

<i>Protein identified in normal chondrocytes</i>			
NAME	Protein ID	Ratio IL-1 β +GS/IL-1 β	SSP (PDQuest)
Protein disulfide-isomerase precursor	PDIA1	6.39	611
78 kDa glucose-regulated protein precursor	GRP78	7.89	802
Heat shock cognate 71 kDa protein	HSP7C	7.57	1820
Protein disulfide-isomerase A3 precursor	PDIA3	10.89	2610
Protein disulfide-isomerase A3 precursor	PDIA3	10.00	3601
Superoxide dismutase [Mn], mitochondrial precursor	SODM	0.17	7002
Annexin A2	ANXA2	4.01	7201
Annexin A2	ANXA2	2.63	7210
Alpha-enolase	ENOA	0.50	7402
Pyruvate kinase isozymes M1/M2	KPYM	0.61	8607
<i>Protein identified in osteoarthritic chondrocytes</i>			
NAME	Protein ID	Ratio GS/untreated cells	SSP (PDQuest)
14-3-3 protein theta (14-3-3 protein tau)	1433T	6.53	206
Calumenin precursor (Crocalbin)	CALU	-2.27	602
Endoplasmic precursor (GRP94)	ENPL	2.70	1701
Endoplasmic precursor (GRP94)	ENPL	-2.1	1702
L-lactate dehydrogenase B chain	LDHB	2.73	4302
Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic	IDH1	-1.4	7605
Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase 2+	IMDH2+	No in GS	7706
Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	G6PD		
Dextrin (Actin-depolymerizing factor)	DEST	-14.3	9002

Bibliografía

Scotto d'Abusco A, Calamia V, Cicione C, Grigolo B, Politi L, Scandurra R. Arthritis Research Therapy. 2007; 9:R104 [Epub ahead of print].

Scotto d'Abusco A, Corsi A, Grillo MG, Cicione C, Calamia V, Panzini G, Sansone A, Giordano C,

Politi L, Scandurra R. Rheumatology International. 2007 Oct 9 [Epub ahead of print].

Ruiz-Romero C, López-Armada MJ, Blanco FJ. Proteomics. 2005; 5:3048-59.

Alteraciones en proteínas mitocondriales de condrocitos articulares humanos descritas mediante técnicas proteómicas

Ruiz-Romero C, Carreira V, Remeseiro S, Calamia V, Mateos J, Fernández M, Galdo F, Blanco FJ.

Laboratorio de Investigación Osteoarticular y del Envejecimiento. Centro de Investigación Biomédica, C.H.U. Juan Canalejo. La Coruña

Introducción

La mitocondria esta involucrada en numerosos procesos celulares, y se ha demostrado que disfunciones mitocondriales están asociadas con apoptosis,

envejecimiento y numerosas condiciones patológicas, incluyendo la osteoartritis (OA). El objetivo de este trabajo es analizar los cambios en las proteínas mitocondriales características de condrocitos OA mediante técnicas de proteómica.

Material y métodos

Los condrocitos fueron obtenidos a partir de 12 pacientes; de los cuales 6 eran OA que se sometieron a un reemplazamiento articular, y los otros 6 cartílagos se obtuvieron de autopsias de pacientes que no mostraban enfermedades articulares. Las mitocondrias fueron aisladas por homogeneización y centrifugación diferencial. El análisis de la expresión diferencial se llevo a cabo usando tecnología diferencial en gel de electroforesis (*differential in-gel electrophoresis technology*: DIGE). Las muestras de proteínas mitocondriales tanto controles como OAs fueron marcadas con diferentes fluoróforos mezclándose por pares, y se resolvieron conjuntamente en una electroforesis bidimensional, utilizando un *pool* de todas las muestras como control interno. Las imágenes de los geles fueron adquiridas usando el escáner Typhoon, y el análisis de la variación biológica se llevo a cabo usando el software DeCyder 6.5. Proteínas relacionadas con la OA fueron identificadas usando MALDI-TOF (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionización-Time Of Flight*) o espectrómetro de masas MALDI-TOF/TOF. Los análisis estadísticos y *clustering* fueron realizados usando el software EDA Module of DeCyder. Estos resultados fueron validados por Western blot e inmunofluorescencia.

