

Expresión del principal efector de la vía de señalización Hippo en los papilomas cutáneos caninos

Sanz Ressel BL^{1,2,*}, **Massone AR**³, **Barbeito CG**^{1,2}

¹Laboratorio de Histología y Embriología Descriptiva, Experimental y Comparada (LHYEDEC), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

²Facultad de Ciencias Veterinarias, CONICET, UNLP, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

³Laboratorio de Patología Especial Veterinaria Dr. Bernardo Epstein, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

*Autor de contacto:

Sanz Ressel Berenice Liyare, Doctora en Ciencias Veterinarias, Medica Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, 60 y 118 s/n, CP 1900, La Plata, Buenos Aires, Argentina. Tel.:+54 221 4236663. E-mail: lsanzressel@fcv.unlp.edu.ar

Los papilomas cutáneos (PC) son neoplasias epidérmicas comunes en los caninos generalmente asociadas a la infección por el virus del papiloma canino. Si bien la mayoría de los PC tienen un comportamiento benigno y sufren regresión espontánea, las lesiones múltiples o la falta de regresión pueden causar problemas graves en algunos pacientes. Entre las moléculas cuya actividad está desregulada durante el proceso de tumorigénesis, a partir de diferentes modelos murinos se demostró que la activación persistente de YAP, el principal efector de la vía de señalización del Hippo, tiene un papel central en el desarrollo y progresión de los PC. En el presente estudio se evaluó el patrón de expresión por inmunohistoquímica de YAP en 36 muestras caninas de PC mediante el uso de una micromatriz de tejidos. Los resultados demuestran que la expresión de YAP se encuentra aumentada en los PC caninos. Estos hallazgos sugieren que la actividad desregulada del efector principal de la vía de señalización Hippo representa uno de los eventos clave en la patogenia de los PC caninos, señalando a la proteína YAP como un posible objetivo molecular para el desarrollo de nuevas terapias en estos pacientes.

Introducción:

Los papilomas cutáneos (PC) son neoplasias epidérmicas comunes en los caninos generalmente asociadas a la infección por el virus del papiloma canino^{1,2}. Si bien la mayoría de los PC tienen un comportamiento benigno y sufren regresión espontánea, las lesiones múltiples o la falta de regresión pueden causar problemas graves en algunos pacientes³. Entre las moléculas cuya actividad está desregulada durante el proceso de tumorigénesis, a partir de diferentes modelos murinos se demostró que la activación persistente de YAP, el principal efector de la vía de señalización del Hippo, tiene un papel central en el desarrollo y progresión de los PC⁴. En el presente estudio se evaluó el patrón de expresión por inmunohistoquímica (IHQ) de YAP en 36 muestras caninas de PC mediante el uso de una micromatriz de tejidos (MMT).

Materiales y Métodos:

Se recuperaron los bloques de tejidos fijados en formalina e incluidos en parafina correspondientes a PC caninos (n=41) de los archivos del Laboratorio de Patología Especial Veterinaria, FCV, UNLP (periodo 2006-2014). Sobre cada una de las secciones coloreadas con hematoxilina y eosina (H-E), correspondiente a cada muestra, se realizó la marcación de las áreas de tejido de interés para la posterior construcción de la MMT utilizando un marcador indeleble bajo observación microscópica. El método utilizado en la construcción de la MMT fue el descrito por Hewitt (2004)⁵, utilizando un arrayer de tejido semiautomático (TM Arrayer TM, Pathology Devices, Inc.) y un diámetro de núcleo de 1 mm. Una vez finalizada la MMT, se obtuvieron secciones de 5 µm que fueron coloreadas con H-E para evaluar la calidad de la MMT; solo 5/41 de los núcleos de PC debieron ser excluidos análisis posteriores debido a su daño o pérdida durante el procesamiento. Posteriormente, se obtuvieron nuevas secciones de 5 µm para IHC, la cual se realizó utilizando un anticuerpo primario contra YAP (YAP, rabbit polyclonal antibody, diluido 1:200; Cell Signaling Technologies). Para el revelado se utilizó un anticuerpo secundario biotinilado, el complejo de avidina-biotina y como cromógeno 3,3'-diaminobenzidina. Todas las secciones se escanearon a 40x usando el Aperio CS ScanScope (Leica Biosystems Imaging Inc.) y se cuantificaron usando los algoritmos de análisis de imágenes disponibles en el software ImageScope (Leica Biosystems Imaging Inc.). Las diferencias en la reactividad inmunohistoquímica entre los PC y los controles de piel canina normal se analizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis para poblaciones no gaussianas (ANOVA no paramétrico) seguida de la prueba posterior de Dunn (software Statgraphics, con un valor de P < 0,05 y una confianza del 95%).

Resultados

La evaluación IHQ reveló un elevado número de células epidérmicas positivas para YAP en 31/36 (86%) muestras de PC. La inmunotinción de YAP mostró una expresión citoplasmática y, ocasionalmente, nuclear localizada en los estratos de células basales y espinosas. Un hallazgo interesante fue que la mayoría de las células con una expresión intensa de YAP eran queratinocitos con la presencia de efectos citopáticos compatibles con la infección por papilomavirus canino. Cuando el porcentaje de células positivas cuantificados en los casos de PC se evaluó frente a los controles de epidermis normal, la prueba de Kruskal-Wallis mostró diferencias significativas para la expresión de YAP (<0.0001).

Discusión y conclusiones

Los resultados demuestran que la expresión de YAP se encuentra aumentada en los PC caninos. Estos hallazgos sugieren que la actividad desregulada de la vía de señalización Hippo representa uno de los eventos clave en la patogenia de los PC en los pacientes caninos, similar a lo previamente informado en ratones⁴. Estos hallazgos señalan a la proteína YAP como un posible objetivo molecular para el desarrollo de nuevas terapias para los pacientes caninos con PC.

Bibliografía

1. Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK. Skin Diseases of the Dog and Cat Clinical and Histopathologic Diagnosis. 2nd ed. Blackwell Science Ltd; 2005.
2. Goldschmidt MH, Goldschmidt KH. Epithelial and Melanocytic Tumors of the Skin. In: Meuten DJ, editor. Tumors in Domestic Animals [Internet]. 5th ed. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2016. p. 88–141.
3. Miller WJ, Craig G, Karen C. Muller & Kirk's Small Animal Dermatology. 7th Editio. St Louis: Saunders-Elsevier; 2013.
4. Zanconato F, Forcato M, Battilana G, Azzolin L, Quaranta E, Bodega B, et al. Genome-wide association between YAP/TAZ/TEAD and AP-1 at enhancers drives oncogenic growth. Nat Cell Biol17(9):1218–27.
5. Hewitt SM. Design, construction, and use of tissue microarrays. In: Methods in Molecular Biology. New Jersey: Humana Press; 2004. p. 61–72.