

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**EXPRESIÓN DE TIMOPOYETINA EN DIVERSOS
TUMORES HUMANOS COMO POSIBLE MARCADOR
BIOLÓGICO PARA EL DIAGNOSTICO DE CÁNCER**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

VICTOR MAURICIO HUERTA PADILLA

DIRECTORES DE TESIS:

Dr. RICARDO LÓPEZ ROMERO

M en C. ANA LAURA VÁZQUEZ MARTÍNEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
Jefa del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Expresión de timopoyetina en diversos tumores humanos como posible mercado biológico para el diagnóstico de cáncer

Que presenta el pasante: Víctor Mauricio Huerta Padilla
Con número de cuenta: 305036861 para obtener el Título de: Químico Farmacéutico Biólogo

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 09 de septiembre de 2013.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo	
VOCAL	Dr. Francisco López Mejía	
SECRETARIO	M. en C. Ana Laura Vázquez Martínez	
1er. SUPLENTE	M. en C. Nydia Berenice González Angeles	
2do. SUPLENTE	M. en C. Maritere Domínguez Rojas	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

HHA/iac

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS:

Un especial agradecimiento y dedicatoria a mis padres Mauricio y Graciela por ser los pilares de mi vida y por mostrarme en cada momento su enorme amor. Los amo.

A mis hermanos Cesar y Laura por el apoyo incondicional, confianza y amor que me han brindado a lo largo de mi formación profesional.

A la Universidad Nacional Autónoma de México la cual considero mi segundo hogar por darme la oportunidad de ser parte de su alumnado y abrirme las puertas de sus aulas para que pudiera desarrollarme como profesional.

A mis maestros, gracias a su paciencia y enseñanzas, me han dado las herramientas necesarias para poder integrarme a la vida fuera de las aulas.

Al Dr. Mauricio Salcedo Vargas por aceptarme en su laboratorio, darme su confianza y apoyarme en el desarrollo del presente trabajo así como por brindarme sus enseñanzas y sabiduría. Personas como usted hacen mucha falta en este mundo.

A todos mis compañeros del laboratorio de oncología genómica de la UIMEO del CMNS-XXI IMSS; Adriana, Abby y Andy gracias por las porras y por tantos momentos divertidos que pasé con ustedes, a Laura gracias por el apoyo y la fe que me tenías todo el tiempo y que me inspiraba a continuar. Especialmente gracias a Keiko, Daniel y Pablo por creer en mí y compartir conmigo sus valiosos conocimientos, brindarme su amistad, por estar a mi lado en las situaciones más difíciles de mi vida y enseñarme que un guerrero primero se quiebra antes de doblarse. Gracias por todo, he crecido con ustedes tanto académicamente como personalmente, sin ustedes este trabajo no hubiera sido lo mismo.

A mis asesores; Dr. Ricardo López Romero, gracias por asesorarme y por estar al tanto de la elaboración del presente trabajo, gracias por sus enseñanzas, consejos y por tomarse el tiempo para revisar mi tesis.

A la M en C. Ana Laura Vázquez Martínez gracias por el apoyo brindado en la realización de este trabajo y por preocuparse por mi desarrollo profesional en esta etapa de mi vida. Gracias por la atención y orientación que me brindaba en cada momento.

A mis amigos de la FES-C que me enseñaron el significado de la palabra perseverar, Gabo, Sandra, Fernanda, Alonso, René, Oscar, Christopher, Luis Fernando, Sara, Yessica y Naye. Agradezco, el apoyo, consejos y tantos momentos divertidos a su lado, el tiempo ha ido forjando una sólida amistad desde que comenzamos juntos este camino. A Llasbeth y Toño: Gracias por su apoyo incondicional, por tener fe en mí y por cuidarme tanto, ustedes son un pilar más en mi vida, gracias por estar conmigo en todo momento y enseñarme que los momentos más difíciles de la vida son solo eso, momentos.

A mi otra familia, mis amigos que hoy tengo el honor de llamarlos hermanos Axa, Diego, Giovani y Adrián, gracias por su apoyo incondicional, su lealtad y su amistad, gracias por compartir mis éxitos y apoyarme en mis fracasos. A Sunashi, Monse, Minerva y Estrella, gracias por sus consejos y por estar conmigo en todo momento.

Este trabajo es dedicado especialmente a todas las personas que han donado sus tejidos de manera desinteresada para poder comprender mejor la naturaleza de este mal que atañe a una parte de la población y es uno de los problemas de salud más importante a nivel mundial. Gracias por su aportación a la investigación, espero que esta tesis sea uno de muchos trabajos importantes que sirvan para poder detectar y tratar el cáncer para así tal vez poder salvar vidas...

*Hasta el viaje más largo comienza con
un primer paso... (Lao-Tse)*

ÍNDICE

RESUMEN.	1
INTRODUCCIÓN	2
NEOPLASIAS Y SU CLASIFICACION	2
CÁNCER,	5
INCIDENCIA Y MORTALIDAD,	7
ESTUDIO MOLECULAR DEL CÁNCER,	10
MICROARREGLO DE TEJIDOS.,	11
MARCADORES MOLECULARES ESPECÍFICOS DE TUMOR,	13
TIMOPOYETINA,	14
FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN E2F,	14
JUSTIFICACIÓN	16
OBJETIVOS,	17
MATERIAL Y MÉTODOS,	18
MUESTRA,	18
COMPOSICION DEL MICROARREGLO,	19
ANALISIS INMUNOHISTOQUÍMICO,	19
RESULTADOS,	21
DISCUSION	36
CONCLUSIONES	40
SUGERENCIA PARA TRABAJOS FUTUROS	41
REFERENCIAS,	42
ANEXOS,	48

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Distribución porcentual de la morbilidad hospitalaria por tumores malignos para cada sexo.....	6
Tabla 2. Tasa de mortalidad observada por tumores malignos según grandes grupos de edad.....	8
Tabla 3. Sitios anatómicos que están contenidos en el microarreglo de tejido.....	16
Tabla 4. Tren de soluciones para rehidratación.....	17
Tabla 5. Agrupación de los tejidos del micro arreglo.....	33
Tabla 6. Prueba De X^2 (chi cuadrada).....	34

ÍNDICE DE FIGURAS.

Fig.1: Marcadores característicos propuestos que se presentan en tumores malignos.....	3
Fig. 2: Distribución porcentual de incidencia de las neoplasias más comunes en México.....	5
Fig. 3: Distribución porcentual de mortalidad de las neoplasias más comunes en México.....	5
Fig. 4. Ejemplos de microarreglos de tejido.....	10
Fig. 5. Mecanismo de regulación del factor de transcripción E2F por p53 y pRB en células sanas.....	13
Fig. 6. Mecanismo de regulación de la expresión de TMPO por E2F.....	13
Fig. 7. Organización de los diferentes tejidos en el microarreglo.....	17
Fig. 8. Mecanismo de regulación del factor de transcripción E2F por receptores de estrógeno.....	35

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro comparativo 1: Carcinomas.....	25
Cuadro comparativo 2: Adenocarcinomas.....	26
Cuadro comparativo 3: Adenomas.....	27
Cuadro comparativo 4: Sarcomas.....	28
Cuadro comparativo 5: Linfomas.....	29
Cuadro comparativo 6: Metástasis.....	30
Cuadro comparativo 7: Tumores Hormonodependientes.....	31

ABREVIATURAS

OMS: Organización Mundial de la Salud.

INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía.

PGH: Proyecto Genoma Humano.

SAGE: Análisis de Expresión Génica en Serie (por sus siglas en inglés).

DNA: Acido desoxirribonucleico (por sus siglas en inglés).

mRNA: Ácido ribonucleico mensajero (por sus siglas en inglés).

TMPO: Timopoyetina.

LAP2: Lamina Asociada al polipéptido 2.

MAT: Micro Arreglo de Tejidos.

IHQ: Inmunohistoquímica.

Ag: Antígeno

Ac: Anticuerpo

PBS: Buffer de Fosfatos.

BSA: Albúmina de Suero fetal Bovino (por sus siglas en inglés).

DAB: Diaminobencidina.

pRB: Proteína de Retinoblastoma.

VPH: Virus de Papiloma Humano.

ER: Receptor de estrógenos (por sus siglas en inglés).

RESUMEN:

El cáncer es uno de los problemas de salud pública más importantes que sigue cobrando miles de vidas cada año a nivel mundial. Hay diversos factores de riesgo que propician el desarrollo de cáncer como lo son el consumo de tabaco y alcohol, la obesidad, agentes virales como el VPH y el poliomavirus, la inactividad física y la herencia genética por mencionar algunos.

Debido a que el cáncer afecta a todos los grupos de edades, es necesario idear métodos más eficientes para el diagnóstico temprano de este problema de salud así como para predecir el pronóstico en el tratamiento del mismo.

Con la llegada del PGH y con ayuda de técnicas moleculares como los microarreglos de expresión, secuenciación masiva, inmunohistoquímica, etc, se han conocido y propuesto varios marcadores moleculares que nos ayudan a diagnosticar y predecir la evolución de ciertos tipos de cáncer, de los cuales algunos ya se usan en la práctica clínica para el diagnóstico.

En el presente trabajo se propone que la expresión de la proteína timopoyetina (TMPO) puede ser un marcador molecular viable para diagnóstico en cáncer. La TMPO es codificada por un gen con el mismo nombre que se encuentra en la región citogenética 12q22 y codifica para una proteína nuclear que juega un papel importante en la composición de la envoltura del núcleo y en el control del ciclo celular.

El objetivo de este trabajo fue determinar la expresión de TMPO en varios tumores humanos para conocer si esta pudiera ser útil como posible marcador molecular en el diagnóstico del cáncer humano. Se utilizó un MAT conformado por 95 muestras de 40 tipos de tumores incluyendo entidades benignas, malignas, metástasis y tejido sano provenientes de 27 órganos distintos. Se realizó una tinción IHQ con un anticuerpo específico para TMPO encontrándose desregulaciones importantes en la expresión de TMPO en sarcomas y adenocarcinomas.

Asimismo se determinó la expresión de TMPO en tumores hormono-dependientes provenientes de próstata, testículo, cérvix, endometrio, mama, tiroides, y ovario, encontrando una expresión aumentada de TMPO, con respecto a los tejidos sanos, en tumores femeninos y una expresión reducida, con respecto al normal, en tumores masculinos. Con esto se propone que la desregulación de TMPO en cáncer puede ser dependiente del género.

INTRODUCCIÓN

NEOPLASIAS Y SU CLASIFICACIÓN.

Un tumor o neoplasia, es una masa anormal de tejido cuyo crecimiento es excesivo y no coordinado respecto al de los tejidos normales y continúa aún después de interrumpir el estímulo que indujo el cambio¹. Aunque no ha sido completamente dilucidada la etiología de las neoplasias, mucho se ha avanzado en los últimos años en el conocimiento de los factores que producen, condicionan o se asocian con su aparición.

Las neoplasias se clasifican en dos grandes grupos: neoplasias benignas y neoplasias malignas.

Neoplasias benignas:

Se dice que un tumor es *benigno* cuando se considera que sus características microscópicas y macroscópicas son relativamente inofensivas, solo se produce un aumento de volumen en el tejido que se mantendrá localizado, no puede diseminarse a otros lugares y puede extirparse con cirugía local.

Neoplasias malignas:

Las neoplasias malignas, también denominadas en conjunto como “cáncer”, son todas aquellas enfermedades en las que existen células anormales que se multiplican sin control y que pueden llegar a invadir los tejidos cercanos.

Estas células se pueden diseminar a otras partes del cuerpo (metástasis) a través del torrente sanguíneo y el sistema linfático.

Las neoplasias malignas se clasifican según la célula del tejido donde se originó:

- **Carcinoma:** empieza en la piel o en los tejidos que revisten o cubren los órganos internos.
- **Sarcoma:** empieza en el hueso, el cartílago, la grasa, el músculo, los vasos sanguíneos u otro tejido de sostén.
- **Leucemia:** empieza en un tejido donde se forman las células sanguíneas, como la médula ósea.
- **Linfoma y Mieloma múltiple:** empiezan en las células del sistema inmune.

Estadificación de las neoplasias malignas.

La estadificación describe la gravedad de las neoplasias malignas que aqueja a una persona basándose en la extensión del tumor original (primario) y si el cáncer se ha diseminado en el cuerpo o no.

Los sistemas de estadificación del cáncer han evolucionado con el tiempo y siguen cambiando a medida que los investigadores aprenden más sobre este tipo de neoplasias. Algunos sistemas de estadificación cubren muchos tipos de cáncer; otros se enfocan en un tipo particular. Los elementos comunes que se consideran en la mayoría de los sistemas de estadificación son:

- El sitio del tumor primario,
- El tamaño del tumor y número de tumores,
- La complicación de ganglios linfáticos (diseminación del cáncer a los ganglios linfáticos),
- El tipo de célula y grado del tumor (qué tanto se parecen las células cancerosas a las células normales de tejido), y la presencia o ausencia de metástasis.

Sistema TNM.

El sistema TNM es uno de los sistemas de estadificación de mayor uso. Este sistema ha sido aceptado por la *International Union Against Cancer*³⁹, y por el *American Joint Committee on Cancer*³⁷. La mayoría de los establecimientos médicos usan el sistema TNM como método principal de reportar sobre el cáncer.

El sistema TNM está basado en la extensión del tumor (**T**), el grado de diseminación a los ganglios linfáticos (**N**), y la presencia de metástasis (**M**) distante. Un número se añade a cada letra para indicar el tamaño o extensión del tumor y el grado de diseminación del cáncer³⁸.

Tumor primario (T)

TX	El tumor primario no puede ser evaluado
T0	No hay evidencia de tumor primario
Tis	Carcinoma in situ (CIS; células anormales están presentes pero no se han diseminado a los tejidos cercanos. Aunque no es cáncer, el CIS puede progresar a cáncer y algunas veces se llama cáncer preinvasor)
T1, T2, T3, T4	Tamaño y extensión del tumor primario

Ganglios linfáticos regionales (N)

NX	No es posible evaluar los ganglios linfáticos regionales
N0	No existe complicación de ganglios linfáticos
N1, N2, N3	Complicación de ganglios linfáticos regionales (número de ganglios linfáticos y grado de diseminación)

Metástasis distante (M)

MX	No es posible evaluar una metástasis distante
M0	No existe metástasis distante
M1	Presencia de metástasis distante

A parte de la estadificación TNM, las neoplasias malignas se clasifican por grados:

- Grado 0 → Carcinoma in situ.
- Grado I
Grado II →
Grado III
Los números más altos indican enfermedad más extensa: tamaño mayor del tumor o diseminación del cáncer más allá del órgano en donde se formó originalmente a los ganglios linfáticos vecinos o a los órganos adyacentes al sitio del tumor primario.
- Grado IV → El cáncer se ha diseminado a otros órganos.

CÁNCER

El cáncer es un conjunto de enfermedades caracterizado por una proliferación incontrolada de células anormales que adquieren capacidades particulares de evasión de la apoptosis, generación de nuevos vasos sanguíneos hacia el tumor, capacidad de invadir otros tejidos, autosuficiencia en síntesis de factores de crecimiento, inestabilidad genómica y mutación², entre otros factores como se muestra en la Figura 1.

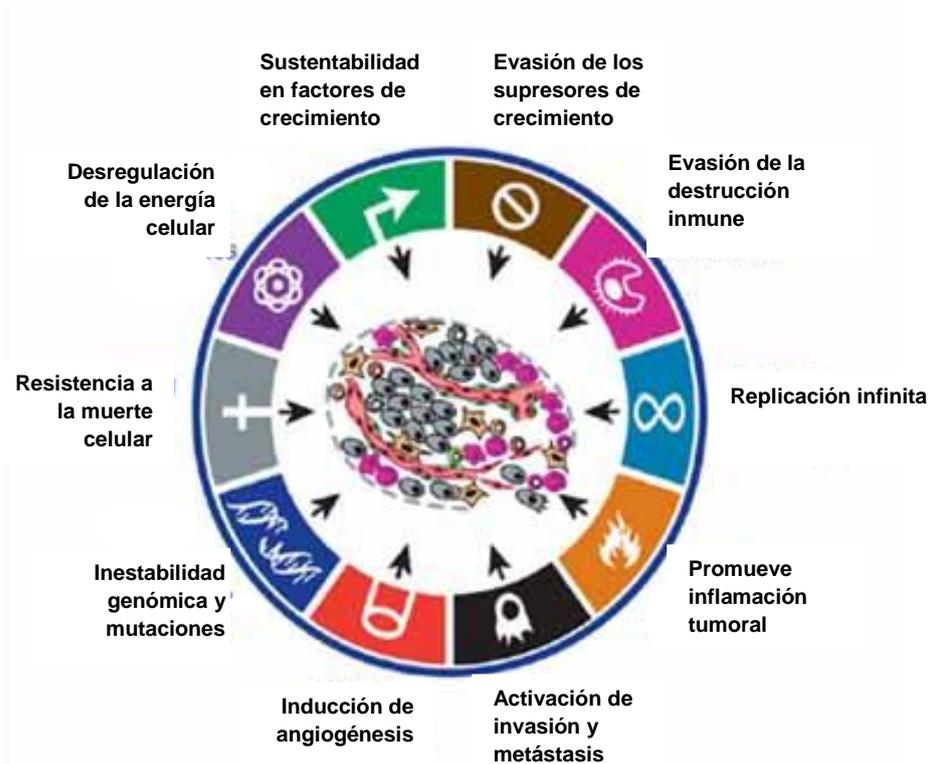


Fig.1: Marcadores característicos propuestos que se presentan en tumores malignos².

En la actualidad el cáncer sigue siendo una de las principales causas de muerte en el mundo, tan solo América Latina, ocupa el segundo lugar de causas de muertes solo después de las enfermedades cardiovasculares³

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que durante el 2008 hubo 7.6 millones de defunciones por causa del cáncer (principalmente por cáncer de pulmón, estómago, hígado, colon y mama) que equivale al 13% de todas las muertes a nivel mundial, de las cuales más del 72% de estos casos se registran en países en vías de desarrollo por lo que también se prevé que en el 2030, aumentará 45% la mortalidad por cáncer a nivel mundial, pues se estima que pasara de 7.9 a 11.5 millones de defunciones por año, resultado del crecimiento demográfico y el envejecimiento de la población; además, la OMS

estima que durante el mismo periodo, el número de casos nuevos de cáncer aumentará de 11.3 a 15.5 millones.^{4,5}

De acuerdo con la OMS, el cáncer podría disminuir casi en una tercera parte del total de casos, si la detección y el tratamiento fueran oportunos y es posible prevenir el 30% de los casos de cáncer a través de la disminución de factores de riesgo⁵.

Algunos factores de riesgo para el desarrollo de cáncer son el consumo de tabaco y alcohol, la obesidad, agentes virales como el virus del papiloma humano (VPH), la inactividad física y la herencia genética, por mencionar algunos.⁴

En América Latina, de acuerdo con la Organización Panamericana de la Salud (OPS) durante el periodo 2007-2009, la tasa de mortalidad estandarizada a consecuencia de alguna neoplasia maligna fue de 110.7 muertes por cada 100 mil habitantes; donde las tasas más altas se ubicaron en Uruguay (168.4), Cuba (143.3) y Perú (136.6); en contraste, México presentó la tasa más baja de Latinoamérica.