Resultados

Examinamos más de 1500 manchas que se detectaron en seis geles de DIGE. Se estudiaron tanto los cambios cuantitativos como los cualitativos en la expresión de proteínas entre las mitocondrias de los condrocitos controles y los condrocitos OA. Encontramos que 36 proteínas se expresaban significativamente más en condrocitos OA al compararlos con el patrón de condrocitos controles (ratio OA: $N \geq 1.3$, $p < 0.05$), incluyendo la proteína asociada con el receptor de $TNF\alpha$ (TRAP1) y dos subunidades del complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial (Tabla). También detectamos que la expresión de 60 proteínas se encontraba disminuida en condrocitos OA, incluyendo dos mitofilin y dos isoformas de la superóxido dismutasa. El análisis de componentes principales y *hierarchical clustering* nos permitió reconocer las muestras de OA y de los controles mediante su perfil proteómico. Los resultados obtenidos para TRAP1 fueron confirmados mediante inmunofluorescencia, PCR a tiempo real y Western blot. Esta proteína se encuentra aumentada en condrocitos procedentes de la zona profunda del cartílago OA.

	Proteína	Ratio	T-test	Nombre
Proteínas mitocondriales aumentadas en OA	THIM	1.61	0.0015	3-ketoacyl-CoA-thiolase
	KAD4	1.52	0.014	Adenylate kinase isoenzyme 4, mitochondrial
	IMMT	1.50	0.038	Mitochondrial inner membrane protein (mitofilin), isoform 1
	TRAP1	1.47	0.041	TNF receptor-associated protein 1 (Hsp75)
	SCOT	1.41	0.035	Succinyl-CoA 3-ketoacid coenzyme A transferase 1
	NDUV1	1.36	0.029	NADH dehydrogenase (ubiquinone) flavoprotein 1, mitochondrial prec.
	NDUS8	1.32	0.031	NADH dehydrogenase (ubiquinone) iron-sulfur prot 8, mit. precursor
Proteínas mitocondriales disminuidas en OA	OPA1	-1.34	0.0038	Dynamin-like 120 kDa protein, mitochondrial
	VDAC2	-1.36	0.049	Voltage-dependent anion-selective channel protein 2
	HIBCH	-1.36	0.049	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase, mitochondrial precursor
	ECHA	-1.4	0.036	Trifunctional enzyme subunit alpha, mitochondrial
	IMMT	-1.4	0.0066	Mitochondrial inner membrane protein (mitofilin), isoform 2
	ODPA	-1.5	0.017	Pyruvate dehydrogenase E1 component α sub, mitoch. precursor
	SODM	-1.5	0.011	Mn Superoxide dismutase
	IDHP	-1.5	0.0074	Isocitrate dehydrogenase (NADP), mitochondrial precursor
	DHSA	-1.56	0.007	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein subunit
	GLSK	-1.6	0.007	Glutaminase kidney isoform, mitochondrial precursor
	SODM	-1.6	0.0024	Mn Superoxide dismutase
	IDH3A	-1.69	0.015	Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit alpha
	IMMT	-1.7	0.021	Mitochondrial inner membrane protein (mitofilin), isoform 3
	ETFA	-1.7	0.038	Electron transfer flavoprotein subunit α , mitochondrial precursor
IDH3A	-1.9	0.038	Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit alpha	

Conclusiones

En este estudio describimos las diferencias entre los perfiles proteicos mitocondriales de condrocitos

control y OAs, poniendo de manifiesto las alteraciones mitocondriales que tienen lugar en la degradación del cartílago durante la osteoartritis.