

SFRP1, Posible biomarcador en la progresión o regresión de lesiones de cérvix asociado al Virus del Papiloma Humano

Juvenal Darío Baena-Acevedo¹, Dabeiba Adriana^{1,*}, García-Robayo, Ángel Cid-Arregui², Fabio Aristizábal-Gutiérrez³, Diego Andrés Castañeda-Peláez⁴

Resumen

Objetivo: Comparar la expresión de mRNA y proteínas de SFRP1, PTPRN, CDO1, EDNRB, CDX2, EPB41L3 y HAND1 en pacientes con lesión intra-epitelial cervical de bajo y alto grado, con posterior progresión o regresión.

Material y Método: Se realizó análisis de expresión de genes mediante RT-PCR y análisis de expresión de proteínas por inmunohistoquímica. El análisis estadístico fue realizado con las pruebas: Wilcoxon, coeficiente de correlación de Spearman e índice de concordancia. Las muestras fueron pareadas en momento 1 y momento 2.

Resultados: SFRP1 mostró tendencia de mayor expresión de mRNA en lesión intra-epitelial de bajo grado (momento 2) Vs. alto grado (momento 1). La expresión de proteínas por inmunohistoquímica de SFRP1 en casos de progresión (83,3 %) mostró disminución en su graduación ($p = 0,0313^*$); los demás genes en estudio no tuvieron cambios estadísticamente significativos.

Discusión: SFRP1 mostró comportamiento ajustado a resultados de estudios previos donde se encontró hipermetilado en lesiones intra-epiteliales de alto grado; su subexpresión por hipermetilación se reportó en otros cánceres, proceso que colabora con su silenciamiento y transición epitelial-mesenquimatosa del cáncer de cuello uterino. Conclusiones. SFRP1 es potencial biomarcador en lesiones preneoplásicas del cuello uterino asociadas al virus de papiloma humano.

Palabras claves: SFRP1, VPH, Cáncer cervical, Progresión, Regresión

SFRP1, Possible Biomarker in the Progression or Regression of Cervical Pre-neoplastic Lesions Associated with Human Papilloma Virus

Abstract

Objective. The aim of this work was to compare the expression of mRNA and proteins of SFRP1, PTPRN, CDO1, EDNRB, CDX2, EPB41L3 and HAND1 in patients with low and high grade cervical intraepithelial lesion, with subsequent progression or regression.

Material and Methods: Gene expression analysis was conducted through RT-PCR and protein expression analysis was performed by immunohistochemistry. The statistics analysis were Wilcoxon test, Spearman's correlation coefficient and concordance index. The samples were paired during moment 1 (initial patient diagnosis) and moment 2 (follow-up histological diagnosis).

Results: SFRP1 showed a trend of higher mRNA expression in low-grade intra-epithelial lesions (moment 2) Vs. high-grade (moment 1). The expression of proteins by immunohistochemistry of SFRP1 in progression cases (83.3%) showed a decrease in its graduation ($p = 0.0313^*$); the other genes under study had no statistically significant.

Discussion: SFRP1 showed a biological behavior adjusted to the results of previous studies where hypermethylation was found in high-grade intra-epithelial lesions; its subexpression by hypermethylation has been reported in other cancers, a process that collaborates with its silencing and epithelial-mesenchymal transition of cervical. Conclusions. SFRP1 is a potential biomarker in preneoplastic lesions of the cervix associated with human papillomavirus.

Key words: SFRP1, HPV, Cervical cancer, Progression, Regression

1 Laboratorio Centro de Investigaciones Odontológicas, Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

2 Targeted Tumor Vaccines, German Cancer Research Center (DKFZ), Im Neuenheimer Feld 280, 69120 Heidelberg, Germany

3 Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia

4 Facultad de Odontología, Universidad Antonio Nariño, Armenia, Quindío.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: garciad@javeriana.edu.co.

Tel.: +5713208320 ext. 2899

Recibido: 09/11/2020; Aceptado: 27/02/2021

Cómo citar este artículo: J.D. Baena-Acevedo, *et al.* SFRP1, Posible biomarcador en la progresión o regresión de lesiones de cérvix asociado al Virus del Papiloma Humano. *Infectio* 2021; 25(4): 270-275

