



Premio
Alberto Rábano
2013

Madrid, 27 de Noviembre de 2014



**VNiVERSiDAD
D SALAMANCA**

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL



**INSTITUTO DE
NEUROCIENCIAS
CASTILLAY LEÓN**

Relación de la conexina-43 con la actividad del oncogén c-Src en células madre de glioma

Tesis Doctoral

Ester Gangoso Rodríguez

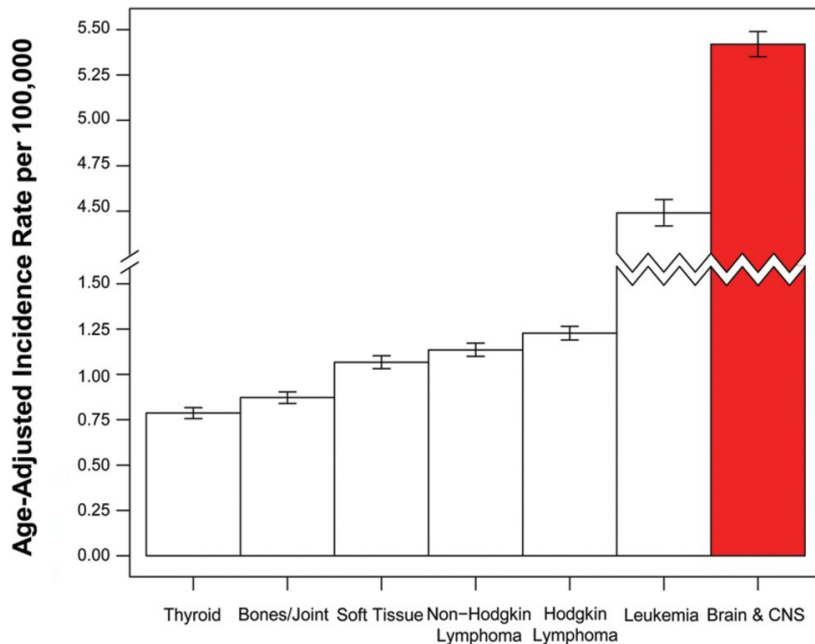
Directores

Dra Arantxa Tabernero
Dr José María Medina

TUMORES CEREBRALES

Incidencia (datos AECC) :

- En los lactantes y niños pequeños los tumores cerebrales son la segunda forma más común de cáncer, después de la leucemia.
- 8.73 por 100.000 habitantes / año en varones y 5.41 en mujeres.
- La incidencia de tumores cerebrales aumenta con la edad.

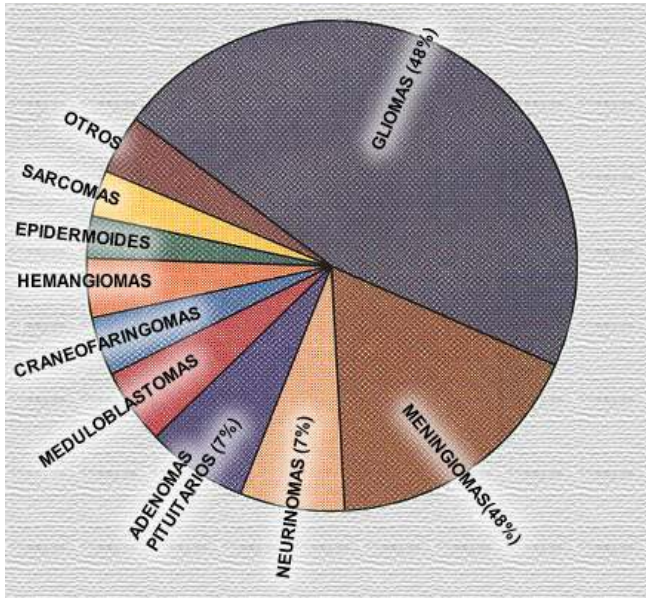


Incidencia EEUU de tumores cerebrales en comparación con otros tumores en niños y adolescentes (0-19 años)

© The Centers for Disease Control. Published by Oxford University Press on behalf of the Society for Neuro-Oncology in cooperation with the Central Brain Tumor Registry 2014.

TUMORES CEREBRALES

Clasificación



Fundación Anna Vázquez

Gliomas :

- Astrocitos: astrocitomas
 - I. Astrocitoma pilocítico (Grado I)
 - II. Astrocitoma de bajo grado (Grado II)
 - III. Astrocitoma anaplásico (Grado III)
 - IV. Glioblastoma (grado IV)
- Oligodendrocitos: oligodendrogliomas
- Ependimarias : ependimomas

Glioblastoma: 29 % de todos los tumores cerebrales y 50 % gliomas.
Vida media de uno a dos años (Zhu and Parada 2002)

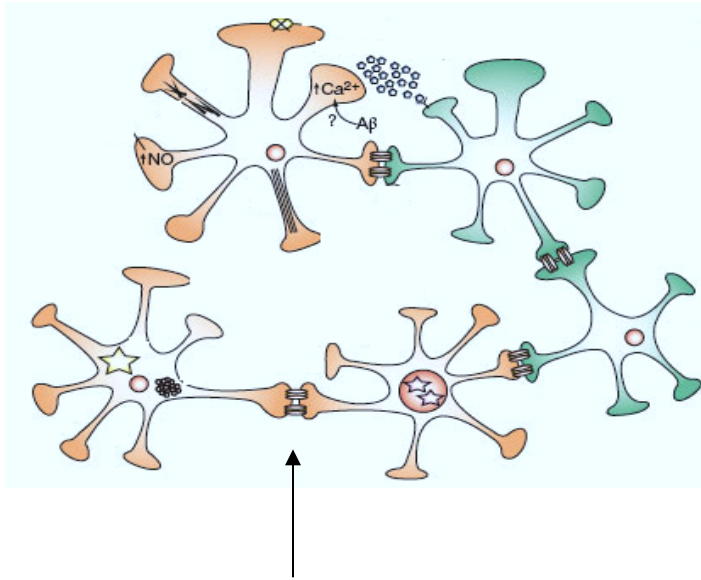
Terapias más eficaces

Niveles de Cx43 en gliomas

Grado	Tipo	Cx43
I	astrocitoma pilocítico	+++
II	astrocitoma bajo grado	+++
III	astrocitoma anaplásico	+/-
IV	glioblastoma multiforme	-

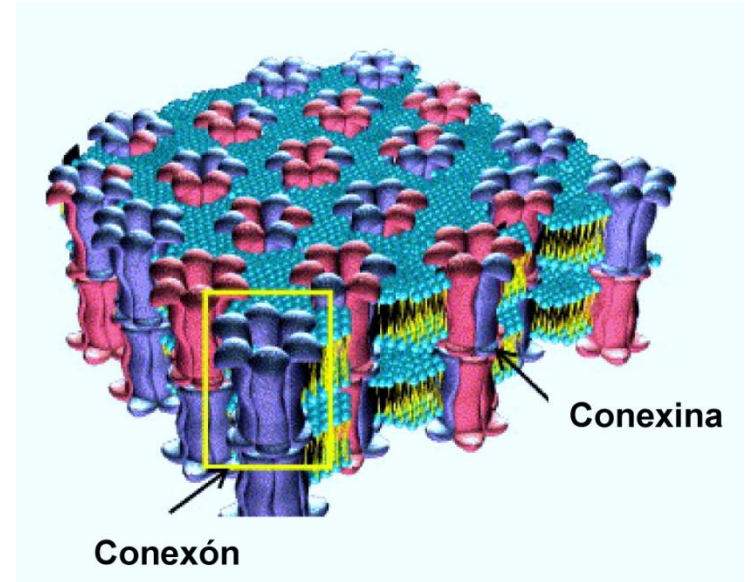
- La transfección de diferentes líneas tumorales con el gen de la Cx43 disminuye la velocidad de proliferación de estas células.

