



REAL ACADÈMIA DE MEDICINA DE LA COMUNITAT VALENCIANA

**SUSURROS Y CARICIAS CELULARES
EN EL DESARROLLO Y EL CÁNCER DE CEREBRO**

DISCURSO DE RECEPCIÓN DEL ACADÉMICO ELECTO

ILMO. SR. DR.

D. Salvador Martínez Pérez

DISCURSO DE CONTESTACIÓN DEL ACADEMICO NUMERARIO

ILMO . SR. DR.

D. Carlos Belmonte Martínez

Leídos el 15 de diciembre de 2022

VALENCIA



REAL ACADEMIA DE MEDICINA DE LA COMUNIDAD VALENCIANA

**SUSURROS Y CARICIAS CELULARES
EN EL DESARROLLO Y EL CÁNCER DE CEREBRO**

DISCURSO DE RECEPCIÓN DEL ACADÉMICO ELECTO

ILMO. SR. DR.

D. Salvador Martínez Pérez

DISCURSO DE CONTESTACIÓN DEL ACADEMICO NUMERARIO

ILMO . SR. DR.

D. Carlos Belmonte Martínez

Leídos el 15 de diciembre de 2022

VALENCIA

Sumario

Discurso de recepción del académico electo, Ilmo. Sr. Dr. D. Salvador Martínez Pérez. *Susurros y caricias celulares en el desarrollo y el cáncer de cerebro* 7

Presentación 9

Las células del glioblastoma: susurrantes y cariñosas 13

Los pericitos: las células que se dejan susurrar y acariciar 14

1 La cooptación vascular produce malformación vascular y cambios en la contractilidad de los pericitos 16

2 La interacción glioblastoma-PC induce propiedades inmunosupresoras en los PC 21

3 Inducción de la actividad de autofagia mediada por chaperonas (CMA) en el PC 25

Conclusiones 28

Bibliografía 29

Discurso de contestación del académico numerario Ilmo. Sr. Dr. D. Carlos Belmonte Martínez 41

**SUSURROS Y CARICIAS CELULARES
EN EL DESARROLLO Y EL CÁNCER DE CEREBRO**

DISCURSO DE RECEPCIÓN

DEL ACADÉMICO ELECTO

ILMO. SR. DR.

D. Salvador Martínez Pérez

EXCMO. SR. PRESIDENTE,
EXCMOS. E ILMOS. SEÑORES,
ILMOS SRES. Y SRAS. ACADEMICOS,
SEÑORAS Y SEÑORES:

EN ESTA CONFERENCIA sigo los pasos del Neurocientífico más grande que nos ha dado nuestra patria, ilustre Profesor en esta Facultad de Medicina, Santiago Ramón y Cajal, en su discurso de entrada en la Academia de Ciencias, aceptando de buen grado la costumbre agradecer y atribuir mi elección, “no solo á los dictados de la razón, sino á los generosos impulsos de vuestra benevolencia”. Seguro, como Cajal, de que no parece necesario convencer de los méritos científicos que me “adornan”, y de los cuales ya se me supone revestido, sino de “méritos morales, humildad, modestia y gratitud, para conciliar, la buena voluntad y el ambicionado aprecio de vosotros, compañeros”.

Gracias en primer lugar a la Academia y a cada uno de sus ilustres miembros, que han tenido la generosidad de elegirme para pertenecer a la misma, ocupando el Sillón nº 2 de la Especialidad de Neurociencias, honor que agradezco de gran manera. Gracias también a los académicos que directamente presentaron mi candidatura, Don Juan Caturla Such y Don Justo Medrano Heredia, que vinieron a anunciarme su propuesta de la cálida mano de Dña. Rosa Ballester Añón. Su prestigio científico, académico y profesional hace mas honorable su iniciativa. Espero no defraudaros en el compromiso que asumo con gran entusiasmo y humildad.

Extiendo mi agradecimiento a mis maestros, a Luis Puelles que hizo germinar en mi la curiosidad por la Neurociencia y el amor a la docencia de la Anatomía; Constantino Sotelo y Cuca Alvarado-Mallar que, junto con Luis, me mostraron que la autonomía mental es la fuente de la originalidad en ciencia. A John Rubenstein, por su amistad, confianza y apoyo. A mis

colaboradores, de anatomía (Diego, Eduardo, Ana y Raquel) y de fisiología (Roberto Gallego y Emilio Geijo), que me han acompañado en todo momento en las aventuras experimentales y retos científicos que les proponía. Finalmente, agradecer a mi familia el que me haya acompañado en toda mi vida profesional, aguantando con paciencia y resignación mi dedicación casi exclusiva al mundo de las ideas. Y en general a todas y todos amigos que han estado y están a mi lado, y que representan la energía para la motivación y el sacrificio en el trabajo.

Creo que mi vocación por la medicina estaba clara desde mi infancia, a tenor de los ejemplos personales y mediáticos. Una vez en el camino de los estudios de medicina, mi interés por la fisiopatología clínica me fue dirigiendo a la ciencia experimental, lugar donde encontraba el estímulo para el estudio en profundidad, sintiéndome especialmente atraído por el Sistema Nervioso; bajo el estímulo y ejemplo de Luis Puelles. Recuerdo emocionantes noches en el laboratorio, al finalizar mis clases de la tarde, cuando realizábamos ensayos experimentales de trazaje de vías ópticas.

En conclusión, la curiosidad científica y la búsqueda de la evidencia experimental en medicina representaron la motivación y la ilusión para mejorar el trabajo diario.

Sucedo en este sillón a un gran amigo, Carlos Belmonte, Miembro de Honor de esta Academia desde diciembre de 2016. Carlos ha sido Catedrático de Fisiología Humana en las Facultades de Medicina de la UMH, Valladolid y Alicante, pero ante todo es un excelente neurocientífico con gran prestigio y liderazgo nacional e internacional, con el que he tenido el placer de compartir, con admiración y respeto, gran parte de mi vida profesional. Carlos es albaceteño, como yo, lo que refuerza en mi su poder ejemplarizante, al sentirlo de alguna manera más cercano. Un amigo común, Constantino Sotelo me introdujo en el año 1988 la figura de Carlos en una conversación en París. Pero no fue hasta 1991 cuando comenzó en realidad mi amistad con el, de la mano de Roberto Gallego y Emilio Geijo, durante el Congreso de la SENC en Alicante. Fue en un vuelo de Madrid a USA (1995), donde me convenció para que, a mi vuelta de San Francisco,

me trasladará de Murcia a Alicante para ser investigador del Instituto de Neurociencias de la recién creada Universidad Miguel Hernández de Elche, donde entré como profesor titular en el año 2000. El Instituto de Neurociencias es, a mi parecer, el legado científico más importante de Carlos Belmonte, un centro mixto de la UMH y el CSIC del que fue director desde 1990 hasta 2007.

Carlos Belmonte ha sido presidente y es miembro de sociedades y organizaciones científicas nacionales e internacionales, entre ellas la Society for Eye Research y la International Brain Research Organization (IBRO), es doctor Honoris Causa por varias Universidades y ha obtenido reconocimientos y los Premios muy importantes, destacando de entre ellos, el *Nature award for mentoring in science* por significar el reconocimiento al mas alto nivel internacional de haber conseguido en su dedicación a la ciencia durante 50 años que los jóvenes investigadores españoles tuvieran más oportunidades y pudieran ser mejores que los de la generación precedente.

Todo ello hace muy complicado mantener el prestigio del sillón heredado, pero también mas fuerte mi compromiso e ilusión para intentarlo.

En el apartado científico de mi discurso, voy a resumir bajo el paraguas del proceso de la comunicación celular los hallazgos que considero mas significativos de mi carrera científica.

Todos también estaremos de acuerdo con Cajal en que “el entendimiento humano, desligado de la observación fiel de los fenómenos, es impotente para penetrar ni aun en los más sencillos rodajes de la maquina de la vida, y su papel ante los hechos se reduce á describirlos, compararlos, y establecer inductivamente sus causas eficientes ó condiciones constantes”. El impacto que produjo en mi la complejidad de la anatomía cerebral, incrementado por el amplio desconocimiento de las bases anatómicas de su función, me dirigió a observar minuciosamente la morfogénesis neural para descubrir, de la mano de Luis Puelles, que el desarrollo embrionario era el sendero que permitía explorar las bases moleculares de la complejidad anato-mo-funcional del sistema nervioso central.

Susurros y caricias celulares en el desarrollo y el cáncer de cerebro

La comunicación intercelular es un proceso clave en la toma de decisiones de las células durante el desarrollo y la progresión del cáncer. El microambiente está regulado por señales que, a través de mecanismos paracrinos mediados por el intercambiando señales (o *susurros moleculares*) entre células, permiten la proliferación y la migración celular. Además, el contacto directo entre células (o *caricias celulares*) es necesario para reconocer información posicional e inducir polarización, regulando la morfogénesis y la motilidad celular.

Los mecanismos embrionarios de la comunicación intercelular se recapitulan en la infiltración del glioblastoma multiforme (GBM), como base celular de la cooptación (o adhesión y deformación) vascular y del condicionamiento del sistema inmunitario.

Las células del glioblastoma: susurrantes y cariñosas

El glioblastoma multiforme (GBM) es el cáncer más agresivo del cerebro y tiene una baja esperanza de vida, no más de 15 meses después del diagnóstico [1, 2]. El mal pronóstico del GBM se debe a su capacidad altamente invasiva infiltrando el tejido sano. Lamentablemente, el GBM es un tumor cerebral relativamente frecuente cuya incidencia oscila entre 5 y 7 casos por cada 100.000 individuos [3].

La implicación vascular en la progresión del tumor es una de las características más importantes del GBM [4], donde las células cancerosas son capaces de migrar a lo largo de las paredes de los vasos sanguíneos en un proceso conocido como cooptación vascular (*como una suave caricia tumoral*) [5]. Dado que el cerebro es una estructura altamente vascularizada, el angiotropismo de las células del GBM favorece la expansión del tumor.

Así, las células tumorales contactan con los vasos sanguíneos, obteniendo oxígeno y nutrientes sin necesidad de activar la angiogénesis. Además, la red vascular es utilizada por las células tumorales como andamio para migrar e infiltrarse en el estroma entre los vasos [6]. Como demostramos en 2014, la cooptación es un proceso de migración de células tumorales mediado por los contactos físicos entre las células del GBM con las células endoteliales, la matriz extracelular y los pericitos (PC) [7,8]. En este trabajo pionero, realizado con E. Caspani y P. Crossley, en el Instituto de Neurociencias, demostramos que los PC son las células diana de las células de GBM en la pared vascular y son necesarios para la infiltración y supervivencia del cáncer [8].

