

Expresión de ALDH1A1 en citología normal y cáncer cervicouterino

Expression of ALDH1A1 in normal cytology and cervical cancer

ESCAMILLA-SÁNCHEZ, Daniel Levi†, VÁZQUEZ-ARCE, Magaly Selene, ZUBILLAGA-GUERRERO, Ma Isabel, ALARCÓN-ROMERO, Luz del Carmen y TORRES-ROJAS, Francisco Israel*

Universidad Autónoma de Guerrero

ID 1^{er} Autor: *Escamilla-Sánchez, Daniel Levi*

ID 1^{er} Coautor: *Vázquez-Arce, Magaly Selene*

ID 2^{do} Coautor: *Zubillaga-Guerrero, Ma Isabel*

ID 3^{er} Coautor: *Alarcón-Romero, Luz del Carmen*

ID 4^{to} Coautor: *Torres-Rojas, Francisco Israel*

DOI: 10.35429/JNT.2019.8.3.18.22

Recibido 06 de Marzo, 2019; Aceptado 30 de Junio, 2019

Resumen

El cáncer cervicouterino es uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial. Una de las principales características del cáncer es la alta tasa de proliferación y crecimiento celular. Existen diversas proteínas involucradas en mencionados procesos, las cuales, usualmente incrementan su expresión en el desarrollo de cáncer. Actualmente no existe un marcador ineludible de cáncer, por ello, la búsqueda de biomarcadores celulares es determinante en aras de poder establecer pautas en el diagnóstico y tratamiento del cáncer. Diversos estudios han puesto de manifiesto que enzimas involucradas en detoxificación celular pueden ver afectada su expresión en cáncer y probablemente ser utilizadas como biomarcadores. En este sentido, ALDH1A1 en cáncer cervicouterino no ha sido evaluada, pero en otros tipos de cáncer ha sido considerada un marcador de mal pronóstico. En este estudio se analiza el nivel de expresión a nivel mensajero del gen ALDH1A1 en muestras de citología normal y cáncer cervicouterino.

Cáncer cervicouterino, ALDH1A1, Expresión, RNAm

Abstract

Cervical cancer is one of the main public health problems worldwide. One of the main characteristics of cancer is the high rate of proliferation and cell growth. There are several proteins involved in these processes, which usually increase their expression in the development of cancer. Currently there is no unavoidable marker of cancer, therefore, the search for cell biomarkers is decisive in order to establish guidelines in the diagnosis and treatment of cancer. Several studies have shown that enzymes involved in cell detoxification can affect their expression in cancer and probably be used as biomarkers. In this sense, ALDH1A1 in cervical cancer has not been evaluated, but in other types of cancer it has been considered a marker of poor prognosis. In this study, the level of messenger level expression of the ALDH1A1 gene in normal cytology and cervical cancer samples is analyzed.

Cervical cancer, ALDH1A1, Expression, mRNA

Citación: ESCAMILLA-SÁNCHEZ, Daniel Levi, VÁZQUEZ-ARCE, Magaly Selene, ZUBILLAGA-GUERRERO, Ma Isabel, ALARCÓN-ROMERO, Luz del Carmen y TORRES-ROJAS, Francisco Israel. Expresión de ALDH1A1 en citología normal y cáncer cervicouterino. Revista de Técnicas de la Enfermería y Salud. 2019, 3-8: 18-22

*Correspondencia al Autor (Correo electrónico: ftorres@uagro.mx)

† Investigador contribuyendo como primer Autor.

Introducción

Cáncer cervicouterino

El cáncer cervicouterino es uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial y su incidencia va en aumento con un estimado de 528 mil nuevos casos diagnosticados anualmente, (Momenimovahed y Salehiniya 2017). La mayoría de los casos de este tipo de cáncer se encuentran en áreas en vías de desarrollo, esto debido a la falta de información y al diagnóstico no oportuno de la infección del virus de papiloma humano (VPH), cabe señalar que dicha infección es el factor de riesgo más importante para el desarrollo de cáncer cervicouterino, entre otros factores que incluyen desde múltiples parejas sexuales, un inicio de vida sexual a edad temprana, multiparidad, hábito tabáquico así como la mala alimentación, etc, (Momenimovahed y Salehiniya 2017).

