

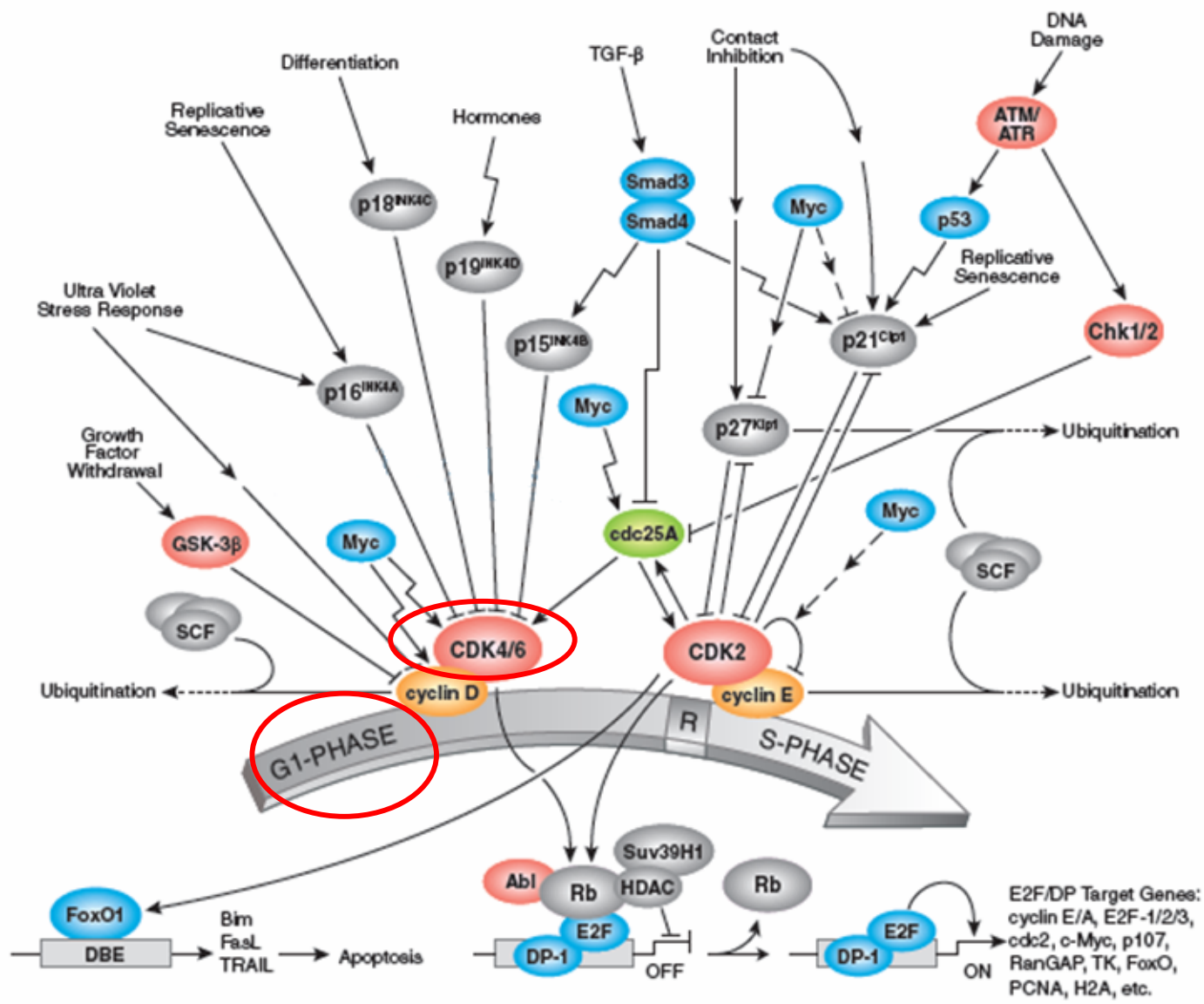
CONTROVÈRSIA SOBRE L'EXPRESSIÓ DE CDK4 EN ILLOTS PANCREÀTICS HUMANS

Jordi Altirriba, Ainhoa García, Begoña Sánchez, Laura Haba, Thomas Stratmann, Cristóbal Mezquita Pla, Ramon Gomis i Conchi Mora



Antecedents

Cell Cycle Control: G1/S Checkpoint



Indispensable en ratolins

Cyclin Dependent Kinase 4 (CDK4) juga un paper fonamental en la replicació de la cèl·lula beta en ratolins, ja que el seu dèficit provoca una severa hipoplàsia de cèl·lula beta, mentre que la seva hiperactivitat (CDK4R24C) dóna lloc a una hiperplàsia sense hipoglucèmia.