En México, el cáncer es una de las enfermedades que ha irrumpido con mayor ímpetu desde fines del siglo XX. Según cifras del Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas, para el año 2008 se registraron 108,555 tumores malignos, de los cuales el 49% afectaron a hombres y 51% a mujeres^{4,6}. Por ello, como resultado de las recomendaciones internacionales, en México se llevan a cabo programas encaminados a prevenir los principales tipos de cáncer, a través de estrategias de prevención y detección oportuna, dos ejes fundamentales para disminuir la morbilidad y mortalidad por dicho padecimiento.

INCIDENCIA Y MORTALIDAD

Una investigación realizada por la Organización Mundial de la Salud en el 2008 describe que la incidencia de neoplasias que se presentaron con mayor frecuencia en México fueron: próstata (11.7%), mama (10.9%), Cérvix (8%) y pulmón (7.2%), entre otros; como se muestra en la Figura 2.

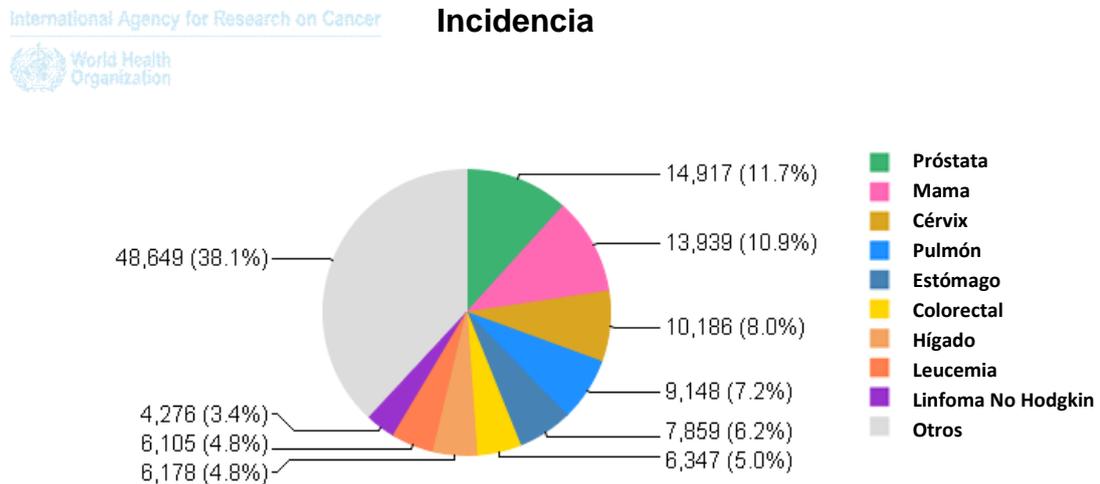


Fig 2: Distribución porcentual de incidencia de las neoplasias más comunes en México siendo el cáncer de próstata, mama y cuello uterino los de mayor incidencia en el país (tomado de <http://globocan.iarc.fr/factsheets/populations/factsheet.asp?uno=484#BOTH>).

De igual manera, la OMS describe que las neoplasias que presentaron mayor mortalidad para ese año fueron: Pulmón (11.3%), estómago (8.7%), hígado (7.9%), próstata (7.6%) y mama (6.7%), siendo esta última neoplasia la primer causa de muerte por cáncer en mujeres. Figura 3.

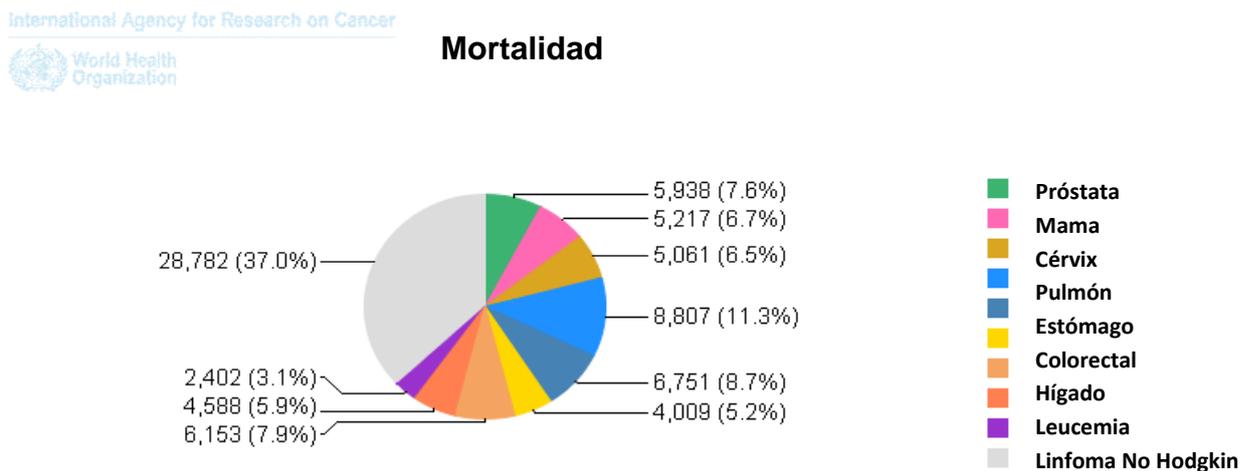


Fig. 3: Distribución porcentual de mortalidad de algunos casos de neoplasias en México siendo el cáncer de pulmón, estómago y próstata los de mayor mortalidad en el país (tomado de <http://globocan.iarc.fr/factsheets/populations/factsheet.asp?uno=484#BOTH>).

Un estudio similar realizado por el INEGI, describe la relación entre incidencia y mortalidad de los casos de neoplasias en nuestro país, indica que la probabilidad de padecer cáncer no depende del sexo ni de la edad de la persona.

Datos tomados de la Secretaria de Salud (2010), reportan que durante el 2009, las principales causas de incidencia hospitalaria en la población mexicana fueron por tumores malignos en los órganos hematopoyéticos (leucemias en su mayoría) con 17.9%; órganos digestivos con 14.8%; y mama con 12.5% de los casos; en contraste los tumores del labio, de la cavidad bucal y de la faringe (1.6%); ojo y sus anexos (0.5%) y los tumores malignos (primarios) de sitios múltiples independientes (0.1%), presentaron los porcentajes más bajos como se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1.
Distribución porcentual de morbilidad hospitalaria por tumores malignos para cada sexo 2009

Tumores malignos	Total	Hombres	Mujeres
Total	100.0	100.0	100.0
Hueso y de los cartílagos articulares	2.1	2.5	1.8
Órganos respiratorios e intratorácicos	5.0	7.8	2.9
Labio, de la cavidad bucal y de la faringe	1.6	2.2	1.2
Células germinales (ovario y testículos)	6.6	5.6	7.3
Encéfalo y otras partes del sistema nervioso central	2.7	3.3	2.1
Órganos digestivos	14.8	17.5	12.6
Glándula tiroides y otras glándulas endocrinas	2.6	1.6	3.5
Ojo y sus anexos	0.5	0.6	0.5
Melanoma y otros tumores malignos de la piel	3.3	3.6	3.0
Tumores malignos (primarios) de sitios múltiples independientes	0.1	0.1	0.1
Vías urinarias	3.9	5.4	2.6
Órganos hematopoyéticos	17.9	22.8	14.1
Tejido Linfático y afines (incluye Sarcoma de Kaposi y Linfoma de células T, periférico y cutáneo)	7.6	9.8	5.9
Mama	12.5	0.4	22.0
Órganos genitales femeninos	7.5	NA	13.5
Órganos genitales masculinos	3.9	8.9	NA
Otros tumores malignos	7.4	7.9	6.9

Nota: Agrupación de acuerdo con la Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud (CIE-10), Códigos C00-C97

La morbilidad hospitalaria corresponde al número de egresos hospitalarios por principal causa.

Fuente: SSA (2010). Base de egresos hospitalarios 2009. Procesó **INEGI**.

El INEGI también reporta que el Distrito Federal presenta las tasas más altas de morbilidad hospitalaria por cada 100 mil habitantes por cáncer de mama (64.74%), cervicouterino (48.28%) y próstata (32.95%).

Para el caso de la población infantil y joven (menores de 20 años) el comportamiento de la morbilidad hospitalaria presenta un patrón especial; se observa que los tumores malignos en los órganos hematopoyéticos concentran la tasa más alta, siendo en la población de 5 a 9 años donde se presentan las mayores tasas por cada 100 mil niños para cada sexo (73.95 en niños y 60.38 en niñas), seguidos por los niños de 0 a 4 años (58.22 en los varones y 44.95 en las mujeres) (INEGI 2009).

Asimismo, considerando el total de defunciones en México durante 2009, la tasa de mortalidad observada por tumores malignos en hombres fue de 65.11 por cada 100 mil varones y en las mujeres de 65.49 por cada 100 mil casos.

Por grupos de edad, se observa que la neoplasia que presenta la mayor tasa de mortalidad observada entre los niños y jóvenes (0 a 14 y 15 a 29 años, respectivamente) es la que se origina en los órganos hematopoyéticos (2.70 y 2.62 por cada mil habitantes de cada grupo, respectivamente), seguida por los tumores malignos en el encéfalo y otras partes del sistema nervioso (0.86 por cada mil habitantes en niños de 0 a 14 años) y en células germinales en jóvenes de 15 a 29 años (0.94 por cada mil habitantes).

Entre la población adulta (30 a 59 años), la tasa de mortalidad más alta se concentra en los tumores malignos en órganos digestivos (15.01 por cada 100 mil personas) y en órganos genitales femeninos (11.63). Finalmente en la población adulta mayor, nuevamente son los tumores malignos en órganos digestivos los que presentan la tasa más alta (173.26 por cada 100 mil adultos mayores) y en órganos genitales masculinos (129.04).

La Tabla 2 muestra estadísticas del INEGI sobre la mortalidad observada por diversas neoplasias malignas para ambos sexos por cada 100 mil habitantes de diferentes grupos de edad.

Tabla 2**Tasa de mortalidad observada por tumores malignos según grandes grupos de edad 2009**

Por 100 mil habitantes de cada grupo de edad

Tumores malignos	Grandes grupos de edad			
	0 - 14	15 - 29	30 - 59	60 años y más
Hueso y de los cartílagos articulares	0.29	0.51	0.57	3.96
Órganos respiratorios e intratorácicos	0.05	0.29	4.21	66.8
Labio, de la cavidad bucal y de la faringe	0.02	0.09	0.79	7.72
Células germinales (ovario y testículos)	0.06	0.94	2.72	10.17
Encéfalo y otras partes del sistema nervioso central	0.86	0.56	1.92	9.41
Órganos digestivos	0.20	0.89	15.01	173.26
Glándula tiroides y otras glándulas endocrinas	0.17	0.11	0.54	5.28
Ojo y sus anexos	0.12	0.02	0.04	0.45
Melanoma y otros tumores malignos de la piel	0.01	0.09	0.94	11.86
Tumores malignos (primarios) de sitios múltiples independientes	0.06	0.13	0.77	7.09
Vías urinarias	0.14	0.10	1.98	21.74
Órganos hematopoyéticos	2.70	2.62	3.67	20.36
Tejido Linfático y afines (incluye Sarcoma de Kaposi y Linfoma de células T, periférico y cutáneo)	0.23	0.73	2.25	16.68
Mama	0.00	0.16	7.10	25.54
Órganos genitales femeninos	0.01	0.59	11.63	51.18
Órganos genitales masculinos	0.00	0.01	1.76	129.04
Otros tumores malignos	0.30	0.73	4.24	34.52

Nota: Agrupación de acuerdo con la Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud (CIE-10), Códigos C00-C97

Fuente: **INEGI** (2011). Estadísticas de Mortalidad. Cubos Dinámicos; y CONAPO (2008). Proyecciones de la Población de México 2005-2050. Proceso **INEGI**.

ESTUDIO MOLECULAR DEL CÁNCER

En 1990 varios grupos de investigadores de todo el mundo se unieron para iniciar el Proyecto Genoma Humano (PGH) que ha sido calificado como el proyecto científico más trascendental de los tiempos modernos. Tuvo como propósito estudiar la totalidad del genoma humano: los genes, su ubicación en los 23 pares de cromosomas y su estructura molecular expresada en la secuencia de los nucleótidos de la molécula del DNA.

La elaboración de mapas del genoma humano que fue la meta del PGH requirió del desarrollo de técnicas moleculares de fragmentación, hibridación, amplificación de DNA, etc.⁹

Gracias al Proyecto Genoma Humano y la llegada de “la era Genómica” se abrió un nuevo camino para las ciencias biológicas que ahora destacan por su conocimiento de los genes (genoma) a nivel molecular y la manipulación dirigida hacia estos. El concepto de “Genómica” está conformado por la genómica estructural, funcional, individual y comparativa.

El campo de la genómica funcional incluye la determinación del número de genes, transcritos o proteínas (DNA, RNAm y proteínas respectivamente) presentes y expresados en una célula-tejido específico, en un momento fisiológico determinado: Transcriptoma y Proteoma, respectivamente⁹.

Hoy en día, con la gran cantidad de metodologías desarrolladas para la investigación, nos encontramos en un área con enormes oportunidades para descubrir y descifrar aspectos relacionados con las bases moleculares de las neoplasias, pero para comprender la etiología y naturaleza de dichas neoplasias no basta solo con conocer el genoma humano, se requiere de la implementación de métodos sofisticados de alto rendimiento “*high-throughput*”, para analizar la expresión génica y así permitir el descubrimiento de nuevos genes.⁹

A la fecha son utilizados con más frecuencia dos tipos de sistemas para análisis masivos de expresión: sistemas abiertos y cerrados.

El sistema abierto consiste en determinar la expresión de todos los genes que se presentan en una célula, lo que conocemos como transcriptoma.

Por dar un ejemplo de dicho sistema tenemos la técnica de Análisis de Expresión Génica en Serie (*SAGE* por sus siglas en inglés), tecnología que analiza la totalidad de los genes expresados, permitiendo identificar nuevas secuencias o genes, así como, los niveles de expresión que presentan en un momento determinado de manera cuantitativa¹⁰⁻¹².

El sistema cerrado consiste en determinar la expresión de los genes o secuencias impresas por medio de microarreglos (también se les conoce como “*microarrays*”, “*biochips*”, microhileras, micromatrices), los cuales están conformados de una plataforma sólida que puede ser de nylon, vidrio o plástico y estas a su vez contienen de forma limitada genes, fragmentos conocidos de genes o tejidos que se encuentran inmovilizados y agrupados de una manera especial.

MICROARREGLOS DE TEJIDO:

El micro arreglo de tejido (MAT) es una herramienta muy útil en la investigación de la genómica traduccional y funcional del cáncer ya que es una plataforma poderosa que nos ayuda a validar los marcadores moleculares encontrados por las metodologías de “*biochips*”.

Los MAT nos permiten detectar “*in situ*” alteraciones en un gran grupo de muestras de tumores sólidos mediante técnicas clásicas de histología, inmunohistoquímica o hibridación “*in situ*” fluorescente.

Esta herramienta tiene la ventaja de poder hacer un análisis en paralelo de forma masiva y simultanea de diferentes muestras, manteniéndolas en las mismas condiciones experimentales lo que permite reducir errores y ahorrar tiempo y recursos¹³.

La única limitación de este método es que, en cada núcleo que conforma el MAT solamente se puede analizar una pequeña porción representativa de la muestra del que fue tomado.

Dependiendo del número de muestras que estén contenidas en el MAT (12 a 320 núcleos) y el tamaño de cada núcleo (desde 0.6mm, hasta 5mm) se puede clasificar como un MAT de baja, mediana o alta densidad³⁴ como se muestra en la figura 4.0

Cabe mencionar que este tipo de plataformas pueden adquirirse de manera comercial o pueden ser elaborados en el laboratorio de una manera más artesanal.

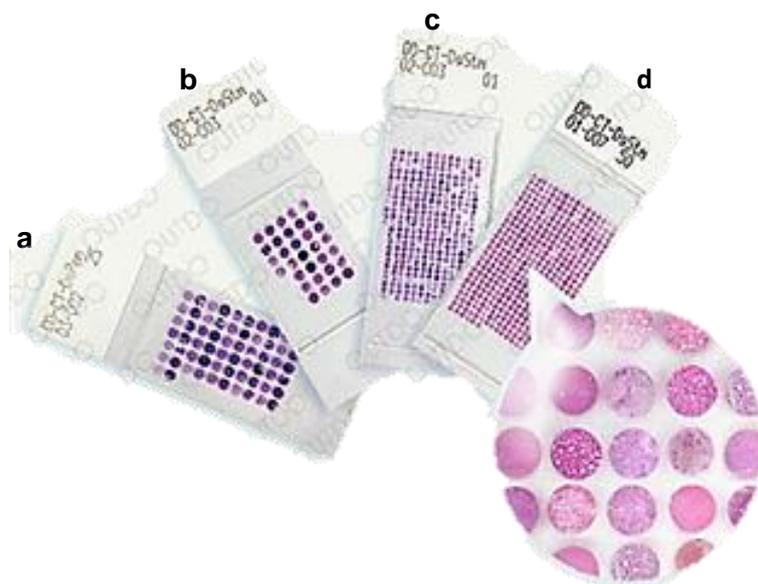


Fig 4: Ejemplo de MAT de mediana (a), baja (b) y alta (c,d) densidad respectivamente.

Esta tecnología ofrece una manera de cerrar la brecha entre los nuevos marcadores moleculares derivados del análisis genómico de alto rendimiento, y la práctica clínica. En otras palabras, esta plataforma es ideal para estudiar la significancia clínica de los cientos de genes, transcritos o proteínas obtenidas mediante estudios en “*microarrays*” como potenciales marcadores¹³.

Otras áreas de impacto potenciales de estas plataformas tecnológicas además de la oncología serán: el desarrollo de la medicina preventiva desde una perspectiva genómica (determinar la susceptibilidad hacia determinadas

patologías) antes de que aparezcan los primeros síntomas y medicamentos personalizados (farmacogenómica) por mencionar algunas.

MARCADORES MOLECULARES ESPECÍFICOS DE TUMOR

Se definen como marcadores moleculares a las características bioquímicas, proteicas o genéticas que se presentan en los tejidos enfermos y que en los tejidos sanos no están presentes, o viceversa.