Los pericitos: las células que se dejan susurrar y acariciar

Los PC son células murales vasculares periendotheliales [9] localizadas en la pared externa de los pequeños vasos sanguíneos (arteriolas precapilares, capilares y vénulas postcapilares), situados entre los pies vasculares astrocíticos y la membrana basal endotelial. Participan en la estructura y función de la barrera hematoencefálica (BEE). Además, los PC se han caracterizado como células mesenquimales pluripotentes (MSC) por la expresión de marcadores moleculares y sus propiedades de diferenciación, y se les atribuyen otras funciones como la angiogénesis, la síntesis de moléculas bioactivas relacionadas con la respuesta inmunitaria, la regulación del tono vascular y el flujo sanguíneo [10, 11, 12].

Los PC, junto con las células endoteliales y los pies vasculares de los astrocitos, constituyen la BEE. Las uniones de adherencia de las células endoteliales y los PC son responsables del buen funcionamiento de esta barrera entre la sangre y el parénquima cerebral. De hecho, si la capa de PC se pierde o se daña, la BEE se ve comprometida, aumentando su permeabilidad, acumulando proteínas derivadas del plasma en el espacio extracelular y como resultado, la inflamación neuronal [13]. Por lo tanto, los PC son una parte fundamental de la unidad neurovascular (UNV), una estruc-

tura funcional compuesta por PC, células endoteliales, astrocitos y neuronas. La UNV relaciona las células neuronales con sus vasos sanguíneos y controla el buen funcionamiento de la BEE y la homeostasis cerebral [10, 13-15]. Los PC son también uno de los componentes del nicho neurovascular (NNV) en las regiones proliferativas del cerebro embrionario y del adulto, cuya función principal es proporcionar el entorno óptimo para la proliferación neuronal [10, 16, 17].

La localización perivascular de los PC, en el espacio de Virchow-Robin, en contacto con el líquido cefalorraquídeo y los pies vasculares astrocíticos, los sitúa en una posición ideal para controlar múltiples aspectos de la respuesta inmunitaria del SNC. Así, los PC cerebrales comparten propiedades con las células inmunocompetentes, ya que expresan y responden a las citoquinas, a las moléculas co-estimuladoras de la respuesta inmune, presentan antígenos a los linfocitos T y muestran capacidad fagocítica [18-20-22, 23]. Los PC secretan mediadores inflamatorios (IL-1b, el TNF- α , el IFN γ y la IL-6) que pueden polarizar la microglía hacia un fenotipo pro- o anti-inflamatorio. Estos mediadores pueden inducir un estado pro-inflamatorio en los astrocitos, la microglía y las células endoteliales y precipitar la muerte neuronal apoptótica [21, 24, 25]. Por el contrario, el PC también puede secretar varios factores implicados en funciones anti-inflamatorias, como el CX3CL1 y la IL-33 [26, 27].

Además de contribuir a la inmunidad innata, los PC también puede modular las funciones inmunitarias adaptativas del SNC. Presentan moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II, que transportan y muestran antígenos a las células T auxiliares [23,28]. Por último, varios estudios han demostrado que los PC también pueden regular la expresión de citocinas, quimiocinas y proteasas en el nicho infiltrativo, y como consecuencia promover inmunosupresión, angiogénesis tumoral, el crecimiento de cánceres diversos y el desarrollo de metástasis [29 -32].

En resumen, las caricias y los susurros entre las células del GBM y el PC son esenciales para la supervivencia del tumor y la propagación del cáncer. Las células de GBM utilizan los vasos sanguíneos preexistentes, abra-

zan a los PC, para migrar [5, 8] y regulan sus propiedades inmunológicas para escapar de la respuesta inmune [8, 33]. Por lo tanto, es interesante revisar desde una mirada embriológica, los mecanismos moleculares y celulares que subyacen a la polaridad celular durante la infiltración del GBM para establecer y mantener el contacto entre las células del GBM y el PC, así como las consecuencias en la fisiología del PC.

1 La cooptación vascular produce malformación vascular y cambios en la contractilidad de los pericitos

Cooptación vascular en el desarrollo embrionario del cerebro y la infiltración del GBM

La interacción directa (*caricias*) entre los precursores neurales en proliferación y las células vasculares se ha descrito como un proceso fundamental en neurogénesis y migración celular en el desarrollo del SNC. En la zona subventricular del hipocampo en desarrollo, las señales moleculares y contactos celulares de los progenitores y las células vasculares se requieren mutuamente para la proliferación neuronal, la migración y el establecimiento de un crecimiento adecuado de los nichos vasculares [34]. Se ha observado la acumulación perivascular de precursores neuronales en las corrientes migratorias de la corteza en desarrollo, lo que sugiere un proceso similar a la cooptación tumoral [35].

La mayoría de los tumores inducen la angiogénesis para crecer, sin embargo, algunos de ellos pueden progresar utilizando vasos preexistentes, como ocurre en la cooptación vascular del GBM [36]. La cooptación se describió por primera vez en el cáncer de pulmón metastásico y en los gliomas [7], pero también se ha observado en el melanoma y en el cáncer de mama, así como en el colorrectal y de hígado [37-39].

La infiltración de células de GBM en el tejido circundante es un factor clave para la recurrencia del tumor. Las células tumorales suelen reaparecer en un área de 2-3 cm alrededor del tumor primario [40, 41], debido a su gran

capacidad de infiltración. Las células tumorales siguen diferentes estrategias para colonizar el tejido, como la migración individual o colectiva a través de la matriz extracelular, la satelitosis perineuronal y la cooptación vascular [42]. La cooptación, en particular, se ha propuesto como el principal proceso causante de la recurrencia tras el tratamiento quirúrgico en el GBM [6, 43]. De hecho, el éxito y la velocidad de invasión de las células del GBM dependen del estrecho contacto con los capilares cerebrales [44].

Diferentes enfoques experimentales *in vivo* han demostrado que las células de GBM utilizan los vasos cerebrales como andamios para la migración [5, 6, 8, 44]. La estrategia más extendida para estudiar la cooptación de vasos de las células de GBM es la implantación de células de líneas celulares de GBM en cerebros de ratón. Cuando las células humanas de GBM se cultivan en rodajas de cerebro de ratón, son capaces de convertir los capilares normales en vasos retorcidos, de produciendo filamentos citoplasmáticos dinámicos, o filopodios, que contactan con los vasos sanguíneos. La observación de las células de GBM injertadas en rodajas de cerebro muestra que desarrollan una morfología migratoria, una polarización angiográfica y vasos sanguíneos cooptados después de 6 horas [8]. La infiltración tumoral comienza 24 horas después de la implantación del GBM [6, 8].

En resumen, la cooptación se produce preferentemente en pequeños capilares e implica estructuras celulares especializadas que llamaremos flectopodia [8] (Fig. 1).

Las células cancerosas del GBM pueden desdiferenciarse hacia estadios inmaduros y recapitular la polarización y el angiotropismo característico de progenitores neurales para acariciar a los PC en la UNV e infiltrarse en el parénquima normal.

Flectopodia/citonemas: la mano ejecutora de las caricias celulares

La proliferación de los progenitores celulares y la morfogénesis de los órganos durante el desarrollo embrionario están regulados por señales

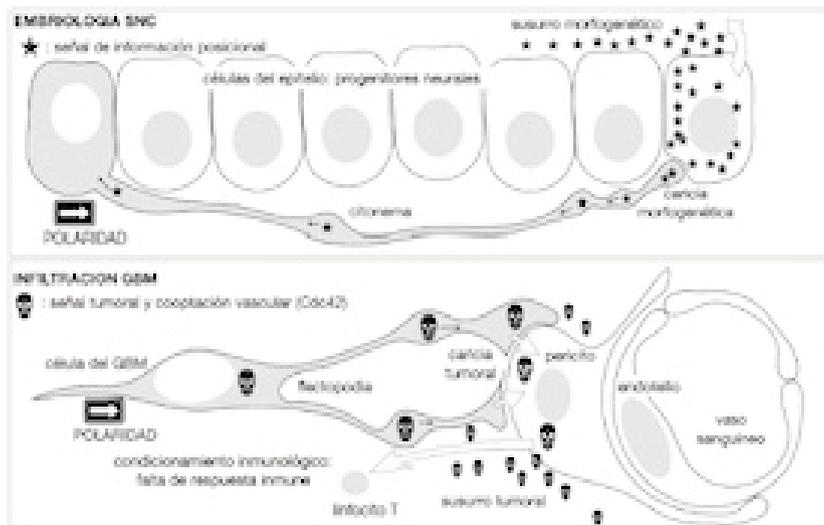


Figura 1. Esquema de la estructura y función de las citonemas durante el desarrollo embrionario del tubo neural. Las células progenitoras intercambian información posicional a través de contactos celulares mediados por citonemas (caricias morfogénéticas) y difusión de factores paracrinos (susurros morfogénéticos). En el proceso de infiltración del glioblastoma multiforme (GBM) los flectopodia, a igual que los citonemas durante el desarrollo, contactan con el pericito (caricia tumoral) para transferirle propiedades inmunosupresoras y modificar sus propiedades contráctiles, así como modificar el secretoma (susurro) antitumoral de este.

morfogénéticas secretables, que podemos llamar *susurros* morfogénéticos, y que codifican la información posicional a las células en los territorios prospectivos del cerebro en desarrollo (Figura 1). En San Francisco, durante los años 1994-95, contribuí a construir un capítulo fundamental para entender los mecanismos causales de la morfogénesis cerebral, mediante el estudio de la expresión de genes del desarrollo y la consiguiente propuesta del modelo segmentario, o prosomérico, del desarrollo cerebral, junto con Luis Puelles y John Rubenstein (Rubenstein et al. 1994). Este modelo definió el plan general del cerebro de los vertebrados, y me proporcionó la herramienta conceptual necesaria para interpretar causalmente el mecanismo de la inducción morfogénica del istmo mesencefálico (región entre el mesencéfalo y rombencéfalo), que había descrito durante mi estancia en París en 1991, Junto a Cuca Alvarado-Mallart y

Constantino Sotelo (Martinez et al., 1991). También en San Francisco, junto a Phil Crossley y Gail Martin, en 2014, demostramos que Fgf8 es la señal que codifica información posicional a lo largo del cerebro anterior, lo que suponía un descubrimiento seminal para entender los fenómenos de inducción morfogénica mediados por estos “susurros celulares”. Después descubrimos que esta información de la posición requiere una señalización dependiente del contacto entre las células, para garantizar la precisión. Por ello adquirieron relevancia funcional los citonemas, que son, como hemos visto filopodios especializados que establecen contacto físico entre las células [Martínez *et al.*, 1999; 46, 47]. Los citonemas son generados por las células progenitoras para transferir información morfogénica polarizada a otras células durante el desarrollo (Figura 1).

