

## Detección de la interleucina 15 en muestras de tejido de cáncer de vejiga y su relación con el grado de avance tumoral

Martínez-Cordoves K<sup>1</sup>, Santos-Savio A<sup>1</sup>, Moro-Martínez A<sup>2</sup>, Rodríguez-Álvarez Y<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología; <sup>2</sup>Instituto Nacional de Oncología y Radiología, La Habana, Cuba

Email: [klaudia.martinez@cigb.edu.cu](mailto:klaudia.martinez@cigb.edu.cu)

### RESUMEN

El cáncer de vejiga es responsable del 5 % de todas las muertes relacionadas con el cáncer. En los últimos años se ha trabajado en la identificación de un biomarcador para esta enfermedad pues la citología urinaria se considera una técnica de diagnóstico invasiva para los pacientes. Existen evidencias que apoyan el papel de las citocinas inflamatorias y proinflamatorias en la invasividad del cáncer de vejiga tales como IL-6, IL-8, IL-17 e IL-20. La IL-15 es una citoquina proinflamatoria que potencia tanto la respuesta inmune innata como adaptativa y varias evidencias sugieren que la misma puede promover el inicio y desarrollo de ciertos tipos de neoplasias malignas. La línea celular de carcinoma renal RCC expresa la IL-15 como proteína integral de membrana y su estimulación por la cadena  $\alpha$  soluble del receptor desencadenan una señal necesaria y suficiente para inducir la transdiferenciación epitelial-mesenquimal (EMT), proceso crucial en la progresión tumoral y desarrollo de metástasis. Nuestro grupo estudió la presencia de IL-15 e IL-15R $\alpha$  en tejidos de cáncer de vejiga por inmunohistoquímica y se observaron diferencias en la localización celular de IL-15 entre los pacientes. Se encontró expresión nuclear de la proteína en tumores de bajo grado, y en la membrana nuclear, en pacientes con tumores de alto grado. La localización de la IL-15R $\alpha$  no varió según el estadio tumoral. Estos resultados sugieren un vínculo de la IL-15 con la patología del cáncer de vejiga, no descrita anteriormente y abre la puerta a futuros estudios para elucidar el mecanismo que

conduce a la identificación de diferencias en el tráfico celular de IL-15 e IL-15R $\alpha$  y su asociación con grado tumoral en esta patología.

**Palabras clave:** Interleucina-15, citocina, tejido tumoral de vejiga.

## INTRODUCCIÓN

La Interleucina-15 (IL-15) es una citocina con un rol importante en la interface entre la inmunidad innata y adaptativa como potenciador de la respuesta inmune, y como factor imprescindible para el mantenimiento y desarrollo de las células NK y T CD8 de memoria. Estas funciones hacen atractivo su uso como potenciador inmunopotenciador, sin embargo su rol en cáncer es debatido, considerando su efecto en la patogénesis de algunos tipos de cáncer.<sup>1</sup> En células de carcinoma renal y de cáncer de próstata se detectó la expresión de una nueva forma de presentación de la IL-15, unida a la membrana de la célula tumoral, que activa el mecanismo de transición epitelio mesenquimal, propiciando el proceso de metástasis.<sup>2</sup> Sin embargo, muy poco se ha estudiado sobre el rol de esta citocina en cáncer de vejiga, otro cáncer del tracto genitourinario de muy alta incidencia.

## OBJETIVO

Estudiar la presencia y localización de la IL-15 en tumores de cáncer de vejiga y su relación con el grado de malignidad del tumor mediante la determinación de su localización celular en tejido tumoral de vejiga y la determinación de alguna relación entre la forma de presentación de esta citocina y el grado de malignidad del tumor.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó con 34 fragmentos de tejidos de pacientes diagnosticados con cáncer de vejiga entre agosto del 2009 y diciembre del 2012. Se empleó el método de inmunohistoquímica en microarreglo de tejido (TMA) de 24 muestras, teñidas con un anticuerpo específico para la IL-15h (ab85010; Abcam). Todos los resultados fueron revisados por un patólogo especializado en

tracto genitourinario. Seguidamente se aisló el ARN del tejido tumoral incluido en parafina, para la amplificación por RT-PCR del gen de la IL-15. Se empleó un par de oligonucleótidos que amplifica las dos isoformas del gen (5'ATGAGAATTCGAAACCAT3'; 5'AGAAGTGTTGATGAACATTTGGA3').



## RESULTADOS

En los 34 tejidos analizados, se detectó la presencia de IL-15 y en dos de ellos, la tinción fue débil. También se encontraron dos patrones de expresión bien definidos. En 14 tejidos se detectó la IL-15 en el núcleo de la célula epitelial tumoral y en los restantes 20 en la membrana nuclear de estas células. Solo en cuatro de ellos, coincidieron células con tinción nuclear y en membrana nuclear. Se encontró coincidencia entre la localización nuclear de la IL-15 y la clasificación en tumor de bajo grado, así como entre la localización de la IL-15 en la membrana nuclear y la clasificación en tumor de alto grado. Posteriormente se amplificó el gen de la IL-15 en estas muestras obtenidas a partir de tejido de cáncer de vejiga incluido en parafina. Se observó la amplificación de una banda mayoritaria de 486 pb que debe corresponder con la isoforma LSP-IL-15. Para verificar su identidad se purificó a partir de una electroforesis de agarosa de bajo punto de fusión utilizando el kit de Promega (No. Catálogo A9281) y la secuenciación de ADN confirmó que la banda de 486 pb corresponde a la isoforma LSP-IL-15 que codifica para la señal de secreción de 48 aa. Sin embargo, no se observó la banda de 605 pb correspondiente a SSP-IL-15 en los tejidos de cáncer de vejiga.

## CONCLUSIONES

1. Se observó una alta relación entre la presencia de la IL-15 en la membrana nuclear y la clasificación de tumores de alto grado así como la expresión nuclear con tumores de bajo grado.
2. A partir de ARN extraído del tejido tumoral de vejiga parafinado, solo amplificó por RT-PCR, la isoforma LSP-IL-15.

## RECOMENDACIONES

Estudiar en líneas celulares de vejiga la localización celular de IL-15 e IL-15R $\alpha$  y los mecanismos que regulan su tráfico celular.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Pagliari D, Frosali S, Landolfi R, Cianci R. The Role of IL-15 in Human Cancer: Friend or Foe? *Int Trends Immun*, 2013; 1(2):35-42.
2. Budagian VVV, Bulanova E, Orinska Z, Pohl T, Borden EC, Silverman R, Bulfone-Paus S. Reverse signalling through membrane bound Interleukin-15. *J Biol Chem*. 2004;279(40): 42 192-201

