

ANÁLISIS PROTEÓMICO DE LA INTERACCIÓN ENTRE LAS CÉLULAS PLASMÁTICAS Y EL ESTROMA MEDULAR EN EL MIELOMA MÚLTIPLE

M.B. Gonzalez^{a-b}, M. Garayoa^b, R. Unwin^a, C.A. Evans^a, C. Lee^a, N.C. Gutierrez^b, J.M. Hernandez^b, J.F. San Miguel^b y A.D. Whetton^a.

¹*Stem cell and Leukaemia Proteomics Laboratory, Paterson Institute for Cancer Research, Christie Hospital, Manchester.* ²*Dpto. de Hematológica, Hospital Universitario de Salamanca.*

Las células mielomatosas están en estrecho contacto con el microambiente de la médula ósea, integrado fundamentalmente por las proteínas de la matriz extracelular y las células estromales. Esta interacción desencadena la transcripción y secreción de citoquinas, que son importantes mediadores de la proliferación y supervivencia de las células plasmáticas, y por otro lado, favorece la resistencia a los fármacos con actividad frente al mieloma.

Objetivos: Analizar el efecto de la interacción entre las células del estroma y las células plasmáticas sobre las proteínas secretadas al microambiente, y estudiar su influencia en la supervivencia y proliferación de las células plasmáticas.

Material y métodos: Se realizó el estudio comparativo de las proteínas obtenidas de sobrenadantes procedentes de cultivos de estroma normales (de donante) y procedentes de mieloma múltiple (MM), así como de los co-cultivos de ambos estromas con células plasmáticas procedentes de la línea celular MM1S. Para el análisis proteico se empleó la técnica de marcaje con iTRAQ, que consiste en la digestión proteolítica de las muestras mediante tripsina, y el marcaje de los péptidos obtenidos en sus residuos N-terminal y/o en el grupo amino de las lisinas, utilizando los reactivos de iTRAQ (Applied Biosystems). Las muestras se analizaron mediante espectrometría de masas en tandem. La fragmentación de los péptidos generó iones con diferentes masas para las diferentes muestras, debido al marcaje empleado. La ratio entre los diferentes iones generados proporcionó una cuantificación relativa. Se utilizó la combinación de los datos obtenidos por tres o mas péptidos. Para la identificación y cuantificación de los péptidos y el análisis de proteínas se utilizó el programa ProteinPilotTM, (Applied Biosystem).

Resultados: En los resultados preliminares se identificaron cambios de expresión en aproximadamente un centenar de proteínas, tanto al comparar los cultivos de estromas normal y de pacientes con MM, como en el análisis comparativo de los co-cultivos con células plasmáticas. El porcentaje de proteínas sobreexpresadas fue muy similar al número de proteínas que presentaban menor nivel de expresión. Se identificaron proteínas involucradas en adhesión y señalización celular, así como proteínas y glicoproteínas de la matriz extracelular. Estos resultados pueden permitir el hallazgo de nuevas dianas terapéuticas.