Podemos entender ahora como el estado indiferenciado de las células infiltrantes del glioblastoma, al igual que los progenitores neurales durante el desarrollo, necesitan de la polarización y la formación de flectopodios o “citonemas” hacia las células diana “*caricias tumorales*”. Cuando las células del GBM se implantan en el cerebro, comienzan a producir finos filopodios, que hacen contacto con los PC alrededor de los vasos sanguíneos. Estas especializaciones celulares denominadas flectopodios por Caspani et al. [34], mostraron largas extensiones interrumpidas por microdilataciones citoplasmáticas que contenían perlas de actina. El estudio de los flectopodios en cultivos sobre un sustrato de silicona deformable cubierto por laminina humana, reveló que los flectopodios alternan fases de extensión/retracción de las membranas. Durante la retracción, el citoplasma de las microdilataciones de los flectopodios parece transferirse al PC contactado. De hecho, cuando se cultivaron células de GBM que contenían GFP-actina con PC, se encontró citoplasma del tumor en los PC [8]. Estos hallazgos demostraron que los flectopodios de las células tumorales no sólo *acarician* a los PC, sino que también les pueden transferir su contenido citoplasmático, son *caricias con susurro penetrante*. Otros autores han descrito la transferencia activa de moléculas y orgánulos entre las células productoras y receptoras de señales a través de los contactos mediados por los citonemas [46].

1.3 Consecuencias de la interacción células de GBM-PC durante la cooptación

El contacto célula-célula entre las células tumorales y el PC produce cambios en la función de estos. Los experimentos in vitro mostraron que, dos días después de ser cultivados en un sustrato de silicona los PC generaban fuerzas de compresión alrededor de los nodos locales correspondientes a las áreas con mayor actividad de contracción. Curiosamente, cuando los PC se cultivaron conjuntamente con células de GBM empezaron a producir nuevas arrugas y a desestabilizar las preexistentes. Estos resultados demostraron que las células de GBM modifican la actividad contráctil de los PC, afectando a los vasos cooptados y, posteriormente, modifican la morfología vascular generando la malformación glomeruloide en el borde infiltrante de GBM [8]. Como “*caricias apasionadas*”. La producción de híbridos GBM-pericitos es otro efecto producido por el contacto entre las células tumorales y el PC. Algunos de estos híbridos se encontraron especialmente en los vasos alterados y se asociaron con el estrés oxidativo/nitrativo, lo que indica que la hipercontractilidad podría estar relacionada con ese estrés inducido por las células cancerosas [8].

1.4 Moléculas implicadas en la cooptación de vasos en el GMB.

Se han descrito algunas moléculas implicadas en el proceso de cooptación de las células del GBM [42], estando relacionadas con la quimiotaxis de las células tumorales y, de forma muy especial con la interacción de las células del GBM con las células vasculares: como es la conocida como CDC42.

La GTP-asa del ciclo de división celular-42 (Cdc-42) regula la polaridad celular en todos los organismos, desde las levaduras hasta los seres humanos, y desempeña un papel central en la morfogénesis de las células neuroepiteliales durante el desarrollo embrionario del cerebro. La regulación del citoesqueleto de actina-miosina por Cd42 subyace a su papel en la adhesión celular, el tráfico vesicular, la migración celular y la citocinesis durante el desarrollo [49]. La proteína Cdc-42 se ha localizado en las célu-

las del GBM y es una molécula clave necesaria para la cooptación de los vasos, por la formación y mantenimiento de los flectopodios [8]. Cdc-42 está implicado en la organización del citoesqueleto de actina [50] y es un importante colaborador en la formación de las protuberancias celulares como los lamelipodios y los filopodios, incluidos los citonemas [51]. Además, Cdc-42 se ha utilizado con éxito en experimentos con animales como diana de fármacos antitumorales para prevenir la migración e invasión del glioblastoma [52]. Cdc-42 se expresa en los flectopodios de las células de GBM co-localizándose con las perlas de actina observadas en las microdilataciones de los flectopodios. Curiosamente, cuando se inhibe la síntesis de Cdc-42 en las células tumorales, los flectopodios aparecen reducidos, la malformación de los vasos es menor y, lo que es más importante, no se observa cooptación vascular [8].

Las estructuras similares a los citonemas se generan en las células cancerosas infiltradas y representan el sustrato o el contacto directo con los PC. Los citonemas entre GBM y PC transportan señales moleculares a los PC, incluyendo Cdc42, y regulan las propiedades funcionales mecánicas de los PC. Por ejemplo, se ha demostrado que la vía de señalización Cdc42/YAP-1/NUPR1/Nestina juega un papel importante en la progresión del glioma [58].

La interacción célula-célula entre las células de GBM y los pericitos también está relacionada con la respuesta inmune, como se explicará más adelante. Curiosamente, cuando se inhibe Cdc-42 en las células tumorales, los PC se transforman en células similares a los macrófagos, capaces de fagocitar las células tumorales, lo que atribuye otro papel importante a las vías de señalización de Cdc-42, impidiendo que los PC se transformen en macrófagos y por tanto, favoreciendo la supervivencia del tumor [8].

2 La interacción glioblastoma-PC induce propiedades inmunosupresoras en los PC

Las células inmunitarias desempeñan un papel fundamental en la defensa del huésped contra antígenos extraños y células no sanas, incluidas las

células tumorales. Al encontrarse con señales de peligro, estas células se activan, lo que conduce a una activación de sus funciones inmunitarias. Sin embargo, los cánceres han desarrollado diferentes estrategias para suprimir la respuesta inmunitaria antitumoral.

Junto con otros grupos de investigación, hemos descrito que las células de glioma podrían interactuar con los PC para transferirles propiedades malignas y afectar a su función [8, 59]. En esta situación la función inmune de las PC no contribuye a la eliminación de las células de GBM. Hemos demostrado que se requieren interacciones directas célula-célula de GBM a PC para conducir los cambios en el fenotipo inmune de los pericitos [8, 33]. Las *caricias* de las células de GBM generan PC condicionados por el glioblastoma (GB-PC) que secretan altos niveles de *susurros tumorales*: citoquinas anti-inflamatorias, expresan moléculas inmunosupresoras como PDL-1 y reducen la expresión de moléculas co-estimuladoras del sistema inmune; además de un deterioro intenso de su capacidad de activar linfocitos T reactivos.

2.1 Altos niveles de citoquinas anti-inflamatorias en los PC

En respuesta a la interacción mediada por el flectopodio (citonema) del GBM con el PC se producen cambios en los niveles de expresión de citoquinas de los PC *in vitro*. El análisis de las citoquinas secretadas por los PC cocultivados con una línea celular humana de GBM, mostró un aumento significativo en la producción de citoquinas anti-inflamatorias: IL-10 y TGF- β [33]. Cuando las PC se incubaron con diluciones de sobrenadantes de diferentes líneas de células de GBM no se detectó ese aumento en la expresión de estas citoquinas. Además, en la interacción directa célula a célula de los PC con las células de GBM, los PC producen niveles mucho más bajos de citoquinas pro-inflamatorias como IL-1, IL-23, IL-12 y TNF- α . Estos resultados apoyan que el fenotipo inmunomodulador adquirido en el CP en respuesta al GBM requiere una interacción directa (*caricia tumoral*) de célula a célula mediante la formación de estructuras similares a un citonema, lo que hemos llamado flectopodios [35].

Se han realizado estudios *in vivo* con injertos de células GBM humanas co-cultivadas con PC en la corteza cerebral de un modelo de ratón inmuno-competente [60] para analizar si las GBC-PC también mostraban un fenotipo anti-inflamatorio *in vivo*. En los cerebros de los ratones xeno-transplantados con GBM y PC, se demostró la presencia de tumor trasplantado (gracias a la tolerancia inmunológica inducida por el tumor), y expresión de citoquinas anti-inflamatorias IL-10 y TGF- β por parte de las PC [60, 33]. Los mecanismos que modifican la expresión de moléculas inmunopresoras en el PC condicionado aún no se han determinado, pero podría ser una consecuencia de la modificación de la polaridad celular debido a las señales reguladoras de la transcripción y a la transferencia de Cdc42 desde las células cancerosas de GBM a través de los flectopodios [8].

2.2 Expresión de moléculas inmunosupresoras de membrana en los PC

Los PC activados presentan marcadores de macrófagos y adquieren actividad fagocítica [20,61]. El análisis de las moléculas de membrana implicadas en la inhibición de las respuestas antitumorales, como el antagonista del receptor de interleucina 1 (IL-1RA), demostró *in vitro* que los PC expresan un patrón inmunosupresor de moléculas de membrana en respuesta a la interacción con las células del GBM [33]. El antagonista del receptor de la interleucina 1 (IL-1RA) es una proteína que en humanos está codificada por el gen IL1RN. Los PC, como resultado de su interacción con las células de GBM, muestran altos niveles del ARNm de IL-4RA e IL-1RA [33].

Además, el ligando inmunosupresor de PD-1 (PDL-1, que es un regulador negativo de la activación de los linfocitos T) se ha asociado con la progresión del glioblastoma [29, 62, 63]. Los PC expresan PDL-1 en condiciones de reposo, a un nivel de expresión que mantienen e incluso aumentan al interactuar con las células del GBM *in vitro* e *in vivo* [33].

2.3 Reducción de la expresión de moléculas co-estimuladoras en GB-PC y moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (MHC-II)

Varios estudios han señalado que el PC posee la capacidad de presentar antígenos a los linfocitos T [23, 28]. La activación efectiva de los linfocitos T requiere la participación de dos receptores T específico del antígeno (RTC) se une a las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad.

Las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (MHC-II) son glicoproteínas de membrana de tipo I que se unen a fragmentos de péptidos derivados de fuentes proteicas exógenas, incluyendo patógenos víricos y bacterianos, y los transportan a la superficie celular para su reconocimiento por parte de los linfocitos T auxiliares. Las moléculas MHC de clase II son una clase de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) que normalmente se encuentran sólo en las células presentadoras de antígenos, los PC también muestran moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II, lo que sugiere que los PC pueden presentar antígenos a las células T [23,28]. En el co-cultivo de PC con una línea celular humana de GBM se mostró una reducción significativa de la expresión del MHC-II en los PC [33].

2.4 Deterioro de la capacidad de activar los linfocitos T

Los linfocitos T se activan cuando su receptor RTC específico de antígeno interactúa con un ligando específico compuesto por un péptido antigénico unido a una molécula MHC en la superficie de las células presentadoras de antígeno (APC). Este proceso ocurre en zonas muy definidas de contacto entre las células, lo que se llama sinapsis inmunológica. Los PC activados tienen la capacidad de presentar el antígeno en las moléculas MHC a las células T, regulando la actividad de las diferentes poblaciones de dichas células T [23, 64, 65]. Esta capacidad esta mediada por la formación de contactos directos (sinapsis inmunitarias) que responden a una comunicación específica de célula a célula entre los linfocitos T y los PC [66,

67]. Los GBC-PC muestran una capacidad de activar las células T significativamente deteriorada .

