

P30

## Estudio de tres técnicas de concentración de proteína para la determinación del perfil proteico en Condensado de Aire Exhalado

Laura Núñez Naveira<sup>1,2</sup>, Luis A. Mariñas Pardo<sup>1,2</sup>, Beatriz Lema Costa<sup>1,2</sup>, Héctor Vereza Hernando<sup>1</sup>, Carmen Montero Martínez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña; <sup>2</sup> Instituto de Investigaciones Biomédicas de A Coruña (INIBIC)

[laura.nunez.naveira@sergas.es](mailto:laura.nunez.naveira@sergas.es)

El condensado de aire exhalado (CAE) es una muestra pulmonar que se toma de forma rápida, no invasiva y que resulta atractivo para encontrar biomarcadores específicos de enfermedad. Hasta la fecha, los análisis en CAE se centraron en mediciones de pH, estrés oxidativo o detección de biomarcadores preseleccionados en base a la bibliografía. Solo un pequeño porcentaje intentó sin éxito la determinación de proteínas mediante espectrometría de masas. Nuestra hipótesis es que el concentrado inicial del CAE es un paso crítico y por ello comparamos la eficacia de tres métodos: liofilización, centrifugación y cromatografía de fase reversa.

Recogimos muestras de CAE de voluntarios (n=20) con el dispositivo ECoScreen (Viasys GmbH, Alemania) y las almacenamos a -80°C hasta su procesamiento final. Cuantificamos la proteína con un kit basado en el Ácido Bicinconínico (BCA). Realizamos la liofilización a temperatura ambiente y presión negativa. Para la centrifugación empleamos los filtros Amicon Ultra-2 (Millipore). Realizamos la cromatografía de fase reversa con la resina POROS R2 (Applied Biosystems). Identificamos los péptidos por espectrometría de masas (Maldi Tof-Tof).

La concentración del CAE sin procesar fue demasiado baja para su uso en espectrometría de masas  $30.41 \pm 18.91$  (media  $\pm$  desviación estándar  $\mu\text{g/mL}$ ). Se testaron tres métodos de concentración. No encontramos diferencias entre la liofilización y la centrifugación. Ambos métodos rindieron una concentración ( $64.38 \pm 25.97$ ) insuficiente para identificar proteínas por espectrometría. El concentrado obtenido por cromatografía sí pudo ser sometido a una digestión triptica y análisis por espectrometría de masas identificándose un total de 13 péptidos.

La concentración del CAE es un paso crítico para su uso en espectrometría de masas. La liofilización y centrifugación no son eficaces pero el uso de resinas de fase reversa nos permitió identificar 13 péptidos. Este avance nos permite abordar la identificación del perfil proteico en CAE de distintas patologías.