La capacidad de combinar el análisis molecular de los perfiles de expresión génica a gran escala, con los métodos clásicos de morfología y clínica para la clasificación de las neoplasias, es una herramienta muy útil para obtener mejores diagnósticos clínicos y para poder predecir la sobrevida de los pacientes¹²

En la última década, se ha centrado un gran interés en el descubrimiento de biomarcadores específicos de tumor y de sus usos clínicos¹³ ya que la clasificación de tumores humanos se encuentra variando constantemente, por lo que es importante definir un pronóstico para el desarrollo de la enfermedad, y así permitir tomar diferentes opciones de tratamiento para que este llegue a ser eficaz¹⁴⁻¹⁶

Un gran número de grupos de investigación a nivel internacional, está enfocando sus estudios para obtener grupos de genes que marquen una expresión diferencial entre tejido sano y enfermo, incluyendo líneas celulares provenientes de neoplasias. Estos estudios incluyen cáncer de ovario, mama, melanomas cutáneos, próstata y adenocarcinomas de pulmón, cabeza y cuello, cáncer endometrial, colorectal, etc.

Hoy en día, gracias a la ayuda de las técnicas de análisis de expresión génica de alto rendimiento se han descubierto algunos genes que en células cancerígenas de algunos tipos de cáncer se encuentran desregulados.¹⁴ por ejemplo, Her2, p53, pRB por mencionar algunos.

En la actualidad se ha descrito un gen con cualidad potencial de marcador molecular para el diagnóstico de cáncer, la timopoyetina.

TIMOPOYETINA:

La timopoyetina (TMPO) también conocida como lamina asociada al polipéptido 2 (LAP2) es un gen que, en humanos, se encuentra en la región citogenética 12q22 y está conformada por ~35 kb de DNA genómico, este gen codifica para una proteína nuclear que juega un papel importante en la composición de la envoltura del núcleo y en el control del ciclo celular¹⁵ regulando la fase de replicación del DNA, está implicada también en la diferenciación de células del sistema inmune.

Actualmente en mamíferos se han descrito 6 isoformas diferentes generadas por “*splicing*” alternativo ($\alpha, \beta, \gamma, \delta, \epsilon, \zeta$) de las cuales se han reportado 3 isoformas en células humanas (α, β, γ) y se ha encontrado que la isoforma α es la más abundante³⁵

Estas isoformas de TMPO comparten en común un dominio N-terminal y solo la isoforma- α carece del dominio transmembranal que mantiene ancladas al interior de la membrana nuclear a las otras isoformas produciendo con esto que TMPO- α se encuentre en el nucleoplasma.

Cabe destacar que TMPO es regulado por diferentes factores de transcripción como lo son TBP, Lmo2, Ahr y Arnt y E2F, siendo este último el más importante factor de transcripción para TMPO, y a su vez, E2F es regulado por otros genes como lo son p53 y pRB (Figura 5) que son genes que intervienen directamente con el ciclo celular¹⁶ y están relacionados con distintos tipos de neoplasias como el cáncer de pulmón, melanoma, el cáncer de próstata, cáncer de cérvix o el cáncer de mama, entre otros.

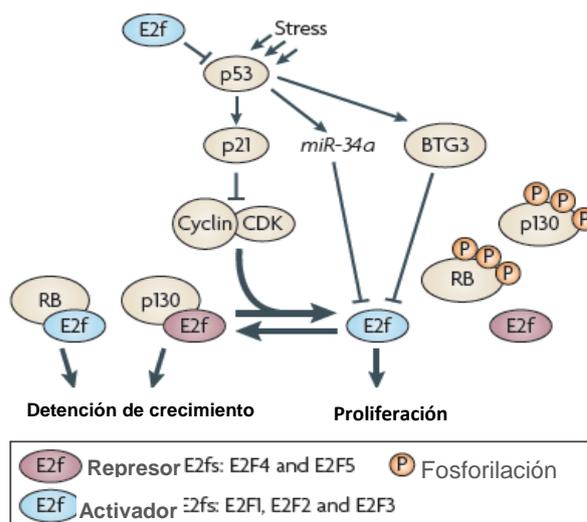


Fig 5: Mecanismo de regulación del factor de transcripción E2F por p53 y pRB en células sanas.

Factor de transcripción E2F.

E2F es un factor de transcripción que está involucrado en el ciclo celular así como en la síntesis de DNA.

Durante la fase G1 del ciclo celular, en una célula normal, E2F forma un complejo con la proteína de retinoblastoma (pRB) que inhibe la actividad de este factor de transcripción evitando así la proliferación celular.

Terminando la fase G1 se activa el complejo ciclina-CDK que fosforila a pRB promoviendo la liberación del factor E2F y a su vez este promueve la transcripción de TMPO como se describe en la Figura 6-A.

Cuando hay alguna mutación en los genes p53 y/o pRB la regulación del factor de transcripción E2F sufre un desequilibrio.

Se ha reportado también que la presencia de algunos virus como lo es el caso del virus del papiloma humano (VPH) de alto poder oncogénico (VPH-16, VPH-18) o poliomavirus (JCV, BKV, SV40)^{29,30} por mencionar algunos, puede también alterar la regulación de E2F debido a la participación de ciertas proteínas virales (E6 y E7 para VPH y antígeno T para poliomavirus) que interfieren con las proteínas supresoras de tumores pRB o p53.

Las proteínas virales E7 y AT son capaces de inhibir la actividad de pRB, permitiendo liberar a E2F y este a su vez promueve la transcripción de TMPO como se muestra en la Figura 6-B.

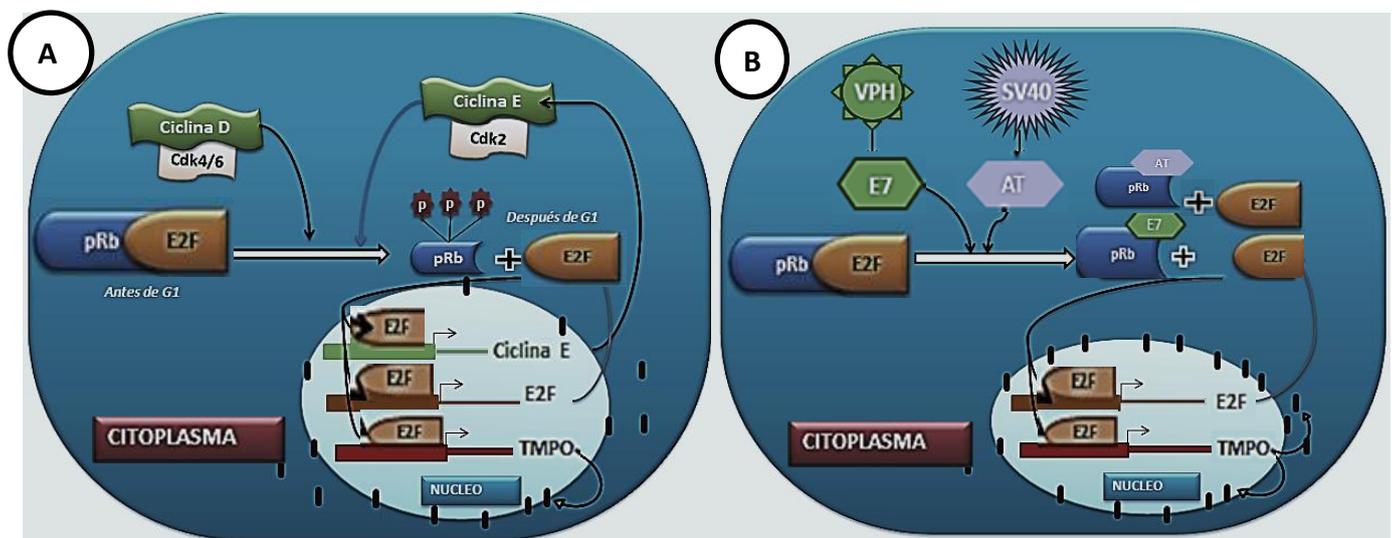


Fig 6: Mecanismo de regulación de la expresión de TMPO por E2F: A) E2F es liberado de pRB debido a la fosforilación de pRB promovido por el complejo ciclina-CDK en una célula sana en la fase S del ciclo celular. B) Las proteínas virales E7 (VPH) y/o AT(sv40) forman un complejo de mayor afinidad con pRB provocando la liberación de E2F y promoviendo la transcripción de TMPO.

Se ha reportado en cáncer de cérvix, que infecciones con virus del papiloma humano de alto poder oncogénico puede producir alteraciones en pBR¹⁷ produciendo así una deficiencia en la regulación del factor de transcripción E2F promoviendo con esto que timopoyetina pueda ser expresada.¹⁸

La TMPO se ha encontrado sobre expresada en diferentes tipos de cáncer como el cáncer de cérvix, pulmón, mama, y piel¹⁹⁻²¹. Estos resultados sugieren la posible aplicación de la expresión del gen TMPO como un posible marcador molecular para el diagnóstico del cáncer.

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad el cáncer representa un serio problema de salud pública y se pronostica un aumento en el número de casos nuevos de cáncer durante los próximos 20 años, es por eso que hay un gran interés de encontrar factores asociados a las neoplasias para identificar potenciales marcadores moleculares para el diagnóstico, tratamiento y pronóstico de esta enfermedad.

En estudios preliminares en cáncer de mama y cáncer cervico-uterino, se ha encontrado que la expresión de algunos genes se ve alterada en los tejidos neoplásicos pero no se altera en tejidos sanos. Tal es el caso de los genes HER2/neu, p53 y Rb por mencionar algunos; se ha demostrado que la alteración de estos últimos genes produce una desregulación en la expresión de la timopoyetina.

A pesar de que se ha descrito la función de TMPO en el ciclo celular y en algunos tipos de cáncer, se conoce relativamente poco acerca del papel que juega esta proteína en las células neoplásicas.

En investigaciones recientes se ha demostrado que la timopoyetina se encuentra sobre expresada en algunos tipos de cáncer como el cáncer de cérvix, mama, pulmón, laringe, hígado, entre otros.

Varios autores que han descrito la desregulación de TMPO en diversas células neoplásicas se han apoyado en técnicas de biología molecular como los microarreglos de expresión, la PCR o la secuenciación masiva encontrando así los transcritos de mRNA correspondientes a TMPO, y por esa razón muchos han dejado de lado la parte histológica al no localizar la proteína TMPO en el tejido neoplásico.

La desventaja de las tecnologías de microarreglos de expresión, PCR y/o secuenciación es que sólo se puede trabajar una muestra a la vez y llega a ser costoso utilizar este tipo de metodologías debido a la infraestructura necesaria para dichas técnicas.

Es por eso que el propósito de este trabajo se basa en evaluar la expresión de TMPO de diversos tumores humanos usando la tecnología de MAT y por una técnica inmunohistoquímica para determinar si la expresión de TMPO puede ser un factor relevante en cáncer humano y eventualmente sugerir su expresión como probable marcador molecular en el diagnóstico de diversos tipos de cáncer

OBJETIVOS

Objetivo general:

- Determinar la expresión de TMPO en cáncer humano y proponer si su expresión podría ser de utilidad como marcador molecular pronóstico o diagnóstico.

Objetivos particulares:

- Evaluar la expresión de TMPO en diversos tejidos neoplásicos con diferentes estadios de la enfermedad.
- Evaluar la expresión de TMPO en diferentes tejidos sanos.
- Evaluar la expresión de TMPO en tejido neoplásico.
- Determinar la diferencia entre la expresión de TMPO de los tejidos neoplásicos respecto a la expresión en sus correspondientes tejidos sanos.
- Realizar un análisis cualitativo y semicuantitativo de la expresión de TMPO en las diversas muestras analizadas.
- Sugerir si la expresión de TMPO pudiera tener un papel como marcador molecular diagnóstico y/o pronóstico en algún tipo de cáncer humano.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestra:

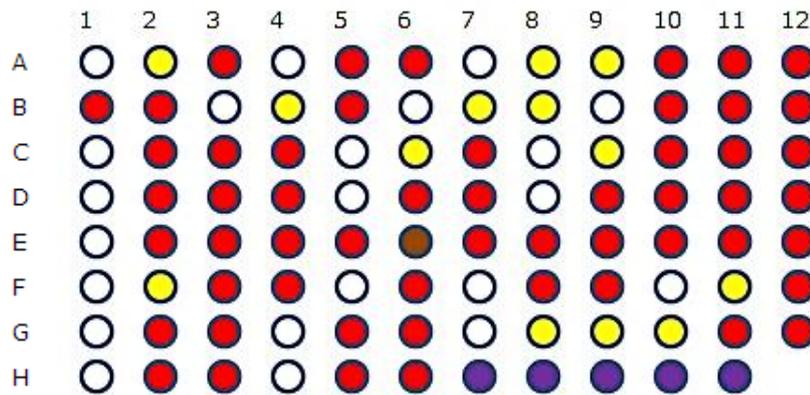
Se utilizó un micro arreglo de tejidos (pantomics cat. MTU-951)²⁸ de mediana densidad conformado por 95 muestras de 40 tipos de tumores que incluye tejidos sanos, así como las entidades benignas, malignas y metastásicas obtenidos de 27 órganos distintos (Tabla 3), la mayoría de ellos tienen duplicados o triplicados de diferentes individuos. Se cuenta con los datos de sexo, edad, patología, grado del tumor y clasificación por estadio TNM de cada tejido.

La organización de cada tejido en el arreglo se especifica en la figura 7.

Como control positivo de expresión se utilizó tejido de timoma, y como control negativo se utilizó tejido de cuello uterino normal.

Las muestras control fueron obtenidas del banco de tejidos del laboratorio de Oncología Genómica de la Unidad de Investigación Médica de Enfermedades Oncológicas (UIMEO), Hospital de Oncología, IMSS CMN siglo XXI.

Tabla 3	
SITIOS ANATÓMICOS QUE ESTÁN CONTENIDOS EN EL MICROARREGLO DE TEJIDO	
- Riñón	- Intestino grueso
- Glándula suprarrenal	- Recto
- Vejiga	- Hígado
- Mama	- Pulmón
- Hueso	- Ganglios linfáticos
- Cerebro	- Zona de la cavidad bucal
- Cerebelo	- Lengua
- Esófago	- Nariz
- Estómago	- Ovario
- Intestino delgado	- Páncreas
- Glándulas salivales	- Próstata
- Piel	- Testículo
- tiroides	- Cuello uterino
	- endometrio



Etiquetas: benigna ● ; Hiperplasia ● ; inflamatoria ● ; malignos ● , metástasis ● , normales ○ .
 Fig 7. Organización de los diferentes tejidos en el microarreglo.

ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO:

1.- Desparafinación y Rehidratación.

- Se colocaron las laminillas y el microarreglo de tejido en un horno eléctrico, previamente calentado, a una temperatura de 60°C durante una hora para fundir la parafina.
- Después se sumergieron las laminillas consecutivamente en soluciones de xilol y etanol a diferentes concentraciones para desparafinar y rehidratar los tejidos como se muestran en la Tabla 4.

TREN DE SOLUCIONES PARA Desparafinación Y REHIDRATACIÓN		
	Solución	Tiempo/agitación
1	Xilol 1	3 min
2	Xilol 2	3 min
3	Etanol/Xilol	3 min
4	Etanol absoluto 1	3 min
5	Etanol absoluto 2	3 min
6	Etanol [96%]	3 min
7	Etanol [70%]	3 min
8	Etanol [30%]	3 min
9	Agua destilada	3 min

2.- Exposición Antigénica.

- Para lograr la exposición del antígeno TMPO, las laminillas fueron sumergidas en una solución detergente con una dilución 1:20 (*Trilogy® cat. 920P-06*)³⁶ y sometidas a 120°C/15psi/15 minutos en una olla de presión.

3.- Bloqueo de la peroxidasa endógena y bloqueo de reacciones inespecíficas.

- Después de la exposición antigénica, se lavó cada laminilla con una solución de *PBS 1x*.

- Para bloquear la peroxidasa endógena se cubrió cada laminilla con una solución de peróxido de hidrogeno/metanol al 0.3% y se incubó durante 10 min en una cámara húmeda, previamente preparada, para evitar que se secan los tejidos.

- Se lavaron las muestras con *PBS 1x* y se agregó a cada laminilla una solución de albumina de suero bovino (*BSA*) al 5% para bloquear las reacciones inespecíficas.

4.- Exposición Ag-Ac con el anticuerpo primario.

- Se utilizó un anticuerpo monoclonal anti-TMPO humana marca Sigma-aldrich® (cat. L3414)³² en una dilución 1:100 con agua estéril.

- Se agregó el anticuerpo primario a cada muestra cubriendo por completo cada tejido y se dejaron las muestras incubando a 4°C durante toda una noche.

5.- Revelado.

- La detección de la TMPO se realizó mediante la técnica de Biotina/Estreptavidina amplificada siguiendo el protocolo del *kit* inmunodetectór de anticuerpo primario anti-conejo/anti-ratón para Inmunohistoquímica marca *BioSB*® (cat. BSB 0005)³³

6.- Contraintinción y montaje.

- La contraintinción se realizó sumergiendo las laminillas en hematoxilina durante 1 minuto y se prosiguió a hacer un viraje de color con agua amoniacal por 30 segundos.

- Se volvió a deshidratar cada muestra pasando de forma reversa por el tren de alcoholes (Tabla 4).

- Se utilizó resina mineral para cubrir y montar cada laminilla.

7.- Análisis estadístico.

- Se realizó la prueba estadística de X^2 (ji-cuadrado) para determinar asociaciones con cada una de las variables, así entonces, se compararon todas las variables entre sí con el programa estadístico de IBM, SPSS v20.0.0; tomando un valor de significancia de $p < 0.05$.

RESULTADOS

RESULTADOS

A continuación se muestran los resultados obtenidos de cada caso así como algunos datos de los pacientes de donde proviene cada tejido.

Posición en el arreglo	Sexo	Edad	Sitio anatómico	Patología	Grado	Etapa (TNM)	Expresión de TMPO	Comparación de tejido tumoral con tejido normal
A01	F	37	Glándula suprarrenal	Normal, hiperplasia			+	X
A02	M	61	Glándula suprarrenal	Adenoma cortical			+	0
A03	M	28	Glándula suprarrenal	Carcinoma de la corteza suprarrenal		T2N0M0	+	↓
A04	M	53	Vejiga urinaria	Normal			+	X
A05	F	53	Vejiga urinaria	Carcinoma de células transicionales	I-II	T1N0M0	+	0
A06	F	65	Vejiga urinaria	Carcinoma de células transicionales	I-II	T1N0M0	+	0
A07	F	30	Mama	Normal			-	X
A08	F	40	Mama	Fibroadenoma			-	0
A09	F	39	Mama	Fibroadenoma			-	0
A10	F	58	Mama	carcinoma ductal invasivo	II	T2N1M0	+	↑
A11	F	53	Mama	carcinoma ductal invasivo	II	T2N0M0	+	↑
A12	F	42	Mama	carcinoma ductal invasivo	II	T4N1M0	+	↑
B01	M	17	Hueso, tibia	Osteosarcoma			+	X

+=Expresión de TMPO positiva, -= No hay expresión de TMPO, ↑ = Aumento en la expresión de TMPO en tejido tumoral con respecto al tejido normal, 0=No hay diferencia en la expresión de TMPO entre tejido tumoral y tejido normal, ↓ = Disminución en la expresión de TMPO en tejido tumoral con respecto al tejido normal, X= Tejido normal de referencia.

