas favoreciendo estas características es crucial en la identificación de dianas terapéuticas que puedan suponer una mejor perspectiva para el pronóstico de estos pacientes.

En el proceso de motilidad celular están involucradas diversos tipos de proteínas, entre ellas la familia de las Rho GTPasas, que en humanos están compuestas por 20 miembros, algunos de los cuales se ha observado que se encuentran desregulados en los gliomas de alto grado, incluyendo su manifestación clínica más agresiva, el GBM. Esta desregulación se debe principalmente a la alteración de los GEF que regulan a las Rho GTPasas y los efectos que esto produce son ejecutados por sus diversos efectores.

Según la información recogida, en los gliomas de alto grado se puede observar una hiperactivación de algunos miembros de la familia de las Rho, como Rac1, probablemente debido a la acción de sus GEF como Trio, Ect2, Vav3 o P-Rex, lo que convierte a estos GEF en posibles dianas terapéuticas (Jarzynka *et al.*, 2007; Salhia *et al.*, 2008; Gont *et al.*, 2017).

En el caso de RhoA, su papel en la invasión por parte de los gliomas de alto grado es algo más complicado, puesto que sus dos principales efectores parecen tener efectos opuestos en la migración celular. Mientras que la activación de mDia parece disminuir la invasión tanto en experimentos *in vivo* como *ex vivo* (Arden et al., 2015; Pettee et al., 2019), la activación de ROCK mediada por la pleiotrofina parece favorecer la invasión de la zona

subventricular, hecho que se relaciona a una mortalidad aun mayor al igual que a una mayor recurrencia por parte del tumor (Mistry et al., 2017; Qin et al., 2017). Esto sugiere que agonistas de mDia como IMM o inhibidores de ROCK podrían ser candidatos efectivos en ensayos clínicos para el tratamiento de GBM.

Por otro lado, la hiperactivación de Cdc42 parece ser otra característica de los gliomas más invasivos (Okura et al., 2016). Se cree que Cdc42 podría controlar la localización de FAK fosforilado, una quinasa conocida por potenciar la invasión de algunos tumores y por tener unos niveles elevados en gliomas de alto grado (Natarajan et al., n.d.; Okura et al., 2016). El uso de los microRNAs MiR29 a/b/c podrían ser de utilidad para tratar la hiperactivación de Cdc42, ya que se ha relacionado la disminución de los niveles de estos microRNAs con una mayor expresión de Cdc42, el cual actúa como supresor tumoral en diversos casos (Shi et al., 2017).

Actualmente, se están llevando a cabo ensayos clínicos con metformina, un conocido fármaco en el tratamiento de la diabetes. Se ha descubierto que dicho medicamento es capaz de afectar la migración y la motilidad celular en las líneas celulares SF267 y U87 (Al Hassan et al., 2018). Se cree que la proteína antiapoptótica AKT de la vía de señalización PI3K es la principal mediadora del mecanismo de acción del medicamento (Al Hassan et al., 2018). La metformina actuaría inhibiendo a AKT, provocando a su vez la inhibición de la vía de señalización de la PI3K que entre otras cosas es responsable de la activación de Rac1 (Welch et al., 2002).

También cabe destacar, la importancia de los TM y el papel que juegan en la comunicación celular y como su presencia se asocia a una mayor malignidad y resistencia a la radioterapia y quimioterapia (Weil et al., 2017a). Recientemente, se les ha atribuido también la capacidad de inducir la repoblación con células malignas de zonas del cerebro donde se ha realizado una resección quirúrgica del tumor (Weil et al., 2017b). Sería interesante, estudiar el papel que pueden jugar las proteínas Rho en la formación y estabilidad de esta red de microtúbulos como una estrategia para evitar su

formación y así sensibilizar estas células malignas a los tratamientos ya existentes.

En resumen, se ha demostrado que el nivel de actividad de algunas Rho GTPasas se encuentra alterado en los gliomas de alto grado, como el GBM, el glioma clínicamente más agresivo y el más frecuente. La hiperactivación de Rac1 y de Cdc42 posiblemente es uno de los rasgos más característicos de las células invasivas de GBM. Dicha hiperactivación en las células tumorales provoca que éstas puedan modificar la dinámica del citoesqueleto en favor de una mayor capacidad invasiva. Es por esto, que estas proteínas, sus reguladores y/o efectores son de tanta importancia a la hora de encontrar una diana terapéutica que permita terminar o controlar la alta invasividad, una de las características más preocupantes de los GBM.

