



**Universidad de Concepción
Facultad de Farmacia
Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología**

Caracterización de Anticuerpos Monoclonales Anti Apolipoproteína A-I para el Reconocimiento de Subpoblaciones de HDL

**Tesis para optar al título de Bioquímico y al grado
de Magíster en Bioquímica Clínica e Inmunología**

Profesora Guía:

Paulina Bustos Araya

ALEJANDRA MARCELA LEZANA DÍAZ

RESUMEN

La aterosclerosis es un desorden inflamatorio que conduce al desarrollo de la enfermedad coronaria, la que se caracteriza por una alteración de las lipoproteínas plasmáticas. Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) contienen apolipoproteína A-I (apo A-I), clave en el metabolismo del colesterol y responsable del rol antiaterogénico.

En este trabajo se caracterizaron anticuerpos monoclonales (AcMos) anti apo A-I utilizando HDL total, HDL₂, HDL₃, pre β -HDL, apo A-I nativa, apo A-I mutadas y péptidos de apo A-I. Los AcMos presentaron igual reactividad con apo A-I y HDL mediante ELISAs competitivos realizados en presencia de Tween-20. Al realizar estos ensayos en ausencia de Tween-20, los AcMos 2B4E9, 7C5E10 y 2C10 reaccionaron con la apo A-I y la HDL, en tanto los AcMos 1C11B7, 8A4 y 8A5 reaccionaron con la apo A-I en HDL y no con la apo A-I libre. La utilización de apo A-I con mutaciones puntuales en el extremo amino-terminal, demostró que los AcMos 2B4E9, 7C5E10, 2C10 y 6B9 reconocían epitopes de esta región. Los AcMos 1C11, 8A4, y 8A5 presentaron una elevada reactividad con líquido folicular humano, que contiene una alta concentración de pre β -HDL. Por el contrario, los AcMos 2C10, 6B9 y 8B12G8 presentaron un bajo reconocimiento de las pre β -HDL. Mediante la técnica del Biacore, se determinó una K_d (M) promedio de 10⁻⁹ para la interacción entre la apo A-I o HDL y los anticuerpos 1C11, 8A4, y 8A5, y de 10⁻⁸ para la interacción entre estos anticuerpos y una fracción del líquido folicular.

La caracterización de los AcMos permitió la estandarización de dos ELISAs tipo sandwich. El primero desarrollado en presencia de tween-20 para la cuantificación de apo A-I total. El segundo se realizó en ausencia de tween-20 para la cuantificación de apo A-I en HDL. Se determinó apo A-I total y apo A-I en HDL en una muestra de 76 adolescentes obesos agrupados en base a la presencia o ausencia de síndrome metabólico, encontrándose una diferencia significativa tanto en los niveles de apo A-I total como de apo A-I en HDL entre los grupos con y sin SM. Se encontró una correlación altamente significativa entre la determinación de apo A-I por ELISA y la determinación de apo A-I realizada por turbidimetría.