

Determinación de la afinidad entre proteínas de amaranto y ácidos biliares mediante resonancia plasmónica de superficie

Sisti, Martin Sebastian¹; Fernández, Marisa²; Scilingo, Adriana¹; Añón Maria Cristina¹.

¹Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA-UNLP-CONICET-CIC). ²IDEHU (UBA-CONICET)

El Resumen debe contener: introducción, objetivos, métodos, resultados y conclusiones del trabajo.3500 caracteres.

Los ácidos biliares (AB) son moléculas anfipáticas que cumplen un rol crucial en la digestión. Estos, junto a otros emulsionantes, son los encargados de vehiculizar los lípidos de la dieta en forma de micelas para que puedan luego ser digeridos y absorbidos en la luz intestinal. Los AB se forman en el hígado a partir del colesterol, y luego de almacenarse en la vesícula biliar son vertidos a la luz intestinal. Una importante cantidad es reabsorbida posteriormente por el intestino. Existe una relación entre los niveles de colesterol y la demanda de síntesis de AB: si se disminuye la reabsorción se aumenta la demanda de AB y se promueve la reducción de la cantidad de colesterol sanguíneo. Esta relación hace que los AB sean un target de interés terapéutico.

En nuestro laboratorio hemos demostrado que las proteínas y fibra de amaranto tienen la capacidad de desplazar colesterol de micelas modelo, formadas por fosfatidilcolina, taurocolato de sodio, ácido oleico y colesterol. Una posible hipótesis para este efecto es que el amaranto interaccione con el taurocolato de sodio desestabilizando la micela y liberando el colesterol contenido en la misma. A fin de corroborar esta hipótesis, nos propusimos como objetivo evidenciar y cuantificar la interacción entre las proteínas de amaranto y 3 ácidos biliares, cólico(C), taurocólico(T) y deoxicólico(D), empleando un equipo de resonancia plasmónica de superficie para medir esta interacción. Se plantearon dos estrategias de trabajo. En la primera, cada una de las muestras de amaranto, aislado proteico (AI) y el mismo aislado proteico sometido a una digestión gastrointestinal simulada (DAI), se unió a un CHIP CM5. La interacción con los 3 ácidos biliares a los que se enfrentaron las muestras proteicas fijadas sobre el soporte sólido fue entonces determinada, registrando la energía de unión entre las proteínas y el AB empleado en cada caso barriendo concentraciones de 0 a 2000 μ M. En la segunda estrategia experimental se realizó un ensayo de competencia, preincubando cada AB, a una concentración fija

de 500 μM , con dos fracciones de diferente hidrofobicidad (F2 y F3) obtenidas por HPLC-RP a partir del aislado digerido (DAI). Nuevamente se midieron las afinidades de los AB frente DAI pero, utilizando las soluciones de AB preincubadas con F2 y F3.

Cuando las medidas se realizaron enfrentando los AB al AI no se pudieron determinar las respectivas afinidades debido a una baja señal del equipo, lo que indicaría que la cantidad de proteínas que se está uniendo al chip no fue suficiente para determinar la interacción, posiblemente debido a que el buffer utilizado para pegar estas proteínas tiene un pH muy cercano al pI de las mismas. En cambio cuando los ensayos se hicieron enfrentando los AB al DAI pudimos determinar la constante de disociación K_d siendo, 800 μM y 1200 μM , para C y T respectivamente. Respecto a D no se logró alcanzar los niveles de saturación del sistema necesarios para realizar la medida, aunque si se pudo observar que se establece una interacción específica. Los resultados alcanzados en los ensayos competitivos indicaron que cuanto mayor es el carácter hidrofóbico de la fracción proteica empleada, mayor fue la interacción de la misma con los AB.

En conclusión, podemos decir que las proteínas de amaranto digeridas poseen una potencial actividad hipocolesterolemizante, ejercida a través de la captación de AB.

Interacción Lípido-proteína