

Búsqueda de biomarcadores séricos de artrosis mediante depleción secuencial combinada con DIGE

Carolina Fernández-Costa¹, Valentina Calamia¹, Jose Luis Capelo², Cristina Ruiz-Romero¹, Francisco Javier Blanco¹

¹*Osteoarticular and Aging Research Laboratory, Proteomics Unit-Associated Node to ProteoRed, INIBIC-CHUAC, A Coruña;* ²*Physical Chemistry Department. University of Vigo at Ourense Campus. E-32400 Ourense*

carolina.fernandez.costa@sergas.es

La finalidad de este trabajo es la búsqueda de biomarcadores de artrosis (OA) en suero humano mediante una novedosa depleción química secuencial combinada con electroforesis diferencial en gel (2D-DIGE).

Las muestras de suero se obtuvieron de 20 pacientes artrósicos (OA) y 20 controles, que se combinaron en 4 grupos de 10 muestras cada uno. A continuación, las muestras se sometieron a una depleción química secuencial compuesta por dos precipitaciones, la primera con ditiotreitól (DTT) y después con acetonitrilo (ACN), con el fin de reducir el gran rango dinámico de las proteínas en el suero. Finalmente, la comparación entre sueros artrósicos y controles se realizó mediante una estrategia basada en 2D-DIGE, empleando el software SameSpots para el análisis cuantitativo de las imágenes. Las manchas diferenciales fueron identificadas mediante digestión enzimática en gel acelerada por ultrasonidos y posterior análisis de los péptidos por espectrometría de masas tipo MALDI-TOF/TOF, empleando Mascot y SwissProt como base de datos.

Se detectaron 210 manchas en las imágenes de los geles, de las que 42 resultaron moduladas significativamente en muestras OA frente a controles (29 aumentadas y 17 disminuidas). Entre ellas, verificamos mediante western blot la disminución en OA de una forma de la proteína amiloide de suero A (SAA), cuyo papel en la artrosis ha sido poco estudiado. También se identificaron dos manchas correspondientes a las dos cadenas de la haptoglobina (HPT) que presentan, curiosamente, comportamientos opuestos: la cadena pesada se encontró aumentada, mientras que la cadena ligera se encontró disminuída en sueros OA frente a controles. Esta modulación también fue confirmada mediante western blot.

Como conclusión, hemos propuesto una lista de candidatos como biomarcadores artrósicos en suero, y demostramos la utilidad de la depleción secuencial en estrategias de búsqueda de biomarcadores.