Uniones comunicantes de los astrocitos



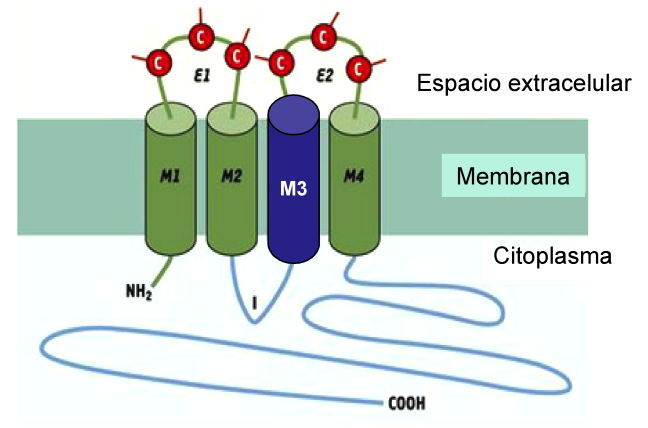
Unión comunicante

Gap junction



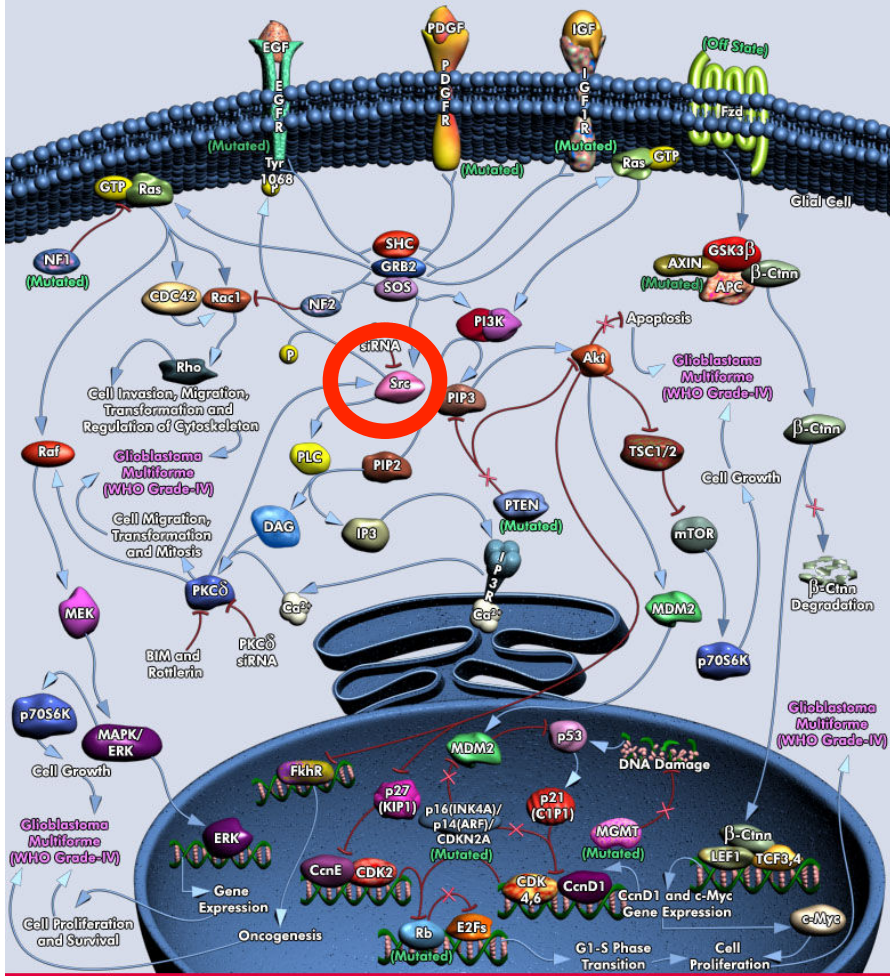
Conexón

Conexina



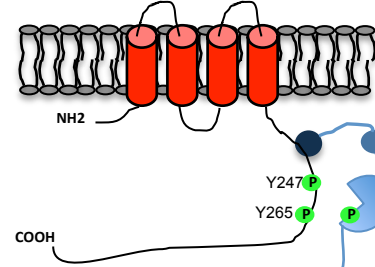
La Cx predominante en astrocitos es la Cx43

Glioblastoma Multiforme



Quiagen

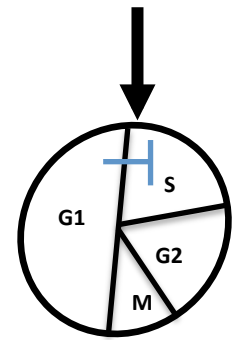
Cx43



Y416 c-Src (activo)



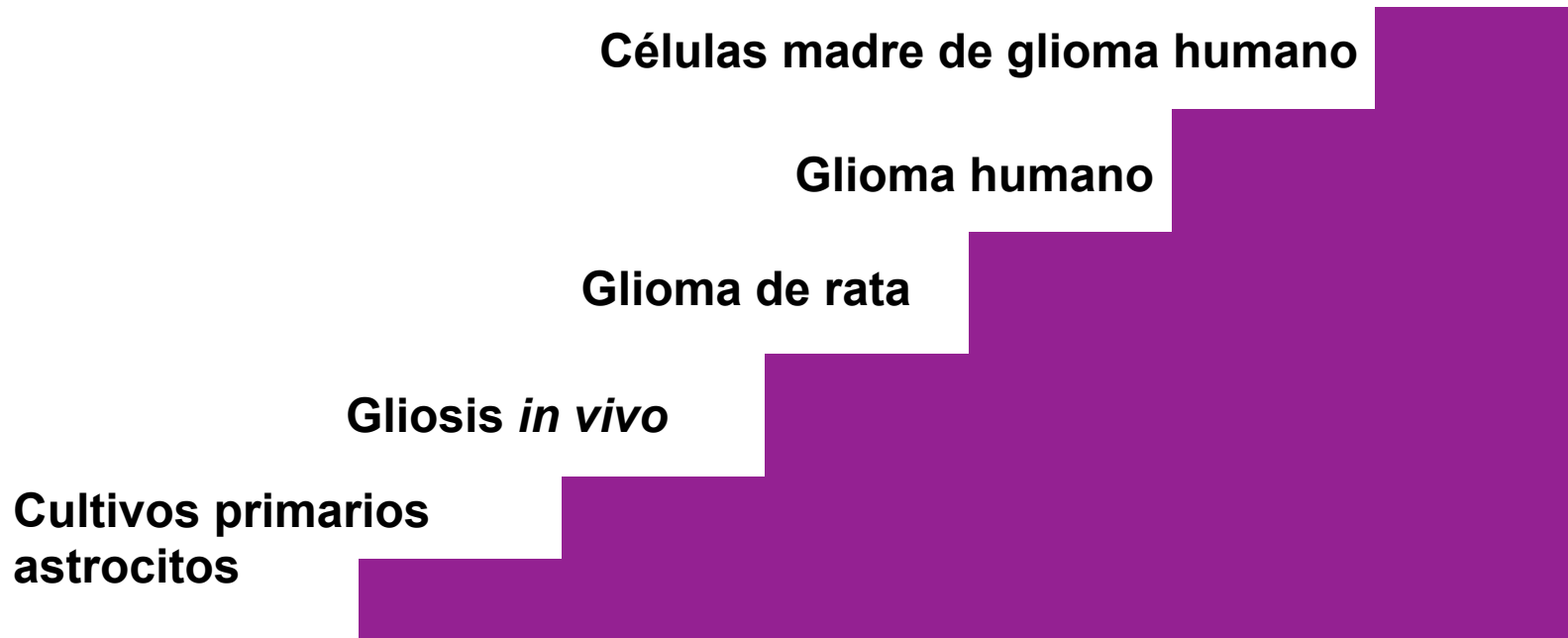
Y527 c-Src (inactivo)