Introducción

El cáncer de cuello uterino (CaCU) representa la cuarta causa de incidencia y mortalidad por cáncer en mujeres a nivel mundial. En Colombia, esta enfermedad representa la quinta y cuarta causa en incidencia y mortalidad, respectivamente¹. La carcinogénesis del CaCU comienza con la infección de células epiteliales por el virus del papiloma humano (VPH) en 99,9 % de los casos, generando lesiones intra-epiteliales de bajo (LIEBG) y alto grado (LIEAG), hasta continuar con la aparición del CaCU infiltrante². Sin embargo, este proceso no siempre es continuo y, por el contrario, aproximadamente un 60 % de LIEBG regresan y sólo un 10 % de ellos progresan a LIEAG³. Teniendo como antecedente los resultados previos obtenidos por García et al.⁴, que detectaron 132 genes tumores-supresores hipermetilados y subexpresados en muestras de cuello uterino normal, displásico y tumoral infiltrante, siete de ellos presentaban evidencia científica de su hipermetilación en cáncer humano y fueron escogidos como posibles biomarcadores: SFRP1, PTPRN, CDO1, EDNRB, CDX2, EPB41L3 y HAND1. El propósito del presente estudio fue evaluar si la cuantificación de la expresión de mRNA y la valoración cualitativa por estudio de inmunohistoquímica en este grupo de genes candidatos pudieran predecir la progresión o regresión de una lesión intra-epitelial escamosa del cuello uterino.

Materiales y métodos

Obtención de muestras

Se diseñó un estudio longitudinal con biopsias en parafina de pacientes con lesión intra-epitelial escamosa cervico-uterina de bajo y alto grado, quienes tuvieron posteriormente progresión o regresión de la misma. El estudio contó con aprobación del comité de ética de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana (acta 004 de 2013). Los tejidos en parafina fueron suministrados por "Estudios Anatomopatológicos Ltda" quien actuó como custodio. A cada bloque de parafina, se les realizaron dos cortes (inicial y final) de 3µm para estudio histológico y verificación de la lesión, dos cortes de 5µm para extracción del ARN y 5 cortes de 3µm para análisis de inmunohistoquímica.

Extracción de ARN y RT-PCR

Las biopsias se incluyeron en parafina; para la extracción del ARN, los bloques se desparafinaron y para la extracción se utilizó el kit AllPrep DNA/RNA/ Protein Qiagen®, seguido del proceso de digestión con DNase I Invitrogen® y retro-transcripción con el kit Super Script VILO de Invitrogen®. La cuantificación de concentración de cDNA se realizó con Nanodrop 1000®, manteniendo conservadas las muestras a -70 °C. Los genes incluidos en el estudio fueron SFRP1, PTPRN, CDO1, EDNRB, CDX2, EPB41L3 y HAND1, de quienes se les realizó RT-PCR (Tabla 1), en el equipo CFX96-Biorad® utilizando 1X de Fast SybrGreen de Kappa, 200 nM de cada cebador y 10 ng de cDNA para un volumen final de 10 µL para cada uno de ellos. Como control, se utilizó el gen β-Actina. Finalmente, se obtuvo el Fold Change (2 Ct actina – Ct gen

blanco) para los genes en estudio, analizados con el programa estadístico GraphPad Prism versión 6.0 (GRAPH PAD software Inc., California, USA).

Inmunohistoquímica

Los cortes fueron colocados en láminas Slidetect®, se desparafinaron a 60°C por 2 horas, se deshidrataron con xilol y alcohol, se aplicó peróxido de hidrógeno y solución lavadora CINtech para ser tratados con calor por 40 minutos en recuperador novocastra en steamer OSTER. Posteriormente, se lavaron y bloquearon con Power Block por 10 min; luego se aplicó el anticuerpo primario por 1 hora así: SFRP1 (1:50, Sigma-Aldrich), CDO1 (1:30, Sigma-Aldrich); CDX2 (1:150, Sigma-Aldrich), EPBL41L3 (1:1000, Sigma-Aldrich) y HAND1 (1:150, Sigma-Aldrich). Finalmente, se utilizó el kit Super sensitive™ y Liquid DAB Substrato-Cromógeno, como contraste se usó hematoxilina.

Las muestras fueron analizadas independientemente por dos médicos patólogos y luego se confrontaron sus resultados. En casos donde no existió concordancia, las láminas fueron revisadas nuevamente de manera conjunta por los patólogos hasta llegar a un diagnóstico definitivo sobre la expresión del marcador de inmunohistoquímica (IHQ). La tinción de las láminas para estudio de IHQ fue graduada como "0" (ausencia de expresión en células neoplásicas); "1+" (presencia de expresión entre 1 % y 25 % entre células neoplásicas); "2+" (presencia de expresión entre 26 % y 50 % entre células neoplásicas); "3+" (presencia de expresión mayor a 50 % entre células neoplásicas)⁵.