La modificación del transcriptoma en la expresión de estas moléculas y/o la modificación del citoesqueleto del PC debido a la transferencia de Cdc42 puede interferir en la formación de una sinapsis inmunológica adecuada y, por tanto, reducir la expresión y la agrupación de las moléculas MHC de clase II en los PC condicionados. En realidad, al igual que ocurre con las células leucémicas, las células de GBM son capaces de modificar la dinámica del citoesqueleto de actina, con defectos de adhesión y motilidad, mediante el aumento de Cdc42 en el citoplasma de los PC [69].

2.5 Los PC que interactúan con las células de GBM ayudan al crecimiento del tumor

La proliferación de las células de GBM y la potenciación del crecimiento tumoral es facilitada por flectopodia de las células del cáncer que interactúan con los PC *in vitro* [33]. El análisis de la proliferación celular tanto *in vitro* como *in vivo* de los PC con GBM demostró que la proliferación de las células de GBM está aumentada y que favorecían la infiltración perivascular de las células de GBM [33].

Dado que la proliferación de los PC no aumenta en co-cultivos con células de GBM, indica una especificidad celular del mecanismo que favorece la proliferación en el cultivo a favor del GBM,.

3 Inducción de la actividad de autofagia mediada por chaperonas (CMA) en el PC

La interacción de las células del GBM con el PC induce la actividad de autofagia mediada por chaperonas (CMA) en el PC en respuesta al estrés oxidativo en el GBM. La autofagia mediada por chaperonas (CMA) es un proceso lisosomal por el que las proteínas intracelulares se degradan selec-

tivamente [70]. Las señales dependientes del estrés oxidativo de las células cancerosas modifican la degradación específica de las proteínas en el PC. El complejo chaperona-sustrato se une a una proteína de membrana asociada al lisosoma tipo 2A (LAMP2A). LAMP2A actúa como un canal de transporte en la translocación del sustrato de la CMA. La actividad de la CMA depende directamente de los niveles de LAMP-2A en la membrana lisosomal. La regulación de la actividad de la CMA es crítica para mantener la función y la homeostasis celular, la degradación selectiva de las proteínas y para modular su respuesta a una gran variedad de estímulos [71]. La CMA se ha postulado también como un mecanismo regulador de la función de otras células inmunitarias [48, 72, 73].

Aunque no se ha estudiado el posible papel de la CMA en el desarrollo embrionario, las alteraciones de la autofagia se han asociado a anomalías en la migración neuronal, la diferenciación dendrítica, la formación y la poda de sinapsis, que se describen con frecuencia como subyacentes a trastornos del neurodesarrollo [74]. Además, el efecto tóxico de la proteína TDP43, un sustrato de la CMA en los precursores neurales, induce la muerte celular en la ELA [75].

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) son subproductos del metabolismo normal del oxígeno, con funciones en la señalización y la homeostasis celular. Las ROS están presentes en niveles bajos en las células normales, pero pueden aumentar drásticamente ante estímulos nocivos y esto puede provocar un daño significativo en las estructuras celulares, lo que se conoce como estrés oxidativo.

Las células del GBM producen un mayor nivel de ROS en respuesta a la interacción con los PC, lo que conduce a una regulación al alza de la expresión del receptor de CMA (LAMP-2A) en el PC [73,76]. Ese LAMP2-A es llevado a la membrana lisosomal para regular de forma aberrante la actividad de CMA de forma aberrante en el PC [48]. Además, este aumento de LAMP-2A requiere interacciones directas de célula a célula. La actividad funcional de la CMA en el CP es esencial para la adquisición de la función inmunosupresora en respuesta a la interacción con el GBM [48]. Nuestro

trabajo ha demostrado que la inducción de la actividad de CMA en PC por las células de GBM es necesaria para estabilizar las interacciones PC-GBM que mantienen las señales activas de intercambio y Cdc42 a través de flec-topodia y la supervivencia de las células tumorales GBM. In vitro, la interacción de PC con GBM reduce la expresión de la proteína de interacción celular ocludina a través de la CMA inducida por GBM. Esta proteína es fundamental para el mantenimiento de las uniones estrechas entre las células durante el desarrollo vascular y la integridad de la BBB y su reducción puede ser un factor implicado en las alteraciones funcionales de la UNV en los gliomas [77].

La CMA inducida por GBM en el CP ayuda a mantener la supervivencia del tumor. Este aumento aberrante de la actividad de la CMA en el CP es el mecanismo responsable de 1) cambiar la función inmunitaria del CP y 2) promover interacciones más estables con el GB, que ayudan a mantener la supervivencia del tumor y a evitar la secreción de proteínas con actividad antitumoral [48].

El secretoma del CP está constituido por una amplia variedad de moléculas funcionales que incluyen moduladores inflamatorios, factores angiogénicos, tróficos y proteínas de la matriz extracelular [78, 79]. El aumento de la actividad de la CMA en los PC es responsable del cambio de su función inmunitaria, al regular los marcadores y propiedades asociadas a las células madre mesenquimales (MSC), incluyendo la proliferación, la producción de citoquinas y su función inmunitaria. El co-cultivo de PC con células GBM da lugar a un aumento de la expresión de varios factores angiogénicos como el VEGF, la angiotensina I y la citoquina IL-6 [20, 48, 80].

La actividad de la AMC en los PC es necesaria para estabilizar las interacciones CP-GBM, que ayudan a mantener la supervivencia del tumor. El co-cultivo de GBM con PC con actividad CMA deteriorada (ratones knockout LAMP-2A, PC KO) da lugar a un mayor porcentaje de muerte de células de GBM y a una pérdida significativa de adherencia en GB co-cultivados con PC KO [48]. El co-cultivo de GBM con PC deficiente en CMA aumentó la

secreción de factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) [81] lo que reducía la supervivencia de las células tumorales e impedía las interacciones PC-GBM [48].

Conclusiones

La interacción física entre las células del GBM y los PC (*caricias tumorales*) produce cambios en la contractilidad de estos, impide que se transformen en macrófagos e inhibe la respuesta inflamatoria [8, 33, 48, 82]. Todo ello favorece la progresión tumoral permitiendo su nutrición e invasión por cooptación vascular y el establecimiento de inmunotolerancia. Esta *caricia tumoral*, es necesaria para la progresión tumoral, por inducir cambios subcelulares para la transformación de PC sanos en corruptos.

Como se ha explicado anteriormente, los PC desarrollan características inmunosupresoras tras el contacto con las células del GBM. Las células tumorales inducen un aumento aberrante de la CMA en los PC que adquieren un fenotipo anti-inflamatorio inactivando la respuesta de los linfocitos T [33,48]. Se ha propuesto que el hecho de que los PC deficientes en CMA impidan la transformación inducida por las células de GBM podría explicarse por una expresión de genes/proteínas diferente a la de los PC de control [83]. Estas *caricias tumorales* cambian el secretoma de estos a un secretoma inmunotolerante [*susurros inmunopresores*] rico en factores que perjudica la respuesta inmunitaria e impide la eliminación del tumor [83].

Bibliografía

1. KOSHY, M.; VILLANO, J.L.; DOLECEK, T.A.; HOWARD, A.; MAHMOOD, U.; CHMURA, S.J.; WEICHSELBAUM, R.R.; MCCARTHY, B.J. Improved Survival Time Trends for Glioblastoma Using the SEER 17 Population-Based Registries. *Journal of Neuro-Oncology* 2012, 107, 207–212.
2. GILBERT, M.R.; DIGNAM, J.J.; ARMSTRONG, T.S.; WEFEL, J.S.; BLUMENTHAL, D.T.; VOGELBAUM, M.A.; COLMAN, H.; CHAKRAVARTI, A.; PUGH, S.; WON, M.; *et al.* A Randomized Trial of Bevacizumab for Newly Diagnosed Glioblastoma. *New England Journal of Medicine* 2014, 370, 699–708.
3. PHILIPS, A.; HENSHAW, D.L.; LAMBURN, G.; O'CARROLL, M.J. Authors' Comment on "Brain Tumours: Rise in Glioblastoma Multiforme Incidence in England 1995–2015 Suggests an Adverse Environmental or Lifestyle Factor." *Journal of Environmental and Public Health* 2018, 2018, 1–3.
4. BURGER, P.C.; SCHEITHAUER, B.W. Tumors of the Central Nervous System, Atlas of Tumor Pathology. *The American Journal of Surgical Pathology* 1995, 19, 1220.
5. FARIN, A.; SUZUKI, S.O.; WEIKER, M.; GOLDMAN, J.E.; BRUCE, J.N.; CANOLL, P. Transplanted Glioma Cells Migrate and Proliferate on Host Brain Vasculature: A Dynamic Analysis. *Glia* 2006, 53, 799–808.
6. BAKER, G.J.; YADAV, V.N.; MOTSCH, S.; KOSCHMANN, C.; CALINESCU, A.-A.; MINEHARU, Y.; CAMELO-PIRAGUA, S.I.; ORRINGER, D.; BANNYKH, S.; NICHOLS, W.S.; *et al.* Mechanisms of Glioma Formation: Iterative Perivascular Glioma Growth and Invasion Leads to Tumor Progression, VEGF-Independent Vascularization, and Resistance to Antiangiogenic Therapy. *Neoplasia* 2014, 16, 543–561.
7. HOLASH, J.; MAISONPIERRE, P.C.; COMPTON, D.; BOLAND, P.; ALEXANDER, C.R.; ZAGZAG, D.; YANCOPOULOS, G.D.; WIEGAND, S.J. Vessel Cooption, Regression,

- and Growth in Tumors Mediated by Angiopoietins and VEGF. *Science* 1999, *284*, 1994–1998.
8. CASPANI, E.M.; CROSSLEY, P.H.; REDONDO-GARCIA, C.; MARTINEZ, S. Glioblastoma: A Pathogenic Crosstalk between Tumor Cells and Pericytes. *PLoS One* 2014, *9*, e101402.
 9. ZIMMERMANN, K.W. Der Feinere Bau Der Blutcapillaren 1923.
 10. POMBERO, A.; GARCIA-LOPEZ, R.; MARTINEZ, S. Brain Mesenchymal Stem Cells: Physiology and Pathological Implications. *Dev. Growth Differ.* 2016, *58*, 469–480.
 11. VON TELL, D.; ARMULIK, A.; BETSHOLTZ, C. Pericytes and Vascular Stability. *Exp. Cell Res.* 2006, *312*, 623–629.
 12. CAPLAN, A.I. MSCs: The Sentinel and Safe-Guards of Injury. *J. Cell. Physiol.* 2016, *231*, 1413–1416.
 13. BELL, R.D.; WINKLER, E.A.; SAGARE, A.P.; SINGH, I.; LARUE, B.; DEANE, R.; ZLOKOVIC, B.V. Pericytes Control Key Neurovascular Functions and Neuronal Phenotype in the Adult Brain and during Brain Aging. *Neuron* 2010, *68*, 409–427.
 14. ABBOTT, N.J.; JOAN ABBOTT, N.; RÖNNBÄCK, L.; HANSSON, E. Astrocyte–endothelial Interactions at the Blood–brain Barrier. *Nature Reviews Neuroscience* 2006, *7*, 41–53.
 15. WINKLER, E.A.; BELL, R.D.; ZLOKOVIC, B.V. Central Nervous System Pericytes in Health and Disease. *Nat. Neurosci.* 2011, *14*, 1398–1405.
 16. TAVAZOIE, M.; VAN DER VEKEN, L.; SILVA-VARGAS, V.; LOUISSAINT, M.; COLONNA, L.; ZAIDI, B.; GARCIA-VERDUGO, J.M.; DOETSCH, F. A Specialized Vascular Niche for Adult Neural Stem Cells. *Cell Stem Cell* 2008, *3*, 279–288.
 17. MUOIO, V.; PERSSON, P.B.; SENDESKI, M.M. The Neurovascular Unit - Concept Review. *Acta Physiologica* 2014, *210*, 790–798.

18. BALABANOV, R.; WASHINGTON, R.; WAGNEROVA, J.; DORE-DUFFY, P. CNS Microvascular Pericytes Express Macrophage-like Function, Cell Surface Integrin Alpha M, and Macrophage Marker ED-2. *Microvasc. Res.* 1996, *52*, 127–142.
19. THOMAS, W.E. Brain Macrophages: On the Role of Pericytes and Perivascular Cells. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 1999, *31*, 42–57.
20. RUSTENHOVEN, J.; JANSSON, D.; SMYTH, L.C.; DRAGUNOW, M. Brain Pericytes As Mediators of Neuroinflammation. *Trends Pharmacol. Sci.* 2017, *38*, 291–304.
21. KOVAC, A.; ERICKSON, M.A.; BANKS, W.A. Brain Microvascular Pericytes Are Immunoactive in Culture: Cytokine, Chemokine, Nitric Oxide, and LRP-1 Expression in Response to Lipopolysaccharide. *J. Neuroinflammation* 2011, *8*, 139.
22. PIEPER, C.; MAREK, J.J.; UNTERBERG, M.; SCHWERDTLE, T.; GALLA, H.-J. Brain Capillary Pericytes Contribute to the Immune Defense in Response to Cytokines or LPS in Vitro. *Brain Res.* 2014, *1550*, 1–8.
23. BALABANOV, R.; BEAUMONT, T.; Dore-Duffy, P. Role of Central Nervous System Microvascular Pericytes in Activation of Antigen-Primed Splenic T-Lymphocytes. *J. Neurosci. Res.* 1999, *55*, 578–587.
24. MATSUMOTO, J.; TAKATA, F.; MACHIDA, T.; TAKAHASHI, H.; SOEJIMA, Y.; FUNAKOSHI, M.; FUTAGAMI, K.; YAMAUCHI, A.; DOHGU, S.; KATAOKA, Y. Tumor Necrosis Factor- α -Stimulated Brain Pericytes Possess a Unique Cytokine and Chemokine Release Profile and Enhance Microglial Activation. *Neurosci. Lett.* 2014, *578*, 133–138.
25. TIGGES, U.; BOROUJERDI, A.; WELSER-ALVES, J.V.; MILNER, R. TNF- α Promotes Cerebral Pericyte Remodeling in Vitro, via a Switch from $\alpha 1$ to $\alpha 2$ Integrins. *J. Neuroinflammation* 2013, *10*, 33.
26. RUSTENHOVEN, J.; AALDERINK, M.; SCOTTER, E.L.; OLDFIELD, R.L.; BERGIN, P.S.; MEE, E.W.; GRAHAM, E.S.; FAULL, R.L.M.; CURTIS, M.A.; PARK, T.I.-H.; *et al.* TGF-

- beta1 Regulates Human Brain Pericyte Inflammatory Processes Involved in Neurovasculature Function. *J. Neuroinflammation* 2016, 13, 37.
27. YANG, Y.; ANDERSSON, P.; HOSAKA, K.; ZHANG, Y.; CAO, R.; IWAMOTO, H.; YANG, X.; NAKAMURA, M.; WANG, J.; ZHUANG, R.; *et al.* The PDGF-BB-SOX7 Axis-Modulated IL-33 in Pericytes and Stromal Cells Promotes Metastasis through Tumour-Associated Macrophages. *Nat. Commun.* 2016, 7, 11385.
 28. SMITH, A.M.; SCOTT GRAHAM, E.; FENG, S.X.; OLDFIELD, R.L.; BERGIN, P.M.; MEE, E.W.; FAULL, R.L.M.; CURTIS, M.A.; DRAGUNOW, M. Adult Human Glia, Pericytes and Meningeal Fibroblasts Respond Similarly to IFN γ but Not to TGF β 1 or M-CSF. *PLoS ONE* 2013, 8, e80463.
 29. NDUOM, E.K.; WELLER, M.; HEIMBERGER, A.B. Immunosuppressive Mechanisms in Glioblastoma. *Neuro. Oncol.* 2015, 17 Suppl 7, vii9–vii14.
 30. ZHOU, W.; KE, S.Q.; HUANG, Z.; FLAVAHAN, W.; FANG, X.; PAUL, J.; WU, L.; SLOAN, A.E.; MCLENDON, R.E.; LI, X.; *et al.* Periostin Secreted by Glioblastoma Stem Cells Recruits M2 Tumour-Associated Macrophages and Promotes Malignant Growth. *Nat. Cell Biol.* 2015, 17, 170–182.
 31. PREUSSER, M.; LIM, M.; HAFLER, D.A.; REARDON, D.A.; SAMPSON, J.H. Prospects of Immune Checkpoint Modulators in the Treatment of Glioblastoma. *Nat. Rev. Neurol.* 2015, 11, 504–514.
 32. ERRICO, A. CNS Cancer: Periostin-a New Potential Target for the Treatment of Glioblastoma. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2015, 12, 128.
 33. VALDOR, R.; GARCÍA-BERNAL, D.; BUENO, C.; RÓDENAS, M.; MORALEDA, J.M.; MACIAN, F.; MARTÍNEZ, S. Glioblastoma Progression Is Assisted by Induction of Immunosuppressive Function of Pericytes through Interaction with Tumor Cells. *Oncotarget* 2017, 8, 68614–68626.
 34. POMBERO, A.; GARCIA-LOPEZ, R.; ESTIRADO, A.; MARTINEZ, S. Vascular Pattern of the Dentate Gyrus Is Regulated by Neural Progenitors. *Brain Struct. Funct.* 2018, 223, 1971–1987.

35. TSAI, H.-H.; NIU, J.; MUNJI, R.; DAVALOS, D.; CHANG, J.; ZHANG, H.; TIEN, A.-C.; KUO, C.J.; CHAN, J.R.; DANEMAN, R.; *et al.* Oligodendrocyte Precursors Migrate along Vasculature in the Developing Nervous System. *Science* 2016, *351*, 379–384.
36. KUCZYNSKI, E.A.; VERMEULEN, P.B.; PEZZELLA, F.; KERBEL, R.S.; REYNOLDS, A.R. Vessel Co-Option in Cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology* 2019, *16*, 469–493.
37. FORNABAIO, G.; BARNHILL, R.L.; LUGASSY, C.; BENTOLILA, L.A.; CASSOUX, N.; ROMAN-ROMAN, S.; ALSAFADI, S.; DEL BENE, F. Angiotropism and Extravascular Migratory Metastasis in Cutaneous and Uveal Melanoma Progression in a Zebrafish Model. *Scientific Reports* 2018, *8*.
38. FRENTZAS, S.; SIMONEAU, E.; BRIDGEMAN, V.L.; VERMEULEN, P.B.; FOO, S.; KOSTARAS, E.; NATHAN, M.; WOTHERSPOON, A.; GAO, Z.-H.; SHI, Y.; *et al.* Vessel Co-Option Mediates Resistance to Anti-Angiogenic Therapy in Liver Metastases. *Nat. Med.* 2016, *22*, 1294–1302.
39. JEONG, H.-S.; JONES, D.; LIAO, S.; WATTSON, D.A.; CUI, C.H.; DUDA, D.G.; WILLETT, C.G.; JAIN, R.K.; PADERA, T.P. Investigation of the Lack of Angiogenesis in the Formation of Lymph Node Metastases. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 2015, *107*.
40. GASPAR, L.E.; FISHER, B.J.; MACDONALD, D.R.; LEBER, D.V.; HALPERIN, E.C.; SCHOLD, S.C., JR; CAIRNCROSS, J.G. Supratentorial Malignant Glioma: Patterns of Recurrence and Implications for External Beam Local Treatment. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1992, *24*, 55–57.
41. HOU, L.C.; VEERAVAGU, A.; HSU, A.R.; TSE, V.C.K. Recurrent Glioblastoma Multiforme: A Review of Natural History and Management Options. *Neurosurg. Focus* 2006, *20*, E5.
42. SEANO, G.; JAIN, R.K. Vessel Co-Option in Glioblastoma: Emerging Insights and Opportunities. *Angiogenesis* 2020, *23*, 9–16.

43. VERHOEFF, J.J.C.; VAN TELLINGEN, O.; CLAES, A.; STALPERS, L.J.A.; VAN LINDE, M.E.; RICHEL, D.J.; LEENDERS, W.P.J.; VAN FURTH, W.R. Concerns about Anti-Angiogenic Treatment in Patients with Glioblastoma Multiforme. *BMC Cancer* 2009, 9, 444.
44. WINKLER, F.; KIENAST, Y.; FUHRMANN, M.; VON BAUMGARTEN, L.; BURGOLD, S.; MITTEREGGER, G.; KRETZSCHMAR, H.; HERMS, J. Imaging Glioma Cell Invasion in Vivo Reveals Mechanisms of Dissemination and Peritumoral Angiogenesis. *Glia* 2009, 57, 1306–1315.
45. WATKINS, S.; ROBEL, S.; KIMBROUGH, I.F.; ROBERT, S.M.; ELLIS-DAVIES, G.; SONTHEIMER, H. Disruption of Astrocyte–vascular Coupling and the Blood–brain Barrier by Invading Glioma Cells. *Nature Communications* 2014, 5.
46. MATTES, B.; SCHOLPP, S. Emerging Role of Contact-Mediated Cell Communication in Tissue Development and Diseases. *Histochem. Cell Biol.* 2018, 150, 431–442.
47. JUNYENT, S.; GARCIN, C.L.; SZCZERKOWSKI, J.L.A.; TRIEU, T.-J.; REEVES, J.; HABIB, S.J. Specialized Cytonemes Induce Self-Organization of Stem Cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2020, 117, 7236–7244.
48. VALDOR, R.; GARCÍA-BERNAL, D.; RIQUELME, D.; MARTINEZ, C.M.; MORALEDA, J.M.; CUERVO, A.M.; MACIAN, F.; MARTINEZ, S. Glioblastoma Ablates Pericytes Antitumor Immune Function through Aberrant up-Regulation of Chaperone-Mediated Autophagy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2019, 116, 20655–20665.
49. PICHAUD, F.; WALTHER, R.F.; NUNES DE ALMEIDA, F. Regulation of Cdc42 and Its Effectors in Epithelial Morphogenesis. *J. Cell Sci.* 2019, 132, doi:10.1242/jcs.217869.
50. ETIENNE-MANNEVILLE, S. Cdc42—the Centre of Polarity. *J. Cell Sci.* 2004, 117, 1291–1300.
51. RIDLEY, A.J. Life at the Leading Edge. *Cell* 2011, 145, 1012–1022.

52. KANG, C.-W.; KIM, N.-H.; JUNG, H.A.; CHOI, H.-W.; KANG, M.-J.; CHOI, J.-S.; KIM, G.-D. Desmethylanhidrocaritin Isolated from *Sophora Flavescens*, Shows Antitumor Activities in U87MG Cells via Inhibiting the Proliferation, Migration and Invasion. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2016, *43*, 140–148.
53. SEIFERT, S.; SONTHEIMER, H. Bradykinin Enhances Invasion of Malignant Glioma into the Brain Parenchyma by Inducing Cells to Undergo Amoeboid Migration. *J. Physiol.* 2014, *592*, 5109–5127.
54. Zagzag, D.; Esencay, M.; Mendez, O.; Yee, H.; Smirnova, I.; Huang, Y.; CHIRIBOGA, L.; LUKYANOV, E.; LIU, M.; NEWCOMB, E.W. Hypoxia- and Vascular Endothelial Growth Factor-Induced Stromal Cell-Derived Factor-1alpha/CXCR4 Expression in Glioblastomas: One Plausible Explanation of Scherer's Structures. *Am. J. Pathol.* 2008, *173*, 545–560.
55. MOONEY, K.L.; CHOY, W.; SIDHU, S.; PELARGOS, P.; BUI, T.T.; VOTH, B.; BARNETTE, N.; YANG, I. The Role of CD44 in Glioblastoma Multiforme. *Journal of Clinical Neuroscience* 2016, *34*, 1–5.
56. DZWONEK, J.; WILCZYNSKI, G.M. CD44: Molecular Interactions, Signaling and Functions in the Nervous System. *Front. Cell. Neurosci.* 2015, *9*, 175.
57. JONES, L.L.; LIU, Z.; SHEN, J.; WERNER, A.; KREUTZBERG, G.W.; RAIVICH, G. Regulation of the Cell Adhesion Molecule CD44 after Nerve Transection and Direct Trauma to the Mouse Brain. *The Journal of Comparative Neurology* 2000, *426*, 468–492.
58. ZHONG, C.; TAO, B.; TANG, F.; YANG, X.; PENG, T.; YOU, J.; XIA, K.; XIA, X.; CHEN, L.; PENG, L. Remodeling Cancer Stemness by Collagen/fibronectin the AKT and CDC42 Signaling Pathway Crosstalk in Glioma. *Theranostics* 2021, *11*, 1991–2005.
59. FOMCHENKO, E.I.; DOUGHERTY, J.D.; HELMY, K.Y.; KATZ, A.M.; PIETRAS, A.; BRENNAN, C.; HUSE, J.T.; MILOSEVIC, A.; HOLLAND, E.C. Recruited Cells Can

Become Transformed and Overtake PDGF-Induced Murine Gliomas in Vivo during Tumor Progression. *PLoS One* 2011, 6, e20605.

60. GARCIA, C.; DUBOIS, L.G.; XAVIER, A.L.; GERALDO, L.H.; DA FONSECA, A.C.C.; CORREIA, A.H.; MEIRELLES, F.; VENTURA, G.; ROMÃO, L.; CANEDO, N.H.S.; *et al.* The Orthotopic Xenotransplant of Human Glioblastoma Successfully Recapitulates Glioblastoma-Microenvironment Interactions in a Non-Immunosuppressed Mouse Model. *BMC Cancer* 2014, 14, 923.
61. GUILLEMIN, G.J.; BREW, B.J. Microglia, Macrophages, Perivascular Macrophages, and Pericytes: A Review of Function and Identification. *J. Leukoc. Biol.* 2004, 75, 388–397.
62. NDUOM, E.K.; WEI, J.; YAGHI, N.K.; HUANG, N.; KONG, L.-Y.; GABRUSIEWICZ, K.; LING, X.; ZHOU, S.; IVAN, C.; CHEN, J.Q.; *et al.* PD-L1 Expression and Prognostic Impact in Glioblastoma. *Neuro. Oncol.* 2016, 18, 195–205.
63. BERGHOFF, A.S.; KIESEL, B.; WIDHALM, G.; RAJKY, O.; RICKEN, G.; WÖHRER, A.; DIECKMANN, K.; FILIPITS, M.; BRANDSTETTER, A.; WELLER, M.; *et al.* Programmed Death Ligand 1 Expression and Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Glioblastoma. *Neuro. Oncol.* 2015, 17, 1064–1075.
64. DOMEV, H.; MILKOV, I.; ITSKOVITZ-ELDOR, J.; DAR, A. Immuno-evasive Pericytes from Human Pluripotent Stem Cells Preferentially Modulate Induction of Allogeneic Regulatory T Cells. *Stem Cells Transl. Med.* 2014, 3, 1169–1181.
65. BOSE, A.; BARIK, S.; BANERJEE, S.; GHOSH, T.; MALLICK, A.; BHATTACHARYYA MAJUMDAR, S.; GOSWAMI, K.K.; BHUNIYA, A.; BANERJEE, S.; BARAL, R.; *et al.* Tumor-Derived Vascular Pericytes Anergize Th Cells. *J. Immunol.* 2013, 191, 971–981.
66. MONKS, C.R.; FREIBERG, B.A.; KUPFER, H.; SCIAKY, N.; KUPFER, A. Three-Dimensional Segregation of Supramolecular Activation Clusters in T Cells. *Nature* 1998, 395, 82–86.

67. DUSTIN, M.L.; OLSZOWY, M.W.; HOLDORF, A.D.; LI, J.; BROMLEY, S.; DESAI, N.; WIDDER, P.; ROSENBERGER, F.; VAN DER MERWE, P.A.; ALLEN, P.M.; *et al.* A Novel Adaptor Protein Orchestrates Receptor Patterning and Cytoskeletal Polarity in T-Cell Contacts. *Cell* 1998, *94*, 667–677.
68. SHIMONKEVITZ, R.; COLON, S.; KAPPLER, J.W.; MARRACK, P.; GREY, H.M. Antigen Recognition by H-2-Restricted T Cells. II. A Tryptic Ovalbumin Peptide That Substitutes for Processed Antigen. *J. Immunol.* 1984, *133*, 2067–2074.
69. WURZER, H.; HOFFMANN, C.; AL ABSI, A.; THOMAS, C. Actin Cytoskeleton Straddling the Immunological Synapse between Cytotoxic Lymphocytes and Cancer Cells. *Cells* 2019, *8*, doi:10.3390/cells8050463.
70. YANG, Q.; WANG, R.; ZHU, L. Chaperone-Mediated Autophagy. *Autophagy: Biology and Diseases* 2019, 435–452.
71. KAUSHIK, S.; CUERVO, A.M. The Coming of Age of Chaperone-Mediated Autophagy. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2018, *19*, 365–381.
72. VALDOR, R.; MACIAN, F. Autophagy and the Regulation of the Immune Response. *Pharmacol. Res.* 2012, *66*, 475–483.
73. VALDOR, R.; MOCHOLI, E.; BOTBOL, Y.; GUERRERO-ROS, I.; CHANDRA, D.; KOGA, H.; GRAVEKAMP, C.; CUERVO, A.M.; MACIAN, F. Chaperone-Mediated Autophagy Regulates T Cell Responses through Targeted Degradation of Negative Regulators of T Cell Activation. *Nat. Immunol.* 2014, *15*, 1046–1054.
74. LV, M.; MA, Q. Autophagy in Neurodevelopmental Disorders. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2020, *1207*, 171–182.
75. VOGT, M.A.; EHSAEI, Z.; KNUCKLES, P.; HIGGINBOTTOM, A.; HELMBRECHT, M.S.; KUNATH, T.; EGGAN, K.; WILLIAMS, L.A.; SHAW, P.J.; WURST, W.; *et al.* TDP-43 Induces p53-Mediated Cell Death of Cortical Progenitors and Immature Neurons. *Sci. Rep.* 2018, *8*, 8097.

76. KIFFIN, R.; CHRISTIAN, C.; KNECHT, E.; CUERVO, A.M. Activation of Chaperone-Mediated Autophagy during Oxidative Stress. *Molecular Biology of the Cell* 2004, 15, 4829–4840.
77. BENDRIEM, R.M.; SINGH, S.; ALEEM, A.A.; ANTONETTI, D.A.; ROSS, M.E. Tight Junction Protein Occludin Regulates Progenitor Self-Renewal and Survival in Developing Cortex. *Elife* 2019, 8, doi:10.7554/eLife.49376.
78. DING, Y.; SONG, N.; LUO, Y. Role of Bone Marrow-Derived Cells in Angiogenesis: Focus on Macrophages and Pericytes. *Cancer Microenviron.* 2012, 5, 225–236.
79. GACEB, A.; BARBARIGA, M.; ÖZEN, I.; PAUL, G. The Pericyte Secretome: Potential Impact on Regeneration. *Biochimie* 2018, 155, 16–25.
80. GACEB, A.; ÖZEN, I.; PADEL, T.; BARBARIGA, M.; PAUL, G. Pericytes Secrete pro-Regenerative Molecules in Response to Platelet-Derived Growth Factor-BB. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2018, 38, 45–57.
81. KAST, R.E.; HILL, Q.A.; WION, D.; MELLSTEDT, H.; FOCOSI, D.; KARPEL-MASSLER, G.; HEILAND, T.; HALATSCH, M.-E. Glioblastoma-Synthesized G-CSF and GM-CSF Contribute to Growth and Immunosuppression: Potential Therapeutic Benefit from Dapsone, Fenofibrate, and Ribavirin. *Tumour Biol.* 2017, 39, 1010428317699797.
82. MOLINA, M.L.; GARCÍA-BERNAL, D.; MARTINEZ, S.; VALDOR, R. Autophagy in the Immunosuppressive Perivascular Microenvironment of Glioblastoma. *Cancers* 2019, 12, doi:10.3390/cancers12010102.
83. MOLINA, M.L.; GARCÍA-BERNAL, D.; SALINAS, M.D.; RUBIO, G.; APARICIO, P.; MORALEDA, J.M.; MARTÍNEZ, S.; VALDOR, R. Chaperone-Mediated Autophagy Ablation in Pericytes Reveals New Glioblastoma Prognostic Markers and Efficient Treatment Against Tumor Progression. *Front Cell Dev Biol* 2022, 10, 797945.
84. GACEB, A.; PAUL, G. Pericyte Secretome. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2018, 1109, 139–163.

85. VERBEEK, M.M.; WESTPHAL, J.R.; RUITER, D.J.; DE WAAL, R.M. T Lymphocyte Adhesion to Human Brain Pericytes Is Mediated via Very Late Antigen-4/vascular Cell Adhesion Molecule-1 Interactions. *J. Immunol.* 1995, *154*, 5876–5884.
86. BECKMAN, J.D.; GRAZUL-BILSKA, A.T.; JOHNSON, M.L.; REYNOLDS, L.P.; REDMER, D.A. Isolation and Characterization of Ovine Luteal Pericytes and Effects of Nitric Oxide on Pericyte Expression of Angiogenic Factors. *Endocrine* 2006, *29*, 467–476.
87. SHIMIZU, F.; SANO, Y.; ABE, M.-A.; MAEDA, T.; OHTSUKI, S.; TERASAKI, T.; KANDA, T. Peripheral Nerve Pericytes Modify the Blood-Nerve Barrier Function and Tight Junctional Molecules through the Secretion of Various Soluble Factors. *J. Cell. Physiol.* 2011, *226*, 255–266.
88. TUAL-CHALOT, S.; LEONETTI, D.; ANDRIANTSITOHAINA, R.; MARTÍNEZ, M.C. Microvesicles: Intercellular Vectors of Biological Messages. *Mol. Interv.* 2011, *11*, 88–94.
89. OCHS, K.; SAHM, F.; OPITZ, C.A.; LANZ, T.V.; OEZEN, I.; COURAUD, P.-O.; VON DEIMLING, A.; WICK, W.; PLATTEN, M. Immature Mesenchymal Stem Cell-like Pericytes as Mediators of Immunosuppression in Human Malignant Glioma. *J. Neuroimmunol.* 2013, *265*, 106–116.
90. HURTADO-ALVARADO, G.; CABAÑAS-MORALES, A.M.; GÓMEZ-GÓNZALEZ, B. Pericytes: Brain-Immune Interface Modulators. *Front. Integr. Neurosci.* 2014, *7*, 80.
91. KAUSHIK, S.; BANDYOPADHYAY, U.; SRIDHAR, S.; KIFFIN, R.; MARTINEZ-VICENTE, M.; KON, M.; ORENSTEIN, S.J.; WONG, E.; CUERVO, A.M. Chaperone-Mediated Autophagy at a Glance. *J. Cell Sci.* 2011, *124*, 495–499.
92. LUKÁŠ, Z.; DVOŘÁK, K. Adhesion Molecules in Biology and Oncology. *Acta Veterinaria Brno* 2004, *73*, 93–104.
93. MALA, U.; BARAL, T.K.; Somasundaram, K. Integrative Analysis of Cell Adhesion Molecules in Glioblastoma Identified Prostaglandin F2

- Receptor Inhibitor (PTGFRN) as an Essential Gene. *BMC Cancer* 2022, 22, 642.
94. HALL, A. The Cytoskeleton and Cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2009, 28, 5–14.
95. ABSI, A.A.; AL ABSI, A.; WURZER, H.; GUERIN, C.; HOFFMANN, C.; MOREAU, F.; MAO, X.; BROWN-CLAY, J.; PETROLI, R.; CASELLAS, C.P.; *et al.* Actin Cytoskeleton Remodeling Drives Breast Cancer Cell Escape from Natural Killer–Mediated Cytotoxicity. *Cancer Research* 2018, 78, 5631–5643.
96. RAMSAY, A.G.; JOHNSON, A.J.; LEE, A.M.; GORGÜN, G.; LE DIEU, R.; BLUM, W.; BYRD, J.C.; GRIBBEN, J.G. Chronic Lymphocytic Leukemia T Cells Show Impaired Immunological Synapse Formation That Can Be Reversed with an Immunomodulating Drug. *J. Clin. Invest.* 2008, 118, 2427–2437.
97. RAMSAY, A.G.; EVANS, R.; KIAII, S.; SVENSSON, L.; HOGG, N.; GRIBBEN, J.G. Chronic Lymphocytic Leukemia Cells Induce Defective LFA-1-Directed T-Cell Motility by Altering Rho GTPase Signaling That Is Reversible with Lenalidomide. *Blood* 2013, 121, 2704–2714.

DISCURSO DE CONTESTACIÓN

DEL ACADÉMICO NUMERARIO

ILMO. SR. DR.

D. CARLOS BELMONTE MARTÍNEZ

SER INVITADO A GLOSAR las razones y méritos que justifican la entrada de un nuevo Académico de Número en las Reales Academias de España es, sin duda, un honor y una responsabilidad. En la elección de la persona encargada de tan grata tarea, se acostumbra a combinar una necesaria cercanía profesional con el elegido, que asegura conocimiento y objetividad en la valoración del el nuevo Académico, con el afecto y amistad personal entre ambos.

Reconociendo la necesidad de conjugar ambos factores, en mi intervención trataré de ofrecer una descripción obligadamente breve de los muchos méritos profesionales del Profesor Salvador Martínez, pero también un relato mas subjetivo y personal de su trayectoria vital y de los principios y valores humanos en los que ha fundado el desarrollo de su carrera, a fin de ofrecer un perfil humano del Profesor Martínez, que demuestra y legitima sobradamente la justeza de su elección por los miembros de esta Real Academia.

La descripción de la trayectoria científica y universitaria del Profesor Salvador Martínez empieza, obligadamente, citando su lugar de nacimiento, Abengibre, un minúsculo pueblo albaceteño con alrededor de un millar de habitantes. Allí transcurrió su infancia (la verdadera patria de los hombres, en boca de Rilke), con pocos niños con quien jugar y como hijo único de una familia modesta, donde el padre, agricultor, trabajaba sus escasas tierras ayudado por su hijo en los veranos y días libres, ambos apoyados siempre por el cariño de su madre. Es la historia de una más de las tantas familias humildes de la España rural de esos tiempos, que sacrificaron sus vidas para ofrecer al hijo lo que ellos no tuvieron oportunidad de alcanzar. Me atrevo a imaginar que la infancia de Salvador en tierras manchegas, feliz, rodeado de afecto y un poco solitaria de acuerdo

con sus propias palabras, cinceló su personalidad de niño muy despierto, que mostraba tempranamente, una curiosidad insaciable y obtenía de la exploración de la naturaleza a su alrededor, gran parte de su entretenimiento. En esos años, Salvador incorporó para sí mismo el modo de ver la vida de las gentes a su alrededor, en una tierra áspera pero extrañamente hermosa, en la que el esfuerzo sin queja y la austeridad eran valores aceptados y cuyo carácter se reconoce en muchos de los refranes rotundos y llenos de sabiduría ancestral, que en boca de Sancho tanto desesperaban a Don Quijote.

El padre de Salvador fue un hombre inteligente, que en los años de la preguerra tuvo que renunciar a una oferta de continuar sus estudios lejos del pueblo cuando terminó la enseñanza primaria y ponerse a trabajar la tierra que alimentaba a una familia numerosa, sin más hijos varones que él. Quizá por eso, se esforzó en que su hijo, que pudo ya estudiar con brillantez y sin problema toda la enseñanza secundaria gracias a becas del Ministerio de Educación, mantuviera vivo su natural empeño por aprender. Eso sí, en las vacaciones y festivos, Salvador trabajaba de bracero en el pueblo y durante tres veranos fue con su padre a hacer la vendimia al sur de Francia, oportunidad que aprovechó para, de paso aprender francés.

Al finalizar la enseñanza media y tras obtener en las pruebas de Selectividad una nota de 9 sobre 10, lo que le abría la opción de elegir la carrera universitaria que prefiriera, su padre le acompañó en una fría mañana de Septiembre de 1979 a un autobús que le conduciría a Murcia, único distrito en el que como albaceteño tenía derecho a aspirar a una beca universitaria completa para alguna de las carreras ofrecidas por la Universidad de Murcia. En realidad, su ilusión, que se demostró implosible, era hacer Bellas Artes en Valencia, si bien una vez en Murcia, se decidió por su segunda opción preferida, la Medicina, con gran alivio de sus padres, que, aunque admiraban la llamativa facilidad y gusto de su hijo por el dibujo a mano alzada y la pintura, habilidad e interés que Salvador conserva, temían que se decidiera por cualquier estudio mas cercano a las artes plásticas.

Pronto fue consciente de haber elegido acertadamente su destino y para Salvador Martínez, estudiar durante 6 años Medicina en Murcia, siempre como becario, resultó un paseo triunfal cargado de Matrículas de Honor. En 2º Curso entró alumno interno de Histología y desde el año siguiente hasta el fin de su carrera, eligió ser alumno interno en Anatomía, una Cátedra regentada por Luis Puelles, en aquel entonces un joven y brillante neuroanatómico, que combinaba su decidida y entusiasta vocación por la docencia de una anatomía moderna y enfocada hacia la Medicina, con un rigor y modernidad extraordinarios en su investigación científica, muy por delante de lo que se estilaba en la mayor parte de las universidades españolas del momento.

La coincidencia de un maestro excepcional como Luis Puelles, con el estudiante inteligente, lleno de entusiasmo e infatigable trabajador que era Salvador Martínez, no pudo ser mas afortunada y fructífera. Compartieron enseguida su preocupación por ofrecer una enseñanza de Anatomía de calidad a sus alumnos, como primera responsabilidad de cualquier investigador universitario, que debía lograr compatibilizar con un abrumador trabajo en el laboratorio, algo que no asustó al joven Salvador Martínez. Y así, éste se incorporó de lleno a los trabajos de embriología del sistema nervioso que había iniciado Luis Puelles, dirigidos a entender mecanísticamente los principios que rigen el desarrollo temprano del Sistema Nervioso, aprendiendo las técnicas mas modernas de la anatomía funcional adquiridas por su maestro en sus estancias en Estados Unidos. En paralelo a su decidida vocación científica y docente, Salvador Martínez ha mantenido, desde sus inicios de la carrera de Medicina en Murcia hasta el día de hoy, una clara conciencia de la prioridad de su condición de médico y de la responsabilidad que ello representa a la hora de decidir la orientación personal de la actividad docente e investigadora. Por eso, siendo todavía estudiante, se desplazaba todos los días de sus vacaciones de verano que le dejaba libre el trabajo en el campo con su padre, festivos incluidos, a aprender medicina de urgencia en el Servicio de Traumatología del Hospital General de Albacete, llegando incluso el último año de estudiante, a substituir a los residentes como ayudante de quirófano.