Posición en el arreglo	Sexo	Edad	Sitio anatómico	Patología	Grado	Etapa (TNM)	Expresión de TMPO	Comparación de tejido tumoral con tejido normal
B02	M	44	Hueso, escápula	condrosarcoma			+	↑
B03	M	49	Cerebro, cerebelo	Normal *			+	X
B04	F	65	Cerebro, cerebelo	Meningioma fibroblástico			+	↑
B05	M	55	Cerebro, cerebelo	Meningioma maligno			+	↓
B06	M	58	Cerebro	Normal *			+	X
B07	F	26	Cerebro	Meningioma fibroblástico			+	↓
B08	M	47	Cerebro	Astrocitoma	II		+	↑
B09	M	53	Esófago	Normal			+	X
B10	F	68	Esófago	Carcinoma de células escamosas	I	T2N0M0	+	↑
B11	M	54	Esófago	Carcinoma de células escamosas	II	T3N1M0	-	0
B12	F	61	Esófago	Carcinoma de células escamosas	III	T2N1M0	-	0
C01	M	59	Estómago	Normal			+	X
C02	M	52	Estómago	Adenocarcinoma	I	T2N0M0	+	↓
C03	M	66	Estómago	Adenocarcinoma	II	T3N0M0	+	↓
C04	M	47	Estómago	Adenocarcinoma	III	T3N2M0	+	0
C05	F	40	Intestino delgado	Normal			+	X
C06	F	18	Intestino delgado	Adenoma			+	↑

+=Expresión de TMPO positiva, -= No hay expresión de TMPO, ↑ = Aumento en la expresión de TMPO en tejido tumoral con respecto al tejido normal, 0=No hay diferencia en la expresión de TMPO entre tejido tumoral y tejido normal, ↓ = Disminución en la expresión de TMPO en tejido tumoral con respecto al tejido normal, X= Tejido normal de referencia.

Posición en el arreglo	Sexo	Edad	Sitio anatómico	Patología	Grado	Etapa (TNM)	Expresión de TMPO	Comparación de tejido tumoral con tejido normal
C07	F	57	Intestino delgado	Adenocarcinoma	II	T2N0M0	+	↑
C08	F	27	Intestino grueso, colon	Normal			+	X
C09	M	57	Intestino grueso, colon	Adenoma			+	↓
C10	M	56	Intestino grueso, colon	Adenocarcinoma	I	T3N0M0	+	↓
C11	M	89	Intestino grueso, colon	Adenocarcinoma	II	T2N0M0	-	X
C12	F	43	Intestino grueso, colon	Adenocarcinoma	III	T3N0M0	-	0
D01	M	61	Intestino grueso, recto	Normal			+	X
D02	M	40	Intestino grueso, recto	Adenocarcinoma	I	T3N0M0	+	↑
D03	M	38	Intestino grueso, recto	Adenocarcinoma	II	T3N1M0	+	↑
D04	M	50	Intestino grueso, recto	Adenocarcinoma	III	T3N1M0	+	↑
D05	F	51	Riñón	Corteza normal			+	X
D06	M	40	Riñón	Carcinoma de células claras		T1N0M0	+	0
D07	F	79	Riñón	Carcinoma de células claras		T1N0M0	+	0
D08	M	43	Hígado	Normal			+	X
D09	M	26	Hígado	Carcinoma hepatocelular	I	T2N0M0	+	↓
D10	M	40	Hígado	Carcinoma hepatocelular	II	T2N0M0	+	↓
D11	M	53	Hígado	Carcinoma hepatocelular	I	T2N0M0	+	↓

+=Expresión de TMPO positiva, -= No hay expresión de TMPO, ↑ = Aumento en la expresión de TMPO en tejido tumoral con respecto al tejido normal, 0=No hay diferencia en la expresión de TMPO entre tejido tumoral y tejido normal, ↓ = Disminución en la expresión de TMPO en tejido tumoral con respecto al tejido normal, X= Tejido normal de referencia.

Posición en el arreglo	Sexo	Edad	Sitio anatómico	Patología	Grado	Etapa (TNM)	Expresión de TMPO	Comparación de tejido tumoral con tejido normal
D12	M	41	Hígado	Carcinoma hepatocelular	III	T2N0M0	+	↓
E01	M	58	Pulmón	Normal			+	X
E02	M	59	Pulmón	Carcinoma de células escamosas	II	T2N2M0	+	↑
E03	M	62	Pulmón	Carcinoma de células escamosas	II-III	T2N0M0	+	↑
E04	M	72	Pulmón	Adenocarcinoma	III	T2N2M0	+	↑
E05	M	19	Pulmón	Carcinoma de células pequeñas		T3N0M0	+	↑
E06	F	39	Ganglios linfáticos	inflamación			+	X
E07	M	50	Los ganglios linfáticos, del cuello	Linfoma, linfoma de Hodgkin			+	0
E08	M	42	Ganglios linfáticos, axilar	Linfoma, linfoma no Hodgkin de células B			+	↑
E09	M	51	Ganglios linfáticos del cuello	Linfoma, linfoma anaplásico de células grandes			+	↑
E10	F	48	Cabeza y cuello, cavidad bucal, paladar duro	Adenocarcinoma	III-IV		+	↑
E11	M	56	Cabeza y cuello, cavidad oral, lengua	Carcinoma de células escamosas	II	T2N0M0	+	0
E12	F	48	Cabeza y cuello, nasofaringe	Carcinoma nasofaríngeo, NPC	III	T2N0M0	+	0
F01	F	45	Ovario	Normal			+	X
F02	F	55	Ovario	Tumor de células de la granulosa			+	↓
F03	F	45	Ovario	Adenocarcinoma	III	T2N0M0	+	↑
F04	F	49	Ovario	Adenocarcinoma endometriode	III	T1N0M0	+	↑

+=Expresión de TMPO positiva, -= No hay expresión de TMPO, ↑ = Aumento en la expresión de TMPO en tejido tumoral con respecto al tejido normal, 0=No hay diferencia en la expresión de TMPO entre tejido tumoral y tejido normal, ↓ = Disminución en la expresión de TMPO en tejido tumoral con respecto al tejido normal, X= Tejido normal de referencia.

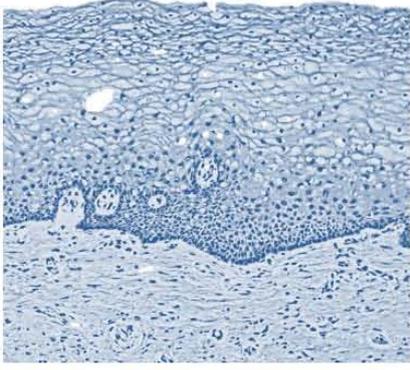
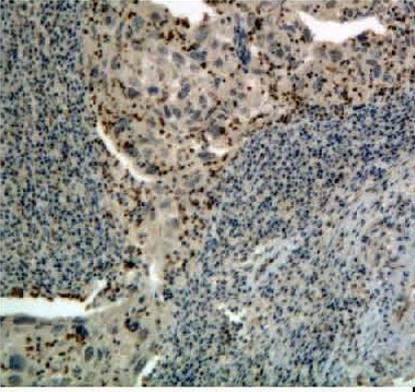
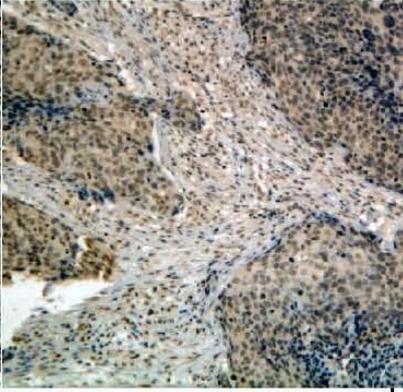
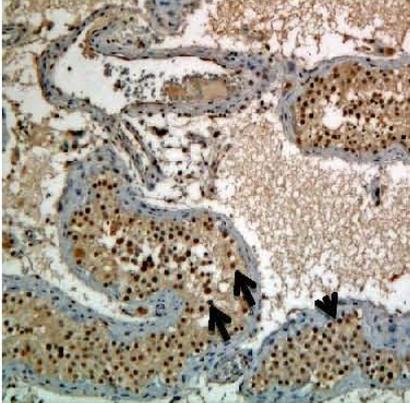
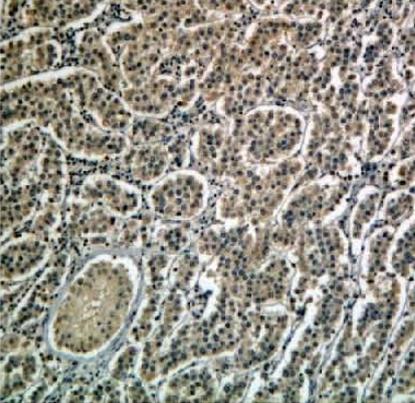
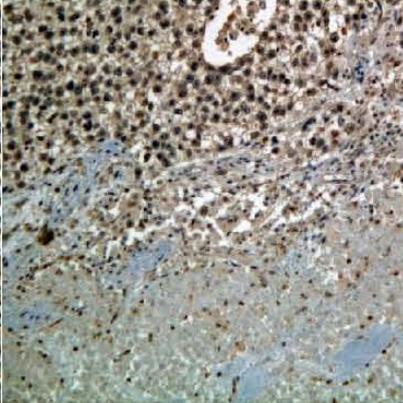
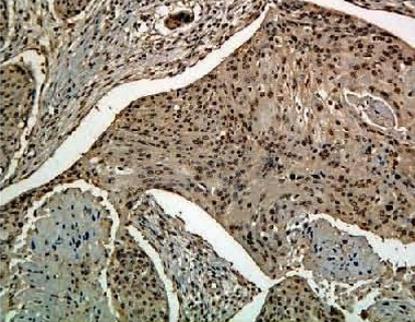
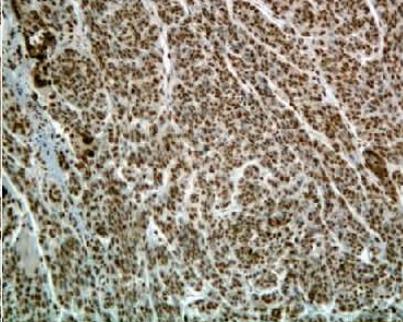
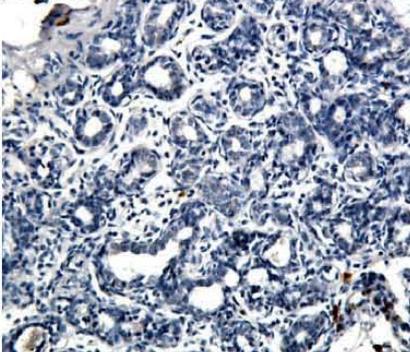
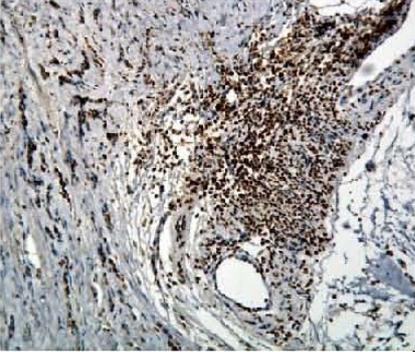
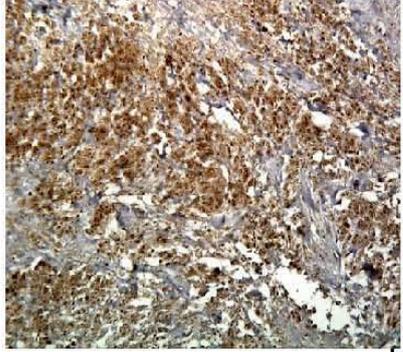
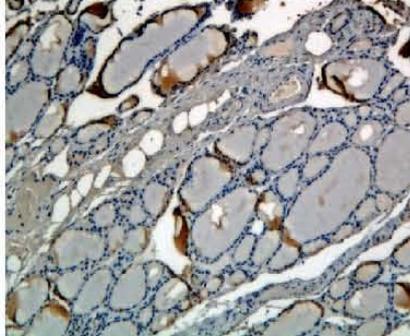
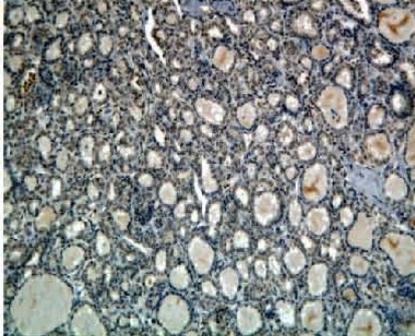
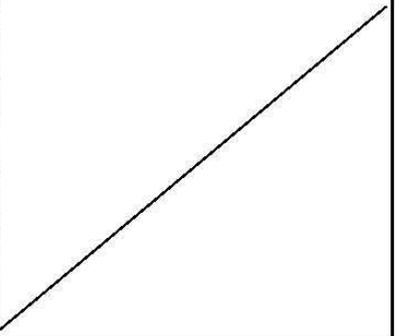
Posición en el arreglo	Sexo	Edad	Sitio anatómico	Patología	Grado	Etapa (TNM)	Expresión de TMPO	Comparación de tejido tumoral con tejido normal
F05	M	35	Páncreas	Normal			+	X
F06	F	49	Páncreas	Adenocarcinoma	II	T3N1M1	+	↓
F07	M	65	Próstata	Normal, hiperplasia			+	X
F08	M	60	Próstata	Adenocarcinoma	II	T2N0M0	+	↓
F09	M	47	Próstata	Adenocarcinoma	III	T3N0M0	+	↓
F10	M	38	Cabeza y cuello, glándula salival	Normal			+	X
F11	F	28	Cabeza y cuello, glándula salival, glándula parótida	Adenoma pleomorfo			+	↓
F12	F	38	De cabeza y cuello, glándula salival	Carcinoma quístico adenoide	I-II	T1N0M0	+	↓
G01	M	50	Piel	Normal			+	X
G02	M	67	Piel, tronco	Carcinoma de células escamosas	II	T2N0M0	+	0
G03	M	53	De cabeza y cuello, cavidad nasal	Melanoma			+	↑
G04	M	77	Testículo	Normal			+	X
G05	M	30	Testículo	Seminoma			+	↓
G06	M	28	Testículo	Seminoma			+	↓
G07	F	62	Tiroides	Normal			-	X
G08	F	47	Tiroides	Adenoma			+	↑
G09	F	27	Tiroides	Adenoma			+	↑

+=Expresión de TMPO positiva, -= No hay expresión de TMPO, ↑ = Aumento en la expresión de TMPO en tejido tumoral con respecto al tejido normal, 0=No hay diferencia en la expresión de TMPO entre tejido tumoral y tejido normal, ↓ = Disminución en la expresión de TMPO en tejido tumoral con respecto al tejido normal, X= tejido normal de referencia.

Posición en el arreglo	Sexo	Edad	Sitio anatómico	Patología	Grado	Etapa (TNM)	Expresión de TMPO	Comparación de tejido tumoral con tejido normal
G10	F	66	Tiroides	Adenoma			+	↑
G11	M	16	Tiroides	El carcinoma folicular		T3N1M0	+	↑
G12	M	34	Tiroides	Adenocarcinoma papilar folicular		T2N1M0	+	↑
H01	F	41	Útero, Cérvix	Normal			-	X
H02	F	63	Útero, Cérvix	Carcinoma de células escamosas	III	T1N0M0	+	↑
H03	F	57	Útero, Cérvix	Carcinoma de células escamosas	III	T1N1M0	+	↑
H04	F	50	Útero, endometrio	Normal			+	X
H05	F	48	Útero, endometrio	Adenocarcinoma	I-II	T2N0M0	+	↑
H06	F	53	Útero, endometrio	Adenocarcinoma	II-III	T1N1M0	+	↑
H07	M	60	Hígado	Adenocarcinoma de colon metastásico			+	X
H08	M	69	Pulmón	Cáncer metastásico, desde sitio gastrointestinal			-	X
H09	F	34	De los ganglios linfáticos	Carcinoma ductal infiltrante de mama metastásico			+	X
H10	F	40	Ovario	Carcinoma de células en anillo de colon metastásico			+	X
H11	M	51	De los ganglios linfáticos	Carcinoma de células escamosas de esófago metastásico			+	X