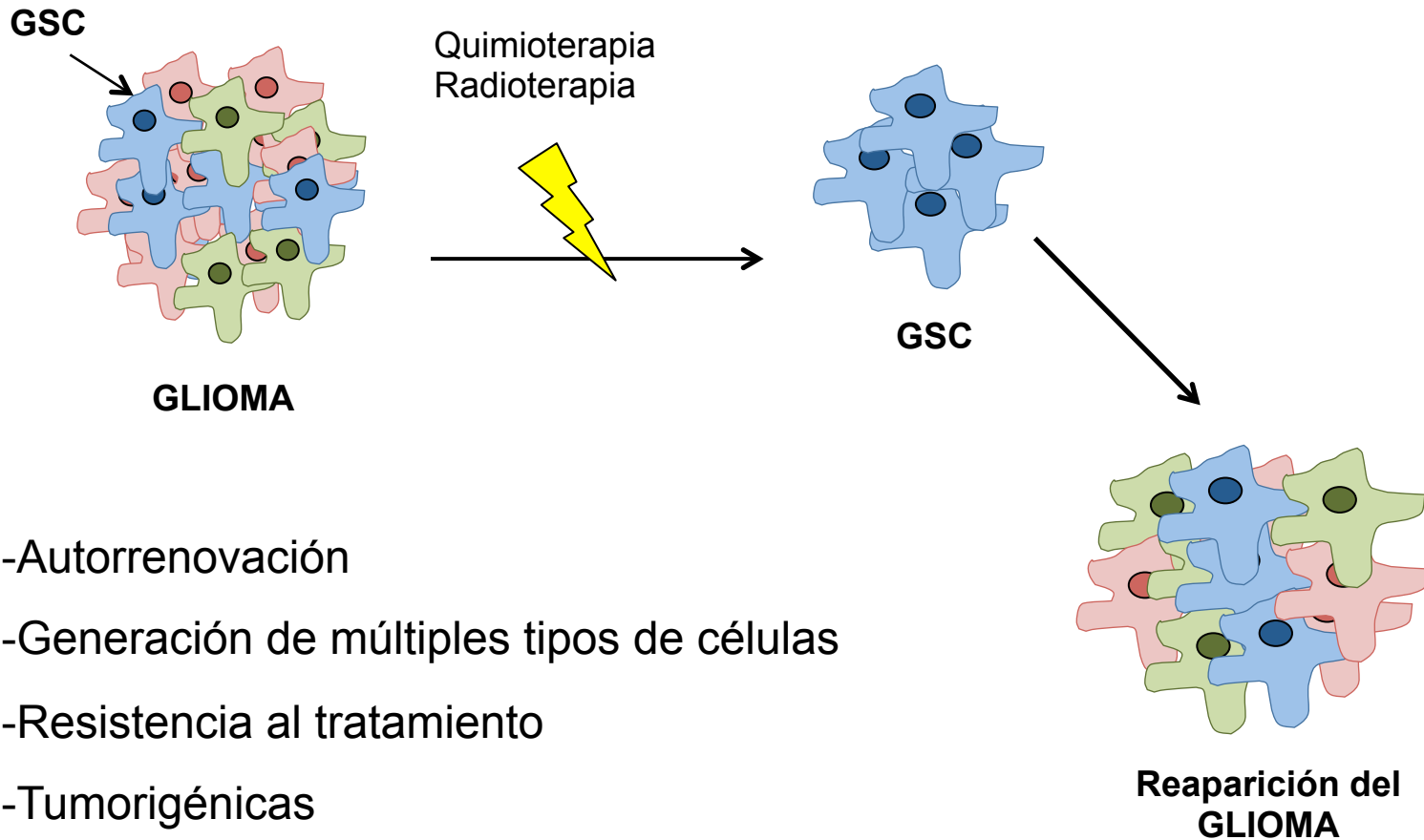
↓ proliferación

Objetivo general:

Estudiar la posible relevancia clínica de la relación Cx43-cSrc



Células madre de glioma o glioma stem cells (GSC)



- Autorrenovación
- Generación de múltiples tipos de células
- Resistencia al tratamiento
- Tumorigénicas

GSC nueva diana terapéutica

Objetivo 1

Estudio de la relación de la conexina-43 con c-Src en células madre de glioma.

Las células madre de glioma humano presentan una baja expresión de conexina-43 y una alta actividad de c-Src.

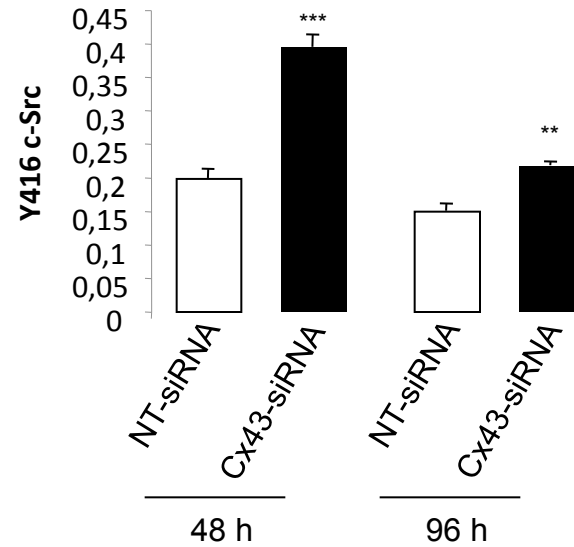
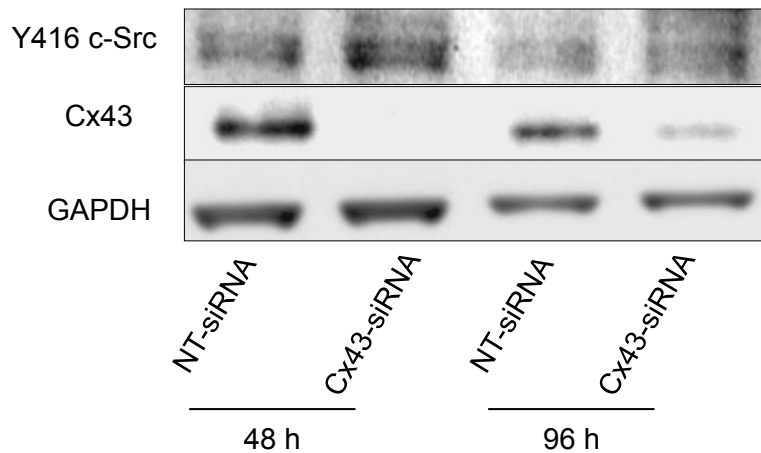
Objetivo 2

Estudio del efecto de la Cx43 en la modulación de la actividad de c-Src y la proliferación en células madre de glioma.

