

Título: PARADA MITÓTICA Y SENSIBILIDAD A TRAIL EN CÉLULAS TUMORALES DE MAMA

Nombre: SÁNCHEZ PEREZ, TANIA

Universidad: Universidad de Sevilla

Departamento: Genética

Fecha de lectura: 12/04/2012

Programa de doctorado: Biología Molecular y Biomedicina

Dirección:

- > **Director:** Abelardo López Rivas
- > **Tutor/Ponente:** RALF WELLINGER

Tribunal:

- > **presidente:** JOAN GIL SANTANO
- > **secretario:** M^a Carmen Ruiz Ruiz
- > **vocal:** F^o JAVIER Oliver POZO
- > **vocal:** JOSÉ ANTONIO PINTOR TORO
- > **vocal:** MÓNICA ÁLVAREZ FERNANDEZ

Descriptor:

- > GENETICA MOLECULAR

El fichero de tesis ya ha sido incorporado al sistema

Localización: SERVICIO DE DOCTORADO, UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Resumen: TRAIL (del inglés TNF-Related Apoptosis- Inducing Ligand) es un ligando de muerte perteneciente a la superfamilia de citoquinas de TNF. Su capacidad de inducir apoptosis en diferentes tipos de células tumorales, manifestando una toxicidad muy baja o ninguna frente células normales, lo convirtieron desde su descubrimiento en un atractivo candidato para terapias anti-tumorales. Sin embargo, alrededor de un 30% de las líneas tumorales testadas, presentan resistencia a este ligando. Esta resistencia se ha observado especialmente en líneas celulares procedentes de tumores de mama, uno de los tumores más frecuentes en mujeres. En estos casos, el uso combinado de TRAIL junto agentes quimioterapéuticos capaces de sensibilizar a la apoptosis inducida por éste, podría incrementar las posibilidades de éxito. En esta tesis hemos estudiado la sensibilización, inducida por agentes que afectan a la dinámica de los microtúbulos, a la apoptosis inducida por TRAIL en células tumorales resistentes a este ligando. Hemos observado que estos tratamientos inducen la degradación proteasomal de importantes

proteínas anti-apoptóticas, como cFLIP, Mcl-1 y XIAP. Además de cambios en los estados de fosforilación de otras proteínas relacionadas con la apoptosis. Mediante ensayos de ARN de interferencia y por sobreexpresión de cFLIP hemos determinado que la degradación de esta proteína es suficiente y necesaria para la sensibilización a TRAIL inducida por estas drogas.

Similarmente, hemos observado que estos tratamientos también inducen sensibilización a la muerte inducida por otro ligando de muerte (TNF- ζ) y que de nuevo, la degradación de cFLIP juega un papel esencial. Además, hemos demostrado, utilizando varios abordajes diferentes, que la parada mitótica inducida por este tipo de drogas es necesaria para la degradación de cFLIP y Mcl-1 y, por lo tanto, para la sensibilización a TRAIL. Por un lado hemos visto que el uso de dosis bajas que son incapaces de activar el checkpoint de mitosis y, por lo tanto, no inducen la parada en mitosis; tampoco son capaces de sensibilizar a TRAIL. De hecho, en células resistentes a la parada mitótica inducida por estas drogas, no somos capaces de ver esta sensibilización, ni tampoco la degradación de cFLIP y Mcl-1. Finalmente, la inactivación del checkpoint de mitosis, tanto por siARN frente BubR1 (una proteína esencial para el funcionamiento de éste) como por adición de inhibidores del checkpoint (como SP600125 o reversina), bloquea de nuevo la sensibilización a TRAIL y la degradación de cFLIP y Mcl-1 inducida por estas drogas.

De hecho, mostramos que la parada en mitosis es suficiente para inducir estos cambios, independientemente de la activación del checkpoint. Para ello, de nuevo hemos utilizado diferentes abordajes. Por un lado, hemos silenciado la expresión de la proteína Cdc20, lo que impide la salida de

mitosis porque APC/C no puede ser activado y, por lo tanto, la ciclina B y la securina no pueden ser degradados. Por otro lado, hemos utilizado una línea celular capaz de sobreexpresar ciclina B no degradable de forma inducible, lo que de nuevo llevaba a una parada del ciclo celular en mitosis, independientemente de la activación del checkpoint. En ambos casos, hemos visto que la parada en mitosis era suficiente para inducir la degradación de Mcl-1 y FLIP y con ello, la sensibilización a TRAIL. De hecho, hemos visto que esta combinación es mucho más efectiva en matar células que tan sólo el bloqueo de la salida de mitosis, que recientemente ha sido propuesto como una prometedora diana para tratamientos anti-tumorales.

Finalmente, también hemos observado que cFLIP es capaz de interactuar con CDK1 y ciclina B, tanto in Vitro como en la célula, y que existe una correlación entre la actividad de CDK1 en mitosis y los niveles celulares de cFLIP. Actualmente nos encontramos estudiando el significado de esta interacción.

