



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

La importancia de los macrófagos en el Glioblastoma Multiforme
The relevance of macrophages in Glioblastoma Multiforme

Autor

JUAN FALCÓN GOICOECHEA

Director

SARA OLIVÁN GARCÍA

FACULTAD DE MEDICINA

2020



Universidad Zaragoza



INDICE

1. RESUMEN	3
2. ABSTRACT.....	3
3. OBJETIVO.....	4
4. METODOLOGÍA.....	4
5. INTRODUCCIÓN	5
5.1. Epidemiología y pronóstico.....	5
5.2. Clínica.....	5
5.3. Diagnóstico.....	7
5.4. Aspectos anátomo-patológicos	8
5.5. Tratamiento.....	10
6. MICROAMBIENTE TUMORAL DEL GBM	13
7. MACRÓFAGOS ASOCIADOS A TUMORES O TAMs.....	16
8. RECLUTAMIENTO Y POLARIZACIÓN DE LOS TAMs.....	18
8.1. Polarización de los TAMs.....	19
9. ESTADO DE INMUNOSUPRESIÓN.....	22
10. POSIBLES VÍAS TERAPEUTICAS BASADAS EN MACROFAGOS	24
11. CONCLUSIONES.....	26
12. ABREVIATURAS.....	27
13. BIBLIOGRAFIA.....	28

1. RESUMEN

El glioblastoma multiforme (GBM) es el tumor primario más frecuente del sistema nervioso central con una supervivencia media a los 5 años del 5,5% de los pacientes. Actualmente, el tratamiento de esta tumoración es muy agresivo; incluyendo una resección máxima de la tumoración, radioterapia y quimioterapia. Sin embargo, este tratamiento no es suficiente para disminuir el índice de mortalidad, por lo que supone todo un reto para la comunidad medica y científica buscar nuevos tratamientos más efectivos. En condiciones normales los macrófagos presentes en el microentorno tumoral deberían luchar a favor del organismo, enfrentándose y eliminando las células tumorales. Sin embargo, las células del glioblastoma son capaces de reprogramar a estos macrófagos haciendo que actúen a su favor y promoviendo la progresión y proliferación celular. Una posible nueva vía terapéutica podría estar basada en la re-educación o reprogramación de los macrófagos presentes en el microentorno tumoral. Por lo tanto, una mejor comprensión de los procesos que inducen este cambio en los macrófagos y del modo en que se podría revertir, alentará en el futuro al desarrollo de nuevas terapias.

Palabras clave: GBM; Glioblastoma Multiforme; TAM; macrophages; microglia; tumor microenvironment; tumor-associated macrophages.

2. ABSTRACT

Glioblastoma multiforme (GBM) is the most common primary tumor of the central nervous system with a 5-year median survival of 5.5% of patients. Currently, the treatment of this tumor is very aggressive, including a maximum resection of the tumor, radiotherapy and chemotherapy. However, this treatment is not enough to decrease the mortality rate, so it is a challenge for the medical and scientific community to seek new more effective treatments. Under normal conditions, macrophages present in the tumor microenvironment should fight in favor of the organism, confronting and eliminating tumor cells. However, glioblastoma cells are capable of reprogramming these macrophages by causing them to act in their favor and promoting cell progression and proliferation. A better understanding of the processes that induce this change in macrophages and how it could be reversed, will encourage the development of new therapies in the future.

Palabras clave: GBM; Glioblastoma Multiforme; TAM; macrophages; microglia; tumor microenvironment; tumor-associated macrophages.

3. OBJETIVO

El **objetivo principal** de esta revisión bibliográfica es analizar y comprender el comportamiento y el papel de los macrófagos presentes en el microentorno tumoral (TME) del GBM y su posible valor terapéutico con el fin de desarrollar nuevos tratamientos frente a la enfermedad.

Para ello, se han establecido de modo más específico los siguientes objetivos:

- Revisar los aspectos generales del GBM como la epidemiología, la histología y la clínica de esta tumoración; así como su tratamiento actual en clínica.
- Caracterizar celularmente el TME presente en el GBM.
- Analizar el papel y el comportamiento de los macrófagos presentes en el TME en condiciones fisiológicas y patológicas.
- Presentar a los macrófagos como una posible vía terapéutica.

4. METODOLOGÍA

Antes de comenzar con la búsqueda bibliográfica se planteó el propósito de este trabajo. Dada la alta tasa de mortalidad del GBM es necesario el desarrollo de nuevos tratamientos que consigan aumentar la supervivencia. Uno de los ámbitos de estudio es el papel de los macrófagos en el TME del GBM.

En esta revisión bibliográfica se ha dividido la búsqueda en dos partes. Por un lado, la búsqueda de aspectos generales del GBM (clínica, terapéutica, epidemiología...), y por otro lado, una búsqueda mas específica sobre el objetivo principal de este trabajo: el papel de los macrófagos en el GBM y su posible valor terapéutico para mejorar y controlar la progresión tumoral. Para el apartado de generalidades del GBM se ha procedido a la búsqueda en diversos manuales y libros de la biblioteca de Medicina de la Universidad de Zaragoza, mientras que para la búsqueda del tratamiento y algoritmos terapéuticos se ha acudido a la Sociedad Española de Oncología Medica (SEOM) y Cochrane. El apartado centrado en Inmunopatología y las reacciones de los TAM en el TME se ha realizado la búsqueda sistemática de los últimos artículos en la plataforma de PubMed. La búsqueda se realizó mediante el uso de descriptores de ciencias de la salud (DECS), así como de filtros temporales (únicamente se han tenido en cuenta artículos de los últimos años) y de operadores booleanos; de tal forma que se acotaba la búsqueda a los artículos que realmente eran útiles para la elaboración de la revisión.

5. INTRODUCCIÓN

5.1. EPIDEMIOLOGIA Y PRONÓSTICO

El glioblastoma multiforme (GBM) es la forma más anaplásica de los astrocitomas. El origen del tumor es incierto, ya que podría provenir tanto de la dediferenciación y malignización de una estirpe celular más benigna (astrocitoma grado I) como de una degeneración directa a GBM.(1)

Ante la aparición de una lesión cerebral en un paciente adulto, esta se tratará con mayor probabilidad de una tumoración secundaria o metastática. Sin embargo, si se refiere exclusivamente a tumoraciones primarias en adultos, el GBM es el principal. Su incidencia es mucho mayor en pacientes entre 75- 84 años y los hombres además padecen mas esta tumoración. (2,3)

El pronóstico de esta tumoración es realmente alarmante, siendo la supervivencia a 5 años únicamente del 5,5% de los casos y con una supervivencia media del paciente de unos 15 meses. Comparativamente con otras tumoraciones cerebrales primarias el GBM es devastador, siendo el líder en la tasa de sobrevida. Todos estos datos apoyan una realidad sórdida y difícil de aceptar, ya que no se dispone de conocimientos suficientes para abordar terapéuticamente de forma satisfactoria esta tumoración.(3–5)

5.2. CLÍNICA

La clínica del GBM es similar a la del resto de tumoraciones cerebrales. Sin embargo, hay que tener en cuenta algunas características propias de esta tumoración gracias a las cuales se pueden diferenciar del resto de neoplasias.

Por norma general los tumores cerebrales producen una clínica progresiva, siendo en el caso del GBM mas característica la presencia de sintomatología inespecífica durante unos meses, acompañándose cercanamente al diagnostico de convulsiones y sintomatológica focalmente mas definida. La focalidad suele estar relacionada además con el edema que produce esta tumoración. Es por esto que en el momento del diagnóstico el GBM tiene ya rasgos de invasión y malignidad tumoral provocando así las bajas tasas de supervivencia que reflejan las estadísticas.(6,7)

Entre todas las posibles manifestaciones clínicas se pueden destacar las siguientes:

Hipertensión intracraneal

En el caso de los adultos, al situarse la tumoración con más frecuencia en zonas frontotemporales, los signos clínicos aparecen más tarde gracias a la plasticidad de esta zona cerebral; pero cuando se llega al punto en que la plasticidad no se adapta al tumor aparece la hipertensión intracraneal. En el caso del GBM es muy importante el componente edematoso peritumoral claramente apreciable en la resonancia nuclear magnética (RNM) y en la secuencia FLAIR (como se detallará más adelante en este apartado). El amplio tamaño de la zona tumoral que suele tener el GBM junto con su gran zona edematosa son los que provocan en conjunto el efecto masa que dará como consecuencia el aumento de la presión intracraneal.(5,7)

Además, la cefalea es la sintomatología más frecuente en las tumoraciones cerebrales, siendo característica de predominio nocturno, llegando incluso a despertar al paciente. Se produce debido a la tracción o compresión de ciertas estructuras sensibles, así como a la propia elevación de la presión intracraneal.(3)

La triada clásica de la hipertensión intracraneal consistirá en la aparición de cefalea junto con náuseas y vómitos en escopeta y la aparición de edema de papila a la exploración del fondo de ojo debida a la compresión tumoral.