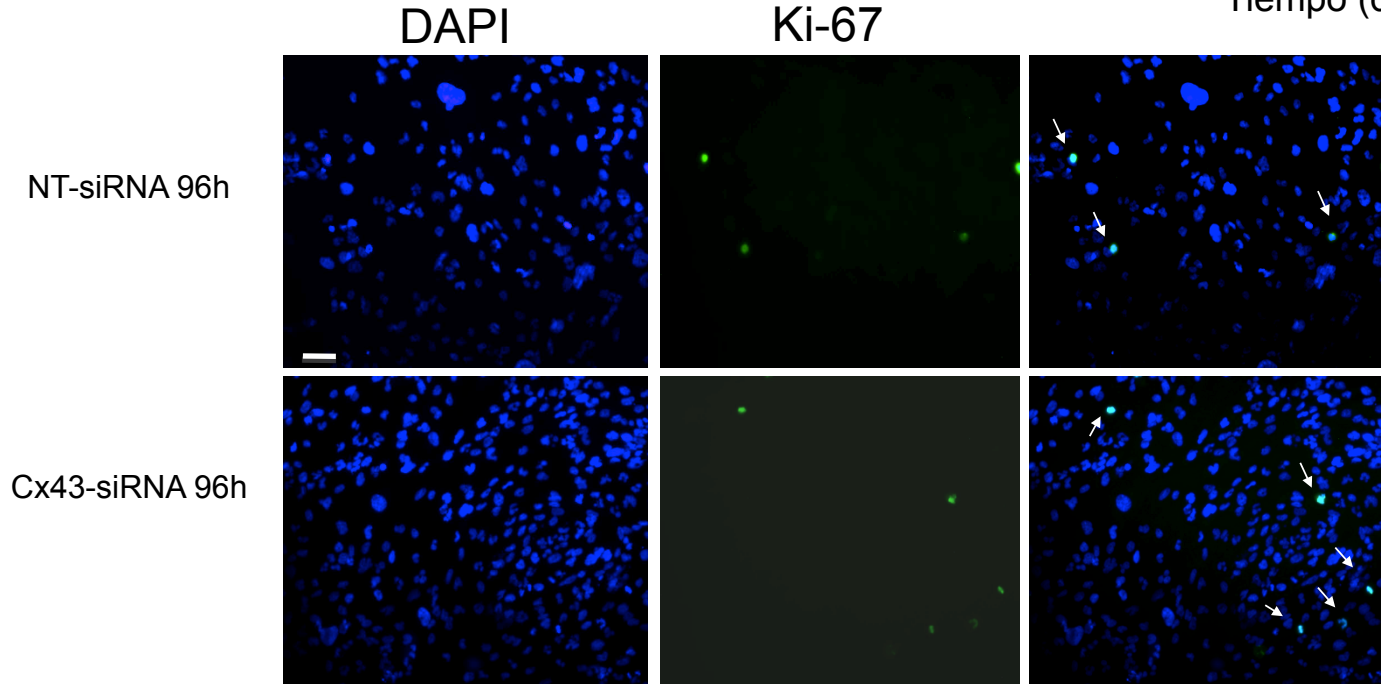
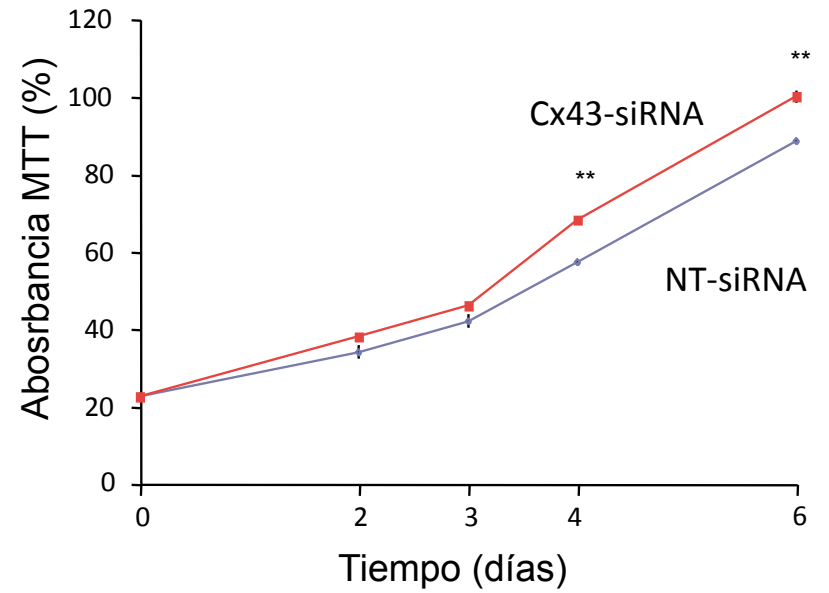
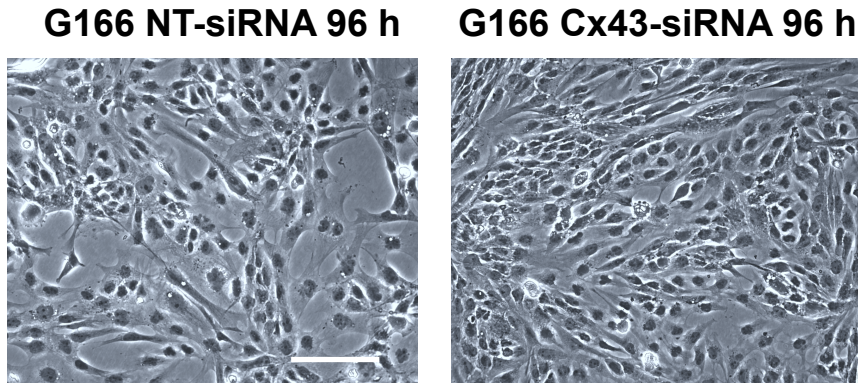
Para ello se utilizaron dos estrategias:

- 1. Pérdida de función: Silenciamiento de la Cx43 en las GSC**
- 2. Ganancia de función: Restauración de la Cx43 en las GSC**

Efecto del silenciamiento de la Cx43 sobre la actividad y la expresión de c-Src en G166



