



O-225 - Análisis proteico de los fenotipos celulares del carcinoma colorrectal humano y su participación en la carcinogénesis

J. Cervera Aldama¹, J. Losada Rodríguez¹, J. Canduela Pérez², B. Ugarte Sierra¹, J.M. García González¹, R. Sarria Arostegi² y P. Grandes Moreno²

¹Hospital de Cruces, Barakaldo. ²Universidad del País Vasco, Leioa.

Resumen

Objetivos: El objetivo del estudio ha sido identificar proteínas en los tejidos de cáncer colorrectal (CCR) primario humano, utilizando como método de estudio la electroforesis en gel en dos dimensiones (2-DE), para separar y visualizar las proteínas y aplicar la espectrometría de masas para su identificación y establecer la expresión proteica diferencial entre el tejido tumoral y el sano. La tecnología proteómica a través del diseño de redes proteicas y sus interacciones en los fenotipos de las células cancerosas, representa una buena metodología para la mejora de la clasificación del CCR, con vistas al tratamiento.

Métodos: Las muestras provienen de tejidos de pacientes con CCR, intervenidos quirúrgicamente en el Hospital Universitario de Cruces, se obtuvieron de 3 pacientes. En quirófano, inmediatamente a la obtención de la pieza quirúrgica, se recogieron las muestras, un fragmento de CCR y otro de tejido sano distal al tumor, de espesor total de la pared, sin incluir grasa peri-cólica. Se realizó una electroforesis de geles bidimensionales (2de), técnica que permite el análisis de patrones de expresión de proteínas en el tejido colorrectal normal y tumoral. A continuación se procedió al análisis de imagen, empleando el software REDFIN de Ludesi (www.ludesi.com). Valores establecidos para determinar que un spot está significativamente desregulado: cuando el ratio control/tumor es de $-1,5$, decimos que la proteína está sobre-regulada; cuando el ratio control/tumor es de $+1,5$, decimos que está sub-regulada. La idea es: para que una proteína esté significativamente desregulada, el Student t-test ha de arrojar un valor $< 0,05$, y el ratio C/T ha de ser $> 1,5$ (subexpresada) o $< -1,5$ (sobrexpresada). Finalmente, se procedió a identificar éstas proteínas desreguladas mediante espectrometría de masas MALDI-TOF/TOF (matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight/time-of-flight). Para la identificación de las proteínas se empleó el motor de búsqueda MASCOT (Matrix Science). Además hemos utilizado la clasificación de Panther para la identificación de vías biológicas de participación de estas proteínas. Se realizó una validación con el método inmunohistoquímico ABC.

Resultados: La comparación de los perfiles de expresión de proteína del tejido tumoral frente al sano reveló la presencia de 11 spots significativamente desregulados (t test $p < 0,05$). Se identificaron seis proteínas por MALDI-TOF/TOF: Inorganic pyrophosphatase, Keratin component 8C-1, Zinc finger protein 224, Fibrinogen beta chain, UMP-CMP kinase, Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD. Se analizó la participación de cada proteína en el proceso de la carcinogénesis tumoral.

Conclusiones: 1. La electroforesis en geles bidimensionales 2D y la espectrometría de masas y la cromatografía líquida y espectrometría de masas, nos han permitido, determinar y evaluar biomarcadores proteicos, expresados diferencialmente en tejido humano con CCR y tejido de colon normal. 2. Se han identificado por electroforesis en 2D y espectrómetro de masas, seis proteínas desreguladas, que participan en procesos biológicos implicados en el CCR. 3. Los CCR con características clínico-patológicas únicas pueden ser estratificados en diferentes subgrupos según su perfil proteico. Estos subgrupos podrían ayudar a predecir el pronóstico y a elegir un tratamiento personalizado.