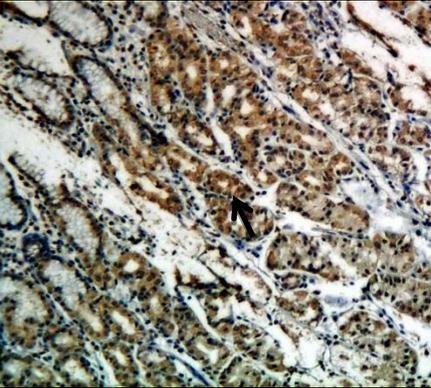
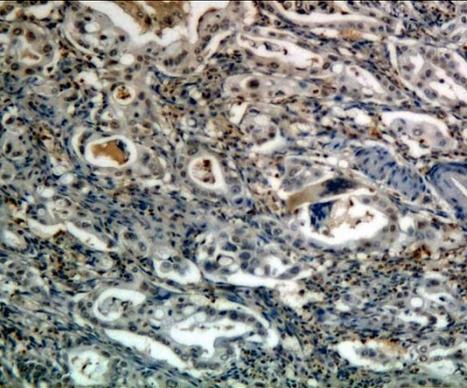
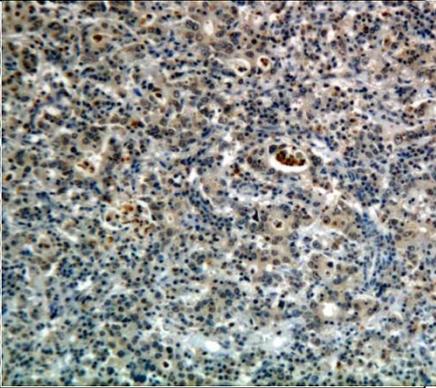
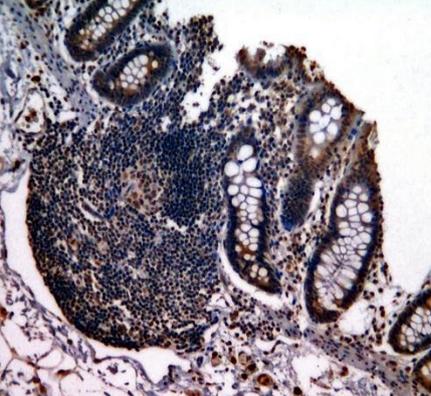
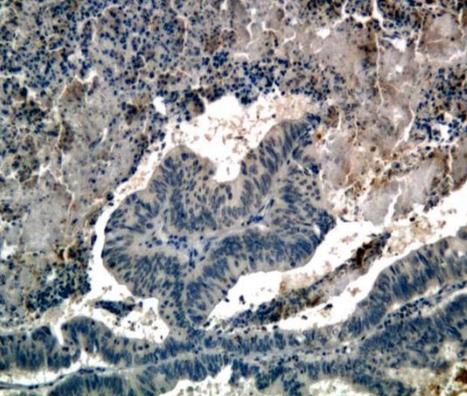
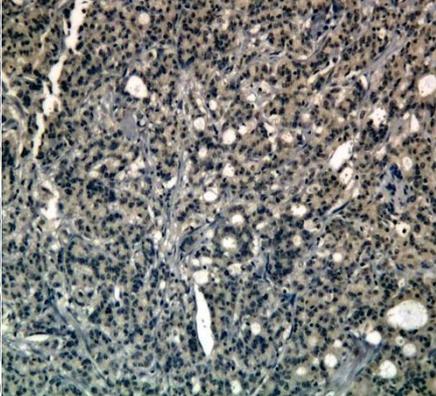
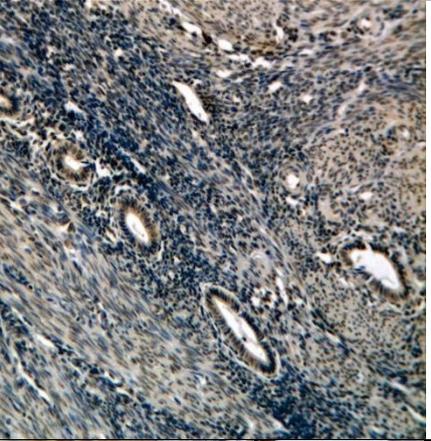
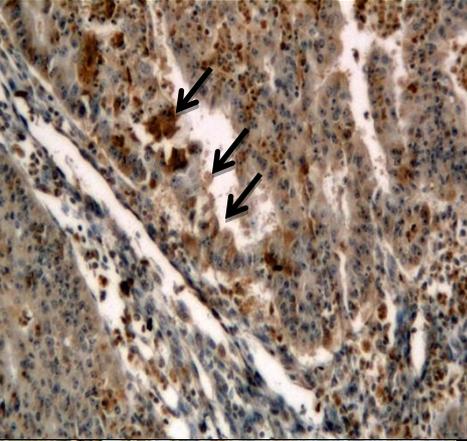
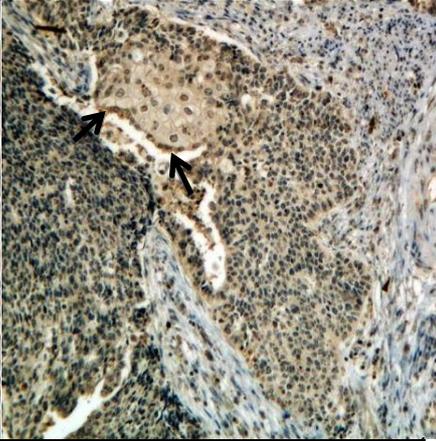
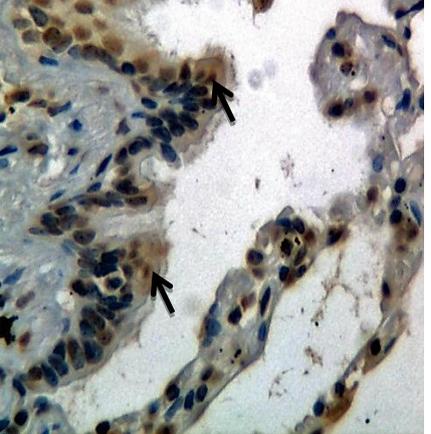
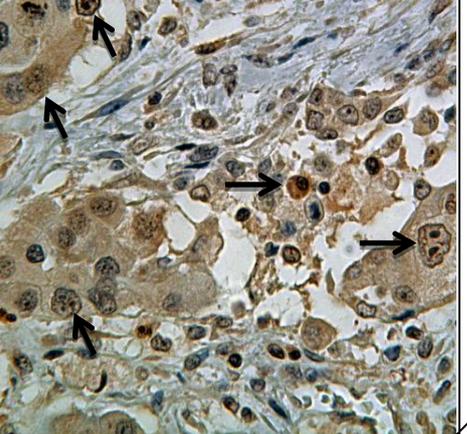
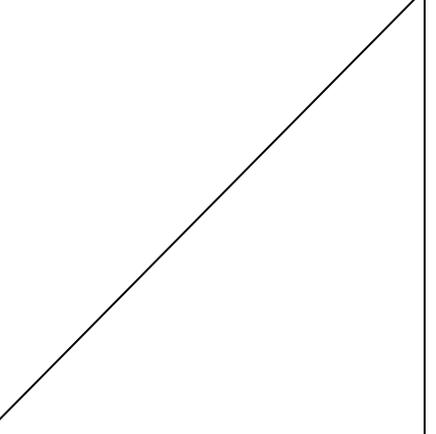
+=Expresión de TMPO positiva, -= No hay expresión de TMPO, ↑ = Aumento en la expresión de TMPO en tejido tumoral con respecto al tejido normal, 0=No hay diferencia en la expresión de TMPO entre tejido tumoral y tejido normal, ↓ = Disminución en la expresión de TMPO en tejido tumoral con respecto al tejido normal, X= tejido normal de referencia.

CUADRO COMPARATIVO 1: CARCINOMAS

Normal		Carcinoma	
		Grado II	Grado III
C E R V I X			
			
P I E L			
			
T I R O I D E S			

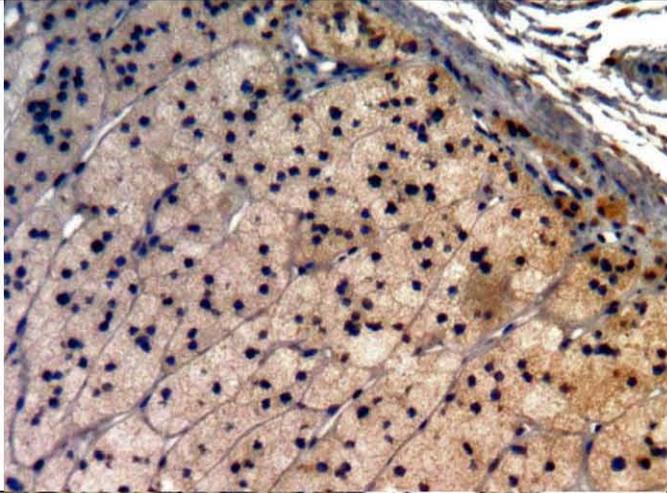
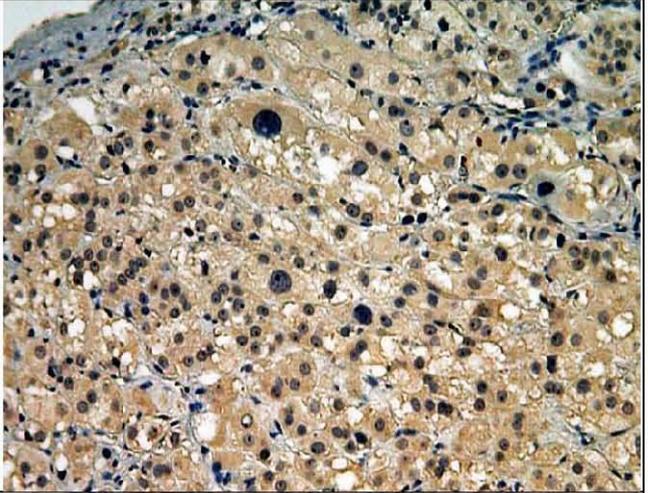
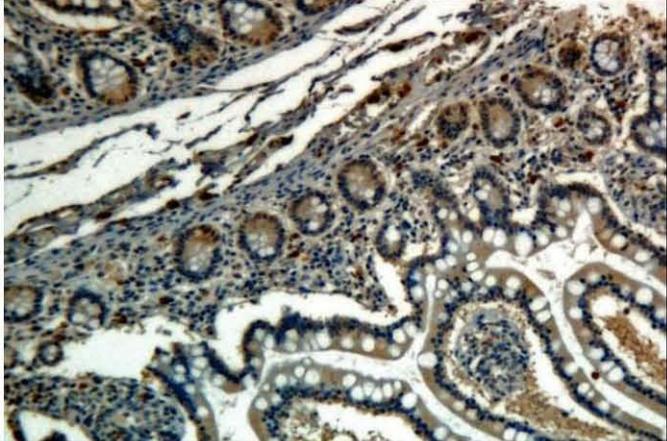
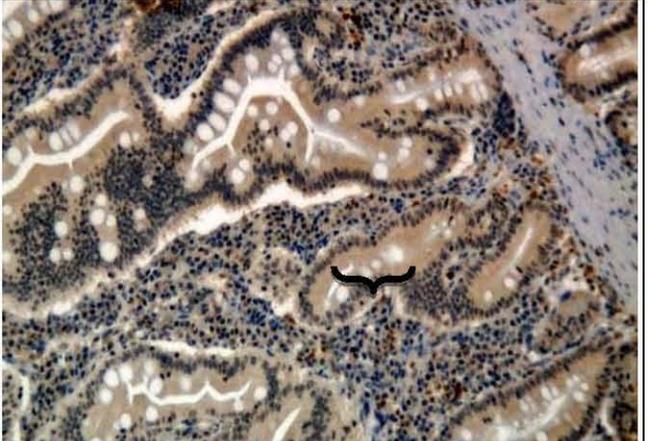
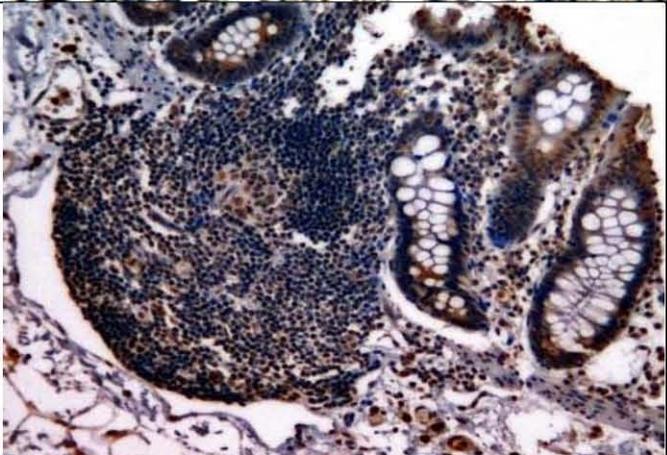
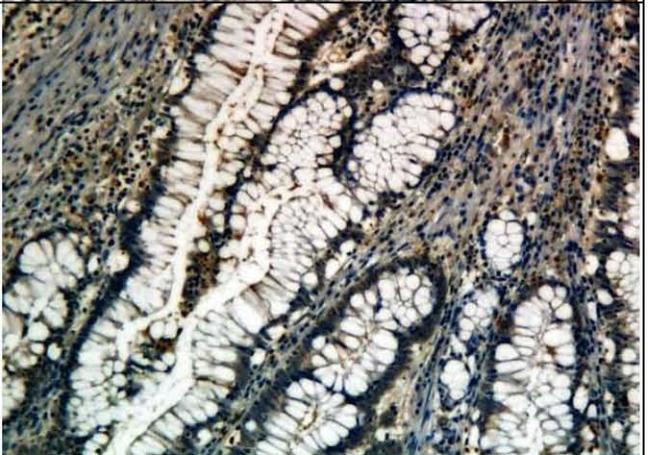
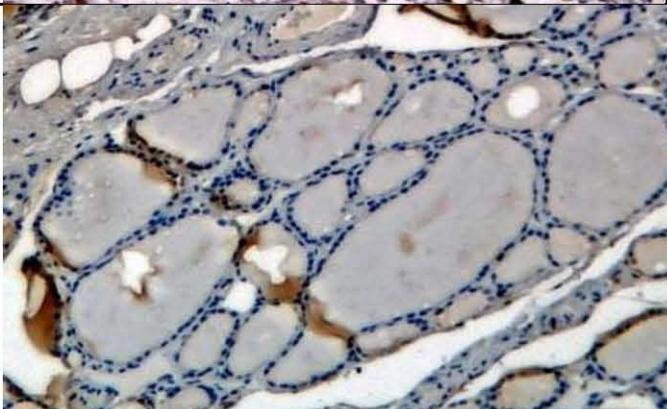
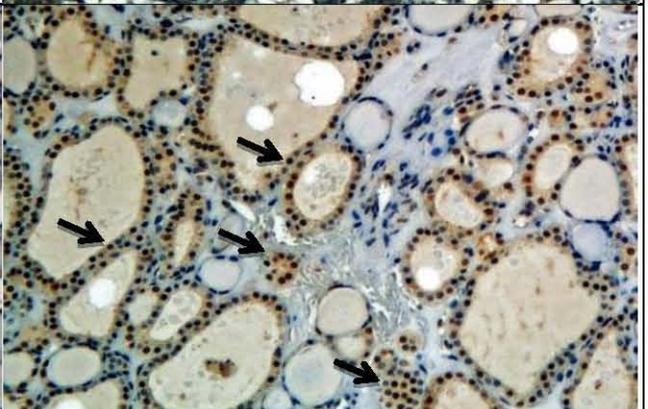
Expresión de TMPO entre tejido normal y carcinoma; En cérvix, mama y tiroides normales no hay expresión de TMPO pero si hay expresión citoplasmática en tejido tumoral; En testículo se nota una expresión nuclear/ citoplasmática disminuida en carcinoma con respecto al tejido normal; En tumor de piel, la TMPO se observa sobre expresada en el núcleo y citoplasma.

CUADRO COMPARATIVO 2: ADENOCARCINOMAS

	Normal	Adenocarcinoma	
		Grado II	Grado III
E S T O M A G O			
C O L O N			
E N D O M E T R I O			
P U L M Ó N			

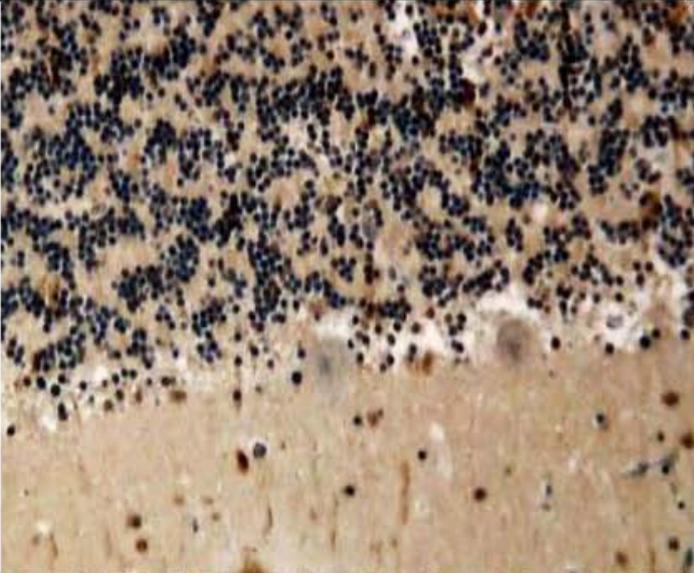
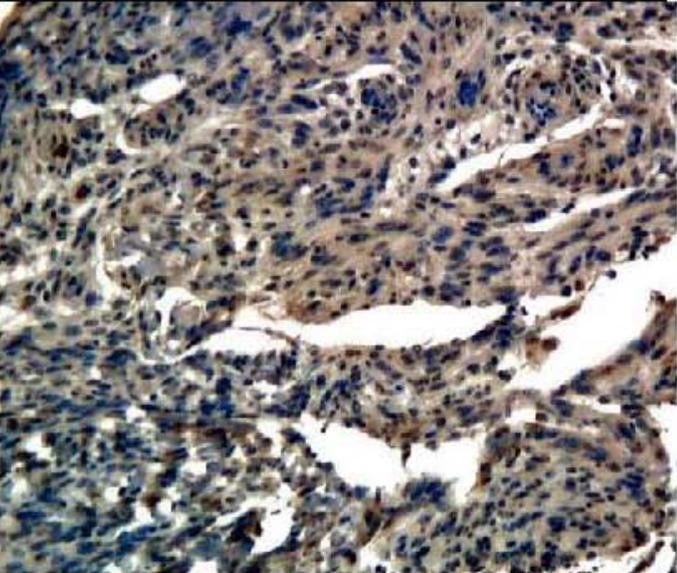
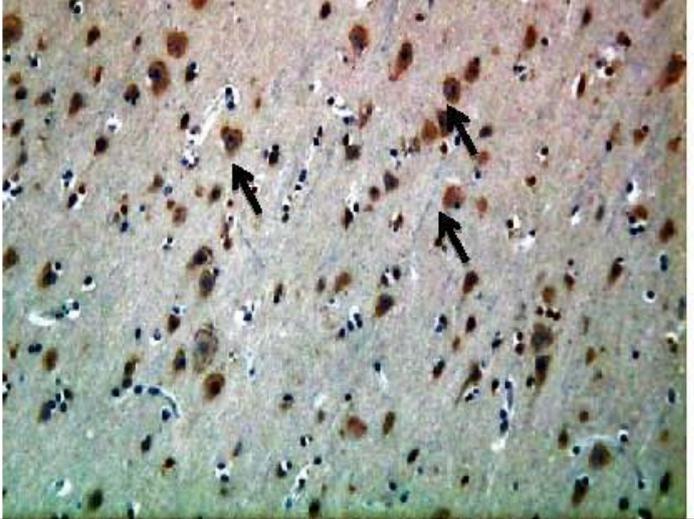
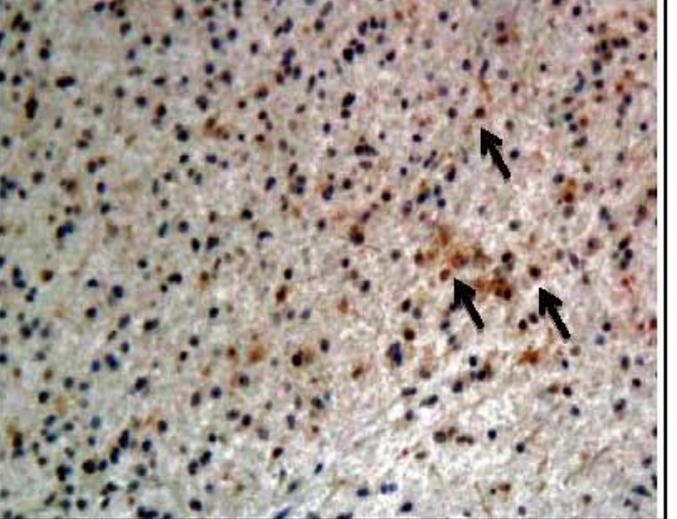
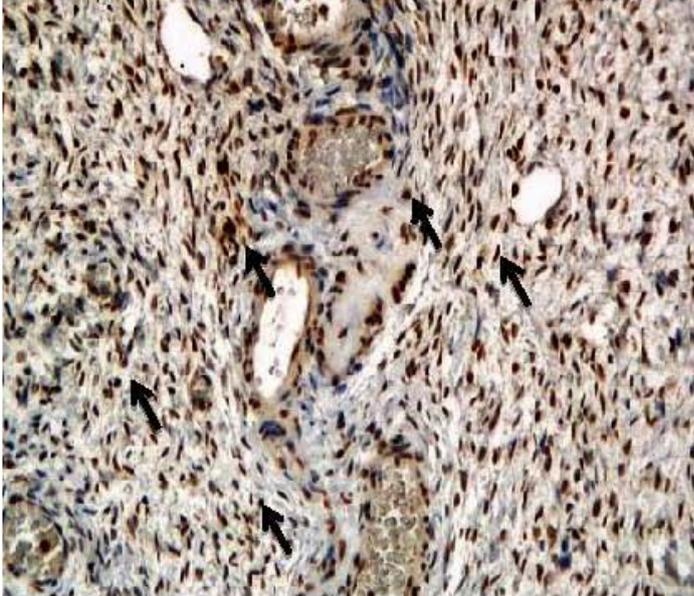
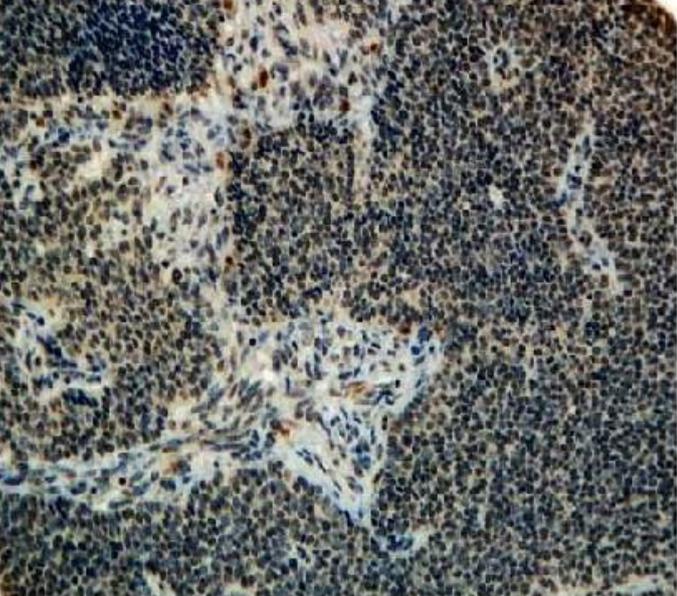
Expresión de TMPO entre tejido normal y adenocarcinomas; En cada caso hay expresión de TMPO en los tejidos sanos pero se ve una expresión aumentada de TMPO para cada tumor. Cabe mencionar que la TMPO se expresó en núcleo y citoplasma.