Efecto del silenciamiento de la Cx43 sobre el crecimiento de G166

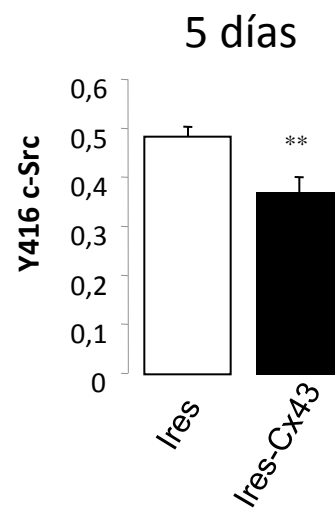
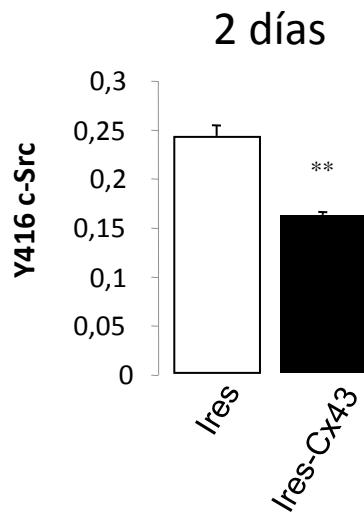
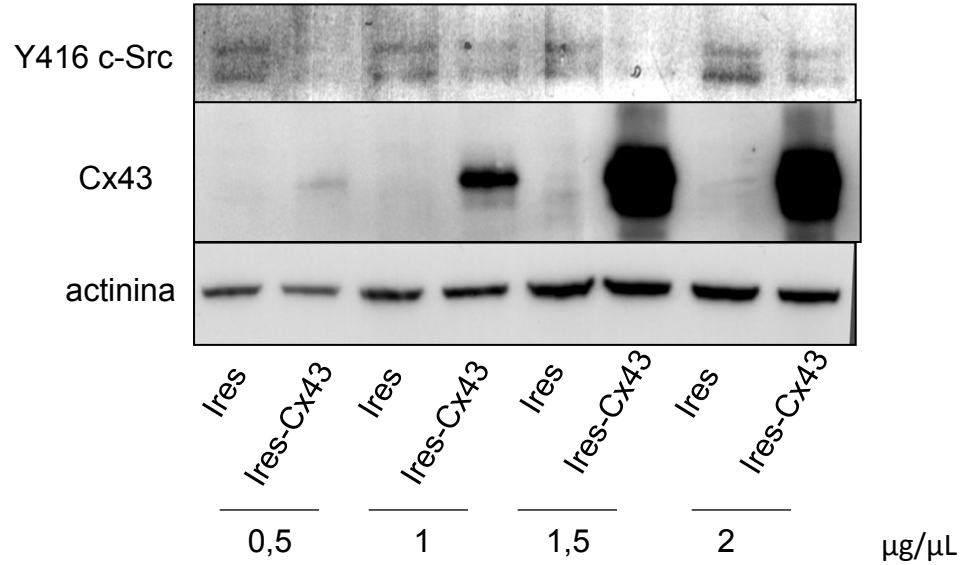
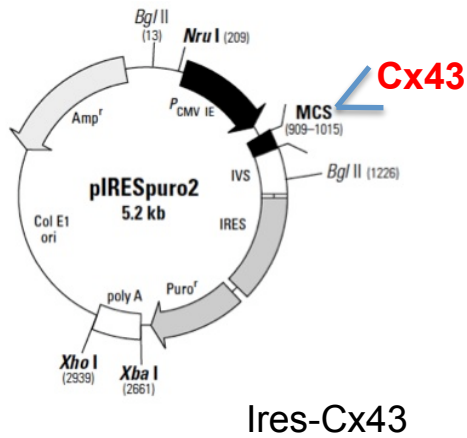


Para ello se utilizaron dos estrategias:

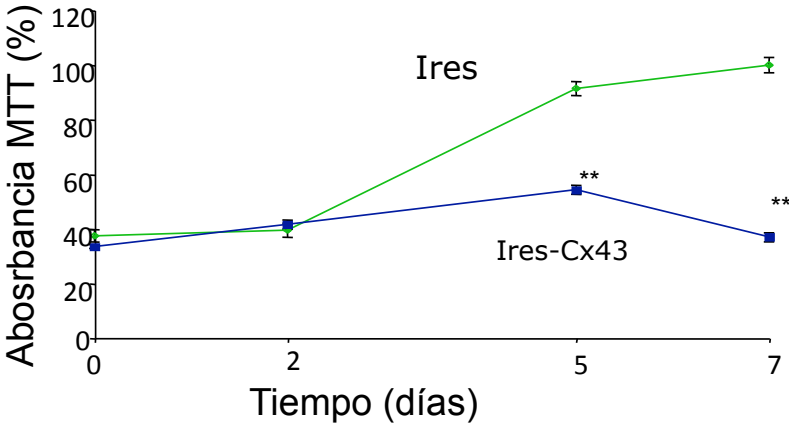
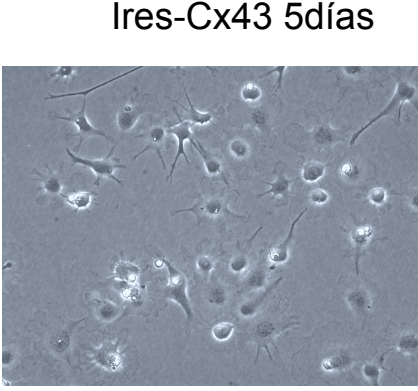
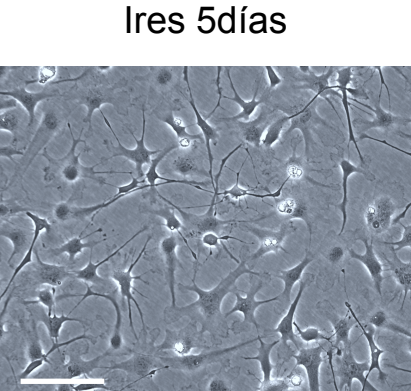
1. Pérdida de función: Silenciamiento de la conexina43 en las GSC

2. Ganancia de función: Restauración de la Cx43 en las GSC

Efecto de restauración de la Cx43 sobre la actividad y la expresión de c-Src en las GliNS2



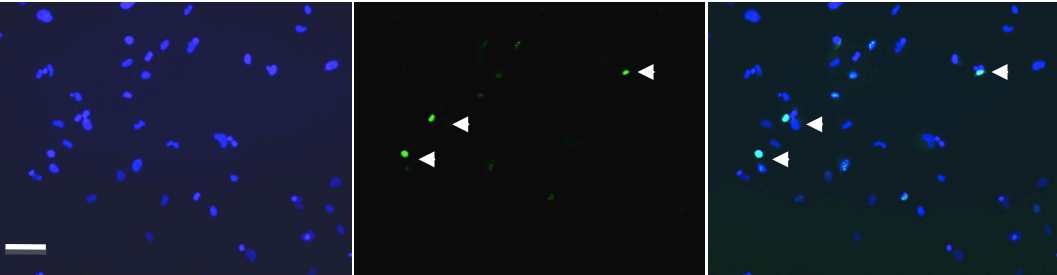
Efecto de la restauración de la Cx43 sobre el crecimiento de las GLiNS2