Análisis de datos

Mediante el software GraphPad Prism v. 6.0, se realizaron las pruebas no paramétricas Wilcoxon, coeficiente de correlación de Spearman y el índice de concordancia (Kappa) para los dos patólogos fue de 0,82 (Muy buena concordancia). Para el análisis estadístico, se compararon los resultados en dos momentos diferentes del grado histológico de la lesión de cada uno de los pacientes; por lo tanto, estas muestras pareadas tuvieron un "momento 1" (diagnóstico inicial de la paciente) y un "momento 2" (diagnóstico histológico de seguimiento).

Resultados

Descripción de las muestras del estudio

Se incluyeron las muestras correspondientes a seis pacientes con progresión y cinco con regresión de la lesión intra-epitelial escamosa, con promedios de edades de 32,7 y 36,6 años para los grupos de progresión y regresión, respectivamente. La mayoría de las muestras con progresión (66,6 %) indicaron un cambio de NIC I hacia NIC II; uno de los casos progresó de NIC II a NIC III (16,7 %) y el restante de NIC III a carcinoma infiltrante (16,7 %). Con respecto al intervalo en meses entre el diagnóstico del "momento 1" Vs. "momento 2", éste fue en promedio de 25,6 y 22 meses para los grupos de progresión y regresión, respectivamente. Las muestras incluidas fueron obtenidas a través de biopsias y producto de conización (Tabla 2).

Tabla 1. Primers y condiciones estandarizadas para cada uno de los genes

| Gen | Número de acceso | Primer | Tamaño | Temp. Anillado | Temp. Melt |
|---------|--------------------|---|--------|----------------|------------|
| ACTINA | NM_001101.3 | F: 5' : ATGCCGACAGGATGCAGA-3 R: 5' : GAGTACTTGCCTCAGGAGGA-3 | 89 | 63°C | 88.50 |
| SFRP1 | NM_003012.4 | F: 5' : CTACGTGAGCTCCAGTCGG-3 R: 5' : GCGTGGCAGTTCTTGTGAG-3 | 216 | 63°C | 88.50 |
| PTPRN | NM_002846.3 | F: 5' : GCAGTGTCTCCAGTTC-3 R: 5' : CAGGTGTTGGCTCTGCTTG-3 | 214 | 63°C | 88.50 |
| CDO1 | NM_001801.2 | F: 5' : CCCCACGAGATGGAACAGAC-3 R: 5' : CGAACTTGGCGTACATTGCC-3 | 169 | 63°C | 88.50 |
| EDNRB | NM_00120139 7.1 | F: 5' : GAACAAGTGCATGCGAAACG-3 R: 5' : AGGCACCAGCTTACACATCT-3 | 151 | 61°C | 88.00 |
| CDX2 | NM_001265.4 | F: 5' : GGAAAGCTTGGCTGGTGA-3 R: 5' : GACAGGAAGTCCAGGTTGGC-3 | 174 | 61°C | 88.50 |
| EPB41L3 | NM_012307.3 | F: 5' : GCAGTGCAAAGTGATACTTC-3 R: 5' : TCTGGTGGATAAAATTCACAT-3 | 246 | 65°C | 88.50 |
| HAND1 | NM_004821.2 | F: 5' : GTCCGAGAAGGGTTAAACA-3 R: 5' : CCCTATTAACGCCGCTCCA-3 | 195 | 65°C | 88.50 |

Expresión de mRNA y proteína de genes en estudio

SFRP1 no mostró una tendencia ni cambios significativos en la expresión de mRNA en los casos de progresión (Fig. 1a). Sin embargo, en los casos de regresión, hubo una tendencia de mayor expresión en muestras de LIEBG (momento 2) Vs. LIEAG (momento 1). Esta diferencia de expresiones de mRNA fue estadísticamente significativa ($p = 0,030^*$), (Tabla 2 y Fig. 1b). En cuanto a la expresión de SFRP1 por IHQ en los casos de progresión, se observó que al comparar el grado de tinción evidenciado en las muestras del momento 2 Vs. momento 1, hubo cinco de seis casos (83,3 %) que disminuyeron en su graduación ($p = 0,0313$). En los casos de regresión no hubo variación estadísticamente significativa ($p = 0,2500$) en la expresión de SFRP1 (Tabla 3, Fig. 2a – 2b).

PTPRN mostró mayor expresión en muestras con displasia severa o carcinoma infiltrante (momento 2) en comparación con las muestras del diagnóstico inicial (momento 1), las cuales fueron predominantemente de displasia leve (Tabla 2 y Fig. 1c). Este incremento fue observado en cinco de seis pacientes (83,3 %) con una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,03^*$). En los casos de regresión, PTPRN también mostró la tendencia mayor expresión de mRNA en las muestras del momento 2, las cuales todas corresponden a NIC I. No obstante, esta diferencia de expresiones no fue estadísticamente significativa ($p = 0,07$) (Fig. 1d).

