

Estudio comparativo del secretoma de condrocitos articulares humanos analizados mediante las técnicas iTRAQ e SILAC

Valentina Calamia, Jesús Mateos, Patricia Fernández-Puente, Lucía Lourido, Beatriz Rocha, Carolina Fernández, Cristina Ruiz-Romero, Francisco J. Blanco

Rheumatology Division. ProteoRed/ISCIII. Proteomic Group. INIBIC- Hospital Universitario A Coruña

valentina.calamia@sergas.es

Recientes trabajos realizados por nuestro grupo han demostrado la utilidad de las técnicas proteómicas para la evaluación de diferentes fármacos empleados en el tratamiento de la artrosis (OA), la patología articular más frecuente hoy en día ^[1]. En la articulación artrósica, las proteínas secretadas por los condrocitos (las células del cartílago más directamente implicadas en el desarrollo de esta enfermedad) pueden llegar al torrente sanguíneo; de ahí su posible utilidad como marcadores no invasivos para monitorizar y personalizar los tratamientos anti-OA a largo plazo. Por este motivo, el objetivo de este trabajo es comparar dos técnicas proteómicas cuantitativas (iTRAQ e SILAC) para el estudio del secretoma de los condrocitos y poder evaluar la mejor opción para abordar un estudio farmacoproteómico en este campo. Para ello, se utilizaron condrocitos articulares humanos obtenidos a partir de biopsias de donantes artrósicos. Las células fueron cultivadas en un medio estándar (iTRAQ) o en medio suplementado con aminoácidos marcados (SILAC). Las proteínas secretadas recogidas a partir de los medios de cultivo, previamente deplecionados de suero, fueron digeridas en ambos casos con tripsina. Los péptidos marcados con los reactivos iTRAQ, así como los péptidos pesados y ligeros procedentes de las células crecidas en medios SILAC fueron separados y analizados mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas de tipo MALDI-TOF/TOF. La identificación y cuantificación de las proteínas se llevó a cabo con el programa bioinformático Protein Pilot 4.0. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la complementariedad de las dos técnicas, aunque sólo en el caso de los péptidos marcados con iTRAQ fuimos capaces de identificar, por primera vez, el colágeno tipo 2, una proteína característica de los condrocitos.

[1] Calamia V, Ruiz-Romero C, Rocha B, Fernandez-Puente P, Mateos J, Montell E, et al. Pharmacoproteomic study of the effects of chondroitin and glucosamine sulfate on human articular chondrocytes. *Arthritis Res Ther.* 2010. R138.