

**Expresión de ITGβ1 en muestras cervicales normales y con cáncer cervicouterino.**

JAIMES-VAZQUEZ Beatriz Ameyalli †\*, CALDERÓN-NAJERA José Miguel, CAHUA-PABLO José Ángel, ILLADES-AGUIAR Berenice, ZACAPALA- GÓMEZ Ana Elvira.

Recibido: septiembre, 22, 2019; Aceptado Febrero 9, 2020

**Resumen**

Las integrinas son receptores transmembrana heterodiméricos, constituidos por dos subunidades denominadas  $\alpha$  y  $\beta$ , funcionan como ligandos entre las células y la matriz extracelular para la adhesión celular, la cual regula señales celulares. La integrina  $\alpha 5 \beta 1$  (ITG $\beta 1$ ) es la principal isoforma de las ocho subunidades de integrinas  $\beta$ , se ha reportado que los pacientes con diversos cánceres sobre-expresan ITG $\beta 1$ , sin embargo, en CaCU no hay estudios suficientes. Nosotros evaluamos la expresión de ITG $\beta 1$  a nivel del ARN mensajero de muestras cervicales normales y de cáncer cervicouterino. Para lo cual, recolectamos muestra cervical mediante raspado y realizamos papanicolaou y RT-qPCR para determinar el diagnóstico citológico y el nivel de expresión respectivamente. Los resultados demuestran una sobreexpresión diferencial entre el nivel de expresión de ITG $\beta 1$  en citológica normal y en CaCU. Se concluye que se deberían de hacer más estudios relacionados con el valor pronóstico de la alteración en la expresión de ITG $\beta 1$ , analizar la expresión en diferentes estadios de cáncer o en lesiones precancerosas.

**Keywords:** ITG $\beta 1$ , cervical samples, cervical cancer, RT-qPCR

**Abstract**

Integrins are heterodimeric transmembrane receptors, consisting of two subunits called  $\alpha$  and  $\beta$ , functional as ligands between cells and the extracellular matrix for cellular adhesion, the which regulates of mobile signals. The integrin  $\alpha 5 \beta 1$  (ITG $\beta 1$ ) is the main isoform of the eight subunits of integrins  $\beta$ , it has been reported that patients with various cancers overexpression ITG $\beta 1$ , however it is CaCU there are no numerous studies. We evaluate the expression of ITG $\beta 1$  at the level of messenger RNA of normal cervical samples and cervical cancer. For which, we collect cervical sample by scraping and perform pap smears and RT-qPCR to determine the cytological diagnosis and expression level respectively. The results detected a differential overexpression between the level of ITG $\beta 1$  expression in normal cytology and in CaCU. If you conclude what should be done more studies related to the prognostic value of the alteration in the expression of ITG $\beta 1$ , analyze the expression in different stages of cancer or in precancerous lesions.

**Keywords:** ITG $\beta 1$ , cervical samples, cervical cancer, RT-qPCR

**Citación:** JAIMES-VAZQUEZ Beatriz Ameyalli †\*, CALDERÓN-NAJERA José Miguel, CAHUA-PABLO José Ángel, ILLADES-AGUIAR Berenice, ZACAPALA- GÓMEZ Ana Elvira. Expresión de ITG $\beta 1$  en muestras cervicales normales y con cáncer cervicouterino. Foro de Estudios sobre Guerrero. 2019, Mayo 2020- Abril 2021 Vol.8 No.1 800- 804.

\*Correspondencia al Autor ([zak\\_ana@yahoo.com.mx](mailto:zak_ana@yahoo.com.mx))

† Investigador contribuyendo como primer autor.

**Introducción**

Las integrinas son receptores transmembrana heterodiméricos, constituidos por dos subunidades denominadas  $\alpha$  (18 subunidades) y  $\beta$  (8 subunidades). Cada subunidad consta de tres dominios: uno extracelular largo, uno transmembranal y uno intracitoplasmático corto (Liu *et al.*, 2015; Yamada *et al.*, 2012). Las integrinas funcionan como ligandos entre las células y la matriz extracelular (MEC) para la adhesión celular (Chen & Krasnow, 2012), la unión produce señales celulares que regulan funciones denominada señalización externa, como proliferación, migración, invasión, supervivencia, migración y la expresión génica, además de señalización interna, como la estimulación del factor de crecimiento (Jhan Sebastian Saavedra Torres, 2015).

Estos cambios conformacionales funcionan para transmitir señales bidireccionales a través de largas distancias entre el casco de integrina de unión al ligando y el citoesqueleto de actina. Las altas concentraciones de ligandos inducen la conformación abierta de la integrina intacta. Entre las integrinas más relevante, tenemos a la intregina  $\beta 1$  (ITGJ31) (Su *et al.*, 2016).

