

AMILOIDOZA EREDITARA

Conducator: Conf. Dr Coriu Daniel
Coordonator: Asist.Univ. Dr. Talmaci Rodica
Student: Dascultu Dana

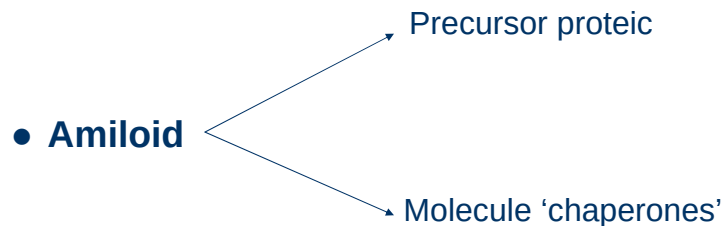
AMILOIDOZA EREDITARA

- O CALE FINALA DE DEPOZITARE
PATOLOGICA A PROTEINELOR

Amiloidul

- Agregate proteice ce se colorează specific cu roșu de Congo și prezintă birefringenta verde sub lumina polarizată.
- În condiții fiziologice aceste proteine agregă în structuri de tip beta sheets antiparalele. Structura de tip beta sheets reprezintă aranjamentul în “zig-zag” a lanțului polipeptidic iar dispoziția antiparalelă se referă la faptul că lanțul polipeptidic devine pliat pe el însuși.
- Are depozitare la nivelul spațiului extracelular

Componentele fibrilelor de amiloid



Componentele fibrilelor de amiloid

- **Precursorul proteic**
 - proteina normala alterata prin fragmentare sau substitutia aminoacizilor
 - exemple: Apo-AI, IgL, Insulina, TTR, Lys, Fibrinogen
- **SAP**
 - glicoproteina plasmatica normala sintetizata la nivelul hepatocitului
 - rol in imunitatea innascuta si in modularea fenomenelor de autoimunitate
 - are rezistenta sporita la proteoliza realizand stabilitatea si protectia fibrelor de amiloid

Componentele fibrilelor de amiloid

- **Proteoglicanii**
 - include un lant proteic si cel putin un carbohidrat(GAG)
 - realizeaza contributia in carbohidrati din depozitele de amiloid
 - intervin in legarea fibrelor de amiloid la elementele constitutive ale matricii extracelulare

Clasificarea amiloidozelor

□ SISTEMICA

- a) primara
- b) reactiva
- c) ereditara
- d) asociata hemodializei cronice
- e) sistemica senila

□ LOCALIZATA

Mecanism molecular

“tulburari de conformatie a proteinelor”

structura primara



structura secundara



structura terciara



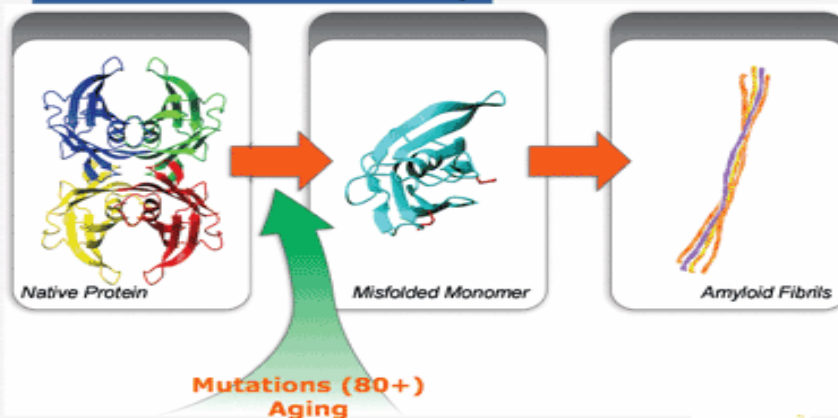
structura cuaternara



Teoria
“folding energy landscape”

Mecanism molecular

Cause of TTR Amyloidosis



Mecanismul leziunii tisulare

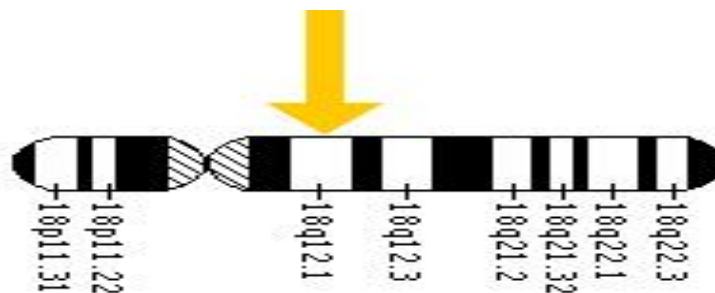
- Amiloidul are o distribuție tisulară diversificată cu predominanță totuși a unor organe țintă: **cord, rinichi, nervi, ficat tub digestiv.**
- Modifică arhitectura tisulară și alterarea funