

# Conservación de los perfiles proteicos de osteoartritis en vesículas extracelulares de células reprogramadas

Ana I. Rodríguez Cendal<sup>1,2,3</sup>, María Piñeiro Ramil<sup>1,2,3</sup>, Selva Riva Mendoza<sup>4</sup>, José Señarís Rodríguez<sup>1,2,3,5</sup>, Tania María Sampayo Roca<sup>1,2,3</sup>, Francisco J. De Toro Santos<sup>1,2,6,7</sup>, Isaac M. Fuentes Boquete<sup>1,2,3,7</sup>, Silvia M. Díaz Prado<sup>1,2,3,7,\*</sup>

**1.** Universidade da Coruña, Grupo de Investigación en Terapia Celular y Medicina Regenerativa, Departamento de Fisioterapia, Medicina y Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, 15071 A Coruña, España. **2.** Fundación Pública Galega de Investigación Biomédica, Grupo de Investigación en Terapia Celular y Medicina Regenerativa, Instituto de Investigación Biomédica A Coruña (INIBIC), Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña (CHUAC), Servizo Galego de Saúde (SERGAS), 15071 A Coruña, España. **3.** Universidade da Coruña, Grupo de Investigación en Terapia Celular y Medicina Regenerativa, Centro Interdisciplinar de Química e Bioloxía (CICA), 15071 A Coruña, España. **4.** Fundación Pública Galega de Investigación Biomédica, Grupo de Investigación en Reumatología, Unidad de Proteómica, Instituto de Investigación Biomédica A Coruña (INIBIC), Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña (CHUAC), Servizo Galego de Saúde (SERGAS), 15071 A Coruña, España. **5.** Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología, Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña (CHUAC), Servizo Galego de Saúde (SERGAS), 15071 A Coruña, España. **6.** Servicio de Reumatología, Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña (CHUAC), Servizo Galego de Saúde (SERGAS), 15071 A Coruña, España. **7.** Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), 28029 Madrid, España. \* s.diaz1@udc.es.

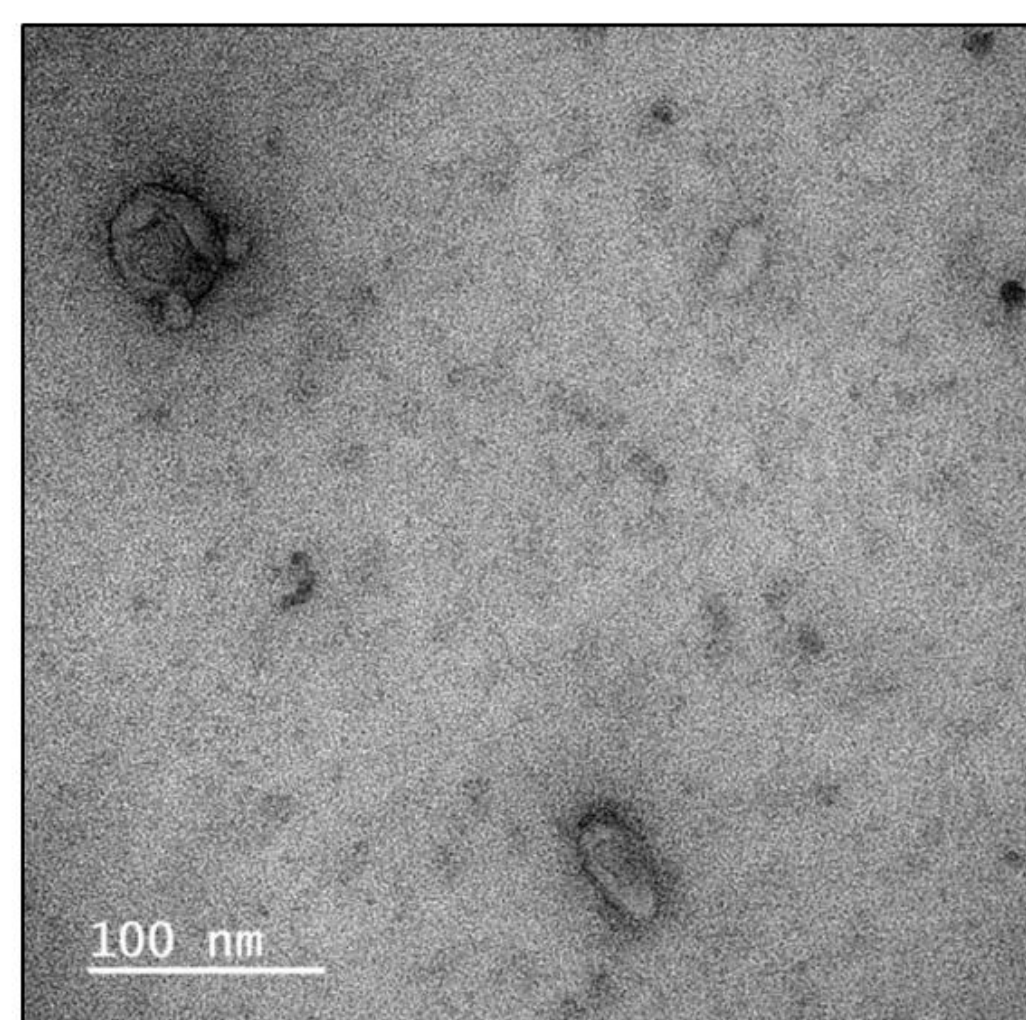
## INTRODUCCIÓN

La osteoartritis (OA) es una enfermedad crónica caracterizada por la degradación del cartílago en un microambiente proinflamatorio. Las vesículas extracelulares (sEVs) de células madre mesenquimales (MSCs) se investigan para terapias en OA, pero su aplicación clínica enfrenta limitaciones como variabilidad del donante y capacidad proliferativa. Las MSCs derivadas de células pluripotentes inducidas (iPSC), conocidas como MLCs, ofrecen una fuente celular ilimitada con propiedades similares.

## OBJETIVOS Y METODOLOGÍA

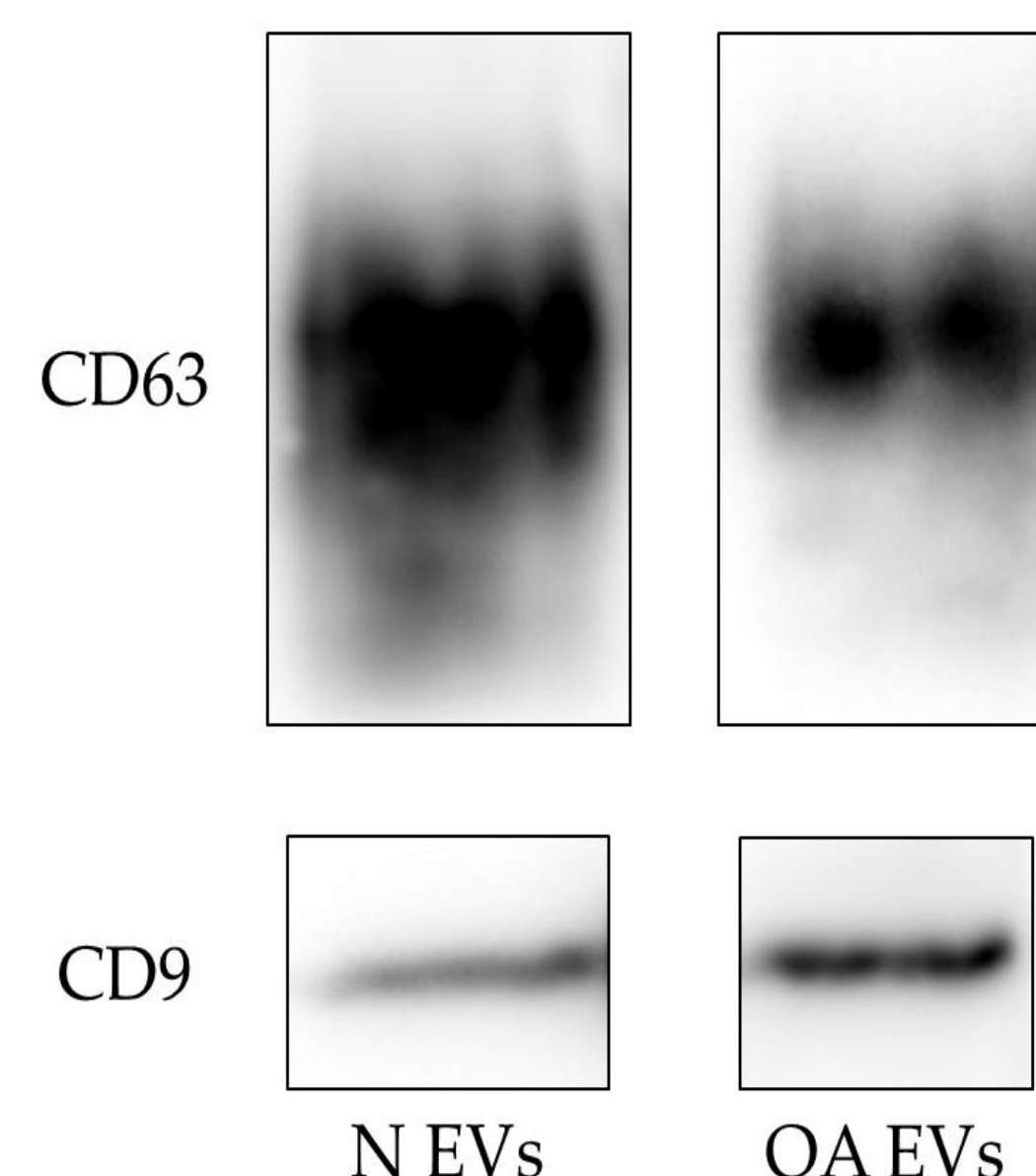
Explorar el potencial terapéutico de las sEVs derivadas de MLCs en el tratamiento de la OA. Se utilizaron dos líneas de iPSC, una de un paciente con OA y otra de un donante sano (N), diferenciadas hacia MLCs mediante cuerpos embrionarios. Las sEVs se caracterizaron por microscopía electrónica de transmisión (TEM), Western blot, análisis de seguimiento de nanopartículas (NTA) y análisis proteómico.

