

Detección de integrinas en vesículas extracelulares grandes de pacientes con cáncer de mama

Iglesias, M.R. (1) ; Rabassa, M.E. (1)

(1) CINIBA, UNLP, La Plata, Buenos Aires

Contacto: mrabassa@med.unlp.edu.ar

Los tumores liberan en la circulación periférica vesículas de distintos orígenes. Aquellas procedentes de la membrana plasmática son potenciales portadoras de moléculas de adhesión celular relacionadas con los procesos de diseminación tumoral. Con el fin de analizar la expresión de integrinas en vesículas extracelulares de pacientes con cáncer de mama, a partir de plasma almacenado a -80°C se aislaron mediante centrifugación diferencial fracciones de vesículas membranosas a 400 xg, 1500 xg, 10.000 xg y, luego de resuspender el pellet con PBS, nuevamente a 10.000 xg, sucesivamente. Cada centrifugación duró 30 minutos, a 4°C. Finalmente, el último pellet fue resuspendido con PBS, fraccionado y almacenado a -80°C. Se evaluó la concentración de proteínas de las fracciones. El tamaño y forma de las vesículas fue determinado mediante dispersión dinámica de la luz (DLS) y microscopía electrónica (EM). Las fracciones fueron analizadas mediante inmunoblot para la detección de CD9, CD63, integrina $\alpha 6$ e integrina $\alpha 4$. Resultados: De 43 muestras 41 mostraron material membranoso y concentraciones de proteínas suficientes para el estudio. El análisis mediante DLS y EM mostró vesículas membranosas de más de 200 nm, con agregados de vesículas y un promedio superior a 400 nm mediante DLS. Los inmunoblot mostraron reacción positiva para CD9 en 5/41 (12,2), para CD63 en 10/41 (24,4), para integrina $\alpha 6$ en 27/41 (65,9) y para integrina $\alpha 4$ en 5/41 (12,2). Conclusión: Algunas de las fracciones de plasma de pacientes con cáncer de mama contienen vesículas extracelulares grandes, portadoras de integrinas $\alpha 6$ y $\alpha 4$.