

Tesi doctoral presentada per En/Na

Albert SANTAMARIA MARTÍNEZ

amb el títol

**"Identificació, aïllament i caracterització de
cèl.lules mare en models de càncer de pròstata"**

per a l'obtenció del títol de
Doctor per la Universitat de Barcelona

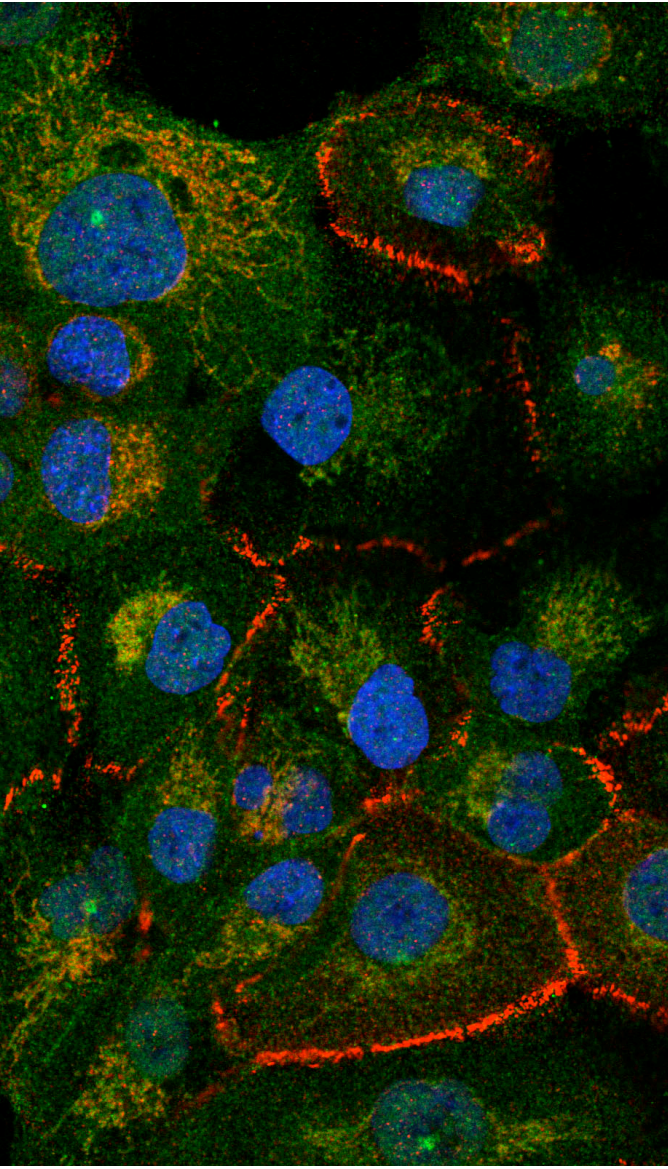
Barcelona, 11 de juny de 2009.

**Facultat de Medicina
Departament de de Biologia Cel.lular,
Immunologia i Neurociències**



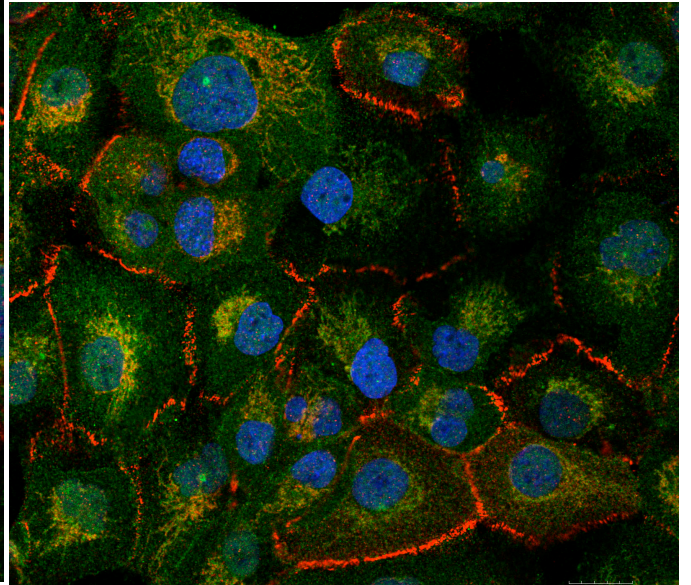
UNIVERSITAT DE BARCELONA





*And in that woman there's a heart I love,
I'm gonna take it with me when I go.*

Tom Waits



6. CONCLUSIONS

6. Conclusions

1. El tumor del model *PAC-120*, format per una barreja d'epiteli humà i estroma murí, conté cèl·lules de la *side population*. Els cultius del tumor *PAC-120* també contenen cèl·lules de la *side population*.
2. La separació i anàlisi clonal de les cèl·lules de la *side population* dels cultius revelen que aquestes tenen una capacitat variable de donar lloc a cèl·lules de la *side population*.
3. L'estudi dels perfils gènics d'aquestes cèl·lules, la seva expressió proteica (immunofenotip Cd45⁻ Sca-1⁺ Cd81⁺), la seva adherència al plàstic, la seva morfologia fibroblastoide, la seva gran capacitat proliferativa i la seva capacitat de diferenciació revelen que són cèl·lules multipotents estromals. Per tant, el tumor *PAC-120* conté cèl·lules multipotents estromals que poden ser aïllades mitjançant l'assaig de la *side population*.
4. El fenotip SP d'aquestes cèl·lules està associat amb el seu estat de diferenciació, ja que la seva diferenciació en comporta la pèrdua.
5. Les cèl·lules multipotents estromals aïllades secreten TGFβ de manera autocrina i tenen la via del TGFβ activa. El TGFβ manté la proliferació i inhibeix la diferenciació de les cèl·lules multipotents estromals obtingudes del tumor.
6. Els percentatges de cèl·lules de la *side population* són més elevats als molls d'ossos dels animals amb tumor que als que no en duen. La fracció no hematopoètica (Cd45⁻) dels molls d'os dels animals amb tumor també conté percentatges més elevats de la *side population* que la seva respectiva dels animals sense tumor. Almenys alguns dels animals amb elevats percentatges de *side population* als molls d'os també presenten un marcatge abundant per citoqueratina al moll d'os.
7. La castració dels animals que porten el tumor *PAC-120* produeix una aturada del creixement o reducció del volum del tumor, una desaparició de l'expressió del receptor d'andrògens per immunohistoquímica, afecta l'estat de metilació global del tumor ja que provoca un augment del marcatge per 5-metilcitosina, i afecta també la via del TGFβ, ja que s'observa un augment del marcatge per p-Smad2.

8. Les línies cel·lulars *LNCaP* i *PC-3* contenen cèl·lules de la *side population*, i presenten RNA i proteïna del transportador ABCG2.
9. El promotor d'*ABCG2* està parcialment desmetilat a la línia cel·lular *LNCaP* i molt metilat a *PC-3*. L'addició del compost bloquejador de la metilació *de novo* 5-aza afavoreix la desmetilació del promotor d'*ABCG2*, la transcripció del gen, la traducció de la proteïna i l'augment de la *side population*.
10. El sèrum i l'estradiol regulen a l'alça la transcripció d'*ABCG2* i, en el cas del sèrum, també de la *side population* a la línia cel·lular *LNCaP*.