- Rane SG, Dubus P, Mettus RV, et al. (1999) Loss of Cdk4 expression causes insulin-deficient diabetes and Cdk4 activation results in beta-islet cell hyperplasia. Nat Genet 22: 44-52

Absent en pàncrees humà

CDK4 no està present en pàncrees de persones sanes, mentre que la seva presència s'observa en tumors endocrins pancreàtics, lesions neoplàsiques intraepitelials i adenocarcinomes ductals.

- Lindberg D, Hessman O, Akerstrom G, Westin G (2007) Cyclin-dependent kinase 4 (CDK4) expression in pancreatic endocrine tumors. Neuroendocrinology 86: 112-118
- Al-Aynati MM, Radulovich N, Ho J, Tsao MS (2004) Overexpression of G1-S cyclins and cyclin-dependent kinases during multistage human pancreatic duct cell carcinogenesis. Clin Cancer Res 10: 6598-6605

Objectiu

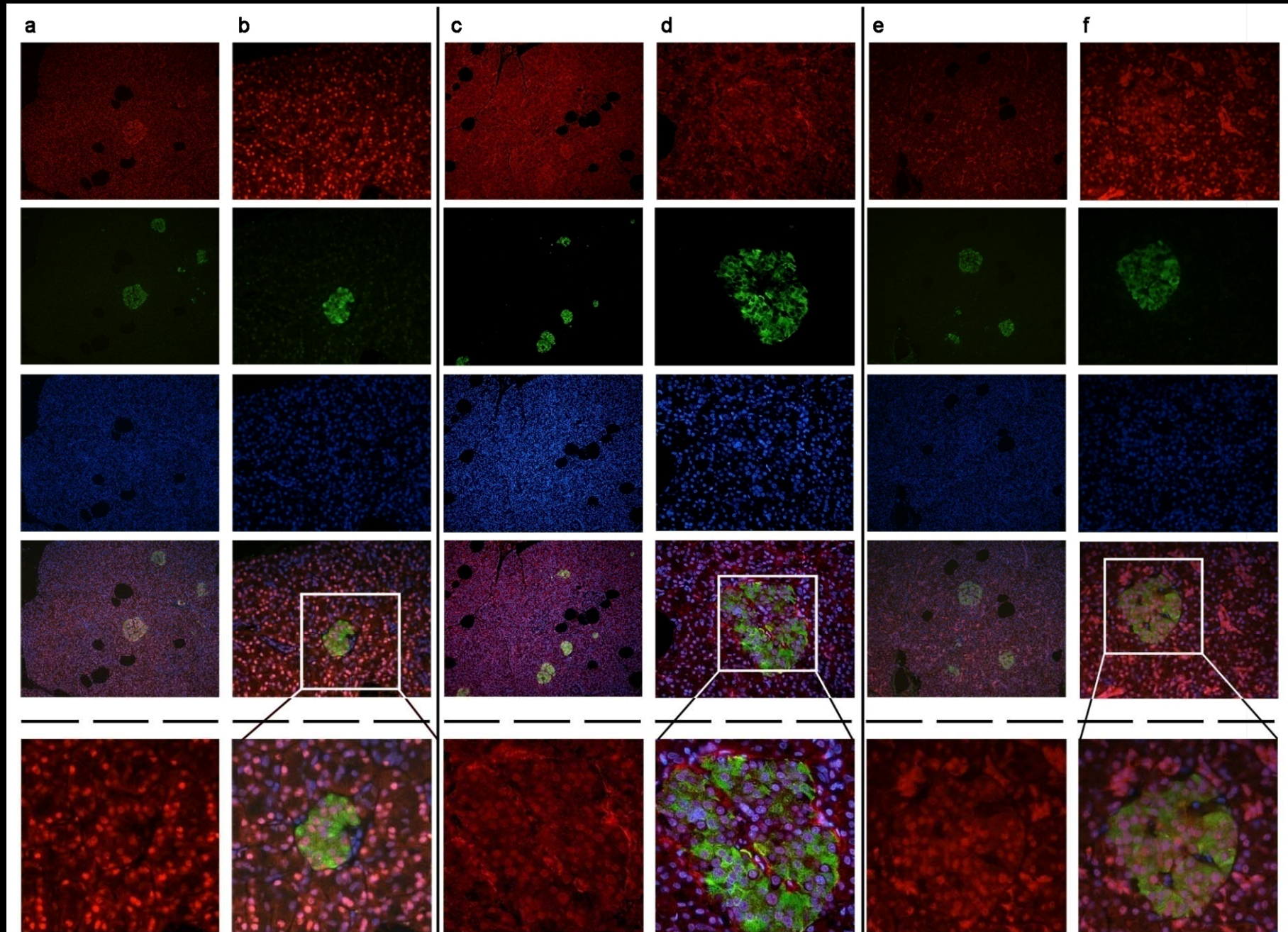
Determinar si CDK4 està present en pàncrees de persones adultes sanes