Hemorragia intratumoral

Este síntoma es característico de procesos metastáticos y del GBM primario por su alta irrigación sanguínea, produciendo una clínica de agudización en la cual el paciente empeora bruscamente. Es típico escuchar en consulta: *“mi familiar estaba muy bien hasta ahora, que esta fatal”*. Esto pone de manifiesto la brusquedad con la que se descubre esta tumoración y en una situación en la que la enfermedad ya es avanzada. (7,8)

Focalidad neurológica

Este síntoma está claramente relacionado con la zona de compresión, infiltración o desplazamiento cerebral producida por el crecimiento tumoral. Se pueden observar síntomas como trastornos en el lenguaje, alteraciones en la visión, alteraciones de la marcha, alteraciones sensitivas...

En el caso del GBM es muy relevante la aparición de crisis epilépticas. Dentro de los gliomas de alto grado entre el 30% y el 60% de los pacientes sufren de estatus epiléptico, siendo, por lo tanto, un factor a tener en cuenta tanto en el diagnóstico de la tumoración como en la pauta terapéutica. Otro de los modificadores neurológicos a tener en cuenta

es tanto los cambios de personalidad (posible formalización), como el obnubilamiento y las alteraciones de la conciencia.(3,5,8)

Es por esto que un paciente de mediana y avanzada edad con clínica de focalidad neurológica de nueva aparición, así como crisis epiléptica sin antecedentes previos, debe estar sin lugar a dudas en nuestro diagnostico diferencial la causa tumoral.

5.3. DIAGNÓSTICO

El principal motivo por el que se sospechará de la presencia de una tumoración cerebral será por una de las consecuencias que produzca el mismo; es por esto que el paciente con GBM acudirá con uno de los cuadros descritos en el apartado anterior.

Para realizar el diagnóstico clínico se realizarán las siguientes pruebas:

Examen neurológico

Ante un paciente que acude por sospecha de tumoración cerebral será realmente importante la realización de una correcta anamnesis, así como la exploración neurológica para poder localizar y centrar la lesión.(5,7)

Tomografía computarizada

La tomografía computarizada (TC) esta en un nivel inferior a la resonancia nuclear magnética (RNM) en cuanto a detalle en la visualización, pero es sin lugar a dudas imprescindible para el diagnostico de sospecha del GBM. No es sino mediante la realización de un TC en la que la mayoría de las veces se visualiza por primera vez la tumoración. El TC es el que permite distinguir el origen de la sintomatología neurológica que padece el paciente pudiendo conducir al diagnostico.(6,7)

En la TC se observará una masa grande la cual provoca un borramiento de las circunvoluciones adyacentes. Debido a este gran tamaño, en las zonas centrales de la tumoración se disminuye el aporte sanguíneo llevando a la formación de zonas necróticas (áreas hipodensas en el centro de la tumoración). En torno a la masa, además se producirá una zona de inflamación generalizada. Este edema, aunque apreciable con la tomografía se apreciará mejor en la secuencia FLAIR de la resonancia.(9)

RNM

Es la técnica por excelencia para la visualización del GBM. Gracias a la utilización de contraste (gadolinio) se permitirá una mejoría en la visualización de la lesión, así como beneficiarse de las distintas secuencias que se podrán obtener.(6,7,10)

Como norma general se apreciará una lesión de características heterogéneas junto con importante efecto de masa. Estas características concuerdan y deben compararse con su composición histológica. Las características de heterogenicidad se corresponden a una tumoración con áreas con mayor y menor concentración de células, así como zonas quísticas y áreas en las que se aprecian importantes zonas de necrosis y hemorragias intratumorales.(4,9,10)

En la secuencia T2 (FIGURA 1) se aprecia de forma mas clara los cambios relacionados con la celularidad tumoral, siendo las zonas con más concentración hipointensas. Se diferencia también de forma característica los cambios hemorrágicos intratumorales, siendo importantes debido a su repercusión clínica (FIGURA 1).(9)

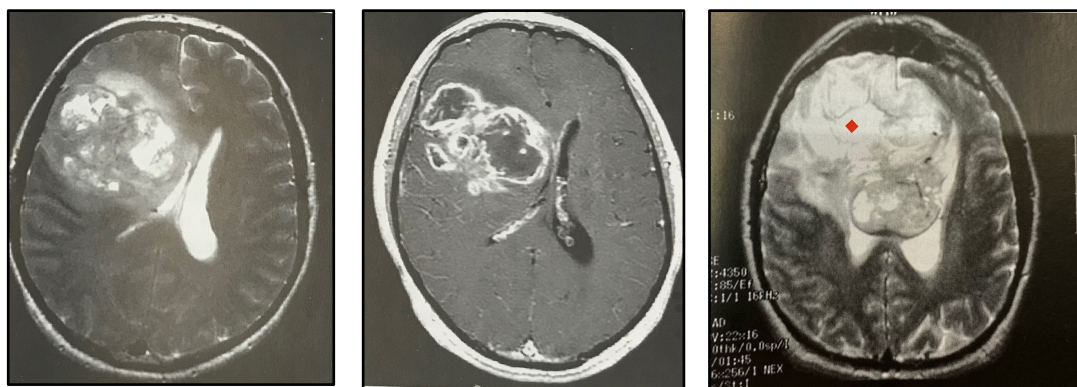


FIGURA 1 RNM de un GBM T2 (primera imagen) , T1 con contraste (segunda imagen) y FLAIR (tercera imagen). En las imágenes se aprecia una gran masa tumoral de bordes mal delimitados y muy heterogénea que atraviesa la línea media. Es notorio el gran edema perilesional el cual se aprecia mejor en la secuencia FLAIR; este edema junto al gran tamaño del GBM provoca un gran efecto masa. Es destacable los cambios de intensidad en la zona centrotumoral de las distintas secuencias atribuible a la necrosis que produce el GBM por su progresión y falta de aporte sanguíneo a la zona central.(30)

Mediante la secuencia FLAIR es posible anular la señal generada por el líquido cefalorraquídeo, siendo útil para ciertos casos como la visualización del edema. Gracias a la secuencia FLAIR se podrá valorar el nivel de edema perilesional de la tumoración el cual es característicamente muy extenso; por lo tanto se suman tanto el tamaño tumoral como el edema generando un efecto masa muy considerable.(4,9)

La biopsia esterotáctica se reserva para la tumoración de difícil acceso quirúrgico. En el caso del GBM es necesario realizar la biopsia de dos trayectos debido a la alta heterogenicidad del tumor; de esta forma se asegura un diagnostico concordante a la lesión.(9)

5.4. ASPECTOS ANÁTOMO-PATOLÓGICOS

El GBM deriva de una estirpe celular del sistema nervioso central conocida como neuroglia. La neuroglia esta constituida por un conjunto de células situadas en torno a las neuronas en el sistema nervioso central. Su principal función es generar un

microambiente idóneo para el correcto funcionamiento del sistema nervioso, controlar además la homeostasis, así como participar en la defensa tisular. El GBM se caracteriza por derivar de células de estirpe glial con una alta mitosis, así como un alto contenido en células con polimorfismo nuclear.(11,12)

Macroscópicamente el GBM se suele apreciar como una masa de gran tamaño con múltiples focos tanto hemorrágicos como necróticos (ver FIGURA 2). Suele aparecer mas frecuentemente en los hemisferios cerebrales siendo su localización preferente en el tronco encéfalo-cerebelo y mucho más rara en la medula espinal. La muerte en los pacientes se suele producir por la expansión y el aumento del tamaño del tumor, aunque puede acompañarse de procesos metastásicos por todo el neuroeje. (13)

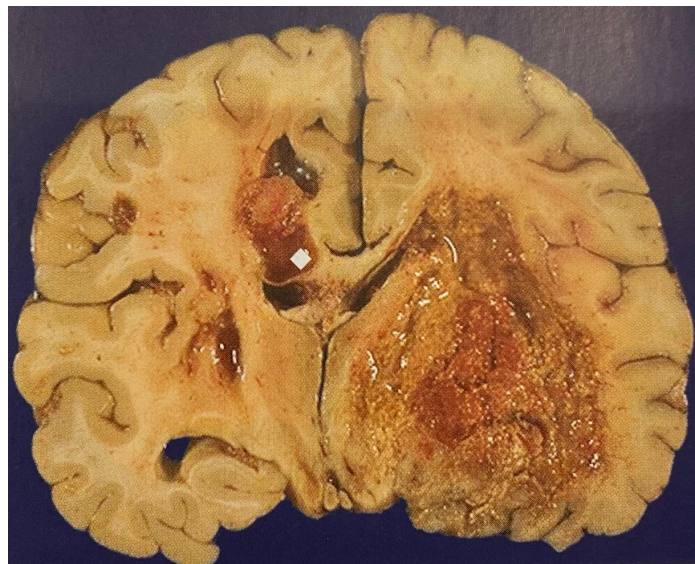


FIGURA 2 Pieza macroscópica GBM. Se aprecia un cerebro humano en corte coronal con una gran masa tumoral y extensa zona necrótica. La tumoración infiltra línea media y hemisferio contrario. (30)

La tumoración avanza de forma muy agresiva; tanto, que no es capaz de nutrir y proporcionar oxígeno a sus propias células creando zonas extensas de necrosis (sobre todo en zonas centrales) y, liberando sustancias proinflamatorias que favorecerán la aparición de edema que es responsable principal de las manifestaciones clínicas anteriormente descritas. Es realmente característico y distintivo en este tumor la distribución celular en los bordes del tumor en pseudoempalizada (las células malignas se ordenan paralelamente entre ellas recordando a una empalizada) presente alrededor de la zona necrosada (ver FIGURA 3).

Al hacer el examen microscópico se observan células astrocíticas con una diferenciación muy pobre, con núcleos atípicos y una alta actividad mitótica; lo que se relaciona con una alta malignidad tumoral. El GBM recibe su nombre por su composición celular heterogénea que consiste en un conjunto de células con morfología muy variable, redondeadas, en forma de huso, polinucleadas, gigantes, pequeñas... En ocasiones debido a la alta indiferenciación celular es complicado analizar el origen astrocítico de la tumoración. Por ello a los anatomopatólogos en situaciones en las que reciben muestras muy escasas (biopsias esterotáxicas), se les dificulta realmente la labor de analizar y tipificar la tumoración.

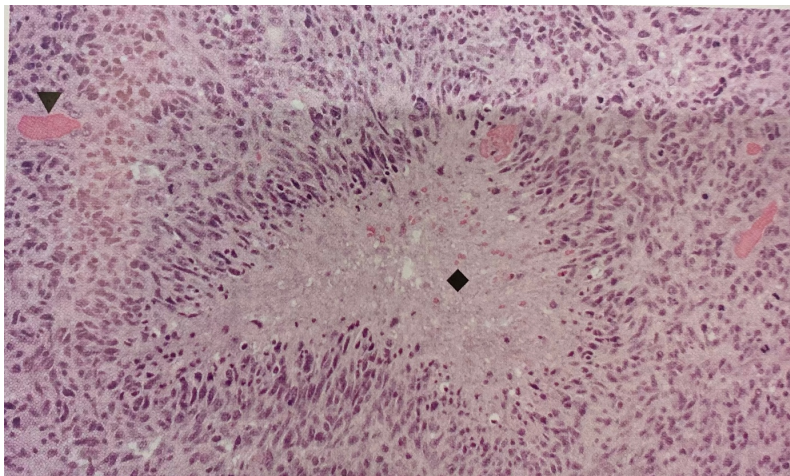


FIGURA 3 Pieza microscópica GBM. Se trata de una tumoración muy celular con gran pleomorfismo e hiperchromatismo. Destaca la abundante vascularización (▽), así como una zona de necrosis central (◆). Las células se disponen formando pseudoempalizadas en torno al área necrótica.(30)

Además de todo lo anteriormente descrito se encuentra una amplia proliferación vascular con numerosos vasos algunos de los cuales se encuentran trombosados.(14)

5.5. TRATAMIENTO

Como se ha mencionado anteriormente, a tasa de supervivencia del GBM es desoladora, con tan solo un 5,5% de supervivencia a los 5 años tras su diagnóstico. Estos datos demuestran el pobre resultado del tratamiento actual frente al GBM.

El esquema terapéutico del GBM es realmente agresivo, siendo la cirugía un pilar principal mediante el cual se intentará eliminar la mayor cantidad de tumoración. Debido a la gran capacidad migratoria de sus células y su gran malignidad, se deberá acompañar de un tratamiento con quimioterapia y radioterapia para intentar conseguir una mayor eficacia en el resultado.

La cirugía además de mejorar la adyuvancia permite el análisis anatomopatológico de la tumoración. Actualmente es posible mejorar el porcentaje de resección mediante el uso de la fluoresceína sódica la cual es capaz de adentrarse en la zona tumoral así como las áreas de invasión de la barrera hematoencefálica, ayudando de esta forma al cirujano a mejorar la visualización completa de la lesión y por consecuencia el éxito de la cirugía.(9,15)

Tras la extirpación debe realizarse una RNM de control a las 24-48h, de esta forma se valora la cirugía sin que intervengan factores secundarios como la hemorragia, isquemia e inflamación (aparición a las 72h).(3,4)

La cirugía debe ir seguida de radioterapia concomitante en el lecho quirúrgico para mejorar la efectividad. Esta suele consistir en la administración de una dosis total de 60Gy dividida en varias dosis de unos 2 Gy al día, 5 días por semana añadiendo además de la zona tumoral un margen de 1-2 cm para asegurar la máxima eliminación de células malignas.(16)

La quimioterapia añadida mejora significativamente la supervivencia de los pacientes que solo han recibido radioterapia. El tratamiento quimioterápico con temozolomida concomitante y adyuvante ha demostrado una mejoría significativa en la supervivencia como ofrecen los datos de los metaanálisis de la Sociedad Española de Oncología Medica (SEOM). Se suelen dar 6 ciclos en total, no habiendo evidencia para aumentar los ciclos.(16)(17)

En pacientes de edad avanzada se ha demostrado mejoría con dosis de RT hipofraccionada (40Gy en 15 sesiones) más la temozolomida seguido de otros 12 ciclos de la misma. En los casos de recurrencia debe proponerse la inscripción en un ensayo clínico, aunque también puede seguirse el algoritmo de la SEOM (FIGURA 4).(16)

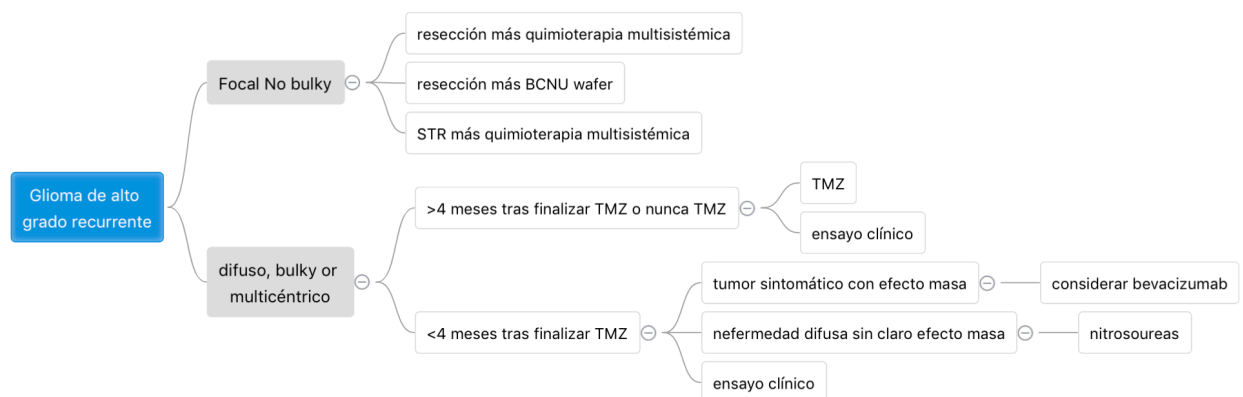


FIGURA 4 Esquema tratamiento GBM (SEOM) (16)

Además de la terapia oncológica propiamente dicha se debe tener en cuenta otra serie de fármacos para paliar los trastornos secundarios producidos por el tumor. Se incluirán

para ello glucocorticoides y corticoesteroides como antiinflamatorios para reducir el edema, antiepilépticos (carbamacepina, gabapentina, levetiracetam...), fármacos para reducir la émesis (vómitos), Además, se proporcionará apoyo psicológico a estos pacientes, muy importante sobretodo en los tratamientos paliativos.(3,6,8)

6. MICROAMBIENTE TUMORAL DEL GBM

El GBM se encuentra rodeado de una serie de estructuras y células que conforman el microentorno tumoral (TME) y que juegan un papel fundamental en su progresión y comportamiento. En condiciones fisiológicas, las células del TME son las encargadas de mantener el correcto funcionamiento del SNC; sin embargo, en condiciones patológicas estas células son condicionadas por las propias células tumorales para mantener y “favorecer” al tumor.

El entendimiento y estudio del TME es necesario para la comprensión del funcionamiento de este tumor. En este particular TME aparecen las propias células tumorales, las células madre del glioma, los astrocitos y las células del sistema inmune (linfocitos T, células NK, macrófagos asociados al tumor o TAM...). Estas últimas juegan un papel importantísimo en la patogenicidad del tumor (ver FIGURA 5).

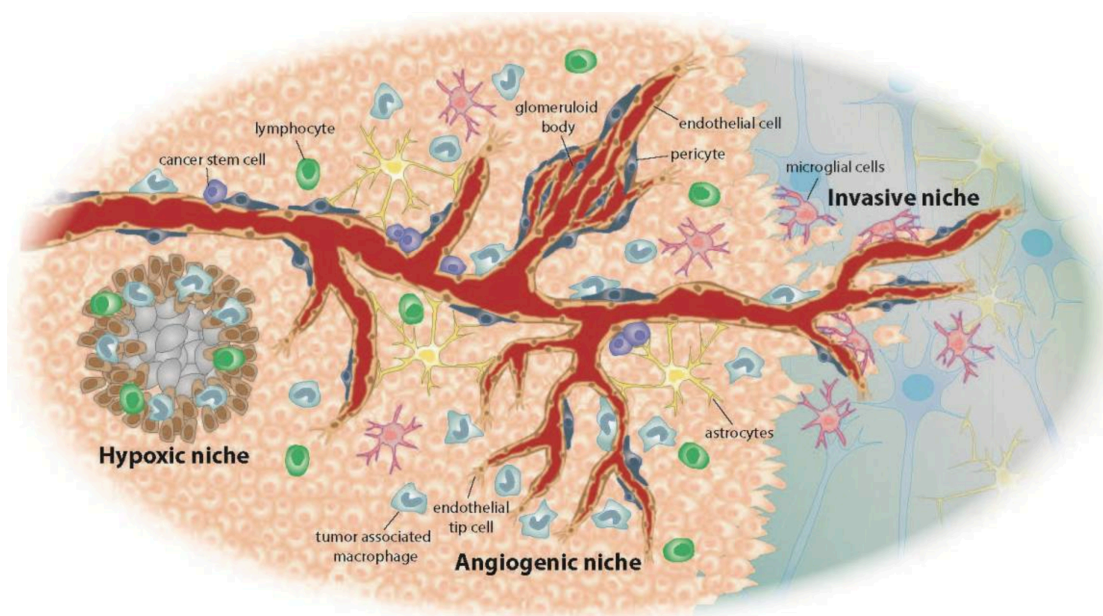


FIGURA 2 Esquema del TME donde destacan las principales células presentes en el GBM (31)

Las **células madre del glioma** (GSC) están muy relacionadas con las células endoteliales, situándose cerca de las zonas de la vascularización y facilitando de esta forma la liberación de sustancias al torrente circulatorio (ver FIGURA 5). Se ha demostrado que la concentración de este tipo de célula esta relacionada con el aumento del grado tumoral. Estas células además son capaces de reclutar de forma activa monocitos originales de la medula ósea por mecanismos como la secreción de CCL2 y CSF-1. (18,19)

Otro tipo celular presente en el TME y característico del SNC son los **astrocitos**. Estas células de forma fisiológica se encargan de forma general del mantenimiento del SNC. Son responsables de un proceso muy especial conocido como gliosis reactiva, por el cual estas células promueven la curación de lesiones mediante la secreción de factores de crecimiento y citosinas. En el caso de la presencia del GBM el tumor es reconocido como una lesión por lo que los astrocitos mediante la liberación de estas sustancias favorecen la proliferación tumoral (ver FIGURA 5). El GBM consigue alterar la percepción que tienen los astrocitos de él, provocando que lo reconozcan como una “herida” la cual deben reparar. (18)

Además, dentro del TME del GBM aparecen las células del sistema inmune (ver FIGURA 6). El objetivo de este complejo sistema es el de proteger al organismo de las posibles amenazas tanto infecciosas como tumorales. Ante la aparición de una célula mutada potencialmente maligna, los linfocitos T participan en su destrucción, librando de esta forma al cuerpo del “futuro tumor”. Sin embargo, en esta tumoración existe una escasa población de **linfocitos T** citotóxicos los cuales en situaciones fisiológicas serían los encargados de la destrucción de las células malignas. Estos linfocitos componen menos de un 0.25% de las células inmunes presentes en el TME.

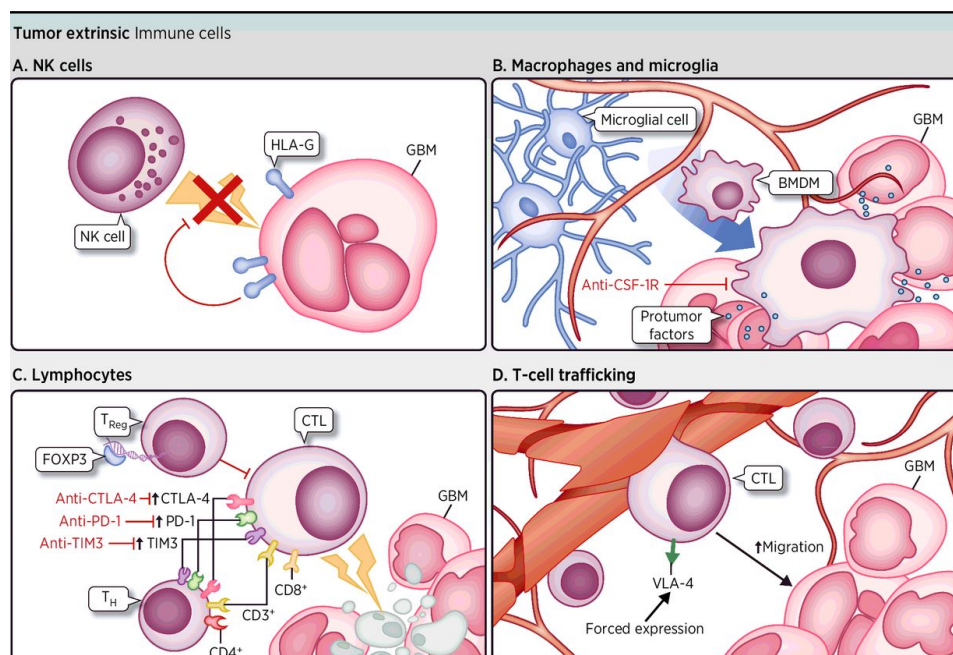


FIGURA 3 Principales células del sistema inmunes presentes en el GBM en las cuales observamos algunas de sus interacciones con el TME que provocan el estado de inmunosupresión tumoral. (18)

Se ha sospechado que existe una relación entre la ausencia de estos linfocitos y el potencial maligno tumoral. Además, al igual que en otras tumoraciones, es destacable la asociación entre la efectividad del tratamiento y la presencia de estos linfocitos. Cuantos más linfocitos aparezcan en la tumoración, más efectiva será la terapia. Al estudiar estas

células en el TME del GBM se ha demostrado que se produce un estado de agotamiento y deterioro de los mismos, lo que provoca un estado de inmunosupresión que empeorara el pronóstico.(18,20)

Dentro del grupo de células del sistema inmune, son realmente destacables los macrófagos asociados a tumores (TAM), los cuales son un eslabón fundamental a la hora de comprender los mecanismos de adaptación tumoral. La disminución de linfocitos y la inmunodepresión presente es la consecuencia de una alteración de estas células que no solo producen alteraciones en el sistema inmunitario, sino que son capaces de alterar todo el TME del GBM. Debido a que estas células son el objeto del presente trabajo se dedicara un apartado exclusivo para ellos a continuación.

7. MACRÓFAGOS ASOCIADOS A TUMORES O TAMs

Las células fagocitarias conforman un sistema mas amplio conocido como sistema fagocítico mononuclear el cual comprende las células procedentes de la medula ósea, y los macrófagos tisulares de cada tejido, en el caso del SNC las células de la microglía. Los TAM existentes en el GBM tienen por lo tanto dos orígenes embrionarios muy distintos. Por un lado, aparecen las células fagocíticas originales del SNC denominados microglía, y por otro, los macrófagos derivados de monocitos infiltrados que son atraídos por la tumoración (ver FIGURA 7). (21) (22)

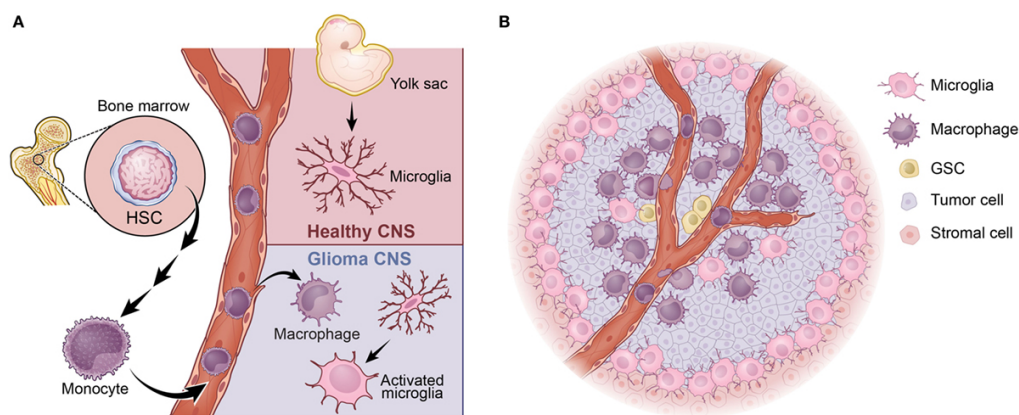


FIGURA 4 TAMs presentes en el GBM. En la imagen A se muestra como se produce el reclutamiento de macrófagos procedentes de la medula ósea. En la imagen B se observa la distribución de los TAMs en el GBM (20)

Los macrófagos son células esenciales en las reacciones inmunológicas del organismo formando parte del sistema inmunitario y participando en la respuesta inflamatoria innata. Los macrófagos tienen un origen en células monocíticas producidas en la medula ósea y que son atraídas por el GBM, siendo en ese entorno donde se diferencian mediante la unión a sus receptores de ligandos específicos. Los macrófagos se activan y ponen en marcha mecanismos como el proceso de fagocitosis, o la atracción de otras células del sistema inmunitario mediante la liberación de quimiotácticos, favoreciendo de este modo la respuesta inflamatoria. Tras el proceso inflamatorio, los macrófagos crean un ambiente reparador fagocitando las células muertas y liberando sustancias que provocan la reparación celular.(22,23)

Por otro lado, la microglía son células que proceden de células del saco vitelino. Esta diferenciación se produce durante el periodo embrionario temprano. Su función principal es la del mantenimiento de la homeostasis cerebral controlando la fagocitosis de células apoptóticas, así como el apoyo a la génesis neuronal. Una de las principales dificultades de los distintos estudios centrados en el análisis de los TAM es la diferenciación celular

de las mismas ya que funcional y estructuralmente son casi idénticas. Se consigue la distinguir ambas poblaciones por la expresión de ciertos marcadores, en el caso de la microglía con baja proporción en CD11b/ CD45 y los macrófagos con alta proporción CD11b/ CD45. (23)(21)

De la totalidad de los TAM que infiltran la masa tumoral el 85% son monocitos/ macrófagos procedentes de la médula ósea, mientras que solo un 15% proceden de la microglía original del SNC. Además, se ha observado una disposición espacial característica para cada una de estas estirpes celulares. La microglía se sitúa en zonas principalmente periféricas de la tumoración y en la materia blanca peritumoral. Existe evidencia suficiente para creer que su papel se centra más en la invasión de las células tumorales. Por otro lado, los macrófagos se presentan en áreas perivasculares, y focalizan su actividad en la gliomagénesis y el crecimiento tumoral (relacionado directamente con la secreción de IL-1 β) así como la formación de neovasos que irrigan la tumoración (ver FIGURA 7). (23)(20)(24)

8. RECLUTAMIENTO Y POLARIZACIÓN DE LOS TAMs

En el momento en el que se produce una alteración en la homeostasis del SNC las células de la microglía, gracias a sus extensiones podocíticas (alargamientos del citoplasma celular mediante las cuales pueden obtener información directa de zonas mas alejadas de su núcleo), lo detectan y liberan sustancias que promueven la glicogénesis y la reparación. Entre estas sustancias liberadas se encuentra el factor de necrosis tumoral alfa (**TNF- α**) que facilita la infiltración de células monocíticas desde la periferia. A consecuencia del aumento del numero de estas células se produce una respuesta inflamatoria, que además favorece la angiogénesis. El **TNF- α** es capaz incluso de aumentar la adhesión plaquetaria, pudiendo llegar a provocar por tanto trombos. Por otro lado, se produce una liberación de oxido nítrico el cual genera una vasodilatación de la zona tumoral lo que provoca un llamamiento y activación de los linfocitos B y T. (25).

Por otro lado, las células tumorales, liberan quimioatrayentes como **MCP-1** (proteína quimioatrayente monocítica 1, también llamada **CCL2**) ó la **IL-6** (interleucina 6), cuya secreción es favorecida por estados de hipoxia (ver FIGURA 8). Estas moléculas promueven el reclutamiento de macrófagos e inducen su diferenciación de forma indirecta en M2 (subtipo de macrófago pro tumoral) (las diferencias se explican en el apartado de polarización). Otros autores indican que la proteína encargada de llevar a cabo la quimioatracción de los macrófagos es la proteína MCP-3 (proteína quimioatrayente monocítica 3).(23)(26)(21)

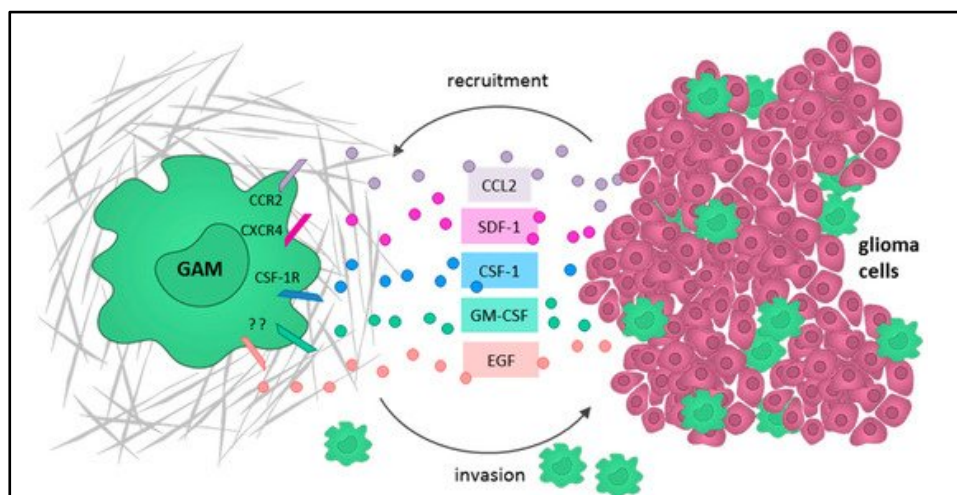


FIGURA 5 E quema de las vías de reclutamiento para los TAMs donde se indican alguna de las moléculas responsables de este fenómeno (21)

Otra de las vías utilizadas por el GBM para el reclutamiento de los macrófagos es la liberación del factor estimulante de colonias 1 (**CSF-1**) el cual aparece sobreexpresado en gliomas de muy alto grado. Esta quimiocina es capaz de atraer monocitos para que

infiltran el tumor pero no modula sus estado de polarización provocando un aumento de la infiltración de los macrófagos en la tumoración.(23)

Además de las moléculas destacadas anteriormente existen otros quimioatrayentes secretados por las células tumorales como SDF-1, GM-CSF o EGF (ver FIGURA 8); los cuales también participan en el reclutamiento de los macrófagos.

8.1.POLARIZACIÓN DE LOS TAMs

Una vez los monocitos atraviesan la barrera hematoencefálica atraídos por el tumor se diferencian en macrófagos. Su diferenciación inicial suele ser en un subtipo conocido como M1. Este subtipo de macrófagos se distingue por presentar características principalmente inflamatorias; es decir, provoca la liberación de metabolitos oxidativos y citosinas proinflamatorias. Todo este proceso bioquímico tiene como objetivo aumentar las características inflamatorias de la zona produciendo una destrucción tisular. Esta sería la respuesta principal en una situación en la que el sistema inmunológico pretendiese la destrucción de la tumoración, pero como se verá a continuación el tumor se aprovecha del sistema provocando que este le ayude en lugar de que lo destruya. (20)(27)(28)

El otro subtipo en el cual se pueden diferenciar los macrófagos es el M2. Estas células se caracterizan por centrarse más en la curación y restablecimiento de las heridas disminuyendo la destrucción e induciendo la reparación. Este tipo de macrófagos serán los “ayudantes del tumor” y proporcionan un ambiente adecuado para la progresión del mismo. (20)(27)(28)

Los TAM actúan sobre el tumor al igual que harían sobre una herida infectada. En primera instancia se produce una lucha contra la infección, provocando inflamación y destrucción de células del entorno natural de la herida. Una vez superada la infección estos mismos macrófagos ayudan en la reparación de la herida creando un ambiente regenerativo. En el caso del tumor esta regeneración es la que más interesa por lo que intentará por todos los medios la polarización de los macrófagos en un perfil M2, permitiendo un ambiente cómodo y propicio para la proliferación de esta “herida”.

En un principio se pensaba que solo existían 2 subtipos, M1 y M2; sin embargo, se han llegado a diferenciar dentro de los macrófagos tipo M2 subtipos a, b, c y/o d. Además, se ha descrito que los macrófagos son células realmente plásticas y tienen la capacidad de modificar su estructura cambiando de M1 a M2 y viceversa. Por lo tanto, los macrófagos cambiarán su morfología en función de las condiciones externas.

Por otro lado, a las células madre del tumor, les interesa mantener a los macrófagos en subtipo M2. Esto se consigue mediante la liberación de quimiocinas y otras sustancias, creando así una situación mucho mas favorable para el avance tumoral. Una posible vía para conseguirlo es la liberación de M-CSF por las células tumorales, la cual induce el

cambio a M2. Además, se ha demostrado la asociación del aumento de malignidad, así como la resistencia al tratamiento con una mayor concentración de macrófagos tipo M2 (ver FIGURA 9).

Después del reclutamiento por parte del tumor de los macrófagos y de favorecer su polarización a subtipo M2 o fenotipo pro-tumorgénico, estos macrófagos se implican de forma activa en “reparar la herida”, provocando un aumento del crecimiento, migración e invasión de las células tumorales. Este proceso se promueve por la liberación de quimiocinas (CCL22, CCL17, CXCL2, CXCL3 y CXCL16), así como citocinas inmunosupresoras (IL10 y TGF β) que disminuyen la concentración de otras células inmunes implicadas en la destrucción tumoral (ver FIGURA 9).

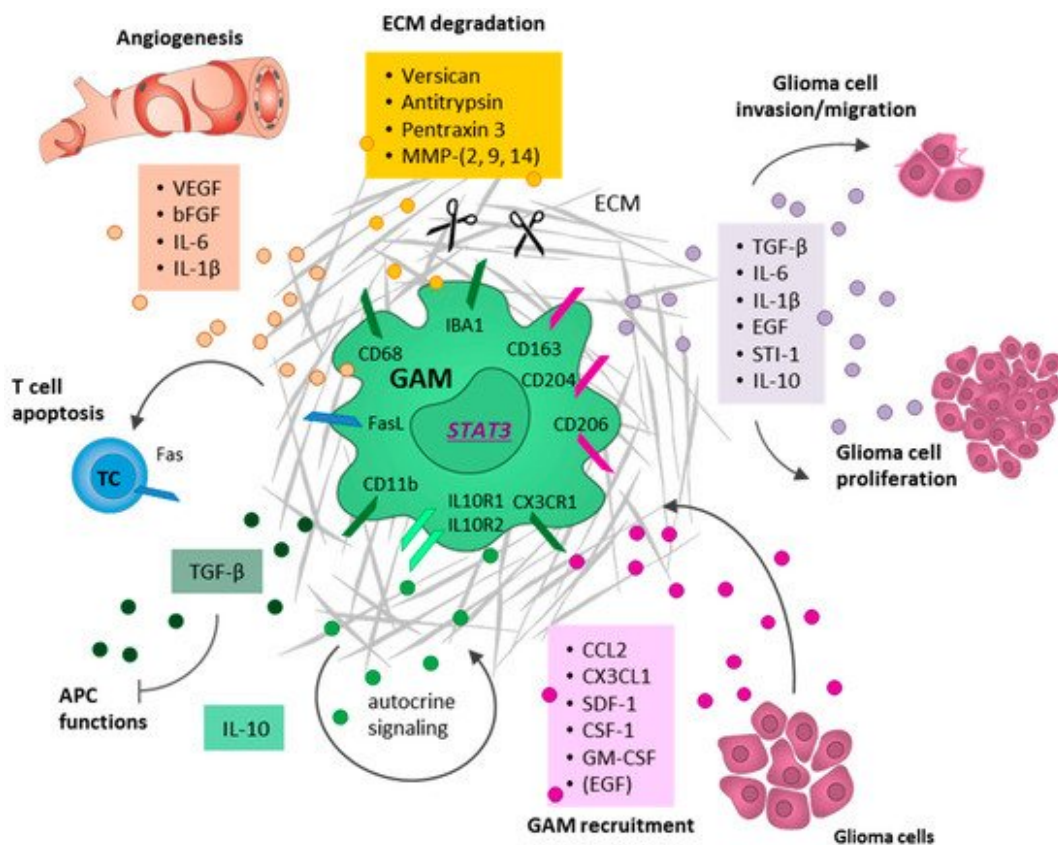


FIGURA 6 Esquema de las vías utilizadas por los TAMs para favorecer la progresión del GBM y las distintas interacciones que produce con los componentes del TME.(21)

Además, mediado por sustancias como VEGF (factor de crecimiento vascular endotelial), bFGF (factor de crecimiento fibroblastos), IL-6 (interleuquina) o IL1 β se produce un aumento de la angiogénesis. Este aumento de los vasos en el entorno tumoral aumenta la capacidad de atracción de más macrófagos y promueve un microambiente

inmunosupresor. El GBM es capaz de utilizar a estos macrófagos, haciéndoles creer que no es maligno para el sistema sino una “herida” que se debe reparar (ver FIGURA 9).

Los macrófagos además son capaces de secretar altos niveles de factores angiogénicos (como el VEGF o IL6) creando un ambiente idóneo para la progresión y el desarrollo del tumor. Esto es una de las premisas de la fisiología, a más vascularización tumoral mayor aporte nutricional y de oxígeno, lo que se traduce en una mejora en el ambiente tumoral y por tanto, un aumento de la proliferación del mismo (ver FIGURA 9).

Por otro lado, el GBM hace una función similar a la barrera hematoencefálica. La diferencia es que en vez de modificar las sustancias que quieren entrar produce variaciones en la barrera, de forma que modula de forma indirecta el paso de células. De este modo procesos como la hipoxia o el edema favorecen la formación de neovasos que nutren el tumor y de este modo, lo ayudan en su proliferación. (20)(18)3

9. ESTADO DE INMUNOSUPRESIÓN

Dos de las razones principales por las que se cree que los macrófagos son responsables del crecimiento tumoral son sus propiedades angiogénicas y su capacidad inmunosupresora. Como ya se ha descrito anteriormente el GBM tiene la habilidad de transformar los macrófagos en M1 en M2, es decir, promover el perfil protumoral frente al proinflamatorio.

Una de las cualidades de los macrófagos M2 es la capacidad regeneradora y potenciadora de crecimiento tumoral, pero otra muy importante también es la cualidad de evitar que el resto del sistema inmune destruya las células tumorales, creando una situación de inmunodepresión. Es una estrategia útil y eficaz evitando de esta forma la principal defensa que tiene el organismo contra la formación de tumores.

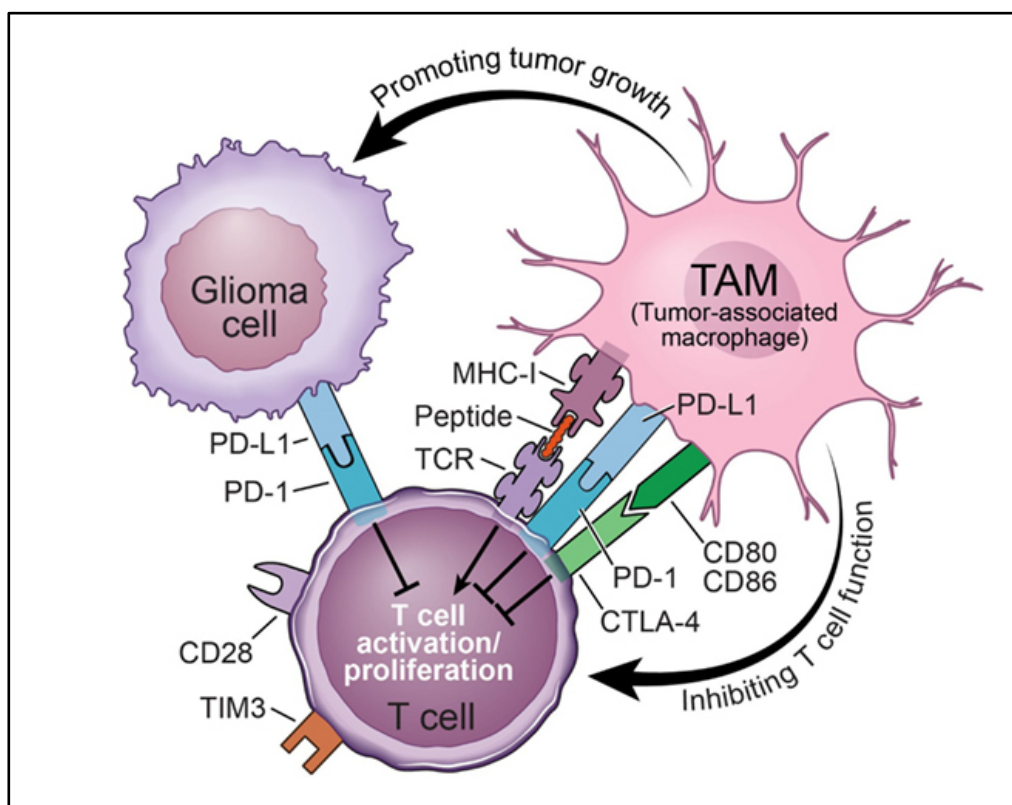


FIGURA 7 Vías utilizadas por los TAM y el GBM para inhibir la acción de los linfocitos T y así favorecer el estado de inmunosupresión en la zona tumoral. (20)

Los macrófagos M2 producen una serie de vías que regulan de forma negativa la activación y proliferación de las células T disminuyendo por lo tanto la respuesta inmune. Una de las vías mas importantes es mediante la secreción de grandes cantidades de PD-L1 (ligando 1 de muerte programada). Esta molécula al unirse con su receptor produce una señal de inhibición mediante la cual se disminuye la proliferación de linfocitos T, llegando incluso a producir una apoptosis en los mismos (ver FIGURA 10). (20)(19)

Otra forma que tiene los macrófagos de evitar la destrucción de las células tumorales es mediante interacciones directa célula-célula. En la membrana plasmática de los macrófagos se expresa un ligando muy característico conocido como Fas. En la membrana de los linfocitos T se encuentra expresada otro ligando, en este caso FasL, que al interactuar con la de los macrófagos inducen mecanismos de apoptosis celular en los linfocitos, evitando así la respuesta inmune. Se demostró en modelos *in vitro* que la inhibición de FasL produce un aumento considerable de infiltración de linfocitos T en el tumor comprobando así la vía de anulación producida por los macrófagos. (21)

Al conseguir tanto por una vía como por otra la desactivación o destrucción de los linfocitos T, el GBM priva al organismo de su mecanismo antitumoral mas potente, ya que son estas células las encargadas fisiológicamente de destruir a las células malignas y conservar así la homeostasis del sistema. El GBM consigue engañar de esta forma a los macrófagos, los cuales, al encontrarse polarizadas en el subtipo antiinflamatorio, no tienen interacción con el resto del sistema inmune y por lo tanto, no conciben al tumor como algo malo. Al producirse esta disminución de linfocitos T se priva al sistema de su principal defensa contra la destrucción de células tumorales provocando este ambiente inmunosupresor.

10. POSIBLES VÍAS TERAPEUTICAS BASADAS EN MACROFAGOS

El GBM como se ha descrito anteriormente es un tumor desalentador que tiene desconcertada a la sociedad médica y científica. Con una tasa de supervivencia alarmante baja, y sin un tratamiento efectivo, despierta en la comunidad científica un gran interés sobre todo a la hora de buscar nuevas vías terapéuticas.

Los recientes descubrimientos en el campo de la oncoinmunología, así como los buenos resultados de la inmunoterapia frente a distintos tipos de tumores establecen un punto de partida para posibles tratamientos contra el GBM.

Uno de los planteamientos que se realizan en la terapia del GBM es evitar los procesos de inhibición que se producen por los macrófagos, intentando intervenir de esta forma sobre los macrófagos para que no apoyen a la tumoración y devolverles en cierta medida su perfil más fisiológico. (19)

Uno de las futuras vías terapéuticas basadas en la inmunología y la más ambiciosa a la hora de hacer frente al GBM, sería la de reprogramar a los macrófagos para que de nuevo realicen tareas de protección para el organismo. La re-educación o re-programación de los macrófagos resulta alentadora, siendo un factor clave para la progresión de la neoplasia. El principal objetivo de esta vía terapéutica se centraría en la polarización de los macrófagos a su estado proinflamatorio M1 en lugar del M2 que promueve el GBM.

Como se ha explicado con anterioridad existen multitud de vías por las que el GBM modifica la polaridad de los macrófagos, por lo que existen distintos enfoques que se centran en el bloqueo de la unión de los quimioatrayentes a sus receptores. Existen trabajos centrados, por ejemplo, en inhibir al receptor de **CSF-1**. Este ligando explicado con anterioridad es secretado por el glioma con el fin de reclutar macrófagos. Los ensayos realizados con antagonistas de CSF-1 como el pexidartinib mostraron una disminución de la infiltración de macrófagos en ratones. Sin embargo, su uso en humanos con GBM recurrente no mostró la eficacia esperada; por lo que esta en estudio su aplicación junto con otros fármacos que puedan mejorar su acción. (21)(23)

Otra de las moléculas liberadas por las células tumorales para aumentar el reclutamiento de los macrófagos es la proteína quimioatrayente monocíticas (**MCP-1**). El grado de expresión de MCP-1 está asociado directamente con el grado del glioma, así como con la capacidad del mismo para la promoción de la angiogénesis y la invasión tumoral. Esta es otra de las vías de bloqueo que se encuentran en estudio. Existen tres fármacos no citotóxicos que consiguen disminuir MCP-1: la minociclina (antibiótico), el telmisartán (antihipertensivo) y el zoledrónico (bifosfonato). Estos fármacos que han sido utilizados para otras aplicaciones, traspasan muy eficazmente la barrera hematoencefálica, por lo tanto, son prometedores en el tratamiento o apoyo del tratamiento del GBM. (21)

Otro punto sobre el que se podría incidir es a través de la proteína fosfoglicerato quinasa 1 o PGK1. El mantenimiento de las células tumorales es debido en gran parte a su forma de obtención de energía a través de la glucólisis aeróbica. Este proceso es regulado por los macrófagos a través de PGK1. Para activarse esta proteína debe estar fosforilada; por lo que, inhibiendo la fosforilación se podría conseguir anular la función protumogénica de los macrófagos evitando así en teoría la progresión del tumor (ver FIGURA 11).(27)

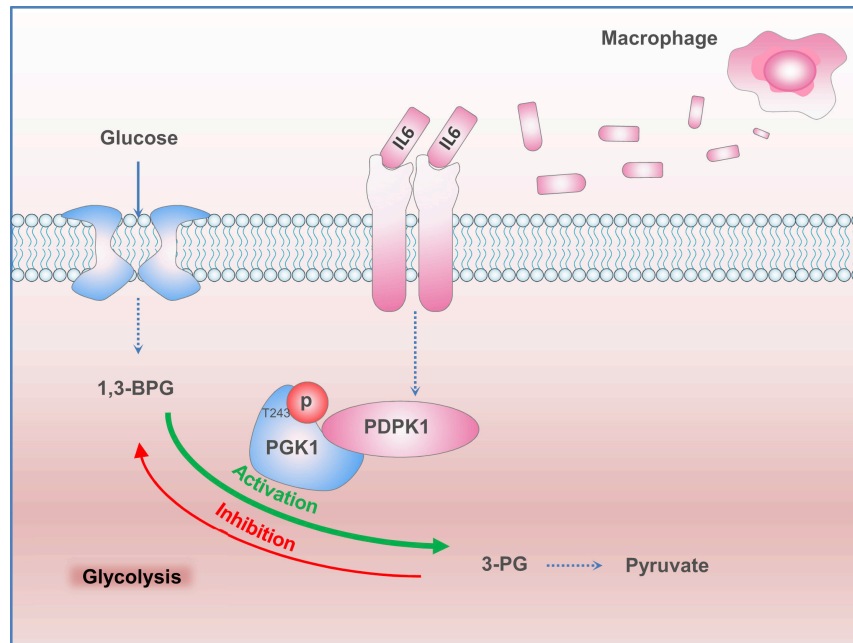


FIGURA 8 Esquema vía de la PGK1 (27)

El objetivo es claro, conseguir en un futuro fármacos para la reprogramación de los macrófagos, con el objetivo de disminuir el grado de inmunodepresión presente en el microentorno tumoral y controlar la progresión del GBM.(21)(18)(29)

11. CONCLUSIONES

El GBM como se ha descrito es una tumoración devastadora, con tan solo una supervivencia del 5,5% de los pacientes a los 5 años de la detección de la enfermedad.

En la actualidad el tratamiento del GBM se basa en una combinación muy agresiva de cirugía, la cual pretende reseca la mayor cantidad de tumoración posible, acompañada de quimioterapia (temozolomida) y radioterapia. El objetivo principal de añadir estos dos últimos tratamientos es la de eliminar las células tumorales que puedan quedar tras la resección. Es sin embargo desalentador ver que tras esta impetuosa terapia la supervivencia sigue siendo tan baja.

La interrelación entre las células presentes en el TME y el GBM abre un abanico de posibilidades terapéuticas sobre todo en el ámbito de la inmunoterapia. Los recientes hallazgos respecto al comportamiento de los macrófagos en el GBM son muy relevantes. Es sorprendente la capacidad de estas células de adaptarse a las distintas situaciones que se le plantean y aun es más sorprendente, la influencia que ejercen las células tumorales en los macrófagos para convertirlos en sus aliados y facilitar la progresión del GBM.

El GBM favorece la transformación de los macrófagos del subtipo M1 (proinflamatorio) al M2 (protumoral). Este último subtipo actúa como cómplice de la tumoración y permite que prospere. Una posible intervención terapéutica se centraría en evitar esta polarización de los macrófagos de M1 a M2, permitiendo de esta forma el mantenimiento de su forma pro inflamatoria, por la cual en lugar de ayudar al GBM actuaría contra él.

Sin lugar a dudas este nuevo planteamiento terapéutico basado en la repolarización o reprogramación de los macrófagos abre una nueva posibilidad terapéuticas. Son hallazgos recientes y necesitan ser investigados para que en algún momento estas hipótesis y planteamientos terapéuticos se puedan llevar a clínica y permitan frenar el devastador progreso del GBM.

12. ABREVIATURAS

TME: microentorno tumoral

TAM: macrófago asociado a tumores.

M1: subtipo de TAM proinflamatorio

M2: subtipo de TAM protumoral

GBM: glioblastoma multiforme

SEOM: Sociedad Española de Oncología

DECS: descriptores de ciencias de la salud

RNM: resonancia nuclear magnética

TC: tomografía computarizada

TMZ: temozolomida

SNC: sistema nervioso central

GSC: células madre del glioma

IL: interleuquina

TNF: factor de necrosis tumoral

MCP-1: proteína quimioatrayente monocítica

CSF: factor estimulante de colonias

VEGF: factor de crecimiento vascular endotelial

PD-L1: ligando 1 de muerte programada

PGK1: fosfoglicerato quinasa 1

13. BIBLIOGRAFIA

1. Escosa M. Epidemiología Glioblastoma multiforme [Internet]. 2020. Disponible en: <https://www.glioblastoma.expert/epidemiologia>
2. Contreras LE. Epidemiología De Tumores Cerebrales. Rev Médica Clínica Las Condes [Internet]. 2017;28(3):332-8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmcl.2017.05.001>
3. C. C. Glioblastoma : Análisis Molecular Y Glioblastoma : Molecular Analysis and Its Clinical. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2015;32(2):316-25.
4. Hanif F, Muzaffar K, Perveen K, Malhi SM, Simjee SU. Glioblastoma multiforme: A review of its epidemiology and pathogenesis through clinical presentation and treatment. Asian Pacific J Cancer Prev. 2017;18(1):3-9.
5. Maher EA, Bachoo RM. Glioblastoma. Rosenberg's Molecular and Genetic Basis of Neurological and Psychiatric Disease: Fifth Edition. 2014. 909-917 p.
6. Curso Intensivo MIR Asturias SL. Neurología Neurocirugía. Oviedo: Curso Intensivo MIR Asturias, S.L.; 2016.
7. Villagrasa FJ. Tumores del SNC. Zaragoza; 2019.
8. Knudsen-Baas KM, Power KN, Engelsens BA, Hegrestad SE, Gilhus NE, Storstein AM. Status epilepticus secondary to glioma. Seizure [Internet]. 2016;40:76-80. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.seizure.2016.06.013>
9. Reyes Oliveros F, Lema Bouzas M. Gliomas del encéfalo. Servizo de. Santiago de Compostela; 2007. 684 p.
10. Peecken JC, Hesse J, Haller B, Kessel KA, Nüsslin F, Combs SE. Semantic imaging features predict disease progression and survival in glioblastoma multiforme patients TT - Semantische Bildeigenschaften prognostizieren Tumorprogression und Überleben von Patienten mit Glioblastoma multiforme. Strahlenther Onkol [Internet]. 2018/02/13. junio de 2018;194(6):580-90. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29442128>
11. Verkhatsky A, Ho MS, Zorec R, Parpura V. The Concept of Neuroglia. Adv Exp Med Biol. 2019;1175:1-13.
12. Junqueira LC, Carneiro J. Histología Básica. 12.ª ed. Madrid: Editorial Medica Panamericana; 2015.
13. Stevens A, Lowe J. Anatomía Patológica. 2.ª ed. Madrid: Harcourt; 2001.
14. Fujisawa H, Kurrer M, Reis RM, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Acquisition of the glioblastoma phenotype during astrocytoma progression is associated with loss of heterozygosity on 10q25-qter. Am J Pathol. 1999;155(2):387-94.
15. Stoyanov GS, Dzhenkov D, Ghenev P, Iliev B, Enchev Y, Tonchev AB. Cell biology of glioblastoma multiforme: from basic science to diagnosis and treatment. Med Oncol [Internet]. 2018;35(3):27. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12032-018-1083-x>
16. Martínez-García M, Álvarez-Linera J, Carrato C, Ley L, Luque R, Maldonado X, et al. SEOM

- clinical guidelines for diagnosis and treatment of glioblastoma (2017). Clin Transl Oncol [Internet]. 2018;20(1):22-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12094-017-1763-6>
17. Stewart L, Burdett S. Chemotherapy for high-grade glioma. Cochrane Database Syst Rev [Internet]. 2002;(4). Disponible en: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003913>
 18. Tomaszewski W, Sanchez-Perez L, Gajewski TF, Sampson JH. Brain Tumor Microenvironment and Host State: Implications for Immunotherapy. Clin Cancer Res [Internet]. 2019/02/25. 15 de julio de 2019;25(14):4202-10. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30804019>
 19. Gabrusiewicz K, Li X, Wei J, Hashimoto Y, Marisetty AL, Ott M, et al. Glioblastoma stem cell-derived exosomes induce M2 macrophages and PD-L1 expression on human monocytes. Oncoimmunology [Internet]. 16 de enero de 2018;7(4):e1412909-e1412909. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29632728>
 20. Chen Z, Hambardzumyan D. Immune Microenvironment in Glioblastoma Subtypes. Front Immunol [Internet]. 8 de mayo de 2018;9:1004. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29867979>
 21. Roesch S, Rapp C, Dettling S, Herold-Mende C. When Immune Cells Turn Bad-Tumor-Associated Microglia/Macrophages in Glioma. Int J Mol Sci [Internet]. 1 de febrero de 2018;19(2):436. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29389898>
 22. Crespo Gonzalez I. Fisiopatología general. 1ª. Madrid: Paraninfo; 2016. 429 p.
 23. Morisse MC, Jouannet S, Dominguez-Villar M, Sanson M, Idbaih A. Interactions between tumor-associated macrophages and tumor cells in glioblastoma: unraveling promising targeted therapies. Expert Rev Neurother [Internet]. 2018/08/22. septiembre de 2018;18(9):729-37. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30099909>
 24. Chen Z, Feng X, Herting CJ, Garcia VA, Nie K, Pong WW, et al. Cellular and Molecular Identity of Tumor-Associated Macrophages in Glioblastoma. Cancer Res [Internet]. 2017/02/24. 1 de mayo de 2017;77(9):2266-78. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28235764>
 25. Gonzalez-Flores D, De Nicola M, Bruni E, Caputo F, Rodriguez AB, Pariente JA, et al. Nanoceria protects from alterations in oxidative metabolism and calcium overloads induced by TNFalpha and cycloheximide in U937 cells: pharmacological potential of nanoparticles. Mol Cell Biochem. diciembre de 2014;397(1-2):245-53.
 26. Nusblat LM, Carroll MJ, Roth CM. Crosstalk between M2 macrophages and glioma stem cells. Cell Oncol (Dordr) [Internet]. 2017/06/22. octubre de 2017;40(5):471-82. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28643230>
 27. Zhang Y, Yu G, Chu H, Wang X, Xiong L, Cai G, et al. Macrophage-Associated PGK1 Phosphorylation Promotes Aerobic Glycolysis and Tumorigenesis. Mol Cell [Internet]. 19 de julio de 2018;71(2):201-215.e7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30029001>
 28. Shi Y, Ping Y-F, Zhou W, He Z-C, Chen C, Bian B-S-J, et al. Tumour-associated macrophages secrete pleiotrophin to promote PTPRZ1 signalling in glioblastoma stem cells for tumour growth. Nat Commun [Internet]. 1 de junio de 2017;8:15080. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28569747>

29. Prionisti I, Bühler LH, Walker PR, Jolivet RB. Harnessing Microglia and Macrophages for the Treatment of Glioblastoma. *Front Pharmacol* [Internet]. 5 de junio de 2019;10:506. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31231208>
30. Klatt EC. Robbins y Cotran atlas de anatomía patológica. 3.^a ed. Barcelona: Elsevier; 2016.
31. De Vleeschouwer S, editor. Glioblastoma [Internet]. Brisbane (AU); 2017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK469998/>