CDX2 no mostró una tendencia definida ni cambios significativos con respecto a la expresión de mRNA, tanto en casos de progresión como de regresión (Fig. 1e-1f). En cuanto a su expresión por IHQ en los casos de progresión, hubo cinco de seis casos (83,3 %) que mostraron disminución en su graduación ($p = 0,0313$). Por otra parte, con respecto a los casos de regresión, no existió variación de su expresión estadísticamente significativa ($p = 0,2500$) (Tabla 3, Fig. 2a – 2b).

Para el caso de los genes CDO1, EDNRB, EPB41L3 y HAND1, estos no mostraron ningún tipo de tendencia definida ni cambios significativos en sus expresiones de mRNA, tanto para los casos de progresión como de regresión. Caso similar fue observado con relación a la variación en la graduación de sus expresiones para aquellos también analizados por IHQ (Tabla 3).

Correlación de expresiones por RT-PCR - Inmunohistoquímica

Para obtener el coeficiente de correlación de Spearman, se consideraron las siguientes categorías: 1= aumento expresión génica y proteica momento 2 vs momento 1, 2= disminución expresión génica y proteica momento 2 vs momento 1, y 3= sin cambios momento 2 vs momento 1. Todos los

Tabla 2. Relación de muestras con progresión y regresión. Edad de la paciente en el momento 1. Intervalo corresponde a la diferencia en meses entre las fechas de momento 2 y momento 1.

| Caso | Edad | Momento 1 | Momento 2 | Intervalo (meses) |
|-----------------|------|-----------|-----------------|-------------------|
| Progresión N° 1 | 28 | NIC I | NIC II | 32 |
| Progresión N° 2 | 25 | NIC I | NIC II | 43 |
| Progresión N° 3 | 34 | NIC I | NIC II | 21 |
| Progresión N° 4 | 38 | NIC III | Ca. Infiltrante | 17 |
| Progresión N° 5 | 29 | NIC II | NIC II | 28 |
| Progresión N° 6 | 42 | NIC I | NIC II | 13 |
| Caso | Edad | Momento 1 | Momento 2 | Intervalo (meses) |
| Regresión N° 1 | 45 | NIC II | NIC I | 11 |
| Regresión N° 2 | 31 | NIC II | NIC I | 28 |
| Regresión N° 3 | 27 | NIC II | NIC I | 18 |
| Regresión N° 4 | 30 | NIC II | NIC I | 31 |
| Regresión N° 5 | 35 | NIC II | NIC I | 32 |

genes mostraron un coeficiente de correlación positivo; sin embargo, SFRP1 mostró el mayor coeficiente tanto para progresión como regresión con valores de 0,6 y 0,7, respectivamente, aunque sin significancia estadística (Tabla 4).

Discusión

El CaCU es una entidad de interés creciente en Colombia debido al alto costo económico, personal y social que implica su tratamiento, y a las cifras epidemiológicas que indican un incremento de la incidencia y mortalidad en el país⁶. La asociación con la infección por VPH está ampliamente justificada en la literatura, así como la posibilidad de prevenirlo en estadios tempranos⁷; sin embargo, las relaciones de progresión y regresión han sido difíciles de establecer debido a dificultades de recolección de muestras; pese a lo anterior, los hallazgos del presente estudio muestran importantes hallazgos en relación con SFRP1.

SFRP1 es un regulador negativo de la vía de señalización WNT. El presente estudio mostró un aumento de la expresión de RNA en todos los casos de regresión, con disminución de la expresión por IHQ en 83 % de los casos de progresión. Este comportamiento biológico de SFRP1 se ajusta a resultados publicados en estudios previos donde se encontró hipermetilada la región promotora del gen, en tejido cervical con LIEAG8-11. Adicionalmente, la subexpresión de SFRP1 debido a hipermetilación (regulación negativa) fue reportada en varios cánceres, como carcinoma hepatocelular¹², carcinoma del cuello uterino⁹ y carcinoma de mama^{13,14}, lo cual colabora con su silenciamiento¹⁵ y el proceso de transición epitelial-mesenquimatosa del CaCU¹⁶.

