



237 - NUEVOS BIOMARCADORES PROTEICOS EN VESÍCULAS EXTRACELULARES DE SUERO PARA EL DIAGNÓSTICO DEL COLANGIOCARCINOMA (CCA) EN PACIENTES CON COLANGITIS ESCLEROSANTE PRIMARIA (PSC): REFLEJO DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL TUMOR

A. Lapitz¹, M. Azkargorta^{2,3}, C. O'Rourke⁴, A. Arbelaitz⁵, A. Lacasta¹, M. Vesterhus⁶, P. Milkiewicz⁷, R. Jiménez-Agüero¹, I. Riaño¹, A. Landa¹, M. Erice¹, C. Ibarra⁸, J. Bustamante⁸, M.J. Perugorria^{1,3,9}, L. Bujanda^{1,3}, J.M. Falcón-Pérez^{3,9,10}, P. Rodrigues¹, J.B. Andersen⁴, F. Elortza², T. Folseraa⁶, T.H. Karlsen⁶ y J.M. Banales^{1,3,9}

¹Department of Liver and Gastrointestinal Diseases, Biodonostia Research Institute – Donostia University Hospital, University of the Basque Country (UPV/EHU), San Sebastián. ²Proteomics Platform, CIC bioGUNE, ProteoRed-ISCIII, Bizkaia Science and Technology Park, Derio. ³National Institute for the Study of Liver and Gastrointestinal Diseases (CIBERehd), ISCIII, Madrid. ⁴Biotech Research and Innovation Centre (BRIC), Department of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen, Copenhagen (Dinamarca). ⁵Sorbonne Université, INSERM, Saint-Antoine Research Center, Paris (Francia). ⁶Norwegian PSC Research Center, Department of Transplantation Medicine, Division of Surgery, Inflammatory Medicine and Transplantation, Oslo University Hospital, Rikshospitalet, Oslo (Noruega). ⁷Liver and Internal Medicine Unit, Department of General, Transplant and Liver Surgery, Medical University of Warsaw (Polonia). ⁸Hospital of Cruces, Bilbao. ⁹Ikerbasque, Basque Foundation for Science, Bilbao. ¹⁰Laboratory of exosomes, CIC bioGUNE, Derio.

Resumen

Introducción: El colangiocarcinoma (CCA) incluye un conjunto heterogéneo de tumores biliares con mal pronóstico. Su etiología es generalmente desconocida, aunque la colangitis esclerosante primaria (PSC) es una enfermedad de riesgo. No existen métodos diagnósticos no invasivos, tempranos y precisos para el diagnóstico del CCA. Las vesículas extracelulares (EVs), presentes en los fluidos biológicos, se han postulado como fuente de biomarcadores mínimamente invasivos para ciertas patologías. Los objetivos se han centrado en: 1) caracterizar el contenido proteico de las EVs de suero de pacientes con PSC-CCA, pacientes con CCA de etiología desconocida, pacientes con PSC e individuos sanos; 2) determinar la capacidad diagnóstica de las proteínas candidatas a biomarcadores; y 3) evaluar su expresión en tejido tumoral de CCA.

Métodos: Las EVs se aislaron a partir de suero de pacientes con PSC (n = 39), CCA (n = 30; etiología desconocida), PSC-CCA (n = 25) así como de individuos sanos (n = 41) mediante ultracentrifugación diferencial. La caracterización de las EVs se realizó por microscopía electrónica de transmisión (TEM), nanoparticle tracking analysis (NTA) e immunoblot. El contenido proteico de estas vesículas fue determinado por proteómica basada en espectrometría de masas y la capacidad diagnóstica de las proteínas fue analizada (curvas ROC). Además, la expresión (mRNA) de los biomarcadores candidatos fue evaluada en dos cohortes independientes de tejido tumoral y adyacente sano de pacientes con CCA (TCGA y Copenhague), así como en cultivos celulares de colangiocitos normales (NHC) y tumorales (EGI-1 y TFK-1).

Resultados: Las EVs aisladas presentan una morfología redondeada, un diámetro similar (180 nm) y marcadores típicos de EVs tales como CD63 y CD81. Mediante espectrometría de masas, se identificaron un

total de 635 proteínas en EVs de suero y el análisis proteómico reveló un perfil proteico diferencial en los pacientes con PSC, PSC-CCA, CCA, e individuos sanos. Ciertas proteínas identificadas mostraron un alto valor diagnóstico para el CCA (PIGR aumentado: AUC 0,96, HEP2 disminuido: AUC 0,87), y para el diagnóstico del CCA en pacientes con PSC (FIBG aumentado: AUC 0,86 y HEMO disminuido AUC 0,86); incrementándose considerablemente la capacidad diagnóstica al analizarlos en combinación. Además, algunas de estas proteínas presentes en EVs de suero mostraron cambios similares de expresión en tejido tumoral de CCA, así como en células de CCA en comparación con tejido adyacente al tumor o colangiocitos normales, respectivamente; pudiendo estar implicadas en la patogenia de la enfermedad.

Conclusiones: Las EVs de suero de pacientes con CCA contienen perfiles proteicos concretos con alto valor diagnóstico; algunos de estos biomarcadores específicos para el diagnóstico del CCA en pacientes con PSC y otros comunes para todos los CCAs. Determinados biomarcadores séricos reflejan el perfil de expresión del tejido tumoral, mostrando su potencial uso como biopsia líquida.