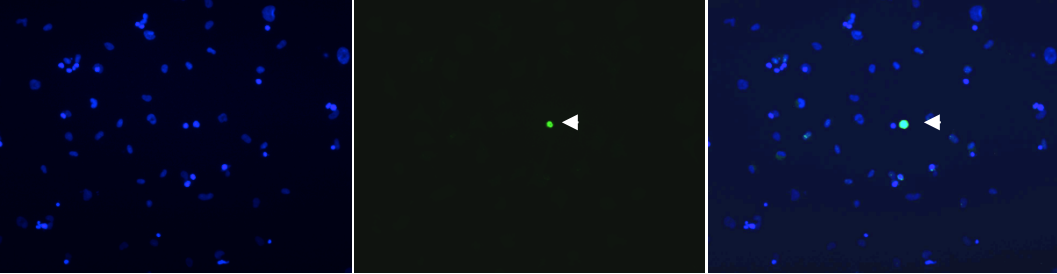
DAPI

Ki-67

Ires
2 Días

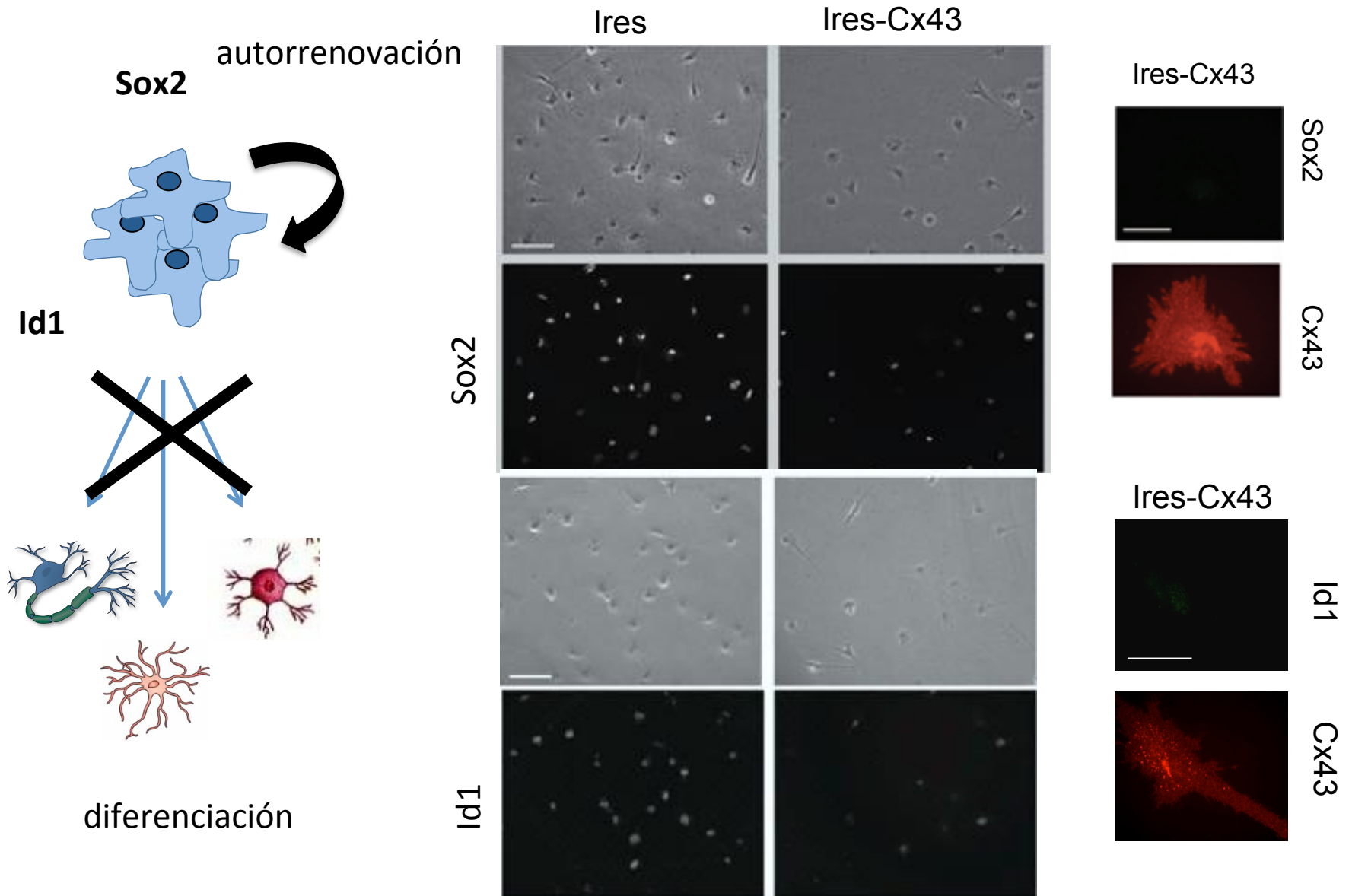


Ires-Cx43
2Días

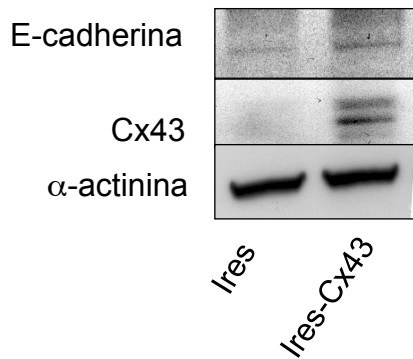
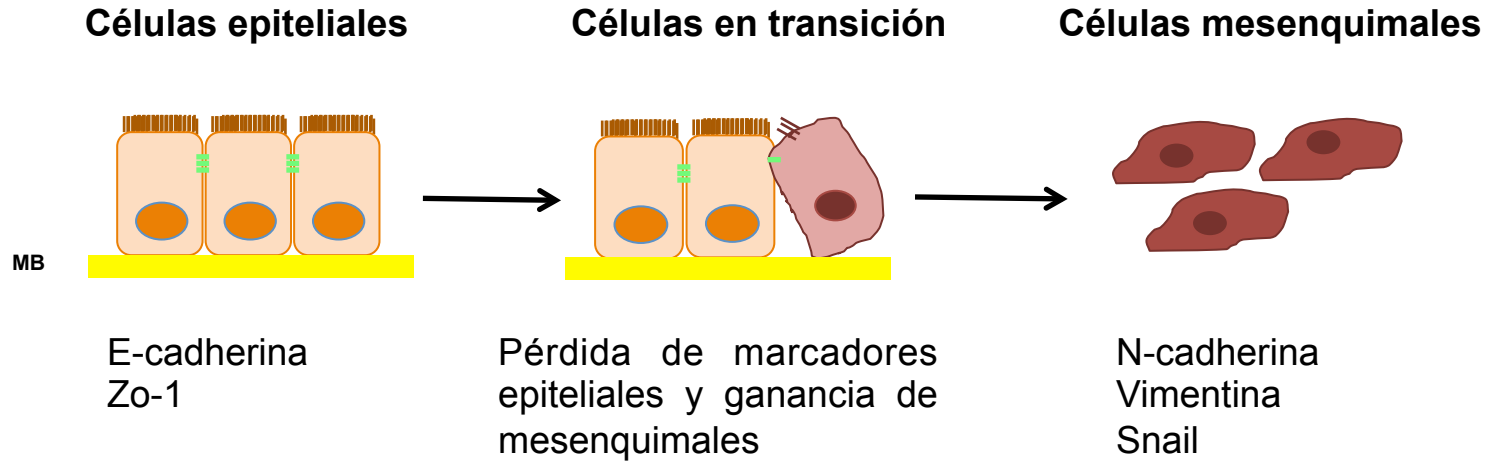


- **La modulación de los niveles de conexina-43 en células madre de glioma humano regula la actividad del oncogén c-Src y la proliferación de estas células.**

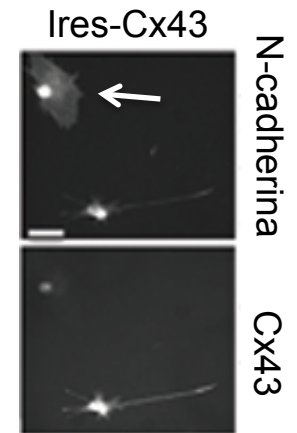
Efecto de la restauración de la Cx43 sobre la expresión de Sox2 y Id1 en GliNS2



Efecto de la restauración de la Cx43 en la transición epitelio-mesénquima

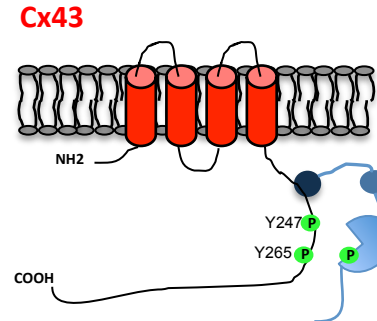
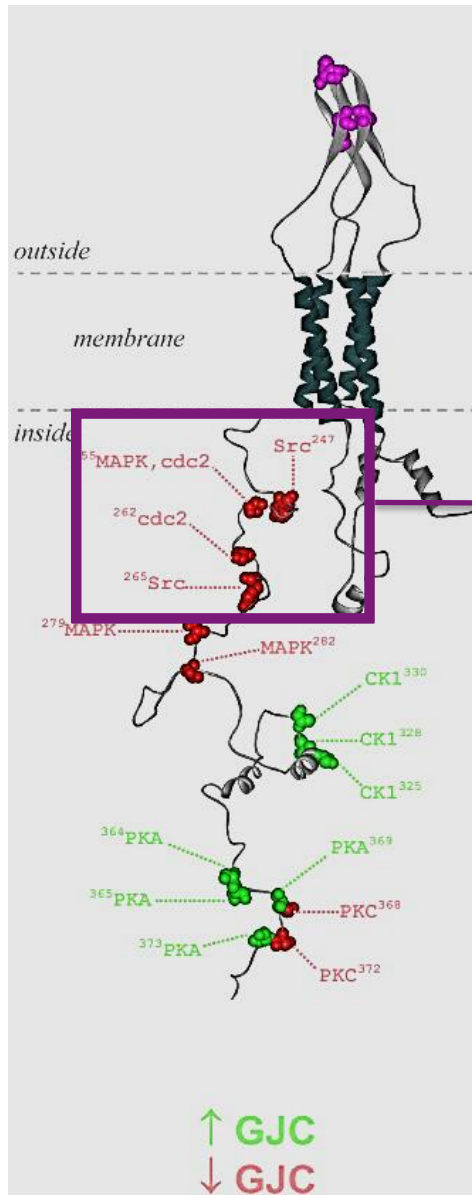