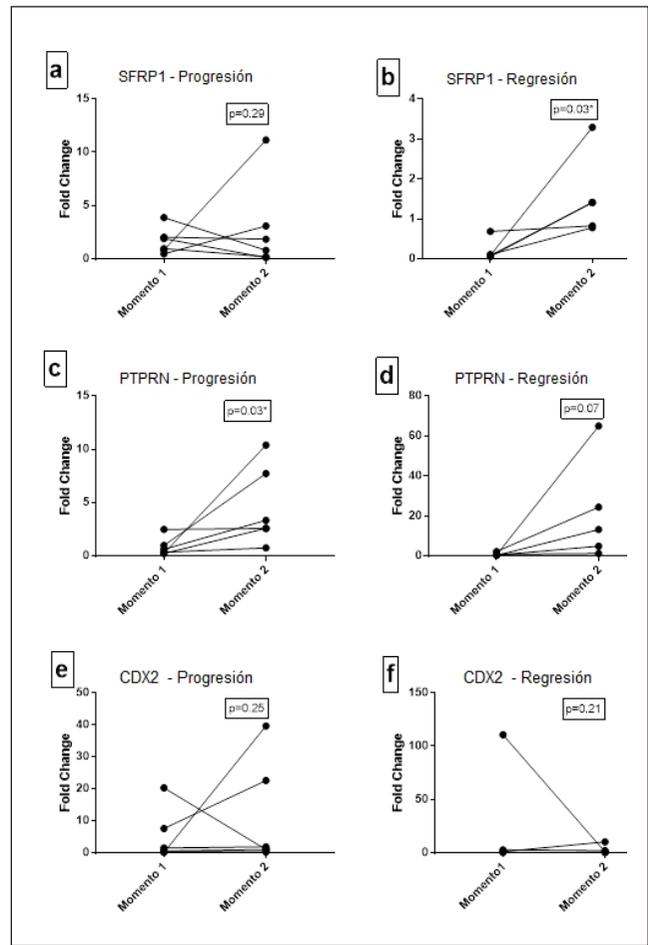


Figura 1. Expresión de SFRP1 (a - b), PTPRN (c - d) y CDX2 (e - f) por medio de RT-PCR

Tabla 3. Graduación de la expresión por IHQ de los genes candidatos en los casos de progresión y regresión.

| Caso | Momento | SFRP1 | CDO1 | CDX2 | EPB41L3 | HAND1 |
|-----------------|---------|-------|------|------|---------|-------|
| Progresión N° 1 | 1 | 3+ | 2+ | 3+ | 1+ | 3+ |
| | 2 | 2+ | 3+ | 1+ | 1+ | 2+ |
| Progresión N° 2 | 1 | 3+ | 3+ | 3+ | 1+ | 3+ |
| | 2 | 1+ | 2+ | 1+ | 0+ | 2+ |
| Progresión N° 3 | 1 | 3+ | 3+ | 3+ | 1+ | 2+ |
| | 2 | 3+ | 1+ | 1+ | 0+ | 3+ |
| Progresión N° 4 | 1 | 2+ | 2+ | 1+ | 1+ | 1+ |
| | 2 | 1+ | 2+ | 1+ | 0+ | 2+ |
| Progresión N° 5 | 1 | 3+ | 3+ | 3+ | 0+ | 2+ |
| | 2 | 1+ | 1+ | 2+ | 0+ | 1+ |
| Progresión N° 6 | 1 | 3+ | 3+ | 3+ | 0+ | 3+ |
| | 2 | 2+ | 2+ | 2+ | 0+ | 2+ |
| Caso | Momento | SFRP1 | CDO1 | CDX2 | EPB41L3 | HAND1 |
| Regresión N° 1 | 1 | 3+ | 1+ | 3+ | 1+ | 3+ |
| | 2 | 3+ | 1+ | 3+ | 1+ | 2+ |
| Regresión N° 2 | 1 | 3+ | 2+ | 3+ | 1+ | 2+ |
| | 2 | 3+ | 2+ | 1+ | 2+ | 3+ |
| Regresión N° 3 | 1 | 3+ | 3+ | 1+ | 1+ | 2+ |
| | 2 | 1+ | 3+ | 1+ | 0 | 1+ |
| Regresión N° 4 | 1 | 3+ | 2+ | 3+ | 2+ | 3+ |
| | 2 | 3+ | 2+ | 3+ | 1+ | 3+ |
| Regresión N° 5 | 1 | 3+ | 3+ | 3+ | 1+ | 3+ |
| | 2 | 1+ | 1+ | 1+ | 1+ | 1+ |

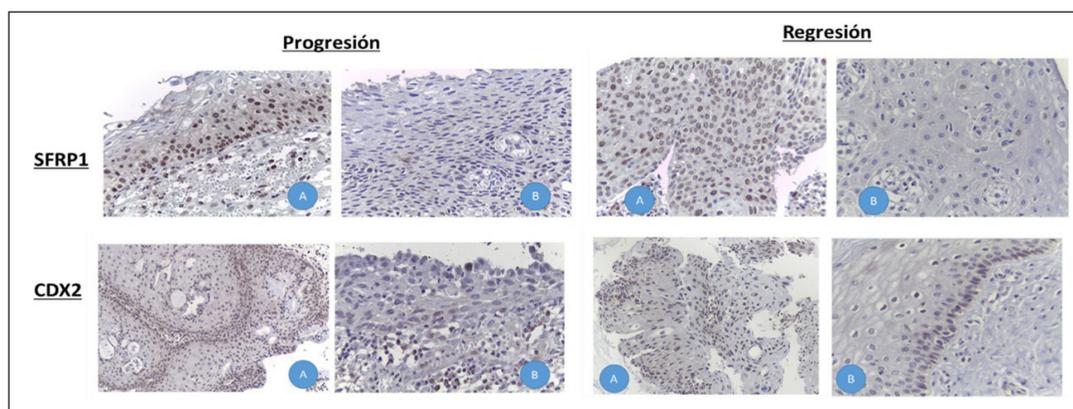


Figura 2. a. Expresión de SFRP1 y CDX2 a través de IHQ en tejido cervical (10x); caso de progresión LIEBG (A), LIEAG (B). **b.** Expresión de SFRP1 y CDX2 a través de IHQ en tejido cervical; caso de regresión LIEAG (A), LIEBG (B).

Tabla 4. Coeficiente de correlación entre niveles de expresión por RT-PCR e Inmunohistoquímica

| | | SFRP1 | CDO1 | CDX2 | EPB41L3 | HAND1 |
|-------------------|------------|-------|-------|-------|---------|-------|
| Progresión | Spearman r | 0,566 | 0,112 | 0,447 | 0,333 | 0,500 |
| | P value | 0,333 | 0,533 | 0,500 | 0,500 | 0,400 |
| Regresión | Spearman r | 0,667 | 0,186 | 0,304 | 0,295 | 0,250 |
| | P value | 0,300 | 0,200 | 0,300 | 0,400 | 0,367 |

Recientemente, se mostró la relación de SFRP1 en la transición epitelial a mesenquimatosa, estaminalidad, proliferación y metástasis en un modelo animal de cáncer epitelial¹⁷; otros estudios en modelos animales expusieron que la restauración en la expresión de SFRP1 conllevó a disminución en la acumulación anormal de beta-catenina intranuclear, así como de proliferación tumoral. Adicionalmente, SFRP1 favoreció la expresión de E-cadherina a través de la inhibición de SLUG, TWIST y SNAIL, que son factores de transcripción involucrados en el proceso de transición epitelio-mesénquima⁹.

PTPRN es un gen que participa en varios procesos biológicos, tales como proliferación, diferenciación y ciclo celular, además de procesos fisiológicos, como la función autónoma, equilibrio agua-sal, reproducción y conducta alimentaria, mediante la secreción de hormonas y neurotransmisores¹⁸. Por otra parte, también fue reportado como hipermetilado en ciertos tipos de cáncer, como carcinoma urotelial¹⁹, ovario²⁰ y está estrechamente relacionado con la tumorigénesis hepática²¹. En nuestro estudio, PTPRN mostró aumento en los niveles de expresión de mRNA en cinco de los seis casos que presentaron progresión de la lesión, lo cual fue observado en el cáncer de pulmón de células pequeñas, asociándose con crecimiento y proliferación tumoral. Adicionalmente, se encontró que una expresión alta de PTPRN está fuertemente asociada con un mal pronóstico en pacientes con Glioblastoma Multiforme²²; pese a esto, los resultados no son concluyentes debido a que un resultado esperado podría ser una disminución en la expresión de este gen.

CDX2 es un biomarcador de maduración y diferenciación del epitelio gastrointestinal. La baja expresión de CDX2 en los tumores de colon ha sido asociado con peor pronóstico de

sobrevida^{23,24}. Con respecto al cuello uterino, CDX2 ha sido detectado con mayor frecuencia por IHQ en tumores del canal endocervical con morfología usual de tipo endocervical y endometrioides²⁵; no obstante, un estudio de adenocarcinomas cervicales invasivos encontró una rara expresión de CDX2, no pudiendo concluir su papel en este tipo de lesiones. A pesar de que nuestro estudio no mostró diferencia significativa en los niveles de expresión de mRNA para los casos de progresión ni regresión, el análisis con inmunohistoquímica sí evidenció disminución en la graduación de la expresión de CDX2 en las muestras de progresión. Por lo tanto, podría plantearse la posibilidad que CDX2 en LIEAG, también le pudiera brindar cierto factor pronóstico favorable, que estaría representado en la regresión de la lesión. Es de anotar, que algunos biomarcadores no presentan correlación directa entre la expresión de mRNA y proteína, lo cual puede ser explicado por limitaciones técnicas o a procesos post-transcripcionales²⁶.

