

2010 Octubre, 2(1): 1-1

## AMILOIDOSIS INDUCIDA POR VARIANTES DE LA APOLIPOPROTEINA A-I HUMANA

Autores Nahuel A. Ramella, Omar J. Rimoldi, Eduardo D. Prieto, M. Alejandra Tricerri.

**Lugar de Trabajo** Cátedras Bioquímica, y Bioquímica Clínica I, Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP), Fac. Cs. Médicas, Calle 60 y 120, La Plata, e-mail de contacto: aletricerri@yahoo.com

### Introducción

Si bien las amiloidosis severas no suelen ser patologías prevalentes, el plegamiento anómalo de proteínas está involucrado a procesos crónicos de inflamación. Los niveles de apolipoprotein A-I (apoA-I) humana se correlacionan inversamente con el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares por su participación en el transporte reverso de colesterol; sin embargo, depósitos de la forma nativa de la proteína se encuentran asociados a placas seniles, y algunas mutaciones puntuales inducen en paciente la formación de depósitos asociados a placas ateromatosas o disfunción renal.

### Objetivos

Estudiar el plegamiento de dos mutantes naturales de apoA-I involucrados en amiloidosis (Arg26Gly y Lys107-0), y la tendencia intrínseca de la proteína con su secuencia nativa (Wt) a agregarse dependiendo de las condiciones aportadas por el microambiente celular.

### Materiales y métodos

Los ensayos incluyen el empleo de diferentes técnicas biofísicas. Mediante estudios de fluorescencia se compara la tendencia de las distintas formas (a pH fisiológico y ácido) a adoptar plegamiento en forma de agregados amiloides mediante unión de la sonda tioflavina T, y la formación de bolsillos hidrofóbicos mediante unión de bis-ANS. Asimismo la desnaturalización química se analiza por la emisión de fluorescencia de los residuos de Trp. La formación de compuestos de alto tamaño inducida por unión a heparina se determina mediante ensayos de scattering. La morfología de los agregados proteicos se observa mediante Microscopía electrónica. Las variantes proteicas se obtienen con técnicas tradicionales de biología molecular.

### Resultados

Se determina que el descenso de pH disminuye el patrón de desnaturalización cooperativa de las 3 proteínas analizadas, lo que se asocia con el aumento en la formación de agregados insolubles tipo amiloide, la disminución de bolsillos hidrofóbicos y el aumento de unión a heparina. Si bien este comportamiento es general para todas las variantes, es más marcado para las proteínas con cambio puntual en la secuencia primaria, probablemente asociado al cambio de carga. Por microscopía electrónica se observa la presencia de distintos agregados luego de incubaciones prolongadas, y en especial de fibras maduras en el mutante Arg26Gly

### Conclusiones

Los resultados manifiestan una tendencia intrínseca de la proteína nativa a agregarse en condiciones de pH ácido, la que se incrementa cuando ocurren ciertas mutaciones puntuales. Esta tendencia puede estar determinada por una estructura terciaria altamente flexible que requiere la apoA-I en su función transportadora de lípidos. Descensos locales de pH pueden ser debidos a hipoxias tisulares en procesos crónicos, y/o exposición de cargas negativas en lípidos de membrana (como fosfatidilserina, característica de los eventos de apoptosis).