Resultats: Immunohistoquímica



ACD 09, CDK4 controvertida

CDK4 i CDK6 estan presents en pàncrees humans adults sans per immunohistoquímica

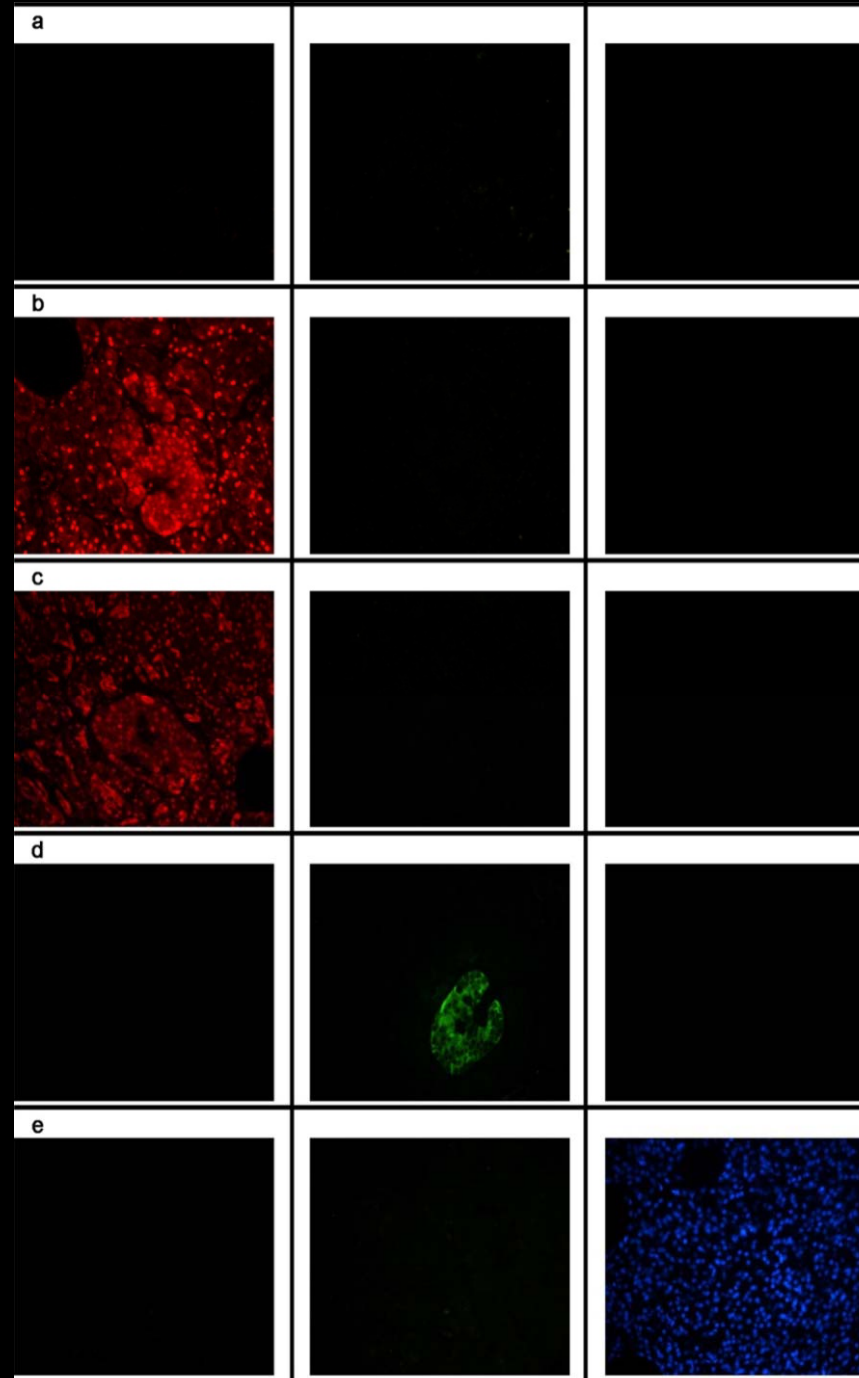


Resultats: Controls



