



CARACTERIZACIÓN PROTEÓMICA DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES SÉRICAS DE PACIENTES RECIÉN DIAGNOSTICADOS DE ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

Irene Soleto¹, Montse Baldan-Martín¹, Cristina Ramirez¹, Macarena Orejudo¹, Sara García¹, Jorge Mercado¹, Mikel Azkargorta², Ibon Iloro², Lorena Ortega Moreno³, Laila Aldars Garcia¹, Sabino Riestra⁴, Montserrat Rivero⁵, Ana Gutierrez⁶, Iago Rodríguez-Lago⁷, Luis Fernández⁸, Daniel Ceballos⁹, Jose Manuel Benítez¹⁰, Mariam Aguas¹¹, Iria Bastón Rey¹², Fernando Bermejo¹³, María Jose Casanova¹, Rufo Llorente¹⁴, Yolanda Ber¹⁵, Daniel Ginard¹⁶, María Esteve¹⁷, Félix Elortza², Javier P Gisbert¹, Noa Martín-Cofreces¹⁸ y María Chaparro¹

¹Hospital Universitario de La Princesa, Instituto de Investigación Sanitaria Princesa (IIS-Princesa), Universidad Autónoma de Madrid (UAM), y Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Madrid. ²Proteomics Platform, CIC bioGUNE, BRTA (Basque Research & Technology Alliance), CIBERehd, Derio. ³área de Farmacología y Nutrición y Bromatología, Departamento Ciencias Básicas de la Salud, Universidad Rey Juan Carlos, Alcorcón. ⁴Hospital Universitario Central de Asturias e Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA), Oviedo. ⁵Hospital Universitario Marqués de Valdecilla e IDIVAL, Santander. ⁶Hospital General Universitario de Alicante. ⁷Hospital Galdakao-Usansolo, Vizcaya. ⁸Hospital Clínico Universitario de Valladolid. ⁹Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín, Las Palmas de Gran Canaria. ¹⁰Hospital Universitario Reina Sofía e IMIBIC, Córdoba. ¹¹Hospital Universitari i Politècnic La Fe y Health Research Institute (IISLaFe), Valencia. ¹²Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, Santiago de Compostela. ¹³Hospital Universitario de Fuenlabrada. ¹⁴Hospital General Universitario de Ciudad Real. ¹⁵Hospital San Jorge, Huesca. ¹⁶Hospital Universitari Son Espases, Palma de Mallorca. ¹⁷Hospital Universitari Mutua de Terrassa y Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Terrassa. ¹⁸Immunology Unit, Hospital Universitario de La Princesa e Instituto de Investigación Sanitaria Princesa (IIS-Princesa), Universidad Autónoma de Madrid (UAM), Centro de Investigación Biomédica en Red Cardiovascular (CIBERCV), Madrid.

Resumen

Introducción: La etiología y la patogenia de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) son complejas y sus mecanismos no están bien establecidos. Las vesículas extracelulares (VE) son pequeñas partículas cubiertas con una membrana celular, que se originan en la célula emisora, se excretan en el medio extracelular y son capturadas por las células receptoras. Las VE tienen un papel relevante en múltiples enfermedades inmunomediatas. El análisis de las VE de suero de pacientes con EII podría servir para dilucidar su papel en la patogénesis de la EII.

Métodos: Se caracterizaron las VE aisladas por cromatografía de exclusión por tamaño a partir del suero de 100 pacientes con EII (50 pacientes con enfermedad de Crohn, EC y 50 pacientes con colitis ulcerosa, CU) de diagnóstico reciente y 50 controles sanos (CS), por proteómica y por análisis de seguimiento de nanopartículas (NTA). La función biológica de las VE y las alteraciones en las vías de señalización relacionadas con la EII se determinaron utilizando Ingenuity Pathways Analysis (IPA).

Resultados: Se han identificado un total de 1,100 proteínas, de las cuales 105 fueron expresadas diferencialmente por pacientes con EC vs. CS, 111 en pacientes con CU vs. CS y 32 por pacientes con CU vs. EC. El análisis de IPA reveló que las proteínas de las VE están involucradas en la desregulación de las vías inmunitarias, como la respuesta de fase aguda (fig. 1) y la vía de activación de LXR/RXR (fig. 2). Cuando se comparó el grupo CU con el grupo EC (fig. 3), la vía de señalización de la citotoxicidad y de receptores nucleares fueron reguladas positivamente.

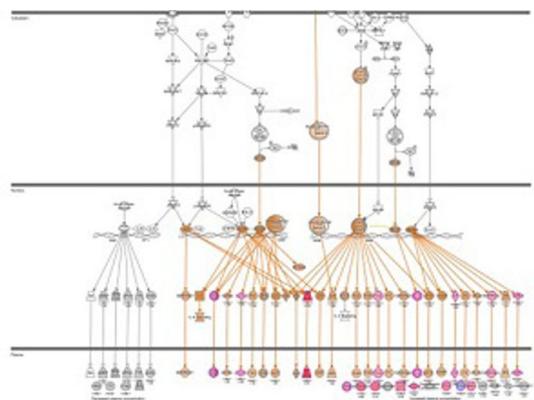


Figura 1. Representación visual de las vías de respuesta de fase aguda identificadas mediante el análisis Ingenuity Pathways Analysis (IPA). Está regulado positivamente en vesículas extracelulares de pacientes con colitis ulcerosa en comparación con controles sanos.

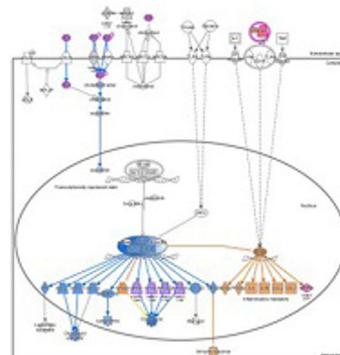


Figura 2. Representación visual de las vías de activación de LXR/RXR identificadas mediante Ingenuity Pathways Analysis (IPA). Está regulado negativamente en vesículas extracelulares de pacientes con enfermedad de Crohn en comparación con controles sanos.

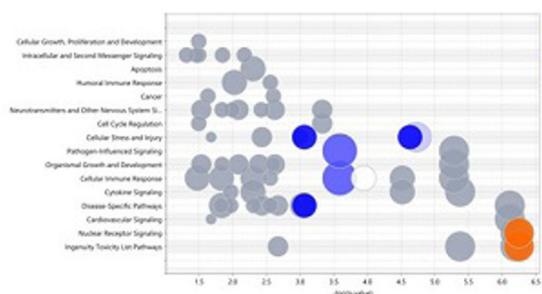


Figura 3. Análisis con Ingenuity Pathway Analysis. Mapa de vías desreguladas que comparan vesículas extracelulares de pacientes con colitis ulcerosa y pacientes con enfermedad de Crohn. Las rutas se organizan en función del logaritmo negativo del valor p. Las puntuaciones z positivas y negativas, representadas por coloración naranja y azul, sugieren un aumento y una disminución de la actividad de la vía, respectivamente.

Conclusiones: Las VE transportan proteínas están implicadas en la desregulación del sistema inmunitario en la EII; este efecto es diferente en CU y EC, ya que sus VE muestran un perfil proteómico diferencial. Así, las VE podrían desempeñar un papel en la patogénesis de la EII y representar potenciales biomarcadores candidatos para el diagnóstico de la CU y la EC.