

DETERMINACION DE LA INTERACCION ENTRE LOS RECEPTORES EGFR Y HER2 EN LINEAS CELULARES DE CANCER DE CERVIX CALO E INBL

Marcela Velázquez Torres, Arturo Valle Mendiola, Isabel Soto Cruz

Laboratorio de Oncología Molecular L9-PB, Unidad de Investigación en Diferenciación Celular y Cáncer, FES Zaragoza, UNAM. Av. 5 de Mayo, esquina Fuerte de Loreto, S/N, col Ejército de Oriente, Iztapalapa, C.P. 09210.

Introducción. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud el cáncer cervicouterino es el segundo tipo de cáncer más común en mujeres, y en países en vías de desarrollo, es el más frecuente, diagnosticándose más de 400,000 casos nuevos cada año. Casi 99.7% de los casos de cáncer de cuello uterino puede atribuirse a ciertos tipos del *virus del papiloma humano*. Si bien la infección por VPH no es suficiente para desencadenar el cáncer, la importancia de la detección del VPH consiste en que el ADN del virus se encuentra en prácticamente todas las lesiones precursoras del CaCu. La proteína E5 del virus del papiloma humano tipo 16 (HPV 16), se asocia con el factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y aumenta la activación de los receptores EGFR. En consecuencia las células transformadas sobre-expresan EGFR y están constitutivamente autofosforiladas. Otro receptor perteneciente a la familia EGFR es el receptor HER 2; en estudios retrospectivos se ha puesto de manifiesto que en pacientes con cáncer de mama presentan amplificación de HER 2. La sobre-expresión de EGFR/Her1 y erbB2/Her2 se ha detectado en más de 30% de cánceres de mama y de ovario. En células que expresan tanto EGFR como HER2 la unión a ligando en EGFR puede inducir homodimerización EGFR-EGFR y heterodimerización EGFR-HER2. Estos dímeros activos pueden transmitir señales a través de las vías Ras/Raf/MEK/ERK y PI3K/Akt. El potencial de cooperación entre EGFR y HER2 en la tumorigénesis de mama en ratones ha sido reportado. Además, en tumores de mama y ováricos, esta cooperación y sobreexpresión de EGFR y HER2 decrecen las probabilidades de recuperación. Es por esto que es de suma importancia determinar la interacción entre los receptores EGFR y HER2 y su activación en respuesta a EGF en líneas celulares de cáncer cervicouterino.

Metodología. Las células se cultivaron en medio RPMI-1640 suplementado con 10% SFB. Se hizo un lisado y se incubó con esferas de agarosa-proteína A previamente acopladas con anticuerpos específicos para las proteínas de interés. Las proteínas separadas mediante SDS-PAGE 10% se transfirieron a membrana de nitrocelulosa. La membrana fue incubada con el anticuerpo anti-fosfotirosina y se reveló la membrana utilizando quimioluminiscencia. Para determinar la identidad de las proteínas fosforiladas en tirosina, se incubó la membrana con la solución de elución (0.5M glicina, 2% SDS, pH 2.5) y se bloqueó con BSA 3% en TBS. Posteriormente, se probó el anticuerpo HER2 sobre la misma membrana y después con un anticuerpo secundario. Las proteínas se visualizaron mediante quimioluminiscencia.

Resultados y discusión. En este estudio se demostró la presencia de HER-2 y EGFR en las líneas celulares de cáncer cervical CALO e INBL, además se ha demostrado que se encuentran fosforilados de manera constitutiva. Por ensayos de co-precipitación se encontró que se forman heterodímeros entre el EGFR y HER2 en ambas líneas celulares. En nuestros resultados no se observan cambios en los estados de fosforilación entre el control y los tiempos de estimulación con EGF.

Conclusiones. Los receptores EGFR y HER2 interactúan para formar heterodímeros en las líneas de carcinoma de cérvix CALO e INBL. *Trabajo financiado por PAPIIT-DGAPA, UNAM (IN221512)*

Bibliografía.

Mitsudomi T., Yatabe Y., FEBS J, 2010. 277:301-308.
Hynes NE., Lane HA., Nat Rev Cancer, 2005. 5:341-354.