Aldehído deshidrogenasas y cancer

Una de las principales características del cáncer es la alta tasa de proliferación y crecimiento celular. Para lograr esto, las células cancerosas necesitan reprogramar su metabolismo hacia uno donde predomina la glicólisis y una disminución en la función mitocondrial (Bórquez *et al.*, 2018). Las aldehído deshidrogenasas (ALDH) son un grupo de enzimas dependientes de nicotinamida-adenina dinucleótido-fosfato (NADP⁺) que catalizan la oxidación de sustratos de aldehído endógenos y exógenos a sus correspondientes ácidos carboxílicos. Estas enzimas poseen diversas funciones biológicas, incluida la desintoxicación celular. Se han reportado 19 genes funcionales de ALDH y diversos pseudogenes en el genoma (Nakahata *et al.*, 2015; Tomita *et al.*, 2016).

Aldehído deshidrogenasa 1 isoforma A1

Entre las diversas isoformas descritas, se ha sugerido que particularmente ALDH1, ALDH2 y ALDH3 tienen contribuciones bioquímicas específicas relacionadas con el desarrollo de alteraciones metabólicas, enfermedades autoinmunes y cáncer (Kimble-Hill *et al.*, 2014); mientras que la subfamilia ALDH1A1 juega un importante papel en la embriogénesis de desarrollo celular mediando la señalización del ácido retinoico (Kopakka *et al.*, 2012).

La proteína ALDH1A1 cataliza la oxidación de retinol a ácido retinoico, que regula la expresión de diversos genes involucrados en diversas funciones celulares como crecimiento y diferenciación celular (Tomita *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2017). En el presente trabajo se pretendió evaluar la expresión del RNA mensajero del gen ALDH1A1 como un potencial marcador de cáncer.

Objetivos

Evaluar la asociación de la expresión de ALDH1A1 en citología normal y CaCU.

Metodología a desarrollar

Obtención de las muestras

Las muestras citológicas analizadas provienen de mujeres que acudieron en el periodo mayo-agosto de 2019 al servicio de detección oportuna del virus de papiloma humano de la FCQB dependiente de la Universidad Autónoma de Guerrero.

Genotipificación de VPH

La detección del VPH fue realizada utilizando el kit INNO-LiPA genotyping (Fujirebio Europe, Gent, Belgium), siguiendo las recomendaciones del proveedor.

Extracción de RNA

Se realizó extracción de RNA mediante el método de TRIzol®, siguiendo las recomendaciones del fabricante, brevemente, el tejido correspondiente a biopsias fue macerado hasta pulverizarlo y después traspasarlo a un tubo eppendorf de 1.5 mL. Se agregaron 500 µL de Trizol y se incubó por 5 minutos en hielo, a continuación se agregó 100 µL de cloroformo y se incubó 10 minutos en las mismas condiciones.

Seguido de esto se centrifugó a 13 000 r.p.m. por 15 minutos a 4° C, una vez terminada la centrifugación se obtuvo la fase acuosa y esta se traspasó a otro tubo al cual se le agregó 100 µL de isopropanol y se dejó precipitar toda la noche.

Se centrifugó a 13 000 r.p.m. por 15 minutos a 4°C y seguido de esto se desechó el sobrenadante dejando el pellet, se realizó un lavado con 1mL de etanol al 75% y se centrifugó a 13 000 r.p.m. por 10 minutos a 4°C, realizando otro lavado de la misma manera. Se dejó secar el pellet a temperatura ambiente durante 5 minutos para su posterior hidratación y cuantificación.