ACD 09, CDK4 controvertida

Control 1:
No hi ha traspàs de
senyal entre els
diferents canals



Només Ac secundaris

Anti-CDK4 +
Ac secundaris

Anti-CDK6 +
Ac secundaris

Anti-insulina +
Ac secundaris

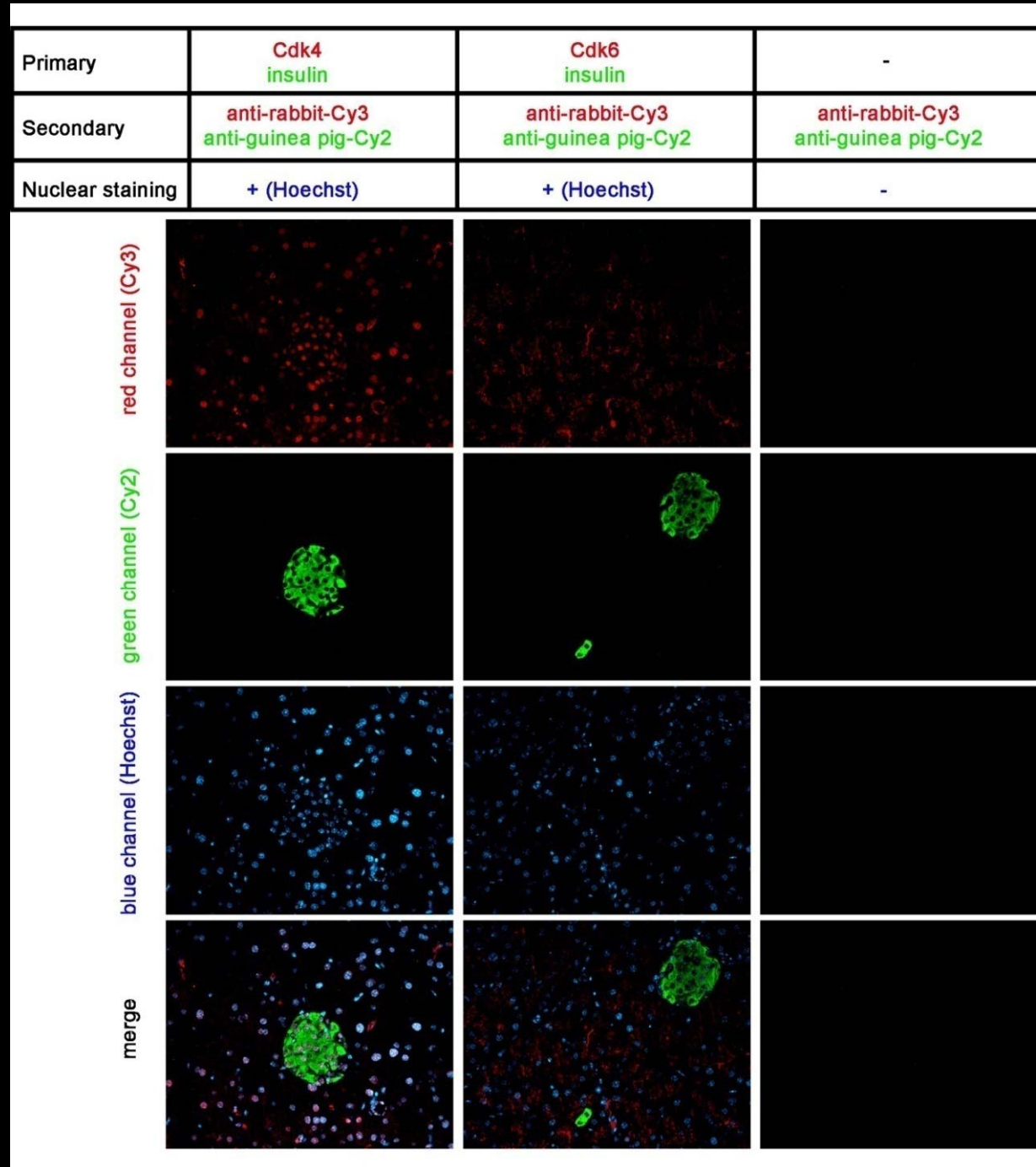