Bibliografía:

1. Bagci, T., Wu, J. K., Pfannl, R., Ilag, L. L. and Jay, D. G. (2009) 'Autocrine semaphorin 3A signaling promotes glioblastoma dispersal', *Oncogene*, 28(40), pp. 3537–3550. doi: 10.1038/onc.2009.204.
2. Belot, N., Pochet, R., Heizmann, C. W., Kiss, R. and Decaestecker, C. (2002) 'Extracellular S100A4 stimulates the migration rate of astrocytic tumor cells by modifying the organization of their actin cytoskeleton.', *Biochimica et biophysica acta*, 1600(1–2), pp. 74–83. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12445462> (Accessed: 31 July 2018).
3. Boureux, A., Vignal, E., Faure, S. and Fort, P. (2007) 'Evolution of the Rho Family of Ras-Like GTPases in Eukaryotes', *Molecular Biology and Evolution*, 24(1), pp. 203–216. doi: 10.1093/molbev/msl145.
4. Brennan, C. W., Verhaak, R. G. W., McKenna, A., Campos, B., Nounshmehr, H., Salama, S. R., Zheng, S., Chakravarty, D., Sanborn, J. Z., Berman, S. H., Beroukhim, R., Bernard, B., Wu, C.-J., Genovese, G., Shmulevich, I., Barnholtz-Sloan, J., Zou, L., Vegesna, R., Shukla, S. A., Ciriello, G., Yung, W. K., Zhang, W., Sougnez, C., Mikkelsen, T., Aldape, K., Bigner, D. D., Van Meir, E. G., Prados, M., Sloan, A., Black, K. L., Eschbacher, J., Finocchiaro, G., Friedman, W., Andrews, D. W., Guha, A., Iacocca, M., O'Neill, B. P., Foltz, G., Myers, J., Weisenberger, D. J., Penny, R., Kucherlapati, R., Perou, C. M., Hayes, D. N., Gibbs, R., Marra, M., Mills, G. B., Lander, E., Spellman, P., Wilson, R., Sander, C., Weinstein, J., Meyerson, M., Gabriel, S., Laird, P. W., Haussler, D., Getz, G., Chin, L. and TCGA Research Network (2013) 'The somatic genomic landscape of glioblastoma.', *Cell*. NIH Public Access, 155(2), pp. 462–77. doi: 10.1016/j.cell.2013.09.034.
5. Cardama, G. A., Gonzalez, N., Ciarlantini, M., Gandolfi Donadio, L., Comin, M. J., Alonso, D. F., Menna, P. L. and Gomez, D. E. (2014) 'Proapoptotic and antiinvasive activity of Rac1 small molecule inhibitors on malignant glioma cells.', *OncoTargets and therapy*. Dove Press, 7, pp. 2021–33. doi: 10.2147/OTT.S67998.
6. Demuth, T. and Berens, M. E. (2004) 'Molecular Mechanisms of Glioma Cell Migration and Invasion', *Journal of Neuro-Oncology*, 70(2), pp. 217–228. doi: 10.1007/s11060-004-2751-6.

