

Aproximación a la patogenia de la aterosclerosis. Análisis del secretoma de arterias humanas sanas y con distintos grados de afección

Fernando de la Cuesta^{1*}, María G. Barderas^{1*}, Enrique Calvo², Irene Zubiri³, Aroa S. Maroto³, Verónica M. Darde¹, Tatiana Martín-Rojas¹, Félix Gil-Dones¹, María Posada³, Teresa Tejerina⁴, Juan A. Lopez², Fernando Vivanco^{3,5±}, Gloria Álvarez-Llamas^{3±}

¹Departamento de Fisiopatología Vascular, Hospital Nacional de Paraplégicos, SESCAM, Toledo;

²Unidad de Proteómica, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC), Madrid.

³Departamento de Inmunología, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid; ⁴ Departamento de Farmacología, Universidad Complutense, Madrid; ⁵Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I, Universidad Complutense, Madrid

ferdela@sescam.icccm.es

*, ± Los autores contribuyeron de igual manera en el estudio realizado

El secretoma de un tejido permite estudiar el conjunto de proteínas liberadas por éste al espacio extracelular, lo que nos aporta datos de gran valor en el estudio del proceso patológico que se está llevando a cabo en él. Por otro lado, nos permite estudiar los niveles de un subgrupo de proteínas que podrían ser liberadas al plasma, y se trata de una muestra con mucho menor rango dinámico que éste. El objetivo del presente estudio fue el de caracterizar el secretoma de la arteria coronaria durante el desarrollo de la enfermedad aterosclerótica, y la búsqueda de proteínas diferencialmente secretadas por ésta, frente a arterias no afectadas.

Tras una optimización de las condiciones de cultivo del tejido que favoreció la eliminación de contaminantes procedentes de la sangre, y enriqueció la muestra en proteínas secretadas, los secretomas se analizaron mediante LC-MS/MS. De esta manera, se obtuvo un listado de proteínas específicas de coronarias ateroscleróticas, preateroscleróticas y de mamarias no afectadas. Se analizaron tres réplicas biológicas por grupo, y se identificaron 64 proteínas presentes en las 3 réplicas de, al menos, uno de los tres grupos de estudio. Catorce de estas proteínas secretadas no han sido descritas previamente en plasma. Empleando dos técnicas independientes de cuantificación libre de marcaje, mediante dos programas informáticos (contaje de espectros, Scaffold, Proteome Software; integración de picos, Sieve, Thermo Scientific), se realizó un análisis diferencial de abundancia de proteína entre los 3 grupos del estudio. Combinando los resultados de ambos programas, se hallaron 4 proteínas significativamente secretadas por las mamarias frente a las arterias coronarias: gelsolina, vinculina, lamina A/C y fosfoglucomutasa 5. Las diferencias observadas en las proteínas gelsolina, vinculina y lamina A/C fueron validadas en muestras de tejido independientes, empleando dos técnicas complementarias: Western Blot e inmunohistoquímica.