Como limitaciones del estudio se encuentran el análisis de metilación de los biomarcadores evaluados, adicionalmente, realizar un estudio con un tamaño muestral de tipo probabilístico y finalmente, lograr obtener muestras frescas de cepillados cervicales con el fin de minimizar el riesgo en el deterioro de la muestra por el uso de fijadores como el formol.

Conclusión

En conclusión, nuestros resultados mostraron que SFRP1 disminuye significativamente por IHQ en casos de progresión y aumento significativo en la expresión de ARN en casos de regresión, pudiendo ser considerado, por lo tanto, como un potencial biomarcador en las lesiones preneoplásicas del

cuello uterino asociadas al VPH. Además, en el estudio de inmunohistoquímica, SFRP1 mostró adecuada correlación al comparar la expresión obtenida por RT-PCR.

Financiación: El presente proyecto contó con la financiación de la Pontificia Universidad Javeriana (ID 7736, ID 5613).

Conflictos de Interés: los autores declaran que no existen conflictos de interés en el presente proyecto.

Bibliografía

- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018 Nov;68(6):394-424. doi: 10.3322/caac.21492. Epub 2018 Sep 12. Erratum in: *CA Cancer J Clin*. 2020 Jul;70(4):313. PMID: 30207593.
- Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)*. 2006 May;110(5):525-41. doi: 10.1042/CS20050369. PMID: 16597322.
- Ostör AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol*. 1993 Apr;12(2):186-92. PMID: 8463044.
- García D, Abba M, Briceño I, Aristizabal FA, Arregui A. DNA methylation pattern in high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer revealed by genome-wide methylation analysis of cervical DNA. *Integr Mol Med*. 2017 4(5), 1-13.
- Moreno-Acosta P, Carrillo S, Gamboa O, Acosta Y, Balart-Serra J, Magne N, et al. Expresión de marcadores hipoxícos y glucolíticos CAIX, GLUT-1, HKII y su relación con la respuesta temprana al tratamiento en carcinoma escamocelular de cuello uterino. *Progresos de Obstetricia y Ginecología*. 2013 56(8), 404-413.
- Benavides M, Salazar L. Razones que pueden explicar la reducción en la cobertura de vacunación contra VPH en Colombia. Reason to Explain Reduct Cover HPV vaccine Colomb. *Rev CES Salud Pública*. 2017 8 (1), 82-93. ISSN: 2145-9932.
- Serrano B, Brotons M, Bosch FX, Bruni L. Epidemiology and burden of HPV-related disease. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018 Feb;47:14-26. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2017.08.006. Epub 2017 Sep 2. PMID: 29037457.
- Sova P, Feng Q, Geiss G, Wood T, Strauss R, Rudolf V, Lieber A, Kiviat N. Discovery of novel methylation biomarkers in cervical carcinoma by global demethylation and microarray analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006 Jan;15(1):114-23. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-05-0323. PMID: 16434596.
- Chung MT, Lai HC, Sytwu HK, Yan MD, Shih YL, Chang CC, Yu MH, Liu HS, Chu DW, Lin YW. SFRP1 and SFRP2 suppress the transformation and invasion abilities of cervical cancer cells through Wnt signal pathway. *Gynecol Oncol*. 2009 Mar;112(3):646-53. doi: 10.1016/j.ygyno.2008.10.026. Epub 2008 Dec 18. PMID: 19095296.
- García DA, Aristizabal FA, Briceño I. Marcadores moleculares en cáncer de cuello uterino asociado al virus de papiloma humano (VPH). Tesis de doctorado. Pontificia Universidad Javeriana. 2011.
- Mo S, Su Z, Heng B, Chen W, Shi L, Du X, Lai C. SFRP1 Promoter Methylation and Renal Carcinoma Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Nippon Med Sch*. 2018;85(2):78-86. doi: 10.1272/jnms.2018_85-13. PMID: 29731501.
- Shih YL, Hsieh CB, Lai HC, Yan MD, Hsieh TY, Chao YC, Lin YW. SFRP1 suppressed hepatoma cells growth through Wnt canonical signaling pathway. *Int J Cancer*. 2007 Sep 1;121(5):1028-35. doi: 10.1002/ijc.22750. PMID: 17443492.
