

# DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE CINASA DE TIROSINA DEL RECEPTOR PARA EL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMICO (EGFR) EN CÉLULAS DE CARCINOMA DE CÉRVIX CALO E INBL

**Ricardo Bustos Rodríguez, Arturo Valle Mendiola, Benny Weiss Steider, 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.** El cáncer cervicouterino es la segunda causa de muerte por neoplasias malignas en la mujer al producir 11 decesos por día, afectando a un grupo de edad de 25 a 69 años, solamente superado por el cáncer de mama. Es considerado un problema de salud pública en nuestro país y se presenta en la población de nivel socioeconómico bajo. La complejidad que presenta la vía de señalización de EGFR, su importancia en el crecimiento celular y supervivencia pone en relieve el rol que tienen las alteraciones de EGFR en el desarrollo y mantenimiento de algunas alteraciones patológicas como el cáncer. Las anomalías en las funciones de EGFR están asociadas con todas las características claves del desarrollo y crecimiento del cáncer incluyendo la proliferación celular autónoma, la invasión, la angiogénesis y el potencial metastásico. La expresión de EGFR puede dar el incremento de mecanismos como la producción de los ligandos de EGFR el incremento en la transcripción del gen EGFR, la amplificación de este y mutaciones que resultan en la actividad constitutiva de la actividad cinasa. Se manifiesta frecuentemente en tumores escamosos de cabeza y cuello así como en cáncer colorectal, seno, próstata, vejiga y ovario. En el presente trabajo buscamos determinar la actividad de cinasa del EGFR en células de carcinoma de cérvix CALO e INBL debido a que este receptor no se encuentra fosforilado en estas líneas celulares.

**Metodología.** Se cultivaron las líneas celulares CALO, INBL, HaCat, HELA, CASKI y U937 usando medio RPMI adicionado con suero fetal bovino al 10%, y fueron mantenidas a 37° en una atmósfera del 5% de CO<sub>2</sub> y humedad saturada. Las células CALO e INBL se estimularon con 2µL de EGFR (100µg/mL) por diferentes tiempos (1, 5 y 10 minutos), se obtuvieron lisados celulares y se inmunoprecipitó el receptor EGFR usando esferas de agarosa acopladas con anti-EGFR. El receptor se separó mediante SDS-PAGE y las proteínas se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa. Se bloqueó la membrana y se reveló usando anticuerpos anti-pY, posteriormente se eluyeron las membranas y se probaron usando anticuerpo anti-EGFR. Las proteínas fueron visualizadas mediante quimioluminiscencia. Para la determinación de la actividad de cinasa se utilizó el kit usando las condiciones del fabricante.

**Resultados y discusión.** Nuestros resultados demuestran que la proteína inmunoprecipitada con anticuerpo anti-EGFR no está fosforilada en tirosina. Para comprobar que el EGFR es inactivo se realizó un ensayo de cinasa in vitro, y los resultados muestran que la proteína carece de actividad cinasa, ya que no puede fosforilar el péptido utilizado como sustrato.

**Conclusiones.** El EGFR presente en las líneas celulares de carcinoma de cérvix CALO e INBL es inactivo. Por tanto, es probable que interactúe con otros receptores de la familia de receptores HER, como HER2 o HER3 presentes en estas líneas para activar vías de proliferación celular.

*Palabras clave:* cáncer cervicouterino, EGFR, cinasa de tirosina

## **Bibliografía**

Hynes NE., Lane HA., Nat Rev Cancer, 2005. 5:341-354.  
Normanno N., De Luca A., et al., Gene, 2006. 366:2-16

Trabajo financiado por PAPIIT- DGAPA, UNAM (IN221512)