Las sEVs de MLCs tenían forma esférica y en copa (**Figura 1**).



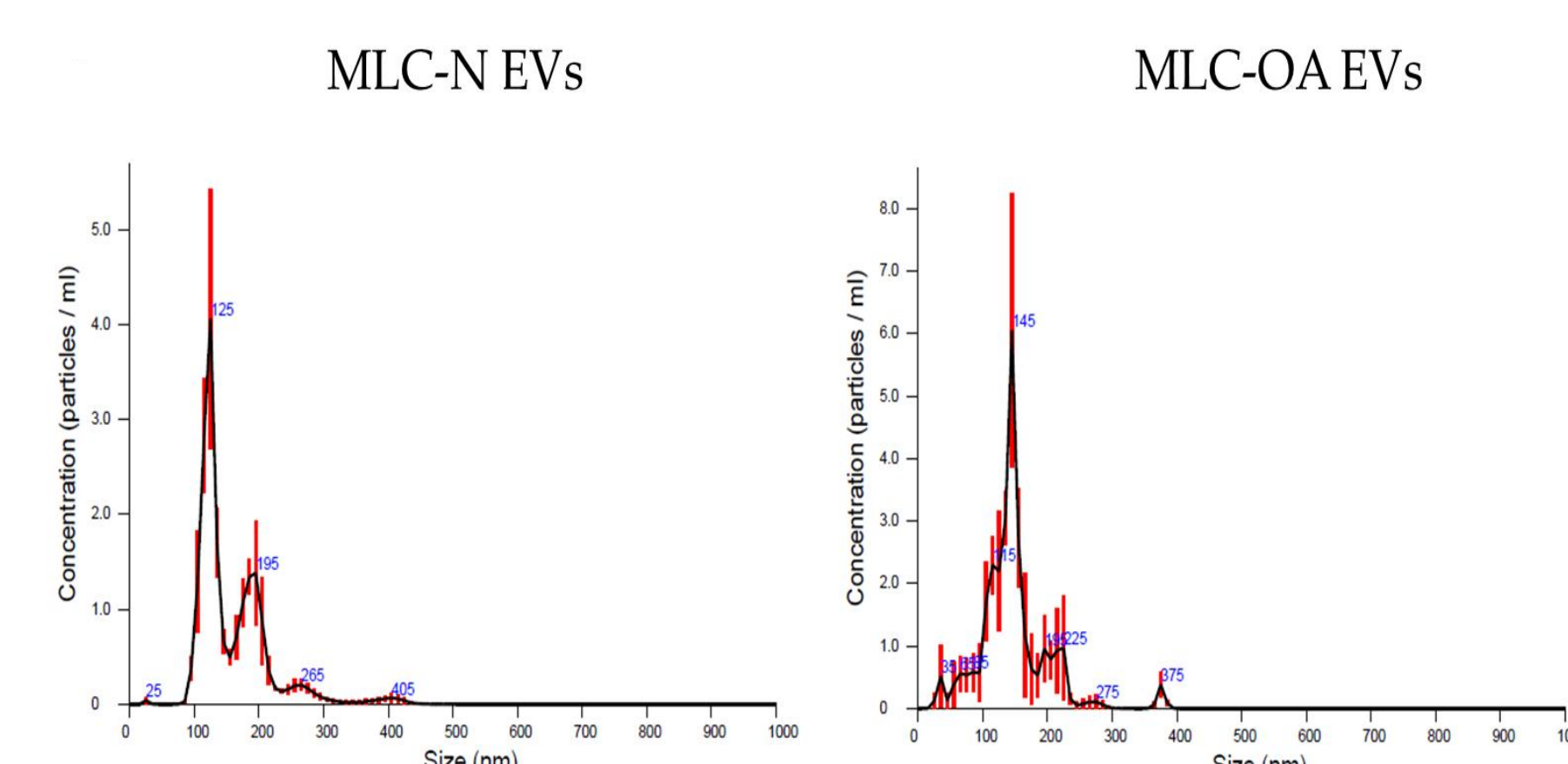
**Figura 1.** Morfología de las sEVs derivadas de MLCs con OA (MLCs-OA) mediante TEM. Barra de escala: 100 nm.