Hoechst +
Ac secundaris

Resultats: Controls



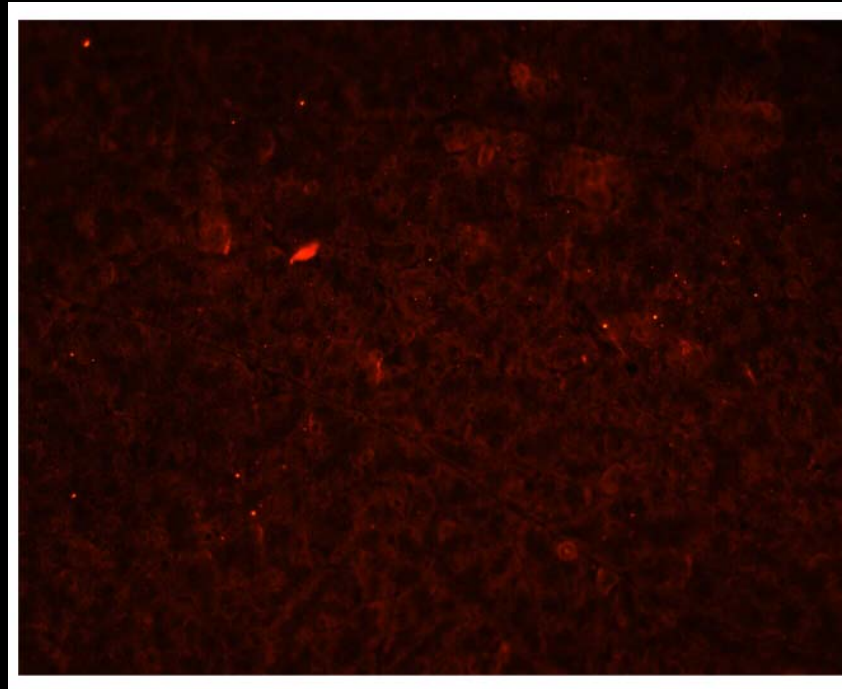
ACD 09, CDK4 controvertida

Control 2:
Els resultats en
ratolins confirmen
l'especificitat dels
anticossos



Control 3:

