

Análisis de expresión de marcadores CD44 y CK18 en células madre de adenocarcinoma colorrectal resistentes y sensibles a FOLFOX-6.

Orlando D. Solis-Coronado^a, Adolfo Soto Dominguez^b, Alejandra M. Martinez-Garza^a, Paulina Delgado-Gonzalez^a, Humberto Rodriguez-Rocha^b, Absalon Espinoza-Velasco^c, Gerardo R. Padilla-Rivas^a, Herminia G. Martinez-Rodriguez^a, Salvador Said-Fernandez^a y Elsa N. Garza-Treviño^{a*}

^aUniversidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina, Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular, Monterrey, México.

^bUniversidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina, Departamento de Histología, Monterrey, México.

^cInstituto Mexicano del Seguro Social, Centro Médico Nacional del Noreste- UMAE No. 25, Servicio de Cirugía Oncológica, Monterrey, México.

*egarza.nancy@gmail.com

Palabras clave: adenocarcinoma colorrectal, células madre de tumor, CD44, citoqueratina 18, FOLFOX-6.

Introducción

El adenocarcinoma colorrectal (ACCR) es una de las neoplasias más prevalentes, incidentes y con altas tasas de morbi-mortalidad a nivel mundial^[1]. El tratamiento del ACCR consiste en la resección quirúrgica del tumor primario y quimioterapia, entre ellas el esquema FOLFOX-6 (5-FUOL), que consiste en la administración de 5-fluorouracilo, oxaliplatino y leucovorina. Sin embargo, hasta el 50% de los pacientes que reciben este esquema presentan resistencia al tratamiento y el 50% restante responde de manera heterogénea^[2]. El microambiente tumoral juega un papel importante en la respuesta al tratamiento y la evolución clínica de los pacientes oncológicos. Las células madre de tumor (CMT) forman parte del microambiente tumoral y son consideradas como las principales responsables de la fármacorresistencia, la iniciación y recurrencia tumoral^[3]. Estas expresan marcadores de identificación, como CD44, sin embargo, este no es específico de CMT de ACCR. El estudio de marcadores específicos para detectar CMT de ACCR como CK18, es importante para pronosticar el éxito o fracaso a quimioterapias, entre ellas 5-FUOL^[2].

Parte experimental

Se recolectaron 12 biopsias de ACCR a los cuales se les determinó la quimiosensibilidad *in vitro* a 5-FUOL mediante el ensayo de ATP-CRA, cuantificando el porcentaje de muerte celular (PMC). Posteriormente se clasificaron como casos sensibles a 5-FUOL a aquellos que tenían un PMC $\geq 20\%$ y resistentes $< 20\%$ de PMC. Después, a partir de tejidos embebidos en parafina se obtuvieron cortes histológicos de los 12 casos seleccionados y se determinó el porcentaje de CMT CD44⁺ y CK18⁺ en 6 muestras resistentes y 6 sensibles a 5-FUOL por inmunofluorescencia de doble marcaje mediante los anticuerpos monoclonales anti-CK18 conjugado con FITC, anti-CD44 conjugado con PE/Cy-7 y tinción fluorescente con DAPI para la visualización de núcleos celulares; las muestras fueron observadas mediante un microscopio de epifluorescencia, tomando 5 campos microscópicos al azar con un aumento de 400x. Luego, se realizó conteo manual de las células positivas y negativas para uno o los dos marcadores y el total de núcleos celulares en cada campo. Se obtuvo el promedio \pm desviación estándar (DE) para luego obtener el porcentaje de CMT.

Mediante la prueba de *t de student* para muestras independientes se determinó la significancia ($p < 0.05$) entre el grupo sensible y el resistente a 5-FUOL de las CMT CD44⁺/CK18⁺ y CK18⁻.

Resultados y discusión

De los 6 casos sensibles a 5-FUOL, uno fue del sexo femenino y 5 masculinos. La mediana de edad de este grupo fue de 62 años. En cuanto al grupo resistente, los 6 casos fueron masculinos con una mediana de edad de 58 años. Todos presentaron estadios avanzados de ACCR (mayores a T3) y ninguno tenía antecedentes heredofamiliares de CCR. Estos datos demográficos coinciden con lo reportado a la literatura, en donde el sexo masculino tiene mayor riesgo de padecer esta neoplasia, además que afecta a personas mayores de 50 años en los casos esporádicos CCR, sin embargo, cada vez es más frecuente que se presente en población joven (< 40 años)^[1].

Por otro lado, el porcentaje promedio de células CD44⁺, fue de $2.46\% \pm 0.9$ en el grupo sensible y en el resistente a 5-FUOL fue $3.40\% \pm 3.52$. En el grupo sensible, el porcentaje promedio de células CD44⁺/CK18⁺ fue $2.34\% \pm 1.00$ y en el grupo resistente, $3.25\% \pm 3.54$. No se observaron diferencias significativas entre el porcentaje de CMT CK18⁺ entre las muestras sensibles ($2.51\% \pm 1.13$) o resistentes ($3.46\% \pm 3.81$) a 5-FUOL. Se obtuvo una gran DE, lo que puede ser debido a la poca cantidad de muestras analizadas en el presente estudio, por lo que la perspectiva es aumentar el número de muestra para poder realizar conclusiones definitivas, además de considerar otros marcadores de identificación de CMT.

Conclusiones

Las muestras de los grupos sensibles o resistentes a 5-FUOL contienen un porcentaje similar de CMT CD44⁺/CK18⁺.

Referencias

1. Siegel, R. L.; Miller, K. D.; Fedewa, S. A.; Ahnen, D. J.; Meester, R. G. S.; Barzi, A.; Jemal, A. CA Cancer J Clin, 2017, 67 (3), 177-193.
2. Garza Treviño, E.N. Análisis del transcriptoma de células madre de adenocarcinoma colorrectal resistentes a 5-fluorouracilo, oxaliplatino y leucovorina. Tesis doctorado, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México, 2017.
3. Colangelo, T., Polcaro, G., Muccillo, L., D'Agostino, G., Rosato, V., Ziccardi, P., ... & Colantuoni, V. BBA-Reviews on Cancer, 2017, 1867(1), 1-18.