

Cuantificación por SILAC del efecto de la nicotina sobre condrocitos articulares

L. Lourido, V. Calamia, P. Fernández-Puente, J. Mateos, B. Rocha, C. Fernández-Costa, F. J. Blanco, C. Ruiz-Romero

Osteoarticular and Aging Research Laboratory, Proteomics Unit -Associated Node to ProteoRed-ISCI, INIBIC-Complejo Hosp. Univ. A Coruña, A Coruña, España

Lucia.M.Lourido.Salas@sergas.es

La artrosis es la patología reumática más frecuente. Está relacionada con la edad y se caracteriza principalmente por la degradación del cartílago. Pese a su gran prevalencia, poco se sabe de los mecanismos moleculares por los que se produce la degradación del tejido articular. Datos previos de nuestro grupo sugieren que fumar puede ser un factor protector contra la artrosis. Por tanto, en este trabajo nos hemos propuesto evaluar desde un punto de vista proteómico el posible efecto antiinflamatorio o anabólico de la nicotina en la patología articular.

Para ello, condrocitos de donantes normales y artrósicos se cultivaron en medio DMEM con lisina y arginina marcada (condición “*heavy*”) o con estos aminoácidos no marcados (condición “*light*”) para realizar un estudio proteómico mediante SILAC (*stable isotope labelling by amino acids in cell culture*). Tras el marcaje, los condrocitos fueron estimulados con nicotina (50nM), IL1 β (una citoquina inflamatoria) o la combinación de ambos compuestos. Al cabo de 48h, se recogieron los secretomas de los cultivos y se cuantificaron. Las condiciones *heavy* y *light* se mezclaron en proporción 1:1 y se digirieron con tripsina. Los péptidos resultantes se separaron en un nano-LC, y se identificaron y cuantificaron empleando espectrometría de masas MALDI-TOF/TOF con el software Protein Pilot 3.0.

Se identificaron 110 proteínas, 90% de ellas con una localización extracelular. En secretomas de donantes normales, MMP1, MMP3 y proteínas de respuesta inflamatoria como la IL-6 y la fibronectina se encontraban aumentadas en presencia de nicotina. En condrocitos artrósicos estimulados con nicotina, la COMP estaba disminuida.

En este trabajo hemos estudiado el efecto de la nicotina en cultivos primarios de cartílago articular y nuestros resultados sugieren que, en nuestro modelo de inflamación *in vitro*, la nicotina (50nM) no es capaz de revertir el efecto de la IL1 β .