

Obtención de mapas bidimensionales de capa íntima de arteria coronaria humana aislada por microdissección por láser

de la Cuesta F¹, Alvarez-Llamas G¹, Darde VM¹, Donado A², Maroto AS¹, Padial LR³, Pinto AG², Barderas MG⁴, Vivanco F.¹

¹ Departamento de Inmunología. Fundación Jiménez Díaz, Madrid. ² Servicio de Cirugía Cardíaca. Hospital Gregorio Marañón, Madrid. ³ Servicio de Cardiología. Hospital Virgen de la Salud, Toledo. ⁴ Laboratorio de Fisiopatología Vascular. Hospital Nacional de Paraplégicos. SESCAM, Toledo.

Introducción

Las complicaciones que se derivan de una obstrucción coronaria debida a un proceso aterotrombótico constituyen una de las causas más importantes de mortalidad en los países desarrollados. El estudio molecular del desarrollo de la placa de ateroma es, por lo tanto, uno de los puntos de mayor relevancia en investigación clínica actualmente. El proteoma del tejido completo de la arteria coronaria con placa de ateroma constituye una compleja mezcla de los proteomas de los diferentes tipos celulares presentes en la arteria, y no permite diferenciar el papel de estas células en la patogénesis. Si estudiamos las diferentes capas de la arteria (íntima, media y adventicia) de manera conjunta la expresión proteica diferencial debida a procesos de aterosclerosis que tienen lugar en la íntima coronaria se verán enmascarados por el proteoma del resto de capas de la misma. Con objeto de estudiar la expresión proteica en la capa íntima de arteria coronaria por electroforesis bidimensional, aislamos ésta por microdissección con láser.

Material y métodos

El estudio de la capa íntima de manera aislada fue posible por medio del aislamiento realizado por Microdissección por Láser y Catapultado por Presión (LMPC) que permite aislar áreas de tejido, células sencillas, incluso regiones subcelulares incidiendo con un láser ultravioleta directamente sobre cortes histológicos convencionales (Burgemeister, 2005). Ante la baja cantidad de proteína que se puede obtener por esta técnica, empleamos la técnica de elec-

troforesis diferencial en gel (DIGE) de marcaje a saturación (Wilson *et al.*, 2005; Sitek *et al.*, 2006), que permite el estudio de proteomas con cantidades inferiores a 5 µg de proteína total.

Resultados

Se ha realizado el aislamiento de capa íntima arterial humana satisfactoriamente y el acoplamiento de la técnica de DIGE de saturación a la microdissección por láser nos ha permitido obtener por primera vez mapas bidimensionales de capa íntima, algo nunca antes realizado.

Conclusiones

La obtención de geles bidimensionales de capa íntima suponen una puerta al análisis proteico diferencial en arteria coronaria a diferentes estadios del proceso aterotrombótico, así como frente a otras arterias con menor incidencia de afección aterosclerótica. Esto, junto con la posibilidad de aislar los diferentes grupos celulares de la íntima, constituyen las perspectivas futuras de nuestro proyecto.

Bibliografía

- Burgemeister R. *J Histochem & Cytochem.* 2005, 53, 409–412.
- Wilson KE, Marouga R, Prime JE, Pashby DP *et al.*, *Proteomics.* 2005, 5, 3851-8.
- Sitek B, Potthoff S, Schulenburg T, Stegbauer J, *et al.*, *Proteomics.* 2006, 6, 4337-45.