7. Fortin Ensign, S. P., Mathews, I. T., Symons, M. H., Berens, M. E. and Tran, N. L. (2013) 'Implications of Rho GTPase Signaling in Glioma Cell Invasion and Tumor Progression.', *Frontiers in oncology*. Frontiers Media SA, 3, p. 241. doi: 10.3389/fonc.2013.00241.
8. Gont, A., Daneshmand, M., Woulfe, J., Lavictoire, S. J. and Lorimer, I. A. J. (2017) 'PREX1 integrates G protein-coupled receptor and phosphoinositide 3-kinase signaling to promote glioblastoma invasion.', *Oncotarget*. Impact Journals, LLC, 8(5), pp. 8559–8573. doi: 10.18632/oncotarget.14348.
9. Jarzynka, M. J., Hu, B., Hui, K.-M., Bar-Joseph, I., Gu, W., Hirose, T., Haney, L. B., Ravichandran, K. S., Nishikawa, R. and Cheng, S.-Y. (2007) 'ELMO1 and Dock180, a Bipartite Rac1 Guanine Nucleotide Exchange Factor, Promote Human Glioma Cell Invasion', *Cancer Research*, 67(15), pp. 7203–7211. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-0473.
10. Lai, Y.-J., Tsai, J.-C., Tseng, Y.-T., Wu, M.-S., Liu, W.-S., Lam, H.-I., Yu, J.-H., Nozell, S. E. and Benveniste, E. N. (2017) 'Small G protein Rac GTPases regulate the maintenance of glioblastoma stem-like cells in vitro and in vivo.', *Oncotarget*. Impact Journals, LLC, 8(11), pp. 18031–18049. doi: 10.18632/oncotarget.14949.
11. Langlois, A., Lee, S., Kim, D. S., Dirks, P. B. and Rutka, J. T. (2002) 'p16(ink4a) and retinoic acid modulate rhoA and GFAP expression during induction of a stellate phenotype in U343 MG-A astrocytoma cells.', *Glia*, 40(1), pp. 85–94. doi: 10.1002/glia.10127.
12. Lefranc, F., Camby, I., Belot, N., Bruyneel, E., Chaboteaux, C., Brotchi, J., Mareel, M., Salmon, I. and Kiss, R. (2002) 'Gastrin significantly modifies the migratory abilities of experimental glioma cells.', *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 82(9), pp. 1241–52. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12218085> (Accessed: 31 July 2018).
13. Li, X., Law, J. W. S. and Lee, A. Y. W. (2012) 'Semaphorin 5A and plexin-B3 regulate human glioma cell motility and morphology through Rac1 and the actin cytoskeleton', *Oncogene*, 31(5), pp. 595–610. doi: 10.1038/onc.2011.256.
14. Louis, D. N., Perry, A., Reifenberger, G., von Deimling, A., Figarella-Branger, D., Cavenee, W. K., Ohgaki, H., Wiestler, O. D., Kleihues, P. and Ellison, D. W. (2016) 'The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary', *Acta Neuropathologica*, 131(6), pp. 803–820. doi: 10.1007/s00401-016-1545-1.
15. Mayo Clinic (2017) *Glioma - Síntomas y causas - Mayo Clinic*. Available at: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/glioma/symptoms-causes/syc-20350251> (Accessed: 27 July 2018).
16. Murray, D. W., Didier, S., Chan, A., Paulino, V., Van Aelst, L., Ruggieri, R., Tran, N. L., Byrne, A. T. and Symons, M. (2014) 'Guanine nucleotide exchange factor Dock7 mediates HGF-induced glioblastoma cell invasion via Rac activation.', *British journal of cancer*. Nature Publishing Group, 110(5), pp. 1307–15. doi: 10.1038/bjc.2014.39.
17. del Pulgar, T. G., Benitah, S. A., Valerón, P. F., Espina, C. and Lacal, J. C. (2005) 'Rho GTPase expression in tumorigenesis: Evidence for a significant link', *BioEssays*. Wiley-Blackwell, 27(6), pp. 602–613. doi: 10.1002/bies.20238.
18. Qin, J., Xie, Y., Wang, B., Hoshino, M., Wolff, D. W., Zhao, J., Scofield, M. A., Dowd, F. J., Lin, M.-F. and Tu, Y. (2009) 'Upregulation of PIP3-dependent Rac exchanger 1 (P-Rex1) promotes prostate cancer metastasis', *Oncogene*, 28(16), pp. 1853–1863. doi: 10.1038/onc.2009.30.
19. Ridley, A. J. (2015) 'Rho GTPase signalling in cell migration.', *Current opinion in cell biology*. Elsevier, 36, pp. 103–12. doi: 10.1016/j.ceb.2015.08.005.
20. Ridley, A. J. and Hall, A. (1992) 'The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors.', *Cell*, 70(3), pp. 389–99. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1643657> (Accessed: 30 July 2018).
21. Sadok, A. and Marshall, C. J. (2014) 'Rho GTPases: masters of cell migration.', *Small GTPases*. Taylor & Francis, 5, p. e29710. doi: 10.4161/sgtp.29710.
22. Sahlia, B., Tran, N. L., Chan, A., Wolf, A., Nakada, M., Rutka, F., Ennis, M., McDonough, W. S., Berens, M. E., Symons, M. and Rutka, J. T. (2008) 'The Guanine Nucleotide Exchange Factors Trio, Ect2, and Vav3 Mediate the Invasive Behavior of

