

Evaluación de la capacidad antioxidante de la albúmina sérica humana y su relación con la estructura molecular en pacientes con Diabetes Tipo 2. *Importancia de los estudios biofísicos en la conformación proteica*

Marisol Rosas-Díaz^a, Manuel Nolasco-Quiroga^b, Martha Beatriz Ramírez-Rosas^a, Menandro Camarillo-Cadena^c

^aLab. de Farmacología Vascular. Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa Aztlán, Calle 16 y lago de Chapala S/N, Reynosa, Tamaulipas México.

^bLaboratorio de Biología Molecular. Hospital Juárez de México, AvIPN No. 5160, Col. Magdalena de Salinas Del. G.A.M., Ciudad de México, México.

^cLaboratorio de Bio-fisicoquímica. Universidad Autónoma Metropolitana UAM-I, San Rafael Atlixco 186, Leyes de Reforma, Iztapalapa, CDMX, México.

*Contacto: mar_rod@yahoo.com.mx, gfbmarisol@hotmail.com

Palabras clave: ASH, estrés oxidativo, hélices alfa, dicroísmo circular, PyMol.

Introducción

La principal capacidad antioxidante de la sangre, es atribuida principalmente a la presencia del grupo sulfhidrilo libre en la Cisteína 34 de la albúmina sérica humana (ASH)^{1,2}. La estructura nativa proteica es importante para que cumpla su función biológica^{2,3}. En la actualidad se han desarrollado numerosas técnicas para la evaluación de la estructura y conformación de proteínas. Una de las técnicas biofísicas más utilizadas es el dicroísmo circular (DC)⁴. El DC, es una herramienta muy valiosa, que permite analizar cambios esenciales en la estructura secundaria y terciaria de proteínas de manera no destructiva; a pesar de presentar múltiples ventajas (se requiere poca concentración de la muestra y se puede analizar la conformación de la proteína en solución), es necesario combinar este análisis con programas bioinformáticos (como dichroweb y PyMOL, en los que se puede obtener la estructura 3D de la proteína de estudio)⁷.

Existe una amplia evidencia experimental, epidemiológica y clínica que indica que en pacientes con diabetes tipo 2 (DT2), se producen grandes cantidades de especies reactivas y radicales libres, los cuales pueden inducir alteraciones en la estructura y función de la ASH^{2,3}. En el presente trabajo evaluamos los cambios en la función antioxidante y en la conformación de la albúmina sérica humana en individuos sin diabetes y con diabetes tipo 2.

Parte experimental

Obtención de la muestra. Se obtuvo una muestra de sangre periférica en ayunas de un total de 40 pacientes (20 sin DT2 y 20 con DT2), los cuales dieron su consentimiento oral y por escrito para participar en el proyecto mediante la carta de consentimiento informado. La identidad de los pacientes quedó de manera confidencial de acuerdo a los lineamientos en la Declaración de Helsinki 2013. El diagnóstico de DT2 se realizó conforme a la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y a la NOM-015. **Parámetros antropométricos y bioquímicos.** Se determinó el Índice de Masa Corporal (IMC), la glucosa y la Hemoglobina glicosilada (Hb_{A1c}). **Evaluación de la capacidad antioxidante:** Se determinó la concentración de los grupos sulfhidrilo por el Método de Ellman⁵. Se evaluó la oxidación de proteínas por la formación de grupos carbonilo por el Método de Levine⁶. **Purificación de la proteína.** La ASH se purificó por cromatografía de afinidad con sefaroza azul (Blue Sepharose Fast Flow 17094801 de GE-HealthCare). Los cambios estructurales y conformacionales de la albúmina se evaluaron por polarimetría, con dicroísmo circular en Ultravioleta-lejano (en un rango de 190-250nm, en una cubeta de cuarzo de 1cm path length), a una

concentración de 1 mg/mL; las lecturas se realizaron por triplicado. Se realizó un análisis bioinformático con el servidor dicroweb⁷.

Resultados y discusión

Tabla 1. Parámetros antropométricos, clínicos, estatus redox y estructura secundaria de la albúmina sérica humana.

	Grupo control (n=20)	Pacientes con DT2 (n=20)
IMC (kg/m ³)	24.9±4.0	27.9±2.5
Glucosa (mg/mL)	93.4±5.7	138±12.5*
Hb _{A1c} (%)	5.6±1.4	8.2±1.4 *
Grupo sulfhidrilo (μmol/g proteína)	6.1±2.8	4.4±2.0*
Grupos carbonilo (nmol/mg proteína)	1.1±0.41	1.79±0.29*
Hélices alfa %	51±2.4	42±1.3*
Láminas beta %	11±1.8	13±1.4
Giros %	15±1.3	17±0.9
Estruc. Aleatorias %	23±1.5	26±0.9

*Diferencia significativa ($p < 0.05$) comparado con el grupo control.

Conclusiones

- La capacidad antioxidante de la ASH disminuye en condiciones de hiperglucemia.
- La ASH presenta una disminución en el contenido de hélices alfa en su estructura molecular en pacientes con diabetes tipo.
- El estatus redox de la ASH es un posible biomarcador para monitorear la patofisiología de la diabetes.
- El dicroísmo circular, es una herramienta importante para la caracterización de proteínas en solución.

Referencias

1. Kohei Nagumo K *et al.* PLoS ONE 2014, 9(1): e85216.
2. Guerin-Dubourg A, Catan A, Bourdon E, Rondeau P. Diabetes Metab 2012, 38(2):171-178.
3. Rosas-Díaz M, Camarillo-Cadena M, Hernández-Arana A, Ramón-Gallegos E, Medina-Navarro R. Mol Cell Biochem 2015, 404:193-201.
4. Whitmore L, Wallace BA. Biopolymers 2008, 89(5):392-400.
5. Riener CK, Kada G, Gruber HJ. Anal Bioanal Chem 2002, 373:266-276.
6. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn Bw, Shaltiel S, Stadman ER, Lester P, Alexander NG. Methods in enzymology 1990, 464-478.
7. Referencia informática
Dichroweb server
<http://www.cryst.bbk.ac.uk/cdweb/html/home.html>.
Fecha de consulta: 14, agosto 2017.