En el Western Blot las sEVs derivadas de MLCs-OA y MLCs-N expresaron los marcadores CD9 y CD63 (**Figura 2**).



**Figura 2.** Western blot de los marcadores CD9 y CD63 en sEVs derivadas de MLC-N y MLC-OA.

Las sEVs de MLCs-OA son ligeramente más grandes (145 nm) en comparación con las sEVs derivadas de MLCs-N (sEVs N; 125 nm) (**Figura 3**).



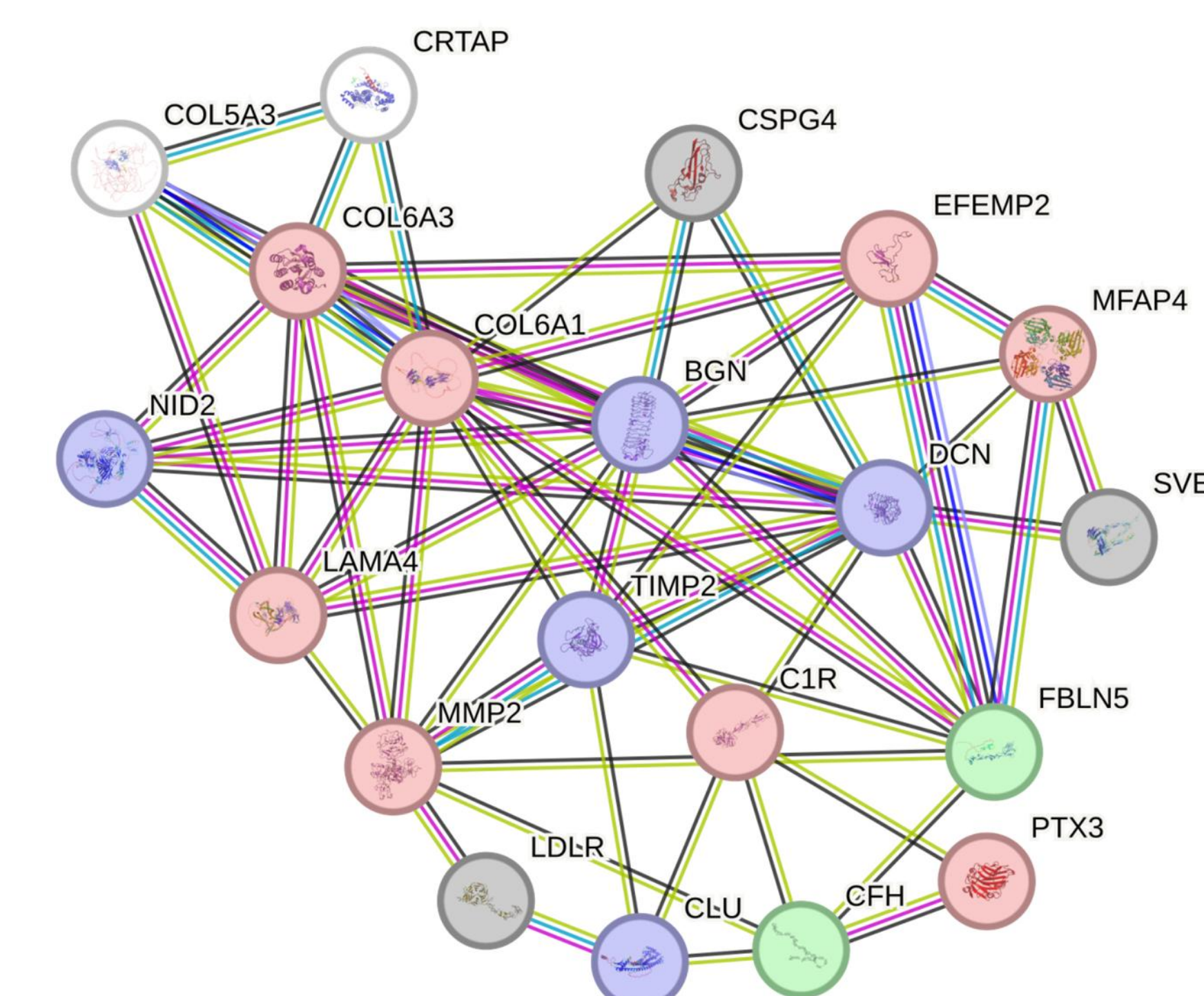
**Figura 3.** Distribución del tamaño de las sEVs derivadas de MLCs medida mediante NTA.

## RESULTADOS

El análisis de red STRING reveló que 20 de 25 proteínas que estaban sobreexpresadas en las sEVs de MLCs-OA estaban estrechamente interconectadas (**Figura 4**).

En **rojo** asociadas con la OA y la degradación del cartílago: proteína relacionada con pentraxina (PTX3), subcomponente del complemento C1r (C1R), cadena alfa-3(VI) del colágeno (COL6A3), cadena alfa-1(VI) del colágeno (COL6A1), metaloproteína de matriz 2 (MMP2) y subunidad alfa-4 de laminina (LAMA).

En **blanco** proteínas relacionadas con la formación ósea y, potencialmente, con la formación de osteofitos.



**Figura 4.** Análisis de red STRING.

En **morado** se han descrito como sobreexpresadas en OA, pero exhiben efectos condroprotectores o procondrogénicos: Inhibidor de la metaloproteína 2 (TIMP2), decorina (DCN), biglicano (BGN), clusterina (CLU) y nidógeno-2 (NID2).

En **verde** proteínas con actividad antiinflamatoria y anticatabólica.

En **gris** tres proteínas con efectos desconocidos o inciertos sobre el cartílago.

## CONCLUSIONES

Las MLCs y sEVs derivadas de iPSC retienen los perfiles proteicos específicos de la OA del donante, lo que podría limitar su eficacia terapéutica. Evaluar cuidadosamente los perfiles específicos de la enfermedad en los sEVs es clave para aplicaciones regenerativas.

## AGRADECIMIENTOS

Instituto de Salud Carlos III-Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación-Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) "Una manera de hacer Europa" (PI20/00933), ayudas para proyectos Semilla-Disruptivos entre grupos del CICA 2021 (POLIBIOMED) de la Universidade de A Coruña, Grupos con Potencial de Crecimiento, Xunta de Galicia (ED431B 2020/55 y ED431B 2023/58) y Fundación Pública Galega de Investigación Biomédica (INIBIC), proyectos de Desarrollo y Transferencia 2022 y 2024.