Cadherin switching o cambio de cadherinas



- **La restauración de Cx43 en GSC, provoca una disminución tanto de Sox2 como de Id1 y promueve el cambio de cadherinas.**

Diseño de un péptido penetrante

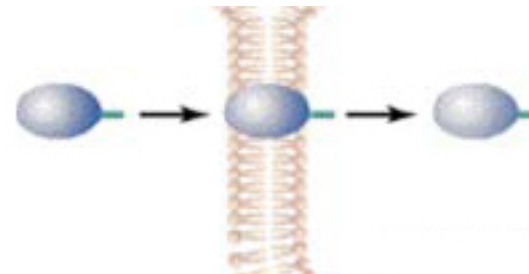


Secuencia TAT

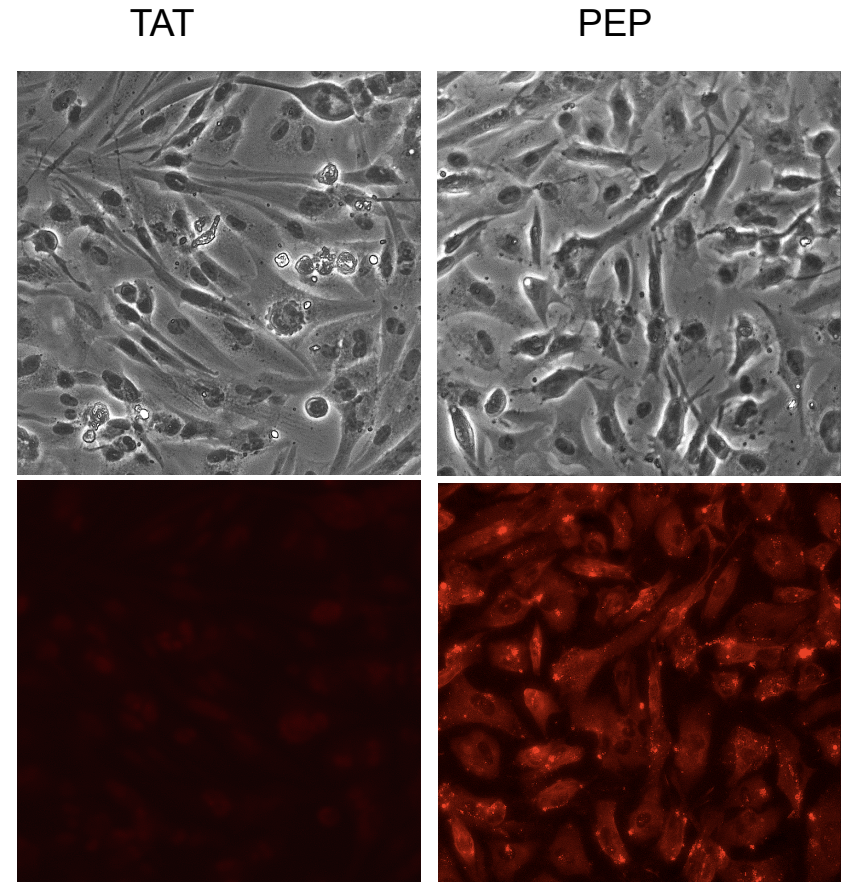
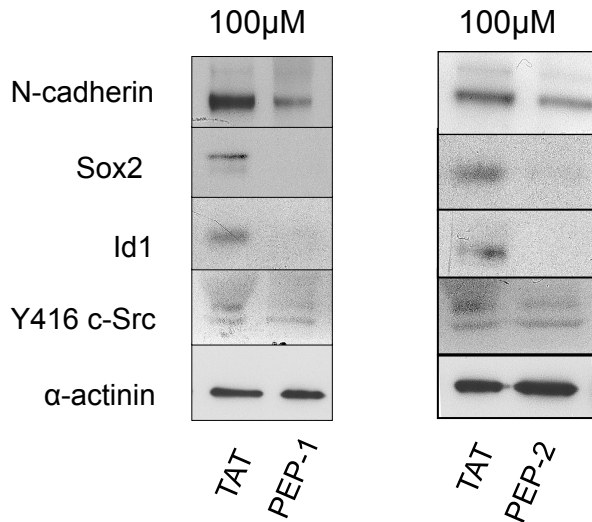
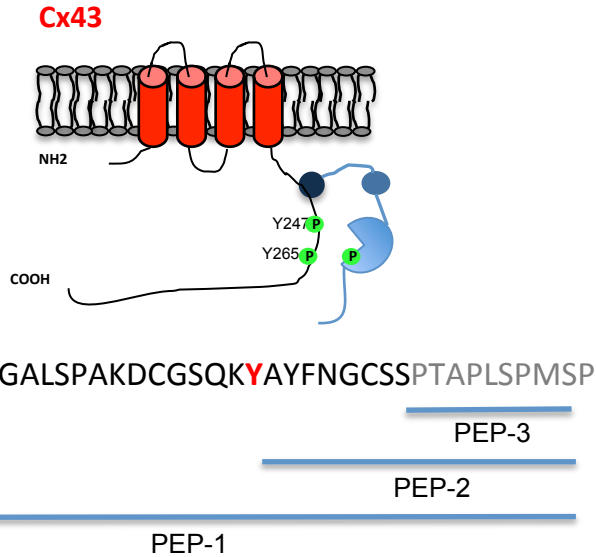
YGRKKRRQRRRDPYHATSGALSPAKDCGSQ