CUADRO COMPARATIVO 3: ADENOMAS

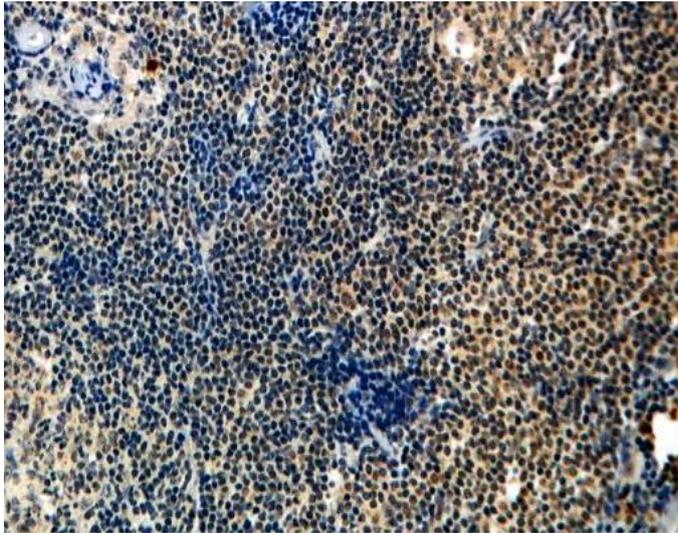
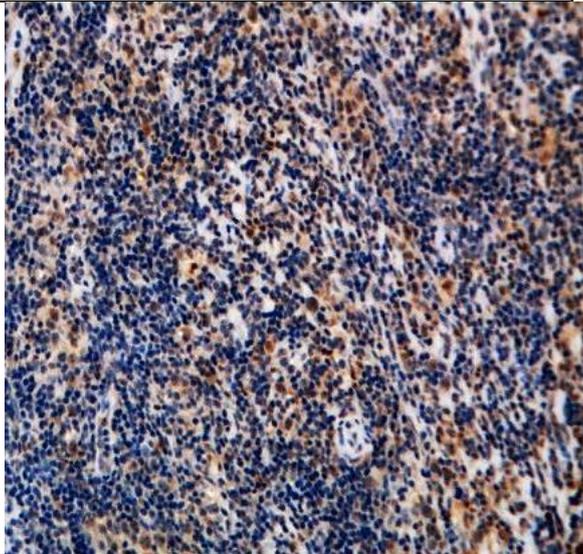
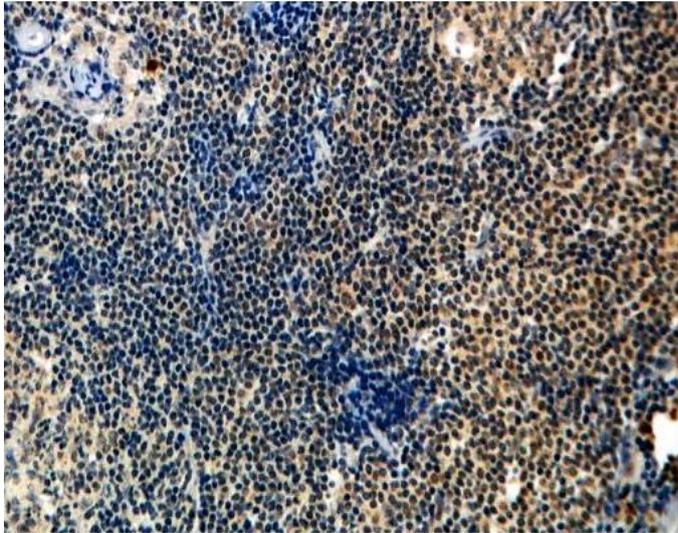
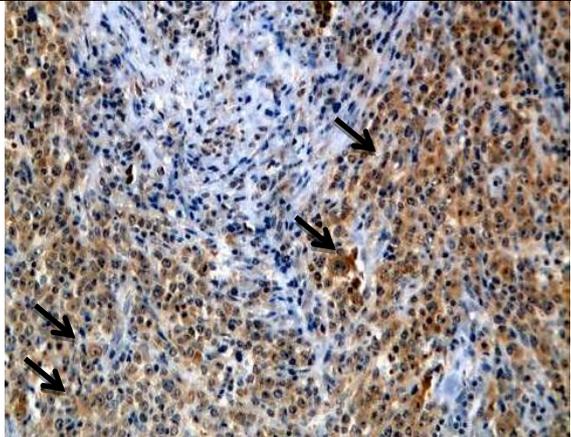
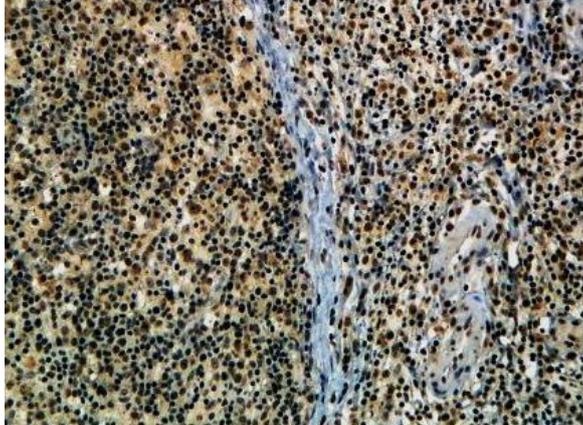
	NORMAL	ADENOMA
GLÁNDULA ADRENAL		
INTESTINO DELGADO		
COLON		
TIROIDES		

Expresión de TMPO entre tejido sano y adenomas. En Glándula adrenal no se observa diferencia en la expresión de TMPO totalmente citoplasmática; En intestino delgado se observa una expresión citoplasmática aumentada en al adenoma; En colon hay una expresión disminuida en el adenoma; En tejido normal de tiroides no hay expresión de TMPO pero se expresa en los núcleos del adenoma.

CUADRO COMPARATIVO 4: SARCOMAS

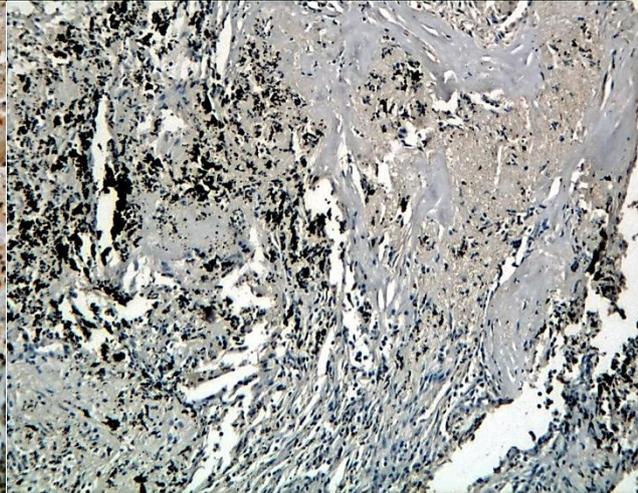
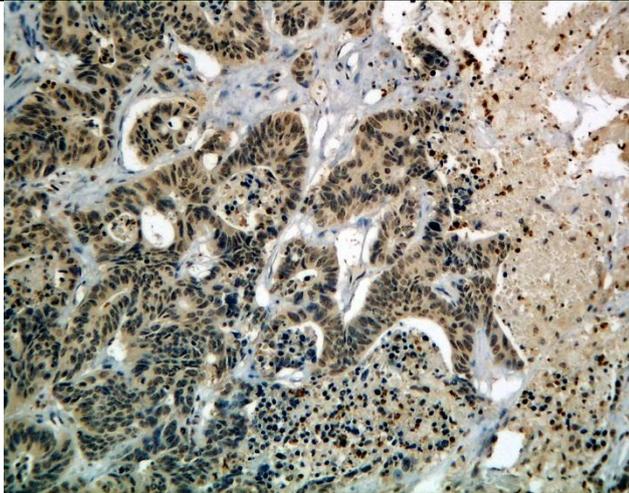
	NORMAL	SARCOMA
CEREBELO		
CEREBRO		
OVARIO		

Expresión de TMPO entre tejido normal y sarcomas; En cerebelo hay TMPO en el citoplasma del tejido normal pero se observa un ligero aumento en la expresión en el sarcoma; En cerebro y ovario se observa una expresión de TMPO en los núcleos de las células y hay una expresión de TMPO disminuida en el sarcoma con respecto al tejido normal.

CUADRO COMPARATIVO 5: LINFOMAS		
NORMAL*	LINFOMA DE HODGKIN	
G A N G L I O L I N F A T I C O	C U E L L O 	
		L I N F O M A N O H O D G K I N G A N G L I O A X I L A R 
		G A N G L I O C U E L L O 

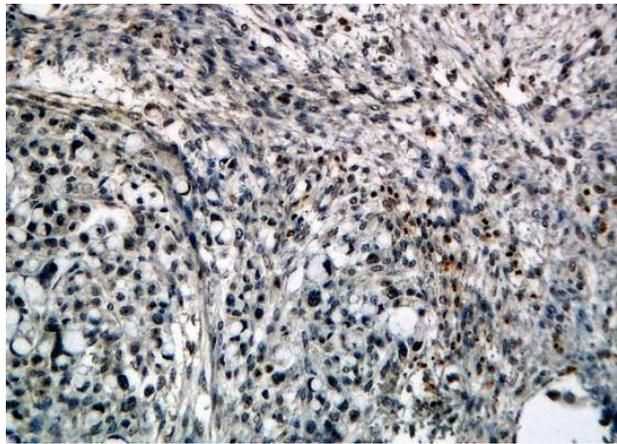
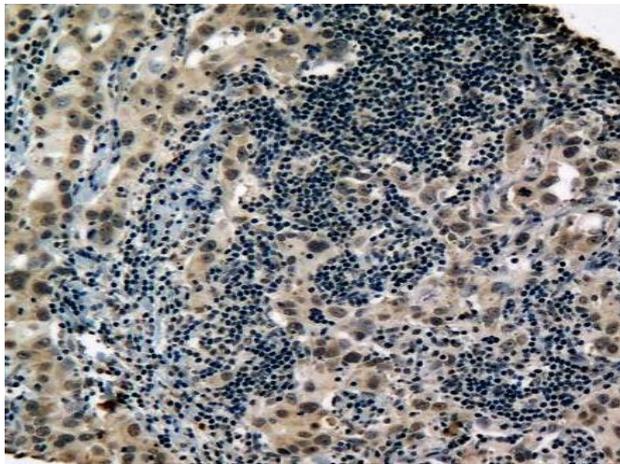
Expresión de TMPO entre un linfonodo normal* (inflamación) y linfomas de Hodgkin y no Hodgkin; El linfoma de Hodgkin parece no tener diferencia significativa en la expresión de TMPO con respecto al ganglio normal; Los linfomas de no Hodgkin presentan una sobre expresión de TMPO con respecto al ganglio linfático normal, la expresión es citoplasmática.

CUADRO COMPARATIVO 6: METÁSTASIS



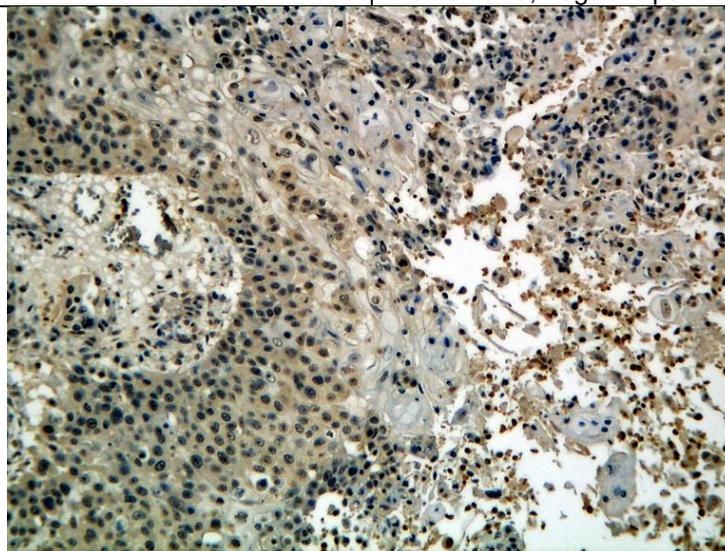
Hígado, Adenocarcinoma de colon metastásico, expresión de TMPO citoplasmática

Pulmón, Cáncer metastásico, desde sitio gastrointestinal, negativo para TMPO



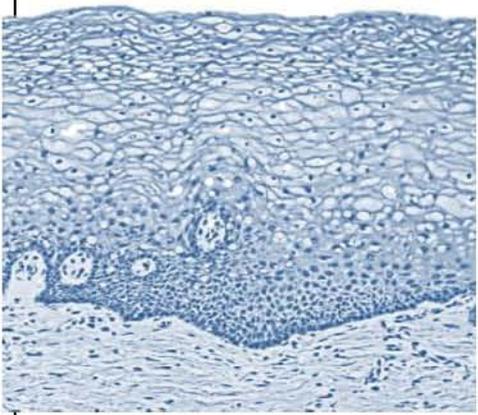
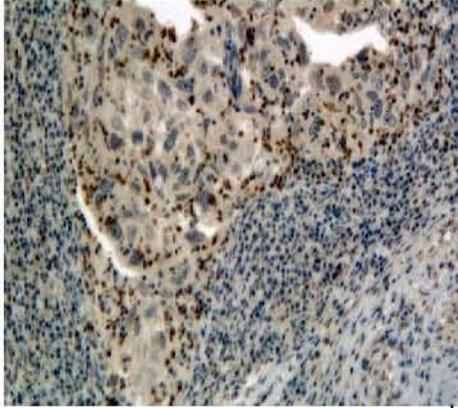
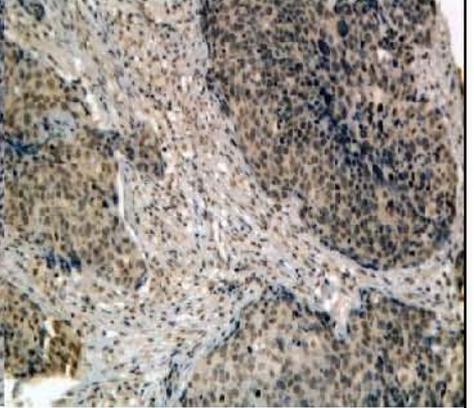
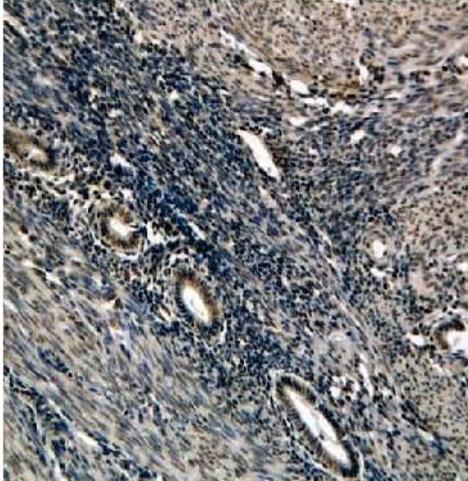
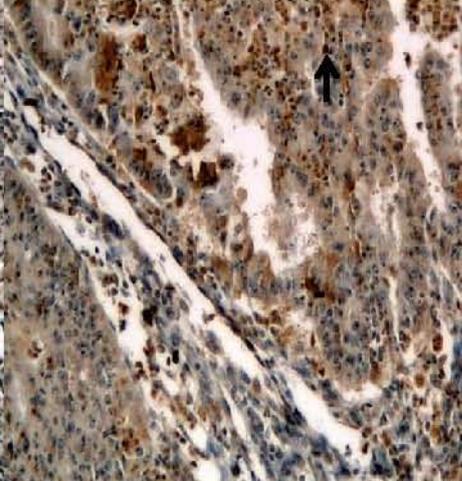
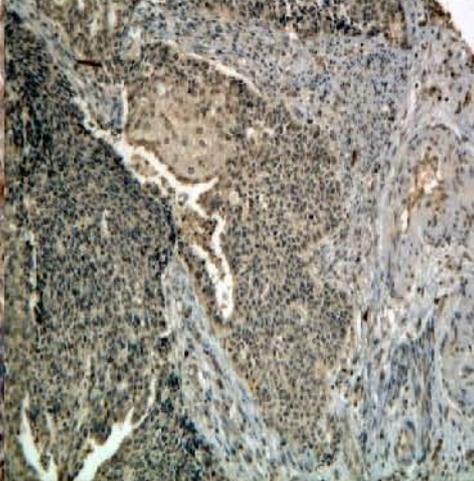
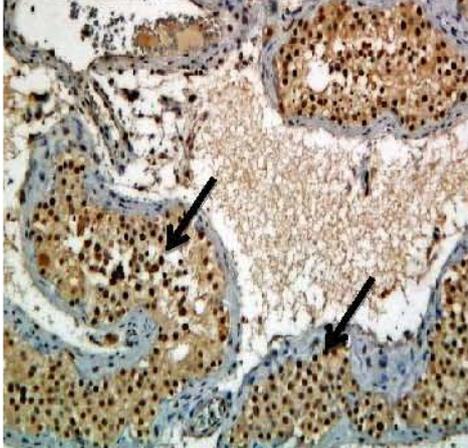
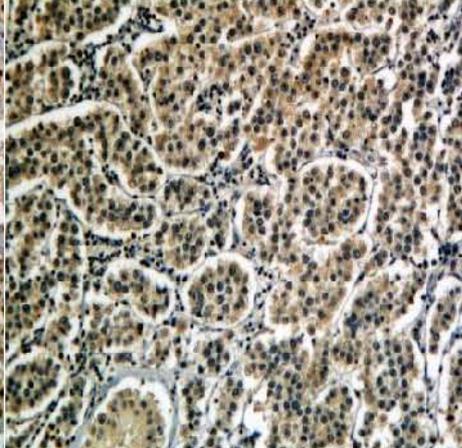
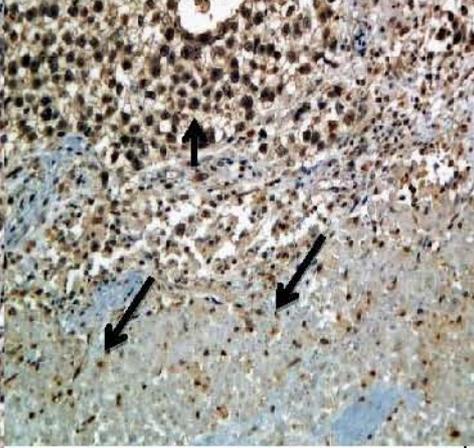
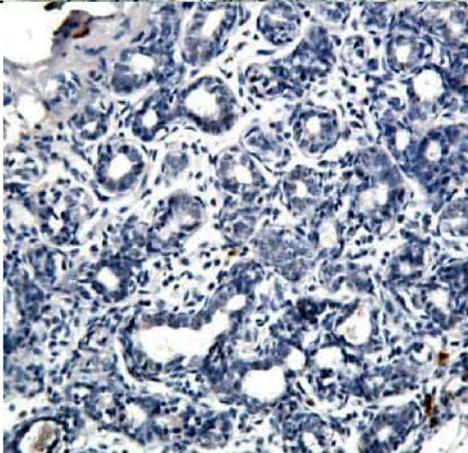
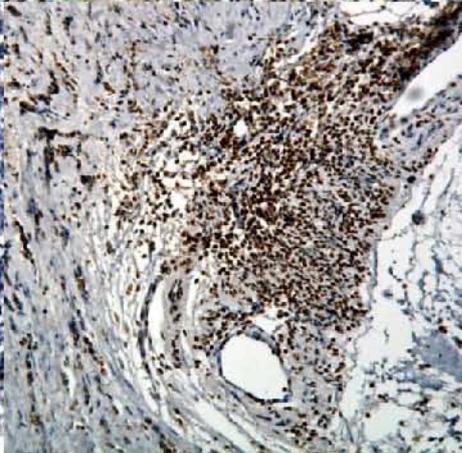
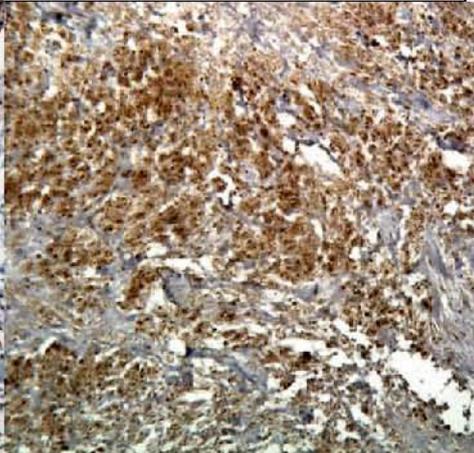
Ganglios linfáticos, Carcinoma ductal infiltrante de mama metastásico, expresión de TMPO en citoplasma