ITGJ31 es la principal isoforma de las ocho subunidades de integrinas  $\beta$ , es una glicoproteína receptora presente en la superficie celular (Zhang *et al.*, 2018; He *et al.*, 2016). Su función principal es la adhesión a la MEC, actúa como mediador de la señalización celular y de la matriz extracelular en la proliferación, la apoptosis y la supervivencia (Saaveca-Torres *et al.*, 2005).

Se ha reportado que los pacientes con cáncer tienen sobreexpresión de ITGJ31, en estudios in vitro, se demostró que la expresión de ITGJ31 induce invasión, migración, angiogénesis, proliferación, metástasis, quimiorresistencia y diferenciación tumoral (Liu *et al.*, 2015 y Barnawi *et al.*, 2019). Sin embargo en cáncer cervicouterino (CaCU) no ha sido estudiada.

El cáncer cérvicouterino es una de las principales causa de muerte a nivel mundial, en México se estima una ocurrencia de 13,960 casos, por cada 100,000 mujeres, presenta una incidencia de 23.3 casos (OMS 2019).

**Objetivo**

Evaluar la expresión de ITG $\beta 1$  a nivel del ARN mensajero de muestras cervicales normales y de cáncer cervicouterino.

**Metodología**

Se incluyeron a 24 pacientes, a cada paciente se le tomo muestra de raspado cervical y se le realizó Papanicolaou y RT-qPCR para ITG $\beta 1$ .

**1. Diagnostico citológico**

Para la realización del diagnóstico citológico, se tomaron muestras cervicales mediante el método de citología líquida y se realizó la tinción de papanicolaou. Para la realización de esta tinción se hicieron primero lavados con alcohol, después se agregó hematoxilina, se hicieron lavados en agua amonial y se adicionó el colorante orange, transcurrido el tiempo se hicieron lavados y se le agregó solución de Papanicolaou EA 50 durante unos minutos, después en alcohol al 96%, alcohol- absoluto, alcohol-xilol y xilon, consecutivamente, finalmente se dejó secar y se agregó resina para su montaje. La lectura se realizó en el microscopio, de acuerdo a las características de las células, se identificó si existe o no cáncer.

## 2. Extracción de RNA

El RNA de las células cervicales fue extraído utilizando el reactivo TRizol (Life Technologies Corporation, Carisbad, CA, USA) de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. Brevemente, las muestras fueron recolectadas en TriZol y se agregó 200 µl de cloroformo, posteriormente se centrifugo a 13000 rpm durante 15 minutos a 4°C, la fase acuosa fue transferida a un tubo nuevo, se agregó volumen a volumen isopropanol, se centrifugo a 13000 rpm durante 15 minutos a 4°C, se decantó el sobrenadante, se agregó 1000 µl de etanol al 75% con agua de DEPC. Se dio vortex, se centrifugó a 13000 rpm durante 10 minutos a 4°C, se decantó el sobrenadante, se dejó secar durante 30 min a temperatura ambiente, para secar la pastilla, se resuspendió en 50 µl de agua de DEPC. Se verifico la integridad del RNA mediante un gel de agarosa al 1% y se cuantifico.

## 3. RT-qPCR.

El nivel de expresión de ITGβ1 se evaluó con el kit TaqMan one step RT-PCR master mix reagent (Life Technologies, Foster City). La reacción de RT-qPCR se realizó a 48 °C durante 15 minutos (RT), seguido de una desnaturalización a 95 °C durante 10 minutos, finalmente de una alineación y una extensión de 40 ciclos de 95 °C durante 15 segundos y 60 °C durante un minuto. Se usaron sondas TaqMan para ITGβ1 y GAPDH (Life Technologies, Foster City). Para la evaluación de la expresión relativa de ITGβ1 en comparación con la expresión de GAPDH se utilizó el método del ciclo del umbral comparativo (Ct), la expresión relativa se calculó usando el método  $2^{-\Delta Ct}$ , se normalizó con la expresión de GAPDH. La reacción se realizó en el sistema de detección de PCR en tiempo real CFX96 Touch™ suministrando con un software analítico (Bio-Rad, Hercules, CA, EE.UU.). Todos los experimentos se llevaron a cabo por triplicado.

## 4. Análisis estadístico

Los datos clínicos se representan en frecuencia, los datos de tiempo real en medias.

### Resultados

Se analizaron 24 muestras cervicales, 13 corresponde a muestras normales y 11 de CaCU, de las muestras analizadas la mayoría de las pacientes con CaCU presentan estudios menores o iguales a primaria, >30años, menarca >13 años, inicio de vida sexual activa (IVSA) <20años, número de parejas sexuales <2, método de planeación no hormonal y más de 2 gestas (Tabla 1).