- Glioblastoma', *The American Journal of Pathology*, 173(6), pp. 1828–1838. doi: 10.2353/ajpath.2008.080043.
23. Sinning, M. (2017) 'CLASIFICACIÓN DE LOS TUMORES CEREBRALES', *Revista Médica Clínica Las Condes*. Elsevier, 28(3), pp. 339–342. doi: 10.1016/J.RMCLC.2017.05.002.
 24. Snell, R. S. (2007) *Neuroanatomía clínica*. Editorial Médica Panamericana. Available at: https://books.google.es/books?id=9AjM5_4tmMkC&pg=PA56&dq=neuroglía+funciones&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjuseTJxvjbAhWrA5oKHa9QAnMQ6AEILTAB#v=onepage&q=neuroglía+funciones&f=false (Accessed: 29 June 2018).
 25. Sociedad Argentina de Investigación Clínica., J., González, N., Cardama, G. A. and Gomez, D. E. (2017) *Medicina: organo de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica., Medicina (Buenos Aires)*. La Sociedad. Available at: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802017000600009 (Accessed: 30 July 2018).
 26. Sociedad Argentina de Investigación Clínica., P., Cardama, G. A., Comin, M. J., Alonso, D. F. and Gómez, D. E. (2010) *Medicina: organo de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica., Medicina (Buenos Aires)*. La Sociedad. Available at: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802010000600015 (Accessed: 4 August 2018).
 27. The Johns Hopkins University (no date) *Gliomas | Johns Hopkins Medicine Health Library*. Available at: https://www.hopkinsmedicine.org/healthlibrary/conditions/nervous_system_disorders/gliomas_134,22 (Accessed: 27 July 2018).
 28. Unidad de Neurocirugía RGS (2018) *¿Qué es un Glioma? - Unidad de Neurocirugía RGS*. Available at: <https://neurorgs.net/informacion-al-paciente/patologia-craneoencefalica/que-es-un-glioma/> (Accessed: 29 June 2018).
 29. Welch, H. C. E., Coadwell, W. J., Ellson, C. D., Ferguson, G. J., Andrews, S. R., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Hawkins, P. T. and Stephens, L. R. (2002) 'P-Rex1, a PtdIns(3,4,5)P3- and Gbetagamma-regulated guanine-nucleotide exchange factor for Rac.', *Cell*, 108(6), pp. 809–21. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11955434> (Accessed: 7 August 2018).
 30. Al Hassan, M., Fakhoury, I., El Masri, Z., Ghazale, N., Dennaoui, R., El Atat, O., ... El-Sibai, M. (2018). Metformin Treatment Inhibits Motility and Invasion of Glioblastoma Cancer Cells. *Analytical Cellular Pathology*, 2018, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2018/5917470>
 31. Arden, J. D., Lavik, K. I., Rubinic, K. A., Chiaia, N., Khuder, S. A., Howard, M. J., ... Eisenmann, K. M. (2015). Small-molecule agonists of mammalian Diaphanous-related (mDia) formins reveal an effective glioblastoma anti-invasion strategy. *Molecular Biology of the Cell*, 26(21), 3704–3718. <https://doi.org/10.1091/mbc.E14-11-1502>
 32. de Gooijer, M. C., Guillén Navarro, M., Bernards, R., Wurdinger, T., & van Tellingen, O. (2018). An Experimenter's Guide to Glioblastoma Invasion Pathways. *Trends in Molecular Medicine*, 24(9), 763–780. <https://doi.org/10.1016/J.MOLMED.2018.07.003>
 33. Hirata, E., Yukinaga, H., Kamioka, Y., Arakawa, Y., Miyamoto, S., Okada, T., ... Matsuda, M. (2012). In vivo fluorescence resonance energy transfer imaging reveals differential activation of Rho-family GTPases in glioblastoma cell invasion. *Journal of Cell Science*, 125(4), 858–868. <https://doi.org/10.1242/JCS.089995>
 34. Khalil, B. D., Hanna, S., Saykali, B. A., El-Sitt, S., Nasrallah, A., Marston, D., ... El-Sibai, M. (2014). The regulation of RhoA at focal adhesions by StarD13 is important for astrocytoma cell motility. *Experimental Cell Research*, 321(2), 109–122. <https://doi.org/10.1016/J.YEXCR.2013.11.023>
 35. Kriegel, A. J., Liu, Y., Fang, Y., Ding, X., & Liang, M. (2012). The miR-29 family: genomics, cell biology, and relevance to renal and cardiovascular injury. *Physiological Genomics*, 44(4), 237–244. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00141.2011>
 36. Manini, I., Caponnetto, F., Bartolini, A., Ius, T., Mariuzzi, L., Di Loreto, C., ... Cesselli, D. (2018). Role of Microenvironment in Glioma Invasion: What We Learned from In