Ovario, Carcinoma de células de colon metastásico, negativo para TMPO

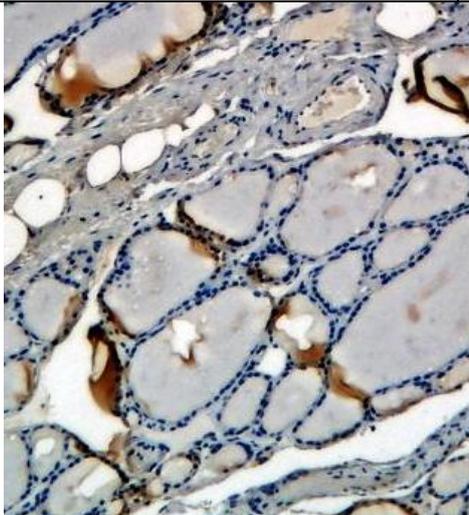
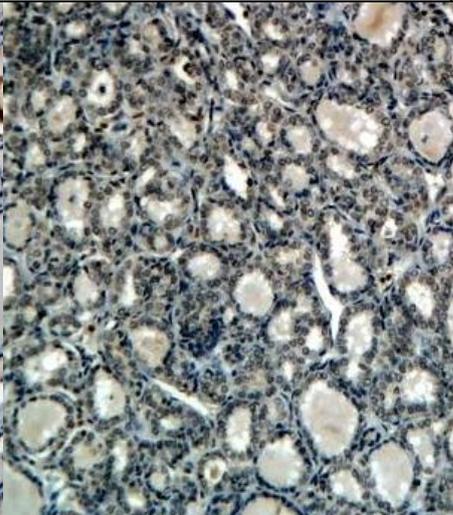
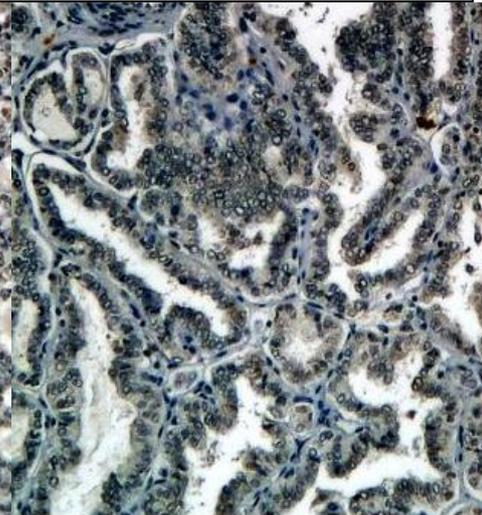
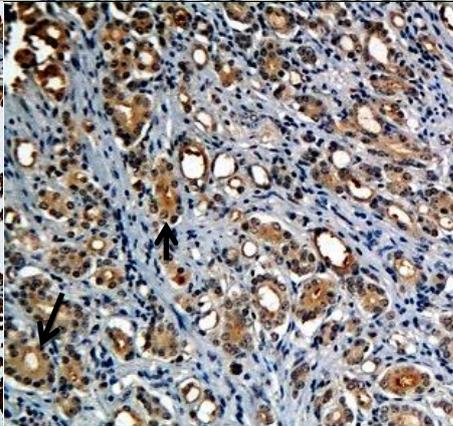
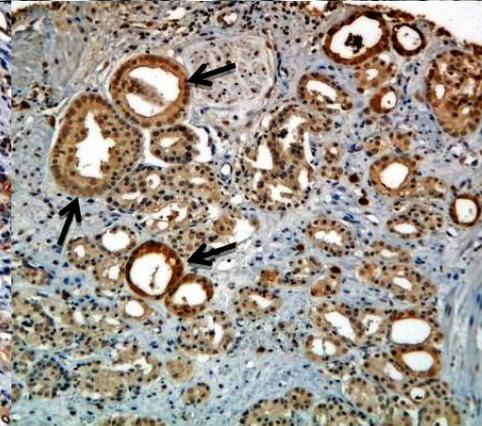
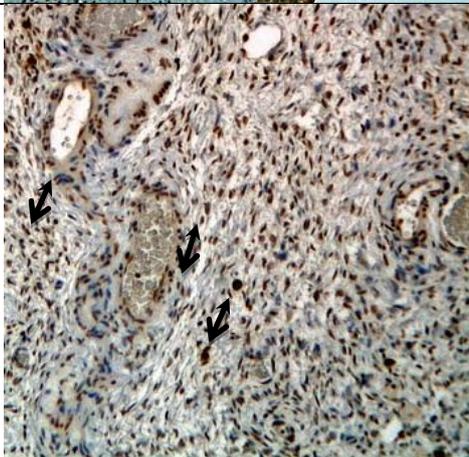
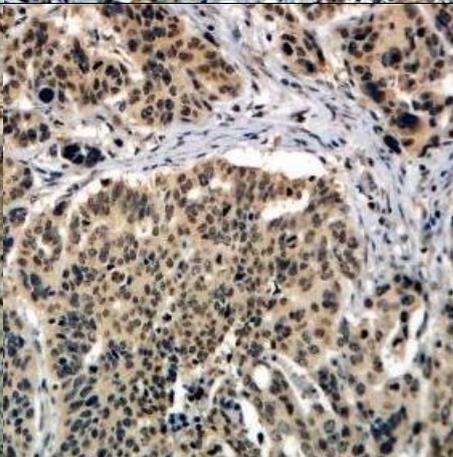
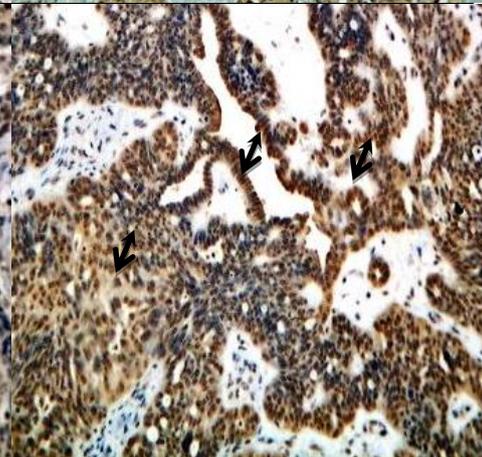


Ganglios linfáticos, Carcinoma de células escamosas de esófago metastásico, expresión de TMPO en citoplasma.

CUADRO COMPARATIVO 7: TUMORES HORMONODEPENDIENTES

		NORMAL	CÁNCER	
			Grado II	Grado III
C E R V I X				
				
				
				

CONTINÚA...

	NORMAL	CÁNCER	
		Grado II	Grado III
T I R O I D E S			
P R O S T A T A			
O V A R I O			

Expresión de TMPO entre tejidos sanos y tumores dependientes de hormonas; En cervix y tiroides se observa expresión de TMPO (citoplasma) en tejido tumoral pero no en tejido normal; En mama no se observa expresión de TMPO; En ovario y endometrio se observa una expresión aumentada de TMPO en tejido con cáncer con respecto al tejido normal; En testículo y próstata se observa una disminución en la expresión de TMPO en tejidos tumorales en comparación con el tejido normal para cada caso.

Las muestras fueron agrupadas según la naturaleza del tumor así como el tejido normal para cada caso como se muestra en la tabla 5.

Tabla 5 Agrupación de cada tipo de tejido.						
NORMAL	TUMORES BENIGNOS		TUMORES MALIGNOS			METÁSTASIS
	Sarcoma	Adenoma	Carcinoma	Adenocarcinoma	Linfoma	
n=22	n=4	n=9	n=30	n=21	n=4	n=5

La expresión de TMPO en los tumores para cada caso fue comparada con la de sus respectivos tejidos normales observando con esto una desregulación en la expresión para esta proteína.

El 86% de los tejidos normales expresó inicialmente TMPO y solo el 14% no expresó la proteína como lo fueron los casos de cérvix, mama y tiroides (cuadro comparativo 1).

El 53% de los casos de carcinomas mostraron desregulaciones en la expresión de TMPO, de los cuales el 26.6% mostró una expresión aumentada de TMPO mientras que en el 26.4% de los casos se observó una expresión disminuida.

De igual manera al comparar los casos de adenocarcinomas con su respectivo tejido sano (cuadro comparativo 2), se observó una desregulación de TMPO del 90.5% del total de los casos, de los cuales el 52.4% de los tumores presentaron un aumento en la expresión de TMPO mientras que el resto (38.1%) presentó una disminución en la expresión con respecto al tejido normal.

En el caso de los adenomas y sarcomas (cuadro comparativo 3 y 4 respectivamente) se observó una desregulación de TMPO de la siguiente manera:

Adenoma: se observó una desregulación de TMPO en el 55.5% del total de los adenomas, de los cuales el 44.4% presenta una expresión aumentada de TMPO con respecto al tejido normal mientras que en el 11.1% disminuye su expresión.

Sarcoma: El 100% de los casos de sarcoma mostraron desregulación en la expresión de TMPO, con un 75% de expresión a la alza y en el 25% restante bajó la expresión de TMPO. Este porcentaje tan alto de desregulación puede ser una propuesta viable para proponer a la TMPO como marcador molecular para este tipo de neoplasias

En el linfoma de Hodgkin (cuadro comparativo 5), no se observó diferencia en la expresión de TMPO con respecto al tejido normal pero TMPO se mostró sobre expresada en linfomas de "no Hodgkin".

En los tumores con metástasis (cuadro comparativo 6) hay abatimiento de expresión de TMPO en Ovario/carcinoma de células de colon y en pulmón/Cáncer metastásico desde sitio gastrointestinal.

Basado en los resultados anteriores también fue posible hacer una agrupación de casos de cáncer particulares como lo son los tumores dependientes de hormonas (Cuadro comparativo 7) que se originan en algunos tejidos como la próstata, cérvix, endometrio, mama, testículo, ovario y tiroides. Al ser evaluada la expresión de TMPO para cada caso se observó una expresión de *novo* en los tejidos de cérvix, endometrio, ovario y tiroides (este último corresponde a una muestra de tiroides de una mujer); mientras que en los tejidos de próstata y testículo se observa un decremento en la expresión de TMPO, debido a este fenómeno se puede sospechar que tal vez la expresión de TMPO en tumores hormonodependientes pueda estar ligada al género.

Para determinar si la expresión de TMPO está relacionada o no con el tipo de tejido se procedió a elaborar una prueba de X^2 comparando todos los datos disponibles del microarreglo del tejido contra la expresión de TMPO obteniendo los siguientes resultados. (Tabla 6)

Tabla 6. PRUEBA DE X^2 (chi-cuadrado)	
VARIABLES A COMPARAR	Prueba de X^2 $p < 0.05$ (95%)
Sexo / Expresión de TMPO	0.005*
Sexo / Aumento o disminución de la expresión de TMPO entre tejido normal y tumor	0.638
Edad / Expresión de TMPO	0.550
Edad / Aumento o disminución de la expresión de TMPO entre tejido normal y tumor	0.130
Patología / Expresión de TMPO	0.674
Patología / Aumento o disminución de la expresión de TMPO entre tejido normal y tumor	0.000*
Grado del tumor / Expresión de TMPO	0.305
Grado del tumor / Aumento o disminución de la expresión de TMPO entre tejido normal y tumor	0.131
Tumor hormonodependiente / Expresión de TMPO	0.019*
Tumor hormonodependiente / Aumento o disminución de la expresión de TMPO entre tejido normal y tumor	0.037*

* $p < 0.05$, hay relación entre variables.

DISCUSIÓN

Como ya se había mencionado con anterioridad TMPO es una proteína que juega un papel importante en el desarrollo del ciclo celular⁴⁰ y a su vez forma parte de la envoltura de la membrana nuclear.¹⁵

Se han reportado 6 isoformas de esta proteína en mamíferos de los cuales 3 de estas isoformas ya se han reportado en humanos³⁵.

Gracias a la ayuda de la técnica de tinción inmunohistoquímica se pudo observar que esta proteína a pesar de ser un componente de la envoltura nuclear puede encontrarse también expresada en citoplasma, este hallazgo es interesante ya que a la fecha no hay reportes de esta proteína en citoplasma y de acuerdo con las especificaciones del anticuerpo utilizado para la inmunohistoquímica (anti TMPO humana, Sigma-Aldrich cat. L3414) este reconoce la región N-terminal de la proteína que es la región que se conserva en todas las isoformas de TMPO reportadas hasta el momento³⁵.

En estudios recientes, nuestro grupo de investigación descubrió que en tejido mamario hay presencia de isoformas de TMPO (α, β, γ) y su expresión varía dependiendo del tipo de neoplasia, por lo que se sugiere que la expresión de TMPO en citoplasma podría deberse a la existencia de algunas isoformas que no cuentan con la región de anclaje a la membrana nuclear producidas quizá por un proceso de *splicing* alternativo o quizá pudiera deberse a algunas modificaciones postranscripcionales o postraduccionales que den origen a estas isoformas y estas a su vez tenga un papel importante que desenvolver en el citoplasma de las células de algunos tejidos, pero esto es sólo una hipótesis ya que a la fecha aún no existen reportes de TMPO en citoplasma. Sería una buena propuesta buscar dichas isoformas en tejido sano y neoplásico por medio de técnicas inmunohistoquímicas utilizando anticuerpos que reconozcan sólo isoformas y buscar transcritos por medio de RT-PCR para poder tener un mejor entendimiento de la función de TMPO en la célula neoplásica.

A su vez, concorde a los resultados obtenidos en la prueba de X^2 podemos determinar que la expresión de TMPO no está influida por la edad, tipo de neoplasia o grado del tumor, es decir, estas variables son independientes de la expresión de timopoyetina, sin embargo, dependiendo de la patología pudiera influir que haya un aumento o decremento en la expresión de la TMPO, esto contrasta con lo ya descrito en la literatura para algunos tipos de neoplasias^{41, 42} del mismo modo, la prueba de X^2 nos muestra que el sexo del paciente pudiera ser un factor importante tanto para la expresión de TMPO como para el aumento o decremento de los niveles de esta proteína en la célula.

Los tipos de neoplasias que están ligadas al sexo son los denominados tumores hormonodependientes. Un hallazgo interesante con respecto al cáncer hormonodependiente es que en los tejidos sanos de pacientes masculinos donde se desarrollan este tipo de tumores (próstata, testículo) presentan en un inicio expresión de TMPO tanto nuclear como citoplasmático, mientras que en el cáncer la expresión de TMPO disminuye.

Quizá en tejido neoplásico se produzcan proteínas que interfieren con la expresión de TMPO por mecanismos aún desconocidos provocando con esto una disminución de esta proteína

Por otro lado, en contraparte a los tejidos de pacientes masculinos, se encontró que en tejidos sanos de pacientes femeninos donde se originan los tumores dependientes de hormonas para este género (cérvix, endometrio, mama, tiroides*) no hay expresión de TMPO en un principio, pero existe una expresión de *ново* de TMPO en las células neoplásicas, lo contrario a lo que sucede con los tumores masculinos.

Esto tal vez se deba a que la TMPO puede estar regulada indirectamente por hormonas femeninas (estrógenos y progesterona).

Se ha reportado que los receptores de estrógeno (ER) sirven como factor de transcripción para E2F³¹ (factor de transcripción para TMPO) por lo que se sugiere que en tejido normal, el promotor para E2F tal vez se encuentra metilado y al momento de que la célula se transforma en maligna, por mecanismos aún no descritos, el promotor de E2F se desmetila permitiendo con esto que ER se una al promotor de E2F ocasionando la expresión de este factor de transcripción y a si mismo provocando la expresión de TMPO tal como se intenta mostrar en la figura 8.