Obtención de cDNA y determinación de la expresión génica de ALDH1A1 mediante PCR en tiempo real

A partir del RNA obtenido se sintetizará el cDNA correspondiente utilizando el kit TaqMan™ Reverse Transcription Reagents (Invitrogen), siguiendo las indicaciones del fabricante. Los ensayos para determinar la expresión del RNA mensajero del gen GLUT1 fueron realizados en el CFX-96 Real time termocycler (BIORAD), utilizando el ensayo TaqMan Hs00946916_m1 (Termofisher scientific). Los resultados fueron analizados utilizando el método $2\Delta\Delta CT$. Todos los ensayos se realizaron por duplicado.

Resultados

Para el presente estudio se realizó el procesamiento de un total de 30 muestras, las cuales se dividieron en 2 grupos (17 de cáncer y 13 con citología normal), una vez clasificadas las muestras se llevó a cabo la PCR y posteriormente se obtuvieron los CTs. Las características generales de la población se muestran en la figura 1.

| Variable | Citología Normal (n=13) | Cáncer cervicouterino (n=17) | Valor p |
|---|-------------------------|------------------------------|-----------------------|
| Edad ^a | 39 (27-46) | 48 (40-64) | 0.03 ¹ |
| Infección VPH | 0 (0) | 12 (100) | < 0.0001 ² |
| Positivo | 8 (100) | 0 (0) | |
| Negativo | | | |
| Inicio de vida sexual activa ^a | 18 (18-22) | 18 (15-19) | 0.31 ¹ |
| Hábito de fumar | 2 (15) | 0 (0) | 0.11 ² |
| SI | 5 (39) | 9 (53) | |
| NO | 6 (46) | 8 (47) | |
| No se le preguntó | | | |

^aSe reportan medianas (p25-p75). 1 Prueba de Mann Whitney 2 Prueba de X²

Tabla 1 Características generales de la población en estudio

Una vez obtenidos los valores de CT en las muestras analizadas, se realizó el procedimiento esquematizado a continuación para determinar la expresión relativa de ALDH1A1 en las muestras procesadas:

$$CTA + CTB = CTAB \quad (1)$$

$$CTC + CTD = CTCD \quad (2)$$

$$CTCD - CTAB = \Delta\Delta CT \quad (3)$$

$$\Delta\Delta CT = 2^{-\Delta\Delta CT} = 2 - \Delta CT \quad (4)$$

Los resultados expresados a continuación son representativos al número de muestras en total analizadas, divididas así en dos categorías citología normal y cáncer evaluando la expresión de ALDH1A1. Se observó que en citología normal solo 3 de 13 muestras se encontraron por encima de la media, mientras que por otro lado en cáncer se observan 4 muestras que están por encima de la media, destacando que estas últimas muestran un notorio aumento de la expresión de ALDH1A1, mientras que, en citología normal, los valores de expresión relativa no sobrepasan el valor 5 (figura 1).

Expresión de ALDH1A1 en cáncer cervicouterino

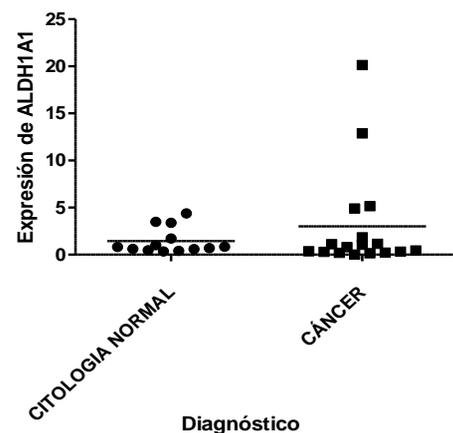


Figura 1 Expresión de ALDH1A1 en cáncer cervicouterino

Agradecimientos

El presente trabajo fue desarrollado con recurso obtenido mediante el financiamiento de PROYECTO SEMILLA 2019 a través del subsidio de la Universidad Autónoma de Guerrero.

