



Premi de recerca per a estudiants  
Gemma Rosell i Romero

## Entrega de l'Abstract

Nom: Eugènia
Cognoms: Almacellas i Canals
Universitat on estudies: Universitat de Barcelona

Títol de la recerca: Caracterització de la via de senyalització PI3K/Akt-PKB/TSC/Rheb/mTOR en línies cel·lulars d'hepatocarcinoma
Autor/s: Eugènia Almacellas i Canals i Tatiana Álvarez Giovannucci
Departament: LMC (Laboratori de Metabolisme i Càncer)
Universitat: IDIBELL (grup de recerca associat a la UB)
País: Espanya

El càncer de fetge és el cinquè més freqüent i amb major mortalitat a nivell mundial. Histològicament, el subtipus majoritari és el carcinoma hepatocel·lular (HCC, *Hepatocellular Carcinoma*), que comprèn el 90% dels tumors hepàtics.

Aquest projecte es basa en la caracterització de la via de senyalització intracel·lular mTOR (*Mammalian Target of Rapamycin*). Aquesta proteïna es troba hiperactivada en el 50% de casos d'HCC, qualitat que la converteix en una bona candidata com a diana terapèutica.

L'objectiu del projecte és la caracterització de la via de senyalització PI3k/Akt-PKB/TSC/Rheb/mTORC1 en cèl·lules mare canceroses de tumors hepàtics (HepCSC, *Hepatic cancer stem cells*), per tal de diferenciar-les de la resta de cèl·lules tumorals. L'estudi *in vitro* es dué a terme amb quatre línies cel·lulars. Van ser separades en dues subpoblacions segons el seu nivell del marcador de superfície CD133,



marcador de desdiferenciació cel·lular. Es tracta d'una proteïna de membrana (prominina 1) àmpliament utilitzada per la caracterització de CSCs. La finalitat era determinar si el potencial oncogènic (mesurat a través de la hiperactivació de la via) es correlaciona amb uns nivells superiors de CD133. L'activitat de la via va ser avaluada segons la resposta a diferents estímuls: sèrum i aminoàcids.

A continuació es va mesurar l'efecte d'un fàrmac inhibidor de mTOR, la Rapamicina, en les subpoblacions cel·lulars aïllades.

Les línies tumorals usades són: Huh7, Hep3B, HepG2 i PLC/PRF/5. Per poder separar les cèl·lules candidates a CSC de la resta de cèl·lules tumorals, es va utilitzar la tècnica FACS sorting (*Fluorescence activated cell sorting*) amb anticossos anti-CD133 conjugats amb picoeritrina. En les cèl·lules HepG2, es dugué a terme un enriquiment previ mitjançant MACS sorting (*Magnetic activated cell sorting*) que utilitza anticossos units a nanopartícules magnètiques.

Per dur a terme l'estudi de la resposta als diferents estímuls i la Rapamicina es va utilitzar l'electroforesi en gels de poliacrilamida amb SDS (SDS-PAGE) i l'anàlisi Western-Blot.

La caracterització de la via mTOR a les quatre línies cel·lulars va mostrar una resposta diferencial. Així, HepG2 i Hep3B responen a sèrum mentre que PLC/PRF/5 i HuH7 són insensibles. Respecte a l'activació amb nutrients (aminoàcids), Hep3B no sembla respondre, HepG2 i HuH7 tenen una resposta gradual i PLC/PRF/5 activa la via al temps de 15 minuts. Després de la separació cel·lular, en HuH7 i PLC/PRF/5 no es van trobar diferències significatives. La resposta a Rapamicina és diferent, PLC/PRF/5 sembla ser molt més sensible al



## Premi de recerca per a estudiants Gemma Rosell i Romero

fàrmac que HuH7, mentre que de nou no vàrem trobar diferències significatives entre les subpoblacions.

El projecte de recerca ha estat tutelat pel Dr. Albert Tauler Girona que ens ha introduït en el camp de la recerca. Tots els resultats obtinguts han estat fruit de la feina cooperativa entre la Eugènia Almacellas i Canals i Tatiana Álvarez Giovannucci. En ser la nostra primera experiència com a membres d'un grup, agraïm la implicació dels membres investigadors que ens han ensenyat tots els mètodes que hem aplicat.

Cal destacar que actualment seguim treballant en aquest projecte, centrat en l'aplicació d'altres fàrmacs a tumors hepàtics en models *in vivo*.