Pese a su gusto por la clínica, el recién graduado Salvador Martínez había decidido ya que el mundo académico era el entorno intelectual mas adecuado para materializar su curiosidad por entender científicamente la estructura y funciones del organismo humano en la salud y la enfermedad, y muy particularmente, las del fascinante cerebro, sustento esencial de las características mas propias de la especie humana, en cuyo desarrollo se centraba precisamente el interés de su maestro, Luis Puelles. De ahí que, tan pronto terminó la carrera, por cierto con Premio Extraordinario, presentó una tesina de Licenciatura sobre un nuevo atlas estereotáxico de del cerebro de pollo que había elaborado siendo todavía de alumno interno de Anatomía y a partir de allí, inició su carrera como investigador, enfocada a estudiar el desarrollo temprano del Sistema Nervioso. Salvador Martínez obtuvo pronto una beca de estudios de la Sociedad de Medicina y Cirugía de Albacete y por consejo de su mentor, la dedico a pagarle una estancia de 3 meses en París, trabajando en el laboratorio de Constantino Sotelo, un científico español discípulo de Fernando de Castro y emigrado a Francia y también el microscopista electrónico del sistema nervioso mas prestigioso de la neurociencia mundial en aquel momento. El laboratorio de Sotelo empleaba tecnologías muy novedosas de trasplante celular en el tubo neural de embriones y el joven Salvador, bajo la tutela de Cuca Alvarado-Mallart, una gran científica, hija del famoso biólogo español Salustio Alvarado y mano derecha de Sotelo, produjo en ese breve periodo de tiempo dos artículos internacionales que Salvador firmaba como primer autor, empleando la entonces novedosa técnica de trasplante de neuronas embrionarias de codorniz en el tubo neural de embriones de pollo para definir la capacidad inductiva de las llamadas “regiones organizadoras” en el desarrollo neural. Sotelo le propuso, al fin de su estancia, que regresara cuando quisiera al laboratorio parisino como investigador postdoctoral del INSERM para seguir trabajando con ellos y así lo hizo, volviendo a Murcia el tiempo que requirió terminar su tesis y casarse con Paloma, su mujer.

La estancia postdoctoral en Paris permitió a Salvador Martínez participar de modo decisivo en la apasionante aventura científica de romper con el

imperante concepto determinista del desarrollo del sistema nervioso, al demostrar la capacidad inductiva de las regiones organizadoras cuando identificaron el origen del organizador ístmico (IO), un hallazgo seminal publicado en *Neuron* en 1991, en el que él era primer autor, lo que le permitió codearse, a partir de entonces, con los científicos más destacados del campo. Al poco de su regreso a España con un contrato de Profesor de Enfermería, Salvador Martínez obtuvo por oposición una plaza de Profesor titular de Anatomía en Murcia. Allí continuó su trabajo sobre los organizadores morfogenéticos implicados en el desarrollo del cerebro.

Los científicos más punteros de la neurobiología del desarrollo a nivel mundial, trataban entonces de identificar los mecanismos genéticos determinantes de las propiedades específicas de las células embrionarias que impulsan la morfogénesis y Salvador decidió aplicar esta estrategia a sus estudios sobre las regiones organizadoras. Becado por la OTAN y después por el Fogarty Institute de NIH, marchó dos años al Langley Porter Psychiatric Institute a trabajar junto a John Rubenstein en búsqueda de la señal morfogenética del organizador ístmico, lo que le llevó a descubrir que la molécula *Fgf8* es la señal molecular que codifica la información posicional del organizador ístmico, un hallazgo con gran repercusión descrito por él en *Science* en 1994 y *Nature* en 1996.

De vuelta a España, Salvador aceptó incorporarse al Instituto de Neurociencias como Profesor Titular, pasando pronto a Catedrático de Anatomía de la Universidad Miguel Hernández. Desde entonces hasta hoy, Salvador Martínez, con Eduardo Puelles y Diego dos colaboradores que le acompañaron, ha descubierto otras regiones organizadoras como la ZLI y la ANR. En este tiempo, sus contribuciones al conocimiento de los mecanismos causales del desarrollo de la complejidad estructural del Sistema nervioso incluyen el estudio secuencial del desarrollo embrionario, empleando nuevos marcadores moleculares y el análisis de expresiones génicas de forma sistemática y masiva. Tales estudios han ayudado a descifrar nuevos mecanismos moleculares asociados a la regionalización cerebral y de modo particular, al desarrollo del modelo prosomérico postulado por su maestro, el Profesor Puelles, y a cuyo desarrollo Salvador

Martínez ha estado vinculado desde el origen. La orientación de su trabajo actual en estas áreas prosigue con el análisis de los mecanismos morfogenéticos, a nivel molecular, celular y tisular, responsables de dar forma a una característica anatómica específica. La búsqueda del patrón de expresión génica subyacente desplegado en las células y las modificaciones de los circuitos reguladores de genes que han acompañado a los cambios evolutivos de las características anatómicas y en la generación de anomalías.

Al principio de mi intervención he resaltado la preocupación del Profesor Salvador Martínez por que su investigación repercuta en avances médicos concretos y mejoras de la salud de los pacientes. Esta convicción ha hecho que busque siempre una posible aplicación clínica a sus hallazgos experimentales. En ese terreno, ha estudiado el papel del gen *Lis1* en el desarrollo de la corteza cerebral y mostrado que la aparición de ectopia en la posición de las neuronas de la corteza, se traduce en una anomalía funcional de los circuitos corticales que se manifiesta como cuadros epilépticos y vulnerabilidad para desarrollo de enfermedades mentales. En otra dirección, sus investigaciones sobre los factores moleculares implicados en la diferenciación neuronal le han conducido a investigar la potencialidad de las células neurales del cerebro adulto para restaurar procesos neurodegenerativos. En esa dirección, sus estudios explorando la capacidad neurotrófica e inmunoreguladora de las terapias celulares han dado resultados prometedores y le han empujado a iniciar ensayos clínicos todavía activos, inyectando células mononucleares autólogas en pacientes con Esclerosis Lateral amiotrófica (ELA). En la misma línea de investigación traslacional se incluyen las investigaciones del Profesor Martínez narradas, casi poéticamente, en su Discurso, en las que explora los mecanismos moleculares y celulares que participan en el desarrollo de los procesos a través de los cuales el cáncer cerebral infiltra el tejido sano, demostrando, en el glioblastoma multiforme, que las células cancerosas condicionan la respuesta del sistema inmune, actuando sobre los pericitos del cerebro y anulando sus propiedades antitumorales, un trabajo recientemente publicado en PNAS, *Frontiers in Cell and Dev. Biol.* y otras revistas científicas de primera fila.

Para recoger de manera objetiva el impacto de la investigación del Profesor Salvador Martínez en la neurociencia mundial, termino señalando que éste se encuentra entre los neurocientíficos españoles mas citados del campo, con 13.354 referencias bibliográficas de sus trabajos y un índice h de 63.

Este relato, he tratado de resaltar la calidad científica y el impacto internacional de la investigación científica desarrollada hasta hoy por el nuevo Académico. Sin embargo, debo señalar que el trabajo de laboratorio ha ocupado solo una parte de su faceta investigadora. Salvador Martínez, gracias a su personalidad abierta y conciliadora, ha establecido lazos de colaboración y amistad con muchos científicos de España y de países muy diferentes social y culturalmente, e intervenido en el desarrollo de iniciativas y planes públicos y privados, dirigidos a promover la investigación científica en nuestro país, dedicando una parte no pequeña de su esfuerzo e ilusiones, al progreso general de la Ciencia en España. Por eso, cuando su Alma Mater, la Universidad de Murcia y los gestores de la Sanidad de esta Comunidad Autónoma le pidieron su colaboración para crear un instituto público de investigación que abarcara hospitales y centros académicos, no dudó en sacrificar tiempo, estabilidad familiar y actividad científica personal en ayudar a la organización y puesta en marcha del actual IMIB-Arrixaca. Al su regreso a Alicante tras esa aventura, sus colegas del Instituto de Neurociencias le elegimos como Director del mismo y una vez más, acepto dedicarse, con abnegación y buen ánimo a la gestión científica, luchando incansablemente desde 2016 a 2020 por facilitar el trabajo de sus compañeros del Instituto a expensas del suyo.

Una reflexión similar es aplicable a la dedicación de Salvador Martínez a la docencia de pre- y postgrado. Como profesor de universidad, firmemente convencido de la responsabilidad que conlleva la formación de los futuros profesionales de la salud, Salvador Martínez ha dedicado, desde sus primeros pasos como profesor universitario, una atención prioritaria a las obligaciones docentes. Para los alumnos, no solo es un profesor particularmente brillante y ameno sino también uno de los mas populares y queridos de la Facultad de Medicina.

En este discurso me he centrado principalmente en los logros profesionales conseguidos por Salvador Martínez como investigador científico de excelencia y modélico profesor universitario, logrados con el mérito adicional de haberlos conseguido, desde su etapa juvenil, en condiciones duras, superadas con inteligencia y esfuerzo y lo que me parece mas importante, conservando una actitud optimista para enfrentarse a los problemas y la capacidad de ilusionarse con nuevas perspectivas. Su bonhomía y lealtad en la relación con los demás, y su gran capacidad de disfrutar de la pintura, la gastronomía o las tertulias hacen de él una persona de amistades entrañables y duraderas.

Salvador ha recordado en su intervención, que nos conocimos hace ya 30 años y también que recibí hace 4 años el premio a una vida de formación de científicos brillantes que me concedió, junto a Margarita Salas, la revista Nature. En esa dilatada vida académica, he podido seguir la trayectoria de algunos jóvenes científicos de ambos sexos, que han sabido alcanzar el nivel de excelencia que define a los genuinos investigadores. Salvador Martínez es, decididamente, uno de ellos y por eso termino mis palabras dándole una calurosa bienvenida a esta Academia y expresando públicamente mi orgullo y alegría por saber que va a ser él quien ocupe el sillón que esta corporación tuvo, en su día, la bondad de concederme.

He dicho.