Contribuciones

Daniel Levi Escamilla Sánchez: Extracción de RNA.

Magaly Selene Vazquez Arce: Determinación de la Expresión de ALDH1A1.

Dra. Ma. Isabel Zubillaga: Captación de muestras.

Dra. Luz del Carmen Alarcón Romero: Diagnóstico citológico e histopatológico.

Francisco Israel Torres Rojas: Determinación viral, el análisis estadístico y dirección del proyecto.

Conclusión

Se observó que la expresión de la proteína ALDH1A1 presenta un ligero incremento con el estado fisiopatológico del paciente.

Se sugiere incrementar el tamaño de la muestra para lograr establecer una relación concisa de la expresión de ALDH1A1 con la presencia de cáncer cervicouterino.

Referencias

Bosch FX, Broker TR, Forman D, Moscicki AB, Gillison ML, Doorbar J, et al. Authors of the ICO Monograph 'Comprehensive Control of HPV Infections and Related Diseases' Vaccine Volume 30, Supplement 5, 2012. (2014). Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. *Vaccine*. 31 (8): I1-I31.

Juan Carlos Bórqueza , Nicolás Montesa , Erik Díaz.(2018). Combatiendo el metabolismo de las células cancerosas mediante la activación de SIRT3 y el ejercicio físico. *Rev Med Chile* 2018; 146: 762-769.

Campos NG, Burger EA, Sy S, Sharma M, Schiffman M, Rodriguez AC, et al. (2014). An updated natural history model of cervical cancer: derivation of model parameters. *American journal of epidemiology*. 180 (5): 545-555.

Carter JR, Ding Z y Rose BR. (2011). HPV infection and cervical disease: a review. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 51 (2): 103-8.

Kimble-Hill AC, Parajuli B, Chen CH, Mochly-Rosen D y Hurley TD. (2014). Development of selective inhibitors for aldehyde dehydrogenases based on substituted indole-2,3-diones. *J Med Chem*. 57 (3): 714-22.

Koppaka V, Thompson DC, Chen Y, Ellermann M, Nicolaou KC, Juvonen RO, et al. (2012). Aldehyde dehydrogenase inhibitors: a comprehensive review of the pharmacology, mechanism of action, substrate specificity, and clinical application. *Pharmacological reviews*. 64 (3): 520-539.

Ma I y Allan AL. (2011). The Role of Human Aldehyde Dehydrogenase in Normal and Cancer Stem Cells. *Stem Cell Rev*. 7 (2): 292-306.

Momenimovahed Z y Salehiniya H. (2017). Incidence, mortality and risk factors of cervical cancer in the world. *Biomedical Research and Therapy*, 4(12), 1795-1811.

Moody CA y Laimins LA. (2010). Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer*. 10 (8): 550-60.

Nakahata K, Uehara S, Nishikawa S, Kawatsu M, Zenitani M, Oue T et al. (2015). Aldehyde Dehydrogenase 1 (ALDH1) Is a Potential Marker for Cancer Stem Cells in Embryonal Rhabdomyosarcoma. *PLoS One*. 10 (4): e0125454.

Nayar R y Wilbur DC. (2015). The Pap Test and Bethesda 2014. "The reports of my demise have been greatly exaggerated." (after a quotation from Mark Twain). *Acta Cytol*. 59 (2): 121-32.

Serman F. (2002). Cáncer cervicouterino: epidemiología, historia natural y rol del virus papiloma humano. Perspectivas en prevención y tratamiento. *Rev Chil Obstet Ginecol*. 67 (4): 318-323.

Tomita H, Tanaka K, Tanaka T, y Hara A. (2016). Aldehyde dehydrogenase 1A1 in stem cells and cáncer. *Oncotarget*. 7 (10): 11018-11032.

Yang CK, Wang XK, Liao XW, Han CY, Yu TD, Qin W, et al. (2017). Aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) isoform expression and potential clinical implications in hepatocellular carcinoma. PloS one. 12 (8); e0182208.