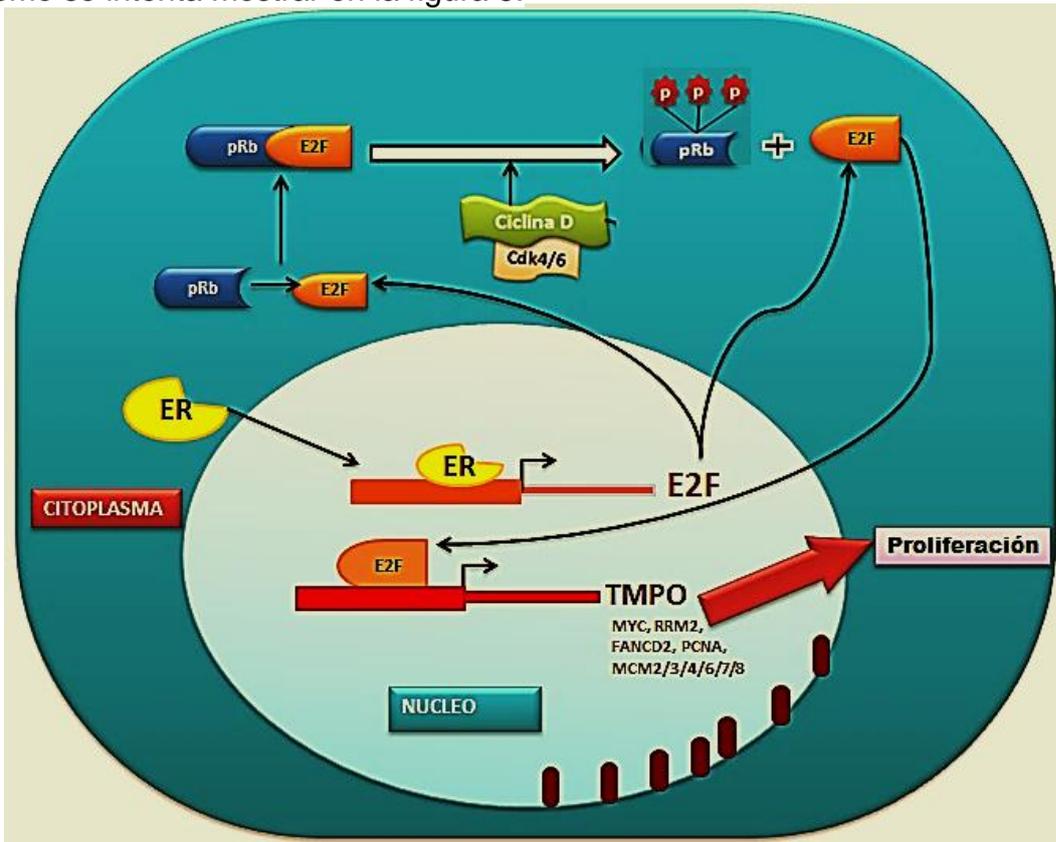


Fig 8. Mecanismo de regulación del factor de transcripción E2F por receptores de estrógeno en células de pacientes femeninos. ER promueve la expresión de E2F lo que provoca que este pueda unirse al promotor de TMPO permitiendo su expresión y promoviendo la expresión de otros genes permitiendo así la proliferación celular.

Una vez habiéndose producido el factor E2F por acción de ER en tejido sano femenino, este en citoplasma puede formar un complejo con pRB que a su vez impedirá que este factor se traslade al núcleo por lo que la unión de E2F con el promotor de TMPO será evitado y así mismo la timopoyetina no se expresará en el tejido normal.

Entonces el mecanismo pRB/E2F es el que regula la expresión de TMPO en el tejido normal, pero este mismo mecanismo puede ser interrumpido en los procesos neoplásicos⁴¹ ocasionando que el complejo pRB/E2F se rompa por las causas mencionadas anteriormente en la figura 6.

Esto puede ayudar a explicar la expresión de *novo* de la TMPO en las neoplasias hormonodependientes, ya que al ser liberado el factor de transcripción E2F este va a promover tanto la expresión de TMPO como del mismo E2F y a su vez ER promoverá la expresión de E2F.

En nuestro grupo de trabajo se ha descubierto por inmunohistoquímica que en cáncer de mama subtipo luminal A, TMPO se encuentra expresada en la mayoría de las muestras mientras que en el subtipo luminal B no se encuentra expresada en la mayoría de las muestras. Cabe mencionar que en el subtipo luminal A existe una sobre expresión de RE mientras que en el subtipo luminal B no hay sobre expresión de RE.

Al contrastar estos datos con los resultados obtenidos de los otros tumores hormonodependientes femeninos se propone que quizá realmente exista un mecanismo de regulación por metilación para la expresión de E2F y de esta manera se puede decir que ER regula indirectamente la expresión de TMPO.

Para poder comprobar esta hipótesis se propone la búsqueda de ER en tejido normal y tejido neoplásico por medio de inmunohistoquímica y posteriormente hacer una comparación con los datos obtenidos por la IHQ de timopoyetina. Si ER aparece tanto en tejido normal como en tejido neoplásico pero TMPO no aparece en tejido normal se puede pensar que quizá si haya un mecanismo de regulación por metilación para la expresión de TMPO en neoplasias hormonodependientes.

CONCLUSIONES

- En tejido sano de tiroides, cérvix y mama no hay expresión de TMPO, pero se encuentra expresada en tejido neoplásico. Se sugiere una expresión de “*novo*” en estos tumores.
- En tejido sano de ovario TMPO se expresa en un principio, pero en cáncer de ovario TMPO se encuentra sobre expresado.
- La TMPO pudiera funcionar como marcador molecular de malignidad para el diagnóstico de tipos de cáncer hormonodependientes femeninos.
- El género pudiera ser un factor condicionante para la expresión de TMPO en cáncer.
- El grado del tumor y la edad del paciente no son factores condicionantes para la expresión de TMPO.
- En algunos tumores la TMPO no solo se encuentra en el núcleo de la célula, sino también en citoplasma.
- La expresión de TMPO se ve alterada en todos los sarcomas, pudiendo funcionar también como un marcador molecular para este tipo de neoplasias.

SUGERENCIAS PARA TRABAJOS POSTERIORES.

- Detectar las isoformas de TMPO por medio de RT-PCR en diversos tipos de neoplasias.
- Detectar las isoformas de TMPO y su localización en la célula por medio de ensayos inmunofluorescentes.
- Detectar TMPO en tejidos de personas con tratamiento contra el cáncer para ver si hay relación entre la expresión de TMPO y el pronóstico de la enfermedad.
- Detectar ER en tejidos neoplásicos y hacer una comparación con la expresión de TMPO en dichos tejidos.

REFERENCIAS

1. Stanley L. Robbins et al. (2008) "Patología Humana", 8^{va} ed, Editorial Elsevier Health Sciences, Madrid, Pp. 179- 183.
2. Hanahan Douglas, Robert A Weinberg; "The Hallmarks of Cancer"; Cell; 2000; 100(1), pp. 57-70.
3. Organización Mundial de la Salud [OMS], (2013), "El cáncer es la segunda causa de muerte en América Latina". Documento revisado febrero 2013: http://new.paho.org/arg/index.php?option=com_content&view=article&id=581&Itemid=0
4. Organización Mundial de la Salud (2008) "¿Cuál es la enfermedad que causa más muertes en el mundo?" Nota descriptiva, documento revisado febrero 2013 de: <http://www.who.int/features/qa/18/es/index.htm>
5. Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI] (2011) "Estadísticas A Propósito Del Día Mundial Contra El Cáncer Datos Nacionales" revisado febrero 2013 de: <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/contenidos/estadisticas/2011/cancer11.asp?s=inegi&c=2781&ep=51>
6. Organización Mundial de la Salud [OMS] (2011). "Cáncer". Nota descriptiva No. 297. Documento revisado: enero de 2013, de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/index.html>
7. Perfil epidemiológico de los tumores malignos en México, (2011), "Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas" revisado marzo 2013 de: http://www.dgepi.salud.gob.mx/2010/PDFS/PUBLICACIONES/MONOGRAFIAS/PEPID_TUMORES_MALIGNOS_MEX_2010.pdf
8. Organización Mundial de la Salud (OMS), (2008), "proyecto globocan 2008" revisado enero 2013 de: <http://globocan.iarc.fr/factsheets/populations/factsheet.asp?uno=484#BOTH>
9. Salcedo Vargas Mauricio et al., (2003), "Micro arreglos en oncología" VERTIENTES Revista Especializada en Ciencias de la Salud, 6(1):19-25, 2003.
10. Velculescu VE, Zhang L, Vogelstein B, and Kinzler KW. (1995). "Serial Analysis of Gene Expression". Science 270:484-7 PMID 7570003.

11. Shadeo Ashleen et al, (2007), "Comprehensive serial analysis of gene expression of the cervical transcriptome", BMC Genomics 2007, 8:142.
12. Hideo Matsumura, Stefanie Reich, Akiko Ito, Hiromasa Saitoh, Sophien Kamoun, Peter Winter, Günter Kahl, Monika Reuter, Detlev H. Krüger, and Ryohei Terauchi (2003) "Gene expression analysis of plant host–pathogen interactions by SuperSAGE", PNAS 100: 15718–15723.
13. Hidalgo A, P Piña, G Guerrero, M Lazos, M Salcedo (2003) "A simple method for the construction of small format tissue arrays" Journal Clinical Pathology 2003(56)144–146.
14. Hye-Jeong Park, Byung-Gyu Kim, et al (2008) "Proteomic Profiling of Endothelial Cells in Human Lung Cancer"; Journal of Proteome Research 2008(7) 1138–1150.
15. Anil Batta, KMDS Panag, Navneet Kaur (2012) "Carcinoma Lung---Major updates in Biomarkers for early Diagnosis" Int J Biol Med Res. 2012; 3(3):1974-1981.
16. L. Benesova, B. Belsanova, G. Veprekova, S. Suchanek, P. Minarikova, L. Lipska, M. Levy, V. Visokai, M. Zavoral, M. Minarik, "Mutation-based detection and monitoring of cell-free tumor DNA in peripheral blood of cancer patients", Analytical Biochemistry, revisado febrero 2013 de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003269712003314>
17. TMPO thymopoietin[Homo sapiens] Gene ID: 7112, updated on 5-Aug-2012 disponible en (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7112>).
18. Murphree AL, Benedict WF (1984). "Retinoblastoma: clues to human oncogenesis". Science 223(4640): pp. 1028–33.
19. Münger K, Howley PM (2002). "Human papillomavirus immortalization and transformation functions". Virus Res. 89 (2): pp. 213–28.
20. Ward MC, van der Watt PJ, Tzoneva G, Leaner VD. (2011) "Deregulated LAP2 α expression in cervical cancer associates with aberrant E2F and p53 activities" IUBMB Life. 2011 Nov;63(11):1018-26.

21. Hye-Jin Sung & Je-Yoel Cho; "Biomarkers for the lung cancer diagnosis and their advances in proteomics"; BMB reports 2008; 41(9): 615-625.
22. Williams C, Helguero L, Edvardsson K, Haldosén LA, Gustafsson JA.; "Gene expression in murine mammary epithelial stem cell-like cells shows similarities to human breast cancer gene expression" Breast Cancer Res. 2009;11(3):R26.
23. Zhao J, Yu H, Lin L, Tu J, et al, "Interactome study suggests multiple cellular functions of hepatoma-derived growth factor (HDGF)" J Proteomics. 2011 Dec 21;75(2):588-602.
24. Golub, T., Slonim, D., Tamayo, P., Molecular classification of cancer: "Class discovery and class prediction by gene expression monitoring". Science 1999; 286: 531-37.
25. Khan J., Bittner M, Chen Y y cols. DNA microarray technology: "The anticipated impact on the study of human disease". Biochem Biophys Acta.1423: m17-28.
26. Shipp M, Ross K, Tamayo P y cols. "Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction gene expression profiling and supervised machine learning". Nat. Medicine 2002; 8:68-74.
27. Perez-Plasencia C, Riggins G, Vazquez-Ortiz G, Moreno J, Arreola H, Hidalgo A, Pina-Sanchez P, Salcedo M: "Characterization of the global profile of genes expressed in cervical epithelium by Serial Analysis of Gene Expression (SAGE)". BMC Genomics (2005), 6:130.
28. Pantomics tissue array:
<http://www.pantomics.com/TissueArrays/Human/Multi-system/MTU951.aspx>
29. McCabe M., Low J, et al. "Human polyomavirus BKV transcriptionally activates DNA methyltransferase 1 through the pRb/E2F pathway" Oncogene (2006) 25, 2727–2735.
30. Polager S., Ginsberg D. "p53 and E2F:partners in life and death" Nature (2009), 9:738-748.
31. Todd W. Miller, Justin M. Balko, Emily M. Fox, et al "ER α -Dependent E2F Transcription Can Mediate Resistance to Estrogen Deprivation in Human Breast Cancer" Cancer Discovery (2011); 1:338-351.
32. Anticuerpo monoclonal de ratón anti LAP2 humana. (TMPO):
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/I3414?lang=es®ion=MX>

33. Mouse/Rabbit Immuno-Detector HRP with DAB:
<http://www.biosb.com/mouserabbit-immunodetector-hrp-with-dab/>
34. Choi CH, Kim KH, Song JY, et al, "Construction of High-Density Tissue Microarrays at Low Cost by Using Self-Made Manual Microarray Kits and Recipient Paraffin Blocks", Korean Journal of Pathology (2013) June; 47(3): 238–244.
35. Dechat T, Sylvia Vlcek, and Roland Foisner, " Review: Lamina-Associated Polypeptide 2 Isoforms and Related Proteins in Cell Cycle-Dependent Nuclear Structure Dynamics", Journal of Structural Biology (2000) 129, 335–345.
36. Trilogy™ (concentrado: 200ml de 20x) cat.920P-06:
http://search.cosmobio.co.jp/cosmo_search_p/search_gate2/docs/CMC_/920P06.20090415.pdf
37. Cancer Staging Manual. (2002), 6th edition. American Joint Committee on Cancer.
38. Harry B. "Outcome Prediction and the Future of the TNM Staging System"
Burke. Journal of the National Cancer Institute. 2004 Oct 6;96(19):1420-5.
39. F. L. Greene. "TNM: Our Language of Cancer". CA Cancer J Clin (2004). May-Jun; 54(3):129-30.
40. Dorner D, Vlcek S, Foeger N, Gajewski A, Makolm C, Gotzmann J, et al. Lamina-associated polypeptide 2 α regulates cell cycle progression and differentiation via the retinoblastoma–E2F pathway. J Cell Biol. (2006);1:83-93.
41. Parise P, Finocchiaro G, Masciadri B, Quarto M, Francois S, Mancuso F, et al. "Lap2 α Expression is Controlled by E2F and Deregulated in Various Human Tumors". Cell Cycle. 2006;12:1331-1341.
42. LaTulippe E, Satagopan J, Smith A, Scher H, Scardino P, Reuter V, et al. "Comprehensive gene expression analysis of prostate cancer reveals distinct transcriptional programs associated with metastatic disease". Cancer Res. 2002;62:4499-506.

Pathology & Oncology Research

Thymopoietin beta and gamma isoforms as a potential diagnostic molecular marker for breast cancer: preliminary data

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	Thymopoietin beta and gamma isoforms as a potential diagnostic molecular marker for breast cancer: preliminary data
Article Type:	Research
Keywords:	Thymopoietin; isoforms; molecular marker; breast cancer.
Corresponding Author:	Mauricio Salcedo, Ph.D. Instituto Mexicano del Seguro Social D.F., D.F. MEXICO
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Instituto Mexicano del Seguro Social
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Daniel Marrero-Rodriguez, Ms.C.
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Daniel Marrero-Rodriguez, Ms.C. Keiko Taniguchi-Ponciano, Ms.C. Julio Lopez-Sleman, MD Pablo Romero-Morelos, Ms.C. Monica Mendoza-Rodriguez, Ms.C. Israel Garcia, MD  Victor Huerta-Padilla, B.S.C. Lucero Paniagua-Garcia, Ms.C. Alejandra Mantilla, MD Armando Duarte, MD Patricia Piña, Ph.D. Ricardo Lopez-Romero, Ph.D. Miriam Rodriguez-Esquivel, Ms.C. Florinda Jimenez-Vega, Ph.D. Mario Alvarez-Blanco, MD Raul Peralta-Rodriguez, Ph.D. Mauricio Salcedo, Ph.D.
Order of Authors Secondary Information:	
Abstract:	Background: Thymopoietin (TMPO) is an inner nuclear membrane protein, the coding gene named equally, can give arise to six isoforms by alternative splicing. This gene has been found up regulated in several types of cancer. At present work, we evaluated the TMPO isoforms generated by alternative splicing as well as the protein signal detection in breast cancer samples. Methods: TMPO expression was analyzed by immunohistochemistry in tissue microarray containing 46 breast tissue samples including normal (n=6), benign lesions

	<p>(n=18) (fibroadenomas (n=6), fibrocystic changes (n=6), ductal hyperplasias (n=6)) and breast carcinoma (n=22). Isoforms -α, -β and -γ of TMPO were evaluated using RT-PCR; clinical-pathological correlation analysis were done by mean of X2.</p> <p>Results: Neither the normal nor the benign lesions of the breast showed positive TMPO immunodetection, whilst 45% of the breast carcinomas were immunopositive (p=0.000), nine of 10 positives carcinomas correspond to the Luminal A subtype.</p> <p>Further, alpha isoform was present in all breast samples analyzed; however, beta and gamma isoforms were only present in 10 (p=0.003) and 17 (p=0.000), respectively, in the breast carcinomas. Conclusions: According with the present data, we suggest that TMPOβ and -γ isoforms could provide a potential reliable diagnostic marker for breast cancer.</p>
Suggested Reviewers:	<p>Gregory Riggins, Ph.D. Leading researcher, Johns Hopkins griggin1@jhmi.edu Professor of Neurosurgery and Oncology at Johns Hopkins, Dr. Gregory Riggins directs the Brain Cancer Biology and Therapy Research Laboratory. The main goal of his research is to locate and evaluate molecular targets for new brain tumor therapies. A major component of this research is the location of new small molecules.</p> <p>Dr. Riggins is the inaugural recipient of the Irving J. Sherman, M.D. Research Professorship in Neurosurgery Research. He is author of more than 60 research publications. He has worked with the Cancer Genome Anatomy Project to coordinate a large cancer gene expression database, SAGE Genie.</p> <hr/> <p>Ping Tang, Ph.D. Leading researcher, University of Rochester ping_tang@urmc.rochester.edu Dr. Tang is a surgical pathologist with a subspecialty interest in breast pathology. Her current research focuses on the use of immunocytochemical analysis to identify breast tumors with a high risk for bone metastasis.</p>