Las muestras fueron procesadas mediante el empleo de la RT-qPCR y se calculó la expresión relativa usando el método  $2^{-\Delta Ct}$ , se normalizó con la expresión de GAPDH. Se observó una mayor expresión de ITGβ1 en el grupo de muestras con cáncer, en comparación con las muestras normales, como se muestra en el Figura 1.

### Agradecimiento

Al financiamiento del proyecto semilla del 2019. A la QBP. Natividad Sales Linares por el apoyo técnico. Al laboratorio de biomedicina molecular de la FCQB de la UAGro por el apoyo con la infraestructura y equipos de laboratorio.

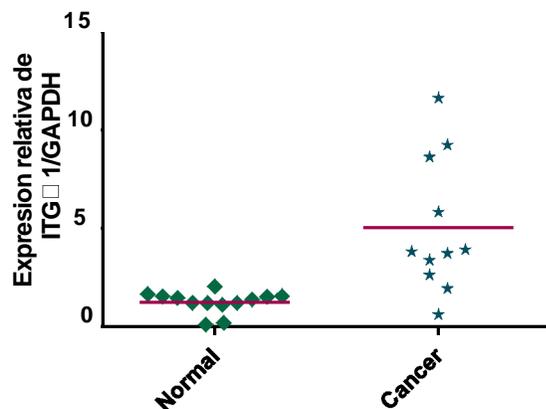
### Contribución

**JVBA:** determinación del nivel de RNAm de ITGβ1. **CNJM:** recolección de muestras y extracción de RNAm de las muestras colectadas en TriZol. **CPJA:** generación de la base de datos y análisis estadístico de los datos obtenidos. **IAB:** determinación del diagnóstico citológico. **ZGAE.** Generación/coordinación del proyecto y redacción del artículo.

**Tabla 1. Características clínicas y socioeconómicas**

	Normal (sin LEI/Sin CaCU VPH) %	CaCU %
<b>Escolaridad</b>		
<Primaria	0	62.5
>Primaria	100	37.5
<b>Edad</b>		
<30	0	33.3
>30	100	66.7
<b>Menarca</b>		
<13	88.8	40
>13	11.2	60
<b>IVSA</b>		
<20 años	100	90
>20	0	10
<b>NPS</b>		
<2	88.8	70
>2	11.2	30
<b>MP</b>		
Hormonal	0	20
Otro o ninguno	100	80
<b>Gestas</b>		
<2	55.5	0
>2	45.5	100

IVSA: Inicio de vida sexual activa, NPS: Número de parejas sexuales, MP: Método de planificación



**Figura 1. Expresión de ITGβII en muestras cervicales normales y con cáncer.**

## Conclusiones

Se evaluó la expresión relativa de ITGβ1 de muestras cervicales normales y con CaCU y se demostró una sobreexpresión significativa en cáncer en comparación con citología normal. En algunos estudios se ha encontrado que dicha proteína se encuentra elevado en otros tipos de cáncer. Considerando lo anterior, se necesita que se hagan estudios posteriores en que evalúen la expresión en lesiones precancerosas y diferentes estadios de cáncer.

## Referencias

- Jhan Sebastian Saavedra Torres, L. F.-L. (2015). La matriz extracelular: un ecosistema influyente en la forma y comportamiento de las células. *Morfología*, 13-30.
- Barnawi, R. A.-K.-T. (2019). β1 Integrin is Essential for Fascin-Mediated Breast Cancer Stem Cell Function and Disease Progression. *International Journal of Cancer*. 830-841.
- Chen, J. &. (2012). Integrin Beta 1 Suppresses Multilayering of a Simple Epithelium. *PLoS ONE*.
- He, B. X.-F. (2016). hTERT mediates gastric cancer metastasis partially through the indirect targeting of ITGβ1 by microRNA-29a.
- Liu, Q. G. (2015). Expression of ITGβ1 predicts prognosis in colorectal cancer : a large prospective study based on tissue microarray. 12802–12810.
- Organización Mundial de la Salud. (20 de Mayo de 2019). Obtenido de OMS: OMS. (2019). Pa pilomavirus humanos (PVH) y cáncer cervicouterino. [Cohttps://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/human-papillomavirus-\(hpv\)-and-cervical-cancer](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/human-papillomavirus-(hpv)-and-cervical-cancer)

- Su, Y. X. (2016). Relating conformation to function in integrin  $\alpha 5\beta 1$ . Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.
- Zhang, W. Z. (2018). MicroRNA-183-5p Inhibits Aggressiveness of Cervical Cancer Cells by Targeting Integrin Subunit Beta 1 (ITG $\beta$ 1). *Medical Science Monitor*, 7137-7145.