Els resultats en ratolins KO per Cdk4 confirmen l'especificitat de l'anticòs



Resultats: Controls

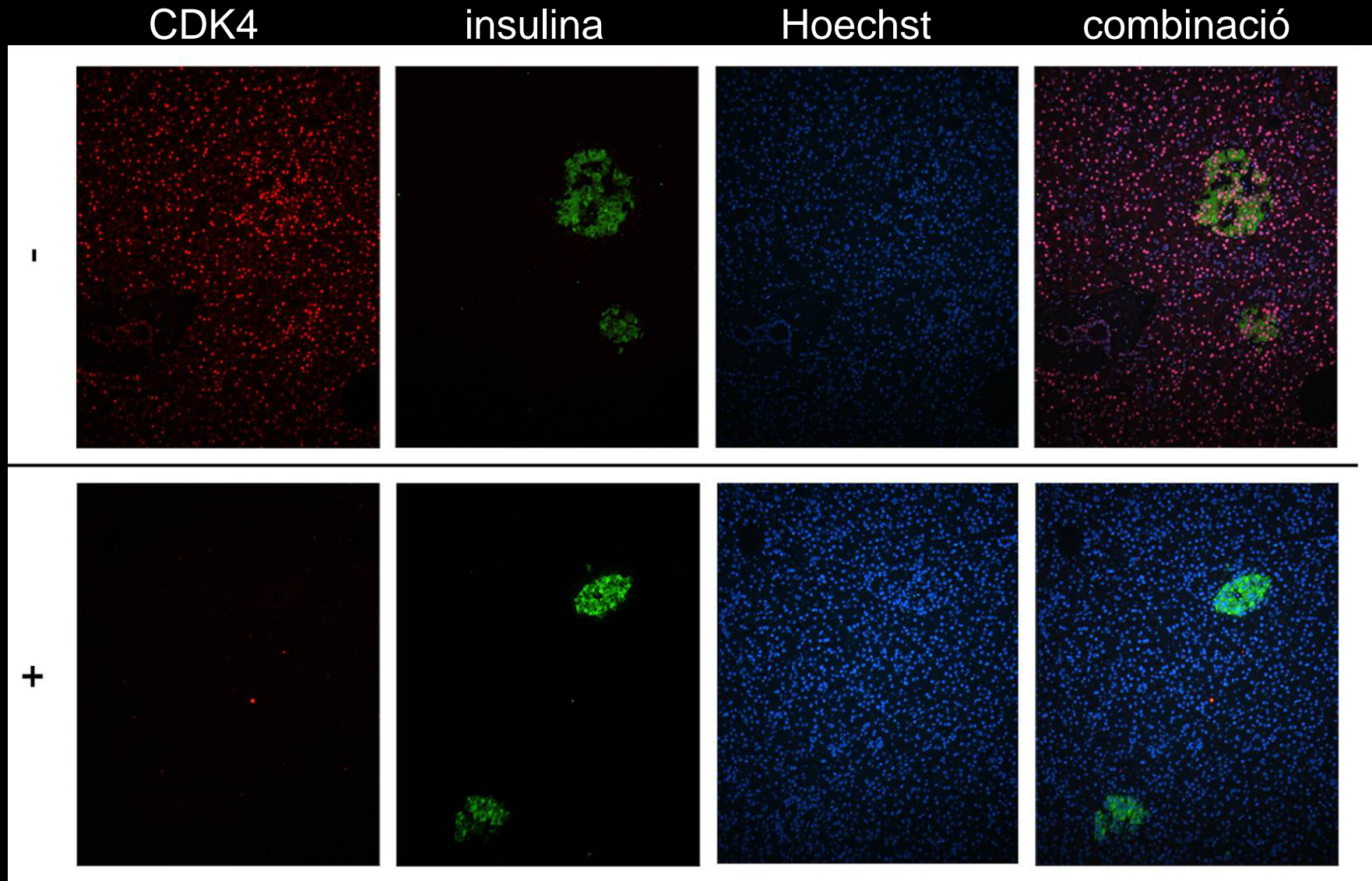


ACD 09, CDK4 controvèrsia

Control 4:

El pèptid de competició fa desaparèixer la senyal, confirmant l'especificitat de la senyal

Pèptid de competició

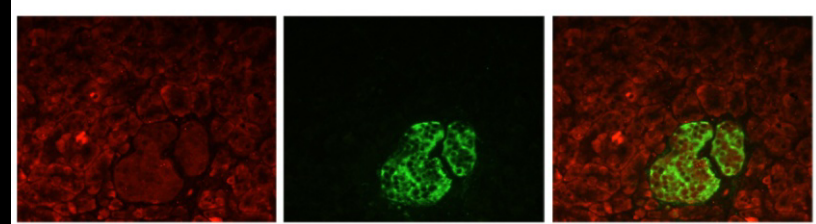


Resultats:

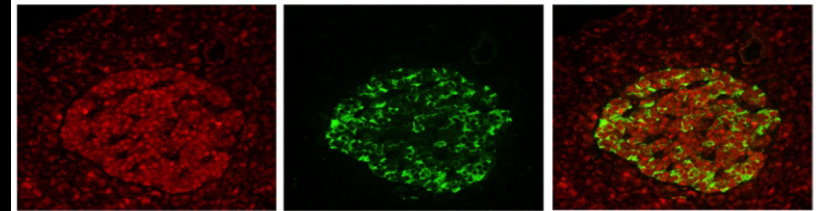
Protocols d'immunohistoquímica

Un tractament més agressiu (olla a pressió) millora qualitativament i quantitativament els resultats.