- Matsuda Y, Schlang T, Oakeley EJ, Boulay A, Hynes NE. WNT signaling enhances breast cancer cell motility and blockade of the WNT pathway by sFRP1 suppresses MDA-MB-231 xenograft growth. *Breast Cancer Res*. 2009;11(3):R32. doi: 10.1186/bcr2317. Epub 2009 May 27. PMID: 19473496; PMCID: PMC2716500.
- Schäfer SA, Hülsewig C, Barth P, von Wahlde MK, Tio J, Kolberg HC, Bernemann C, Blohmer JU, Kiesel L, Kolberg-Liedtke C. Correlation between SFRP1 expression and clinicopathological parameters in patients with triple-negative breast cancer. *Future Oncol*. 2019 Jun;15(16):1921-1938. doi: 10.2217/fon-2018-0564. Epub 2019 May 29. PMID: 31140870.
- Baharudin R, Tieng FYF, Lee LH, Ab Mutalib NS. Epigenetics of SFRP1: The Dual Roles in Human Cancers. *Cancers (Basel)*. 2020 Feb 14;12(2):445. doi: 10.3390/cancers12020445. PMID: 32074995; PMCID: PMC7072595.
- Lee MY, Shen MR. Epithelial-mesenchymal transition in cervical carcinoma. *American journal of translational research*. 2012 4(1):1-13.
- Sunkara RR, Sarate RM, Setia P, Shah S, Gupta S, Chaturvedi P, Gera P, Waghmare SK. SFRP1 in Skin Tumor Initiation and Cancer Stem Cell Regulation with Potential Implications in Epithelial cancers. *Stem Cell Reports*. 2020 Feb 11;14(2):271-284. doi: 10.1016/j.stemcr.2019.12.006. Epub 2020 Jan 9. PMID: 31928951; PMCID: PMC7013199.
- Atari E, Perry MC, Jose PA, Kumarasamy S. Regulated Endocrine-Specific Protein-18, an Emerging Endocrine Protein in Physiology: A Literature Review. *Endocrinology*. 2019 Sep 1;160(9):2093-2100. doi: 10.1210/en.2019-00397. PMID: 31294787.
- Ibragimova I, Dulaimi E, Slifker MJ, Chen DY, Uzzo RG, Cairns P. A global profile of gene promoter methylation in treatment-naïve urothelial cancer. *Epigenetics*. 2014 May;9(5):760-73. doi: 10.4161/epi.28078. Epub 2014 Feb 12. PMID: 24521710; PMCID: PMC4063835.
- Bauerschlag DO, Ammerpohl O, Bräutigam K, Schem C, Lin Q, Weigel MT, Hillpert F, Arnold N, Maass N, Meinhold-Heerlein I, Wagner W. Progression-free survival in ovarian cancer is reflected in epigenetic DNA methylation profiles. *Oncology*. 2011;80(1-2):12-20. doi: 10.1159/000327746. Epub 2011 May 16. PMID: 21577013.
- Zhangyuan G, Yin Y, Zhang W, Yu W, Jin K, Wang F, Huang R, Shen H, Wang X, Sun B. Prognostic Value of Phosphotyrosine Phosphatases in Hepatocellular Carcinoma. *Cell Physiol Biochem*. 2018;46(6):2335-2346. doi: 10.1159/000489625. Epub 2018 May 4. PMID: 29742497.
- Yin W, Tang G, Zhou Q, Cao Y, Li H, Fu X, Wu Z, Jiang X. Expression Profile Analysis Identifies a Novel Five-Gene Signature to Improve Prognosis Prediction of Glioblastoma. *Front Genet*. 2019 May 3;10:419. doi: 10.3389/fgene.2019.00419. PMID: 31130992; PMCID: PMC6509566.
- Dalerba P, Sahoo D, Paik S, Guo X, Yothers G, Song N, et al. CDX2 as a Prognostic Biomarker in Stage II and Stage III Colon Cancer. *N Engl J Med*. 2016 Jan 21;374(3):211-22. doi: 10.1056/NEJMoa1506597. PMID: 26789870; PMCID: PMC4784450.
- Camilo V, Barros R, Celestino R, Castro P, Vieira J, Teixeira MR, et al. Immunohistochemical molecular phenotypes of gastric cancer based on SOX2 and CDX2 predict patient outcome. *BMC Cancer*. 2014 Oct 9;14:753. doi: 10.1186/1471-2407-14-753. PMID: 25300947; PMCID: PMC4210532.
- Sullivan LM, Smolkin ME, Frierson HF Jr, Galgano MT. Comprehensive evaluation of CDX2 in invasive cervical adenocarcinomas: immunopositivity in the absence of overt colorectal morphology. *Am J Surg Pathol*. 2008 Nov;32(11):1608-12. doi: 10.1097/PAS.0b013e31816d71c4. PMID: 18753946.
- Buccitelli C, Selbach M. mRNAs, proteins and the emerging principles of gene expression control. *Nat Rev Genet*. 2020 Oct;21(10):630-644. doi: 10.1038/s41576-020-0258-4. Epub 2020 Jul 24. PMID: 32709985.