

## Efecto de <sup>V600E</sup>BRAF sobre la autofagia en células tumorales

Beatriz Gallego Tamayo, Eva Jiménez-Mora, Antonio Chiloeches

Departamento Biología de Sistemas, Facultad de Medicina. Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, Madrid. España.

bgallego28@gmail.com

II Congreso de Señalización Celular, SECUAH 2017.

14-16 de marzo, 2017. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares, Madrid. España.

Sesión 1a, Cáncer

**Palabras clave:** autofagia; <sup>V600E</sup>BRAF; tiroides; apoptosis

### Resumen

El cáncer de tiroides es el tumor endocrino más común y, aunque es altamente curativo, presenta una elevada tasa de recurrencia [1]. Una de las mutaciones más frecuentes en este tipo de tumores es la sustitución de la Valina 600 por un Glutámico (<sup>V600E</sup>) en la proteína BRAF. Esta mutación causa una hiperactivación de la vía de las ERK-MAPKs, favoreciendo la proliferación e invasividad tumoral e inhibiendo la muerte celular por apoptosis [2,3]. Sin embargo, las terapias con inhibidores de BRAF no dan los resultados esperados en el tratamiento del cáncer de tiroides, ya que causa importantes efectos adversos de lesiones de la piel asociadas a hiperproliferación llegando, en algunos casos, a producirse carcinomas de células escamosas y queratoacantomas en un 15-30% de los pacientes [4]. Debido a esto, se plantea la necesidad de utilizar terapias combinadas para aumentar la efectividad y especificidad del tratamiento en este tipo de cáncer. Por otra parte, la autofagia es un proceso celular por el cual se produce un reciclaje de los componentes celulares, mediante su incorporación a lisosomas a través de la formación de unas vesículas denominadas autofagosomas [5]. Este proceso ha adquirido gran importancia en el estudio del cáncer y se le han atribuido tanto efectos pro-tumorales, ya que actúa como método de defensa frente a situaciones de estrés celular, como anti-tumorales llevando a la muerte celular [6,7]. Por todo ello, estudiamos el papel que posee la autofagia en células tumorales tiroideas que presentan la mutación <sup>V600E</sup>BRAF sobre la viabilidad celular y la sensibilidad al tratamiento con PLX4720, el inhibidor de <sup>V600E</sup>BRAF. Para ello, en primer lugar analizamos como la inhibición de BRAF, por el tratamiento inhibitorio con PLX4720 o silenciamiento con siRNA, modula la autofagia en la línea celular derivada de un tumor anaplásico tiroideo BHT101. La eliminación de la actividad y expresión de BRAF disminuye los niveles de la proteína p62 y aumenta los de la proteína LC3-II, indicativos de activación del proceso de autofagia. Esta modulación parece llevarla a cabo a través de la regulación de AMPK y mTOR, principales reguladores del proceso autofágico [8]. Respecto a la viabilidad celular y la apoptosis, la determinamos mediante MTT y citometría de flujo, tras el tratamiento con los inhibidores de la autofagia Bafilomicina A1 o 3-metiladenina (3-MA), en las células BHT101. Nuestros resultados indican que la inhibición de la autofagia aumenta la muerte celular en estas células. Por otra parte, el tratamiento con PLX4720 junto con la inhibición de la autofagia produce mayores efectos sobre la supervivencia que cada tratamiento por separado. Todos estos datos indican que la autofagia es un proceso modulador de la supervivencia de las células tumorales tiroideas y podría ser utilizada como una diana terapéutica en los tumores tiroideos con la mutación <sup>V600E</sup>BRAF que no responden adecuadamente al tratamiento convencional con PLX4720.

1. Migzha, Xing. 2013. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nature Reviews/Cancer*, 13:184-99.
2. Kam-Tsun, Tang y Chen Hsen, Lee. 2010. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma: pathogenic role and clinical implications. *J Chin Med Assoc.*, 73 (3):113-128.
3. Karasarides M, Chiloeches A, Hayward R, Niculescu-Duvaz D, Scanlon I, Friedlos F, y cols. 2004. B-RAF is a therapeutic target in melanoma. *Oncogene*, 23(37): 6292-
4. Flaherty, K., Puzanov, I., Sosman, J., Kim, K., Ribas, A., McArthur, G., et al. 2009. Phase I study of PLX4032: Proof of concept for <sup>V600E</sup>BRAF mutation as a therapeutic target. *J Clin Oncol.*, 27.
5. Boya P, Reggiori F, Codogno P. Emerging regulation and functions of autophagy. *Nat Cell Biol.* 15: 713-20.
6. Lin CI, Whang EE, Abramson MA, Jiang X, Price BD, Donner DB, Moore FD Jr, Ruan DT. 2009. Autophagy: a new target for advanced papillary thyroid cancer therapy. *Surgery*, 146: 1208-14.
7. Vucicevic L, Misirkic M, Janjetovic K, Vilimanovich U, Sudar E, Isenovic E, Prica M, Harhaji-Trajkovic L, Kravic-Stevovic T, Bumbasirevic V y Trajkovic V. 2011. Compound C induces protective autophagy in cancer cells through AMPK inhibition-independent blockade of Akt/mTOR pathway. *Autophagy*, 7(1): 40-50.
8. Eskelinen E. 2011. The dual role of autophagy in cancer. *Current Opinion in Pharmacology*, 11:294-300.

**Cita:** Gallego B, Jiménez-Mora E, Chiloeches A (2017) Efecto de <sup>V600E</sup>BRAF sobre la autofagia en células tumorales. *Actas del II Congreso de Señalización Celular, SECUAH 2017*. 14-16 de marzo, 2017. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares, Madrid. España. Sesión 1a, Cáncer. *Dianas* 6 (1): e20170301a01. ISSN 1886-8746 (electronic) journal.dianas.e20170301a01. URI <http://hdl.handle.net/10017/15181>

**Copyright:** ©2017 Gallego B, Jiménez-Mora E, Chiloeches A.

Este es un artículo open-access distribuido bajo los términos de una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