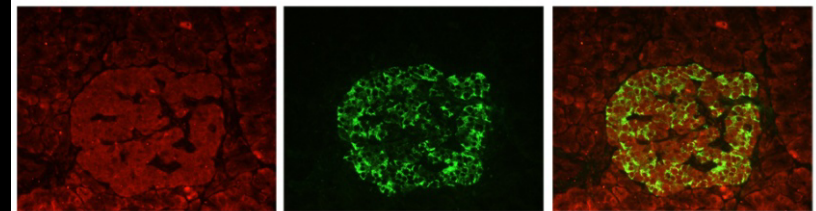
Microones



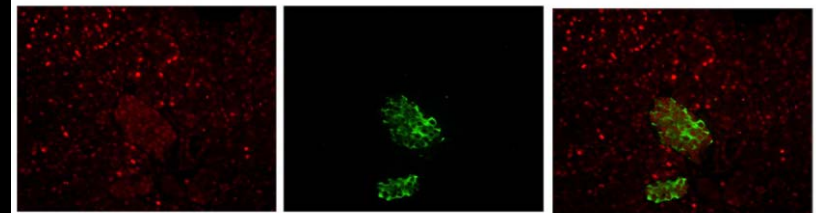
Olla a pressió



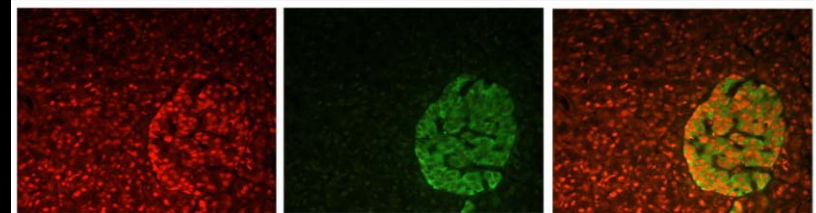
Microones



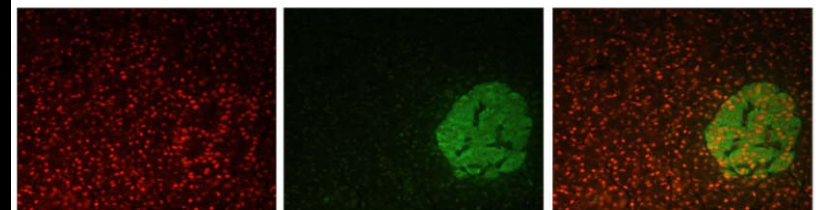
Olla a pressió



Microones



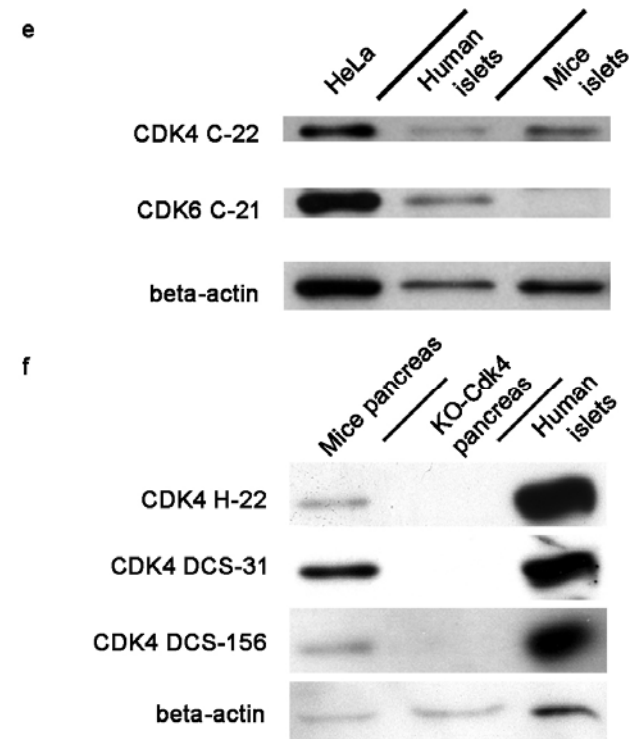
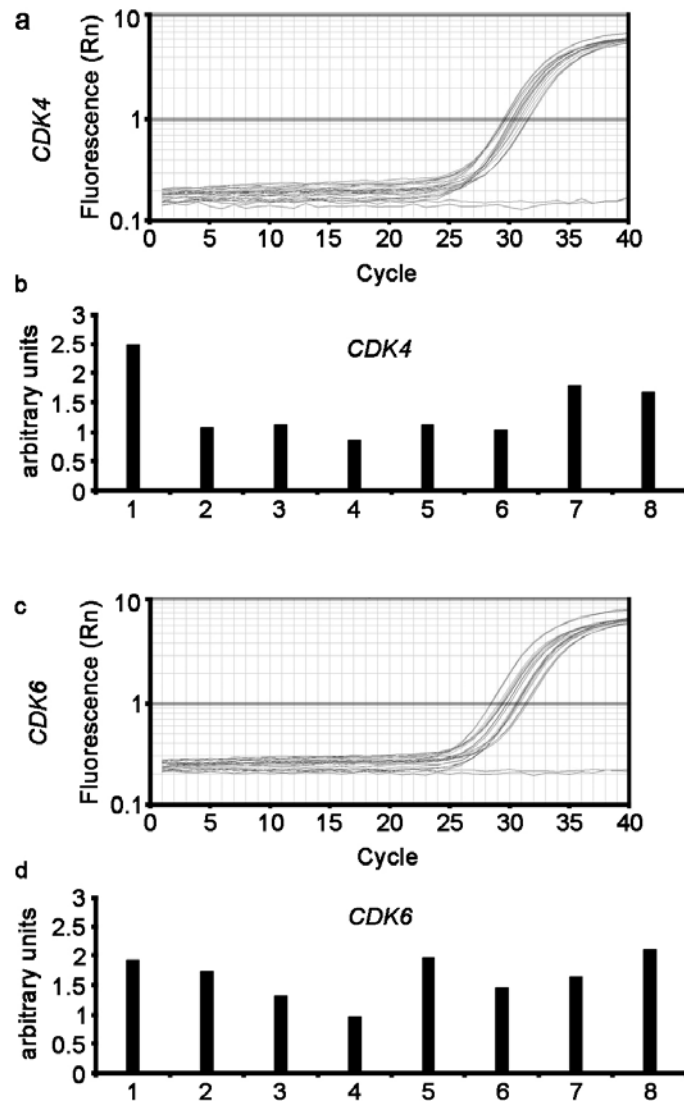
Olla a pressió



Resultats:

PCR a temps real i WB

La presència de CDK4 a illots humans es confirmada per PCR a temps real i Western Blot



Conclusions

CDK4 és present en illots humans de pàncrees de donants adults i sans.

Per aquest motiu, la sola presència de CDK4 no pot ser utilitzada com a diagnòstic de tumors endocrins pancreàtics, lesions neoplàsiques intraepiteliais o adenocarcinomes ductals.

Les diferències d'immunohistoquímica observades amb estudis anteriors poden ser degudes al pas de l'exposició antigènica.

Els estudis realitzats en ratolins sobre la Cdk4 en el pàncrees poden ser útils en estudis en humans.

- Beques doctorals IDIBAPS
- Ministerio de Ciencia y Tecnología (Programa Ramón y Cajal, SAF 2003-06139, SAF2006-07382 i SAF2004-02666)
- European Foundation for the Study of Diabetes (EFSD/ Paul Langerhans/ Amylin Pharmaceuticals Award 2004)
- EFSD/Lilly Research Fund grant
- Ministerio de Sanidad y Consumo (PI040587)

Agraïments

- E. Muntanya, M. Nacher i JA Bombí per proveir-nos amb seccions de pàncrees humans
- P. Fernández, E. Gonzalvo i M. Mainar per la seva assistència tècnica
- S. Ortega per proveir-nos amb mostres de ratolins KO per Cdk4
- E. Llagostera per proveir-nos amb llistats de cèl·lules HeLa