KYAYFNGCSSPTAPLSPMSP

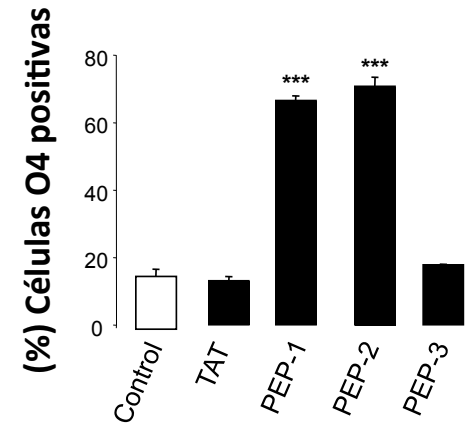
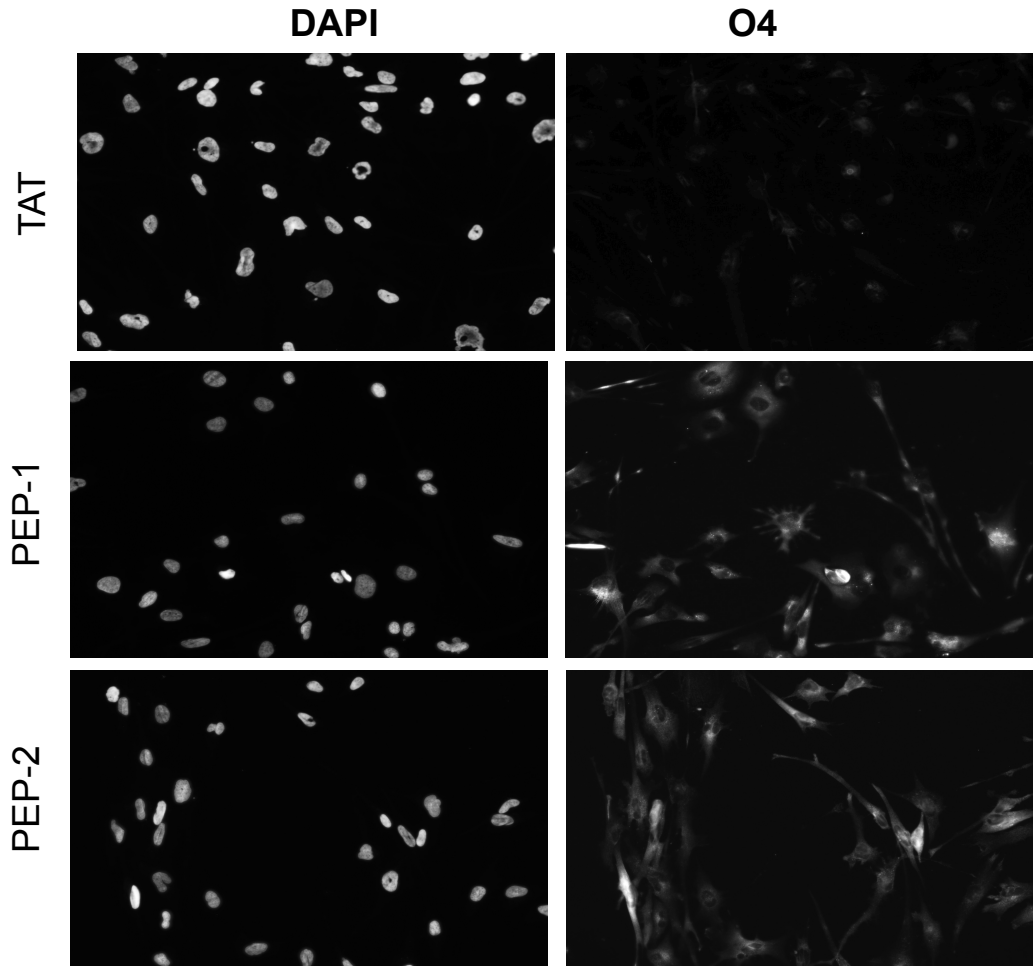
Región de unión SH3
de c-Src



Efecto de péptidos basados en la interacción Cx43-Src sobre el fenotipo de GSC.



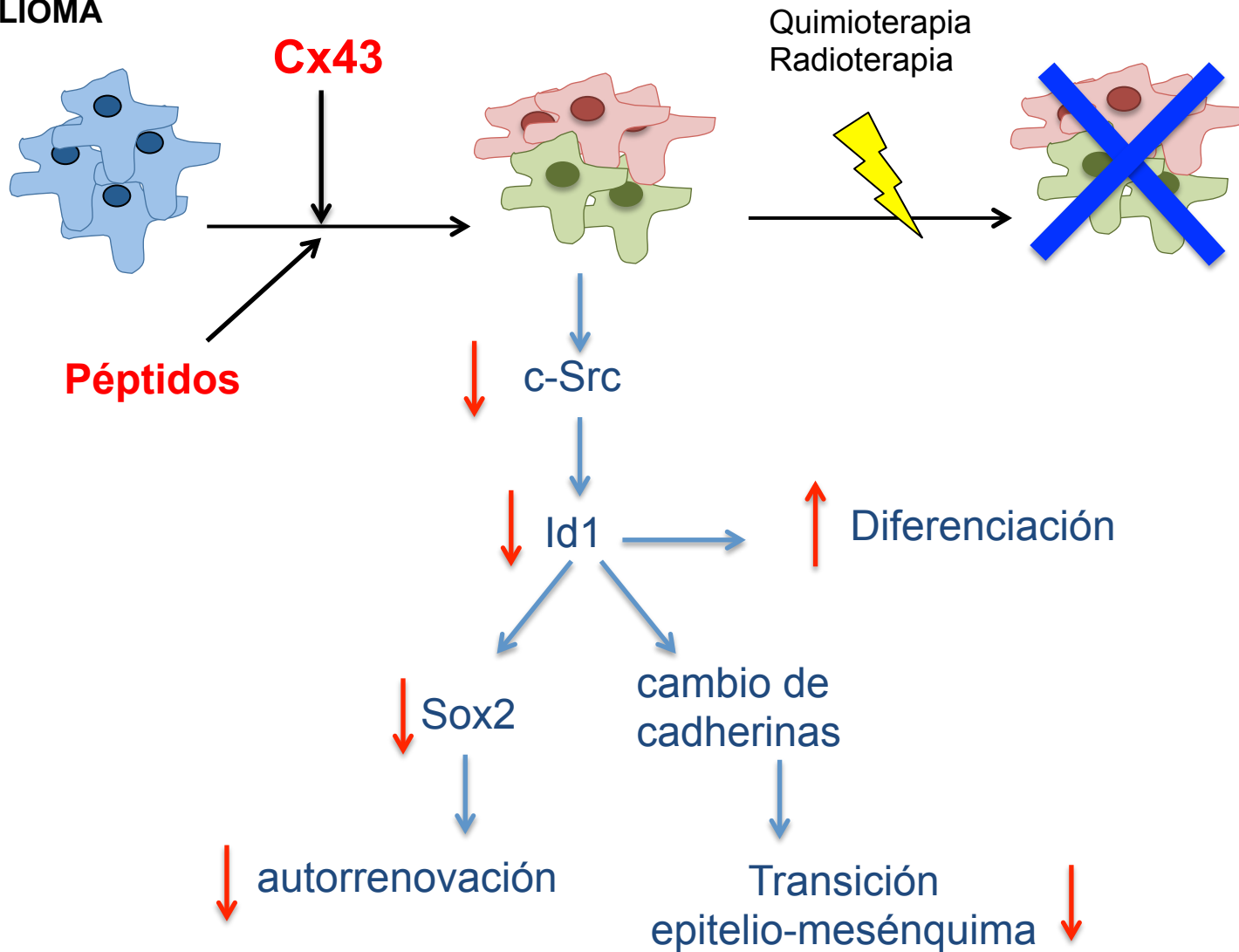
Efecto de péptidos basados en la interacción Cx43-Src en la diferenciación



- **Estos péptidos presentan una alta eficacia de internalización en las células madre de glioma humano y son capaces de mimetizar los efectos de la Cx43 en la reversión del fenotipo de célula madre.**

Conclusión final

CÉLULAS MADRE
DE GLIOMA



Lab 15



Colaboradores

Collège de France, Paris

Christian Giaume

Pascal Ezan

Annette Koulakoff

Neuroscience Paris Seine.

Hervé Chneiweiss

INCYL:

Arantxa Tabernero

José María Medina

Josefa M Barrientos

Ana Velasco

Marta Domínguez

Ana González

Myriam Jaraíz

Ángel Arroyo

Alex González

Sandra Herrero

Maruan Hijazi

Teresa Paíno

JC Valle



UNIVERSIDAD
DE SALAMANCA
CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

