



Anàlisi “ex vivo” de mecanismes d’inducció d’apoptosi i resistència al tractament en gliomes malignes

Ruth Villalonga Planells

ADVERTIMENT. La consulta d’aquesta tesi queda condicionada a l’acceptació de les següents condicions d’ús: La difusió d’aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d’investigació i docència. No s’autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d’un lloc aliè al servei TDX. No s’autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you’re accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it’s obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE BARCELONA
FACULTAT DE MEDICINA
Programa de Doctorat "Biomedicina"

Ruth Villalonga Planells

**Anàlisi "ex vivo" de mecanismes d'inducció d'apoptosi i
resistència al tractament en gliomes malignes**

DIRECTORS DE LA TESI

Dra. Avelina TORTOSA I MORENO
Dra. Josefa GIMÉNEZ BONAFÉ

Data de lectura: 14 de setembre de 2011

Conclusions

1. Els cultius primaris de glioblastoma humà són un bon model *ex vivo* per a l'anàlisi de la resposta a nous tractaments. Pel seu establiment tant en medi amb sèrum com en medi sense sèrum (TIC), els factors més importants que limiten la seva viabilitat són el diagnòstic histològic, la mida de la mostra i la presència de necrosi. Així, només les mostres tumorals amb un diagnòstic histològic de glioblastoma multiforme van créixer de forma adequada en cultiu tant en medi amb sèrum i com en medi sense sèrum . A més, les mostres amb un pes inferior a 100 mg o amb una elevada proporció de necrosi no varen ser viables al ser cultivades.
2. L'inhibidor de MDM2 Nutlina-3a estabilitza i activa p53 en les línies cel·lulars i cultius primaris de glioblastoma amb p53 wt, induint aturada de cicle cel·lular en G2/M, apoptosi i senescència depenents de p53. Nutlina-3a indueix l'expressió dels gens proapoptòtics PUMA i Noxa en aquestes cèl·lules. La línia cel·lular p53 mutada T98G és resistent al tractament amb Nutlina-3a. En els astròcits humans normals, Nutlina -3a indueix aturada del cicle cel·lular però no apoptosi.
3. Nutlina-3a indueix una disminució del mRNA i de la proteïna Survivina en les línies cel·lulars i cultius primaris de glioblastoma amb un p53 wt. La sobreexpressió ectòpica de Survivina no reverteix el dany cel·lular induït per l'antagonista MDM2. En les cèl·lules de glioma p53 wt la inhibició de Survivina secundari el tractament amb Nutlina-3a, podria ser redundant juntament amb altres canvis induïts i la sobreexpressió ectòpica de Survivina resulta incapaç per si sola d'inhibir l'aturada de cicle i la inducció d'apoptosi.
4. El pretractament amb Nutlina-3a de les cèl·lules U87-MG les fa més sensibles a la radiacions ionitzants reduint la capacitat de formació de colònies.
5. El cultiu primari 35/1506 és resistent al tractament amb Nutlina-3a. Aquesta resistència pot estar relacionada amb la presència del polimorfisme R72P en el gen *TP53* o, amb l'activació de la via EGFR/RAF/MEK/ERK secundària a l'amplificació del

gen *EGFR* i a la mutació constitutivament activant EGFRvIII, o amb una combinació d'ambdós.

6. El tractament de les línies cel·lulars i del cultiu primari 35/1506 amb el inhibidor de la Survivina YM155 provoca una disminució de la viabilitat cel·lular i inducció d'apoptosi dosi i temps dependent, a més d'aturada de cicle cel·lular en la fase G0/G1 o augment de la fase S dependent de la línia cel·lular.
7. El tractament amb YM155 indueix disminució dels nivells proteics de Survivina de forma dosi i temps dependent juntament amb l'activació de p53 així com també la inducció dels gens proapoptòtics PUMA i Bmf
8. El pretractament amb YM155 de les línies cel·lulars de glioblastoma les fa més sensibles a la radioteràpia observant-se un augment del nombre de focus per cèl·lula de γ -H2AX en relació a les cèl·lules tractades amb radioteràpia sola el qual és manté durant 24 hores post-tractament.