

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION



TITULO:

**EFFECTOS DE POLIMORFISMOS EN LA PROTEÍNA LRP6
EN LA VIA DE SEÑALIZACIÓN WNT**

Tesis de Magíster presentada a la Dirección de Postgrado de la Universidad de Concepción como parte de los requisitos para optar al grado de Magíster en Ciencias, mención Bioquímica

Por

Miguel Enrique Ávila Rivas

2009

RESUMEN

Recientemente, nuestro laboratorio ha mostrado una asociación entre dos polimorfismos nucleotídicos simples (SNPs) en los exones 14 y 18 del gen que codifica para el co-receptor de la vía Wnt, la proteína LRP6 (*Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 6*) y el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer (De Ferrari *et al.*, 2007). Una observación importante de dicho trabajo es que el SNP presente en el exón 14 de este co-receptor es no sinónimo (Ile → Val), se localiza en el aminoácido 1062 y es altamente conservado. En conjunto, lo anterior sugiere que este residuo puede ser importante para el correcto funcionamiento de la proteína (De Ferrari *et al.*, 2007).

En consideración a los resultados anteriores, en este trabajo de tesis nos planteamos examinar el efecto de dicho polimorfismo en la actividad de la vía Wnt/ β -catenina. Al respecto, mediante la utilización de ensayos de actividad con un gen reportero asociado a luciferasa, encontramos que los alelos presentan una actividad diferencial respecto de esta vía, tanto en células HEK293T como en la línea neuronal derivada del hibridoma rata-ratón (neuronas NG). De igual forma, nuestros resultados indican que no es posible explicar la actividad diferencial de los alelos por problemas en la destinación de estas proteínas a la membrana, dado que ambas se encuentran en la superficie celular a concentraciones similares. Esto sugiere que el efecto diferencial pudiese deberse a un plegamiento incorrecto de estas proteínas.

Con el objeto de probar lo sugerido anteriormente, se evaluó la actividad de la vía Wnt en células cotransfectadas con estos alelos y la chaperona MESD (*mesoderm development*) que facilita el correcto plegamiento del LRP6 (Hsieh *et al.*,

2003; Culi & Mann, 2003). Nuestros resultados indican que el polimorfismo estudiado (LRP6-14eV) aumenta la activación de la vía Wnt sólo en presencia de MESD exógena en células HEK293T y NG.

Luego, considerando que uno de los factores de riesgo más reconocidos para la enfermedad de Alzheimer es el alelo 4 de la Apolipoproteína E (ApoE) (Corder *et al.*, 1993; Strittmatter *et al.*, 1993; Wisniewski *et al.*, 1994; Caruso *et al.*, 2006), examinamos el efecto de las diferentes isoformas de la ApoE (- ϵ 2, - ϵ 3 y - ϵ 4), en ausencia y en presencia de los alelos del LRP6 sobre la vía de señalización Wnt/ β -catenina. Los resultados encontrados para el alelo LRP6-14eV revelan una mayor disminución de la actividad de la vía Wnt en presencia de la isoforma - ϵ 4 de ApoE en comparación a la - ϵ 2 y - ϵ 3. En contraste, el alelo LRP6-14eV revierte este efecto mostrando un aumento de la vía de transducción de señales Wnt/ β -catenina en presencia de ApoE- ϵ 4 y disminuyendo esta activación en presencia de - ϵ 2 y - ϵ 3.

En resumen, los datos presentados en esta tesis apoyan la hipótesis de que la vía de señalización Wnt se encuentra alterada en presencia de receptores LRP6 asociados a la enfermedad de Alzheimer.