



167 - CARACTERIZACIÓN Y ANÁLISIS DE VESÍCULAS EXTRACELULARES DE PACIENTES CON CÁNCER DE COLON. ASPIRADO DEL LUMEN INTESTINAL EN COLONOSCOPIA EXPLORATORIA

M. Alorda-Clara¹, M. G. Trelles-Guzmán², J. Sastre-Serra^{3,1}, J. Oliver^{1,3}, P. Villalonga², D.G. Pons¹, P. Roca^{1,3} y J. Reyes^{1,2}

¹Grupo Multidisciplinar de Oncología traslacional, Institut Universitari d'Investigació en Ciències de la Salut (IUNICS), Universitat de les Illes Balears, Instituto de Investigación Sanitaria de les Illes Balears (IdISBa), Palma.

²Servicio de Aparato Digestivo, Hospital Comarcal de Inca. ³CIBER Fisiopatología Obesidad y Nutrición (CB06/03), Instituto de Salud Carlos III.

Resumen

Introducción: El cáncer de colon es el tercer cáncer más común en el mundo y la segunda causa de muerte por cáncer. Las vesículas extracelulares son secretadas por las células, normales y cancerígenas, y contienen diferentes moléculas en su interior, como ácidos nucleicos, lípidos y proteínas. Estas vesículas tienen diversas funciones: participan en la comunicación intercelular, proliferación, invasión, migración, transición epitelio-mesénquima y en la formación del nicho premetastásico. El objetivo del presente trabajo fue extraer, caracterizar y analizar las vesículas extracelulares en el aspirado del lumen intestinal de pacientes sometidos a una colonoscopia exploratoria por sospecha de patología colorrectal.

Métodos: Un total de 250 muestras de aspirado del lumen intestinal han sido recogidas y divididas según patología: sin patología, con pólipos (según su número y tamaño, divididos en bajo y alto riesgo de padecer procesos neoproliferativos) y con procesos neoproliferativos. El aspirado del lumen intestinal fue recogido durante la colonoscopia con suero salino aplicado directamente sobre la zona de la lesión para tener una mayor concentración de vesículas extracelulares secretadas por las células que forman dicha lesión y, a continuación, almacenado a -80 °C. Posteriormente, se realizó la extracción de vesículas extracelulares del aspirado del lumen intestinal por el método de la ultracentrifugación diferencial. Este método consiste en la realización de centrifugaciones consecutivas a velocidades y tiempos crecientes, donde las primeras centrifugaciones se realizan para eliminar restos celulares y la última permite precipitar las vesículas extracelulares para poder ser recogidas. Para la caracterización de las vesículas extracelulares, estas fueron observadas en el microscopio de fuerza atómica sobre una superficie de mica y desecadas con nitrógeno. Una vez comprobada la presencia de vesículas extracelulares, se realizó la extracción de macromoléculas (ARN, ADN y proteínas) con TRI Reagent®. Finalmente, con la fracción de ARN, se realizó un análisis mediante retrotranscripción y a continuación PCR a tiempo real.

Resultados: Durante la caracterización de las vesículas extracelulares, se determinó que estas tenían un diámetro de entre 70-100 µm. Del análisis de las vesículas extracelulares se obtuvo una media de 149,9 ± 24,8 ng/µL de ARN; 22,2 ± 4,9 ng/µL de ADN; 0,72 ± 0,10 µg/µL de proteína.

Finalmente, la presencia de algunos ARNm fue determinada mediante PCR a tiempo real con el ADNc obtenido del ARN extraído de las vesículas extracelulares.

Conclusiones: El análisis de las vesículas extracelulares obtenidas del aspirado del lumen intestinal podría suponer un gran avance en el conocimiento del cáncer de colon y en la búsqueda de nuevos biomarcadores de diagnóstico y/o pronóstico de esta enfermedad, así como avanzar en el estudio de metodologías destinadas a una medicina personalizada.