

## Análisis proteómico bidimensional del condrocito humano normal bajo el efecto de IL-1 $\beta$ y TNF- $\alpha$

*Cillero-Pastor B, López-Armada MJ, Ruiz Romero C, Lires-Deán M, Mateos J, Lema B, Blanco FJ.*

Laboratorio de Investigación Osteoarticular y del Envejecimiento. Centro de Investigación Biomédica, C.H.U. Juan Canalejo. La Coruña

### Introducción

La interleuquina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) se han agrupado clásicamente dentro del mismo tipo de citoquinas presentes en diferentes patologías reumáticas. Sin embargo, nuestro equipo ha demostrado que en determinados modelos de muerte celular, ejercen diferentes acciones sobre los condrocitos, único tipo celular del cartílago articular (López-Armada et al; 2006). El presente estudio se ha desarrollado para determinar el conjunto de las proteínas del condrocito humano normal en cultivo, moduladas por IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , así como para encontrar las diferencias en los patrones de expresión proteicos de ambas citoquinas.

### Material y métodos

Los condrocitos humanos normales se aislaron de cartílago obtenido de autopsias de donantes sin historial de enfermedad articular. Las células se incubaron 48 horas en condiciones basales, con IL-1 $\beta$  (5 ng/ml) o TNF- $\alpha$  (10 ng/ml) y se obtuvieron los extractos totales de proteínas. Un pool de cuatro donantes, se realizó para cada condición por duplicado y se resolvió por 2-DE según el protocolo previamente descrito por nuestro grupo (Ruiz et al; 2005). Las manchas se visualizaron con Sypro. Los análisis cuantitativos y cualitativos se hicieron con el PD-QUEST software. La proteínas se identificaron por espectrometría de masas usando tecnología MALDI-TOF/TOF.

### Resultados

El número de proteínas moduladas por IL-1 $\beta$  es mayor que las moduladas por TNF- $\alpha$ , demostrando un efecto diferente de la IL-1 $\beta$  sobre el patrón de expresión proteico que el TNF- $\alpha$ . Diferentes manchas, moduladas por estas dos citoquinas, no estaban presentes en condiciones basales (29 por IL-1 $\beta$  y 11 por TNF- $\alpha$ ) cuando se analizó el análisis del proteoma

total. Del mismo modo 3 y 2 manchas, respectivamente, desaparecieron tras el tratamiento con IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , en relación a la condición basal. Finalmente, 21 manchas se hallaron en los extractos de IL-1 $\beta$  pero no en los de TNF- $\alpha$ , y 5 estaban presentes en TNF- $\alpha$  pero no en los de IL-1 $\beta$ . En relación a las diferencias cuantitativas, el nivel de expresión de 21 manchas se modificó con IL-1 $\beta$ , y 13 manchas con TNF- $\alpha$ , en relación a la condición basal. Encontramos 13 proteínas modificadas de modo diferente entre ambas citoquinas. Las proteínas identificadas se agruparon según su función. Del total de las proteínas identificadas y reguladas por estas citoquinas encontramos que el 17.5 % del total, están involucradas en respuestas de estrés celular y defensa, el 15% en metabolismo, el 27.5% en organización celular, el 10% en producción de energía, el 22.5% en síntesis de proteínas y el 7.5% en transducción de señales.

### Conclusiones

Nuestros estudios indican que las citoquinas IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , poseen un patrón diferencial de expresión de proteínas en el condrocito normal humano en cultivo. Algunas de estas proteínas juegan un papel relevante en rutas de estrés celular, degradación o glicolisis. El profundo conocimiento del conjunto de las proteínas moduladas por ambas sustancias puede ayudarnos en la búsqueda de futuras dianas terapéuticas en relación a diferentes patologías articulares, en las que IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$  juegan un papel relevante.

### Bibliografía

- López-Armada MJ, Caramés B, Lires-Deán M, Cillero-Pastor B, Ruiz-Romero C, Galdo F, Blanco FJ. Osteoarthritis Cartilage. 2006; 14:660-9.
- Ruiz-Romero C, López-Armada MJ, Blanco FJ. Proteomics. 2005; 5:3048-59.