

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION



Análisis Molecular de los Transportadores de Vitamina C en Cáncer de Colon

Tesis de Magister presentada a la Dirección de Postgrado de la Universidad de Concepción como parte de los requisitos para optar al Grado de Magister en Bioquímica Clínica e Inmunología

Por

Marilyn Denisse Vergara Valenzuela

Concepción – Chile
2012

5. RESUMEN

La vitamina C es un micronutriente esencial para el ser humano y debe adquirirse por medio de la dieta, ya que no puede ser sintetizada por el organismo porque existe una alteración en el gen que codifica para la enzima L-gulono-1,4-lactona oxidasa, importante en la etapa final de síntesis de esta vitamina. La Vitamina C es un potente antioxidante capaz de reducir tanto peróxido, hidroxilo, radicales superóxido y peroxinitrilo. También posee un rol como cofactor enzimático, por ejemplo en la biosíntesis de colágeno, carnitina y norepinefrina.

La vitamina C es transportada al interior celular a través de dos sistemas de transporte, distintos y específicos para su forma reducida u oxidada respectivamente. La vitamina C oxidada, el ácido deshidroascórbico, es transportada por la familia de los transportadores facilitativos de glucosa, los GLUTs, los que se encuentran ampliamente distribuidos en mamíferos y comprenden 14 formas que presentan distinta distribución tisular y características funcionales. La vitamina C reducida, el ácido ascórbico, es transportada al interior celular por medio de transportadores acoplados a sodio, los SVCTs, con dos formas, SVCT1 y SVCT2, que presentan propiedades funcionales distintas y una distribución tisular y celular diferenciada. SVCT1 se expresa abundantemente en hígado, riñón e intestino, mientras que SVCT2 está más ampliamente distribuido y es expresado en riñón, intestino, cerebro, hueso y glándula adrenal, entre otros tejidos.

Mucho se ha especulado sobre el rol que tendría la vitamina C sobre las células cancerígenas; distintos estudios evidencian su aporte en la prevención y tratamiento del cáncer, pero también se ha encontrado que niveles elevados de vitamina C tendrían un efecto dañino en el ADN. Sin duda, la concentración de vitamina C administrada es un

parámetro a considerar para poder establecer si la vitamina C efectivamente posee un rol protector frente al cáncer.

El cáncer es la segunda causa de muerte a nivel mundial, y dentro de esto, el cáncer de colon y recto representa la segunda o tercera causa, dependiendo del sexo del paciente. En lo que respecta a Chile, el porcentaje de mortalidad por esta patología asciende al 9%, lo cual sin duda representa un problema emergente de salud pública. Existe evidencia indicando que existe un mayor contenido de vitamina C en tejido tumoral que en tejido normal, lo cual sugiere que podrían ocurrir cambios en el patrón de expresión de los transportadores de vitamina C, SVCT1 y SVCT2 en cáncer. Estas adaptaciones metabólicas estarían asociadas a un potencial redox aumentado como resultado de un aumento en la capacidad de las células tumorales para adquirir la vitamina C.

En esta tesis se analizó si existen alteraciones en la expresión de los transportadores de vitamina C SVCT1 y SVCT2 en cáncer de colon, utilizando las técnicas de inmunohistoquímica e hibridación *in situ*. Basado en estudios preliminares, nuestra hipótesis de trabajo es que la progresión tumoral durante el desarrollo del cáncer de colon se ve acompañada de un aumento de la expresión del transportador de ácido ascórbico SVCT2. Para examinar la validez de esta hipótesis, lo primero que se realizó fue un estudio de expresión a nivel de proteína por inmunohistoquímica, utilizando anticuerpos policlonales con especificidad para SVCT1 o SVCT2. Posteriormente se elaboraron sondas de ARNm (sense y antisense) a partir de los correspondientes cDNA para SVCT1 y SVCT2 clonados en el laboratorio, sondas de elevada especificidad dirigidas contra la región de menor similitud de secuencia entre ambos transportadores. Una vez obtenidas las sondas, se cuantificaron y se utilizaron en primera instancia para estandarizar la técnica de