- Vitro Models. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1).
<https://doi.org/10.3390/ijms19010147>
37. Mistry, A. M., Dewan, M. C., White-Dzuro, G. A., Brinson, P. R., Weaver, K. D., Thompson, R. C., ... Chambless, L. B. (2017). Decreased survival in glioblastomas is specific to contact with the ventricular-subventricular zone, not subgranular zone or corpus callosum. *Journal of Neuro-Oncology*, 132(2), 341–349.
<https://doi.org/10.1007/s11060-017-2374-3>
 38. Natarajan, M., Hecker, T. P., & Gladson, C. L. (n.d.). FAK signaling in anaplastic astrocytoma and glioblastoma tumors. *Cancer Journal (Sudbury, Mass.)*, 9(2), 126–133. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12784878>
 39. Okura, H., Golbourn, B. J., Shahzad, U., Agnihotri, S., Sabha, N., Krieger, J. R., ... Rutka, J. T. (2016). A role for activated Cdc42 in glioblastoma multiforme invasion. *Oncotarget*, 7(35), 56958–56975. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.10925>
 40. Osswald, M., Jung, E., Sahm, F., Solecki, G., Venkataramani, V., Blaes, J., ... Winkler, F. (2015). Brain tumour cells interconnect to a functional and resistant network. *Nature*, 528(7580), 93–98. <https://doi.org/10.1038/nature16071>
 41. Parsons, D. W., Jones, S., Zhang, X., Lin, J. C.-H., Leary, R. J., Angenendt, P., ... Kinzler, K. W. (2008). An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science (New York, N.Y.)*, 321(5897), 1807–1812.
<https://doi.org/10.1126/science.1164382>
 42. Pettee, K., Becker, K., Alberts, A., Reinard, K., Schroeder, J., Eisenmann, K., ... Eisenmann, K. M. (2019). Targeting the mDia Formin-Assembled Cytoskeleton Is an Effective Anti-Invasion Strategy in Adult High-Grade Glioma Patient-Derived Neurospheres. *Cancers*, 11(3), 392. <https://doi.org/10.3390/cancers11030392>
 43. Qin, E. Y., Cooper, D. D., Abbott, K. L., Lennon, J., Nagaraja, S., Mackay, A., ... Monje, M. (2017). Neural Precursor-Derived Pleiotrophin Mediates Subventricular Zone Invasion by Glioma. *Cell*, 170(5), 845-859.e19.
<https://doi.org/10.1016/J.CELL.2017.07.016>
 44. Ramírez García, J. R. (2017). *Clasificación de los tumores del SNC, patrones genéticos y moleculares*.
 45. Sharma, M., Juthani, R. G., & Vogelbaum, M. A. (2017). Updated response assessment criteria for high-grade glioma: beyond the MacDonald criteria. *Chinese Clinical Oncology*, 6(4). <https://doi.org/10.21037/cco.v0i0.16078>
 46. Shi, C., Ren, L., Sun, C., Yu, L., Bian, X., Zhou, X., ... Yu, S. (2017). miR-29a/b/c function as invasion suppressors for gliomas by targeting CDC42 and predict the prognosis of patients. *British Journal of Cancer*, 117(7), 1036–1047.
<https://doi.org/10.1038/bjc.2017.255>
 47. Stengel, K., & Zheng, Y. (2011). Cdc42 in oncogenic transformation, invasion, and tumorigenesis. *Cellular Signalling*, 23(9), 1415–1423.
<https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2011.04.001>
 48. Weil, S., Osswald, M., Solecki, G., Grosch, J., Jung, E., Lemke, D., ... Winkler, F. (2017a). Tumor microtubules convey resistance to surgical lesions and chemotherapy in gliomas. *Neuro-Oncology*, 19(10), 1316–1326. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox070>
 49. Weil, S., Osswald, M., Solecki, G., Grosch, J., Jung, E., Lemke, D., ... Winkler, F. (2017b). Tumor microtubules convey resistance to surgical lesions and chemotherapy in gliomas. *Neuro-Oncology*, 19(10), 1316–1326. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox070>
 50. Wheeler, A. P., & Ridley, A. J. (2004). Why three Rho proteins? RhoA, RhoB, RhoC, and cell motility. *Experimental Cell Research*, 301(1), 43–49.
<https://doi.org/10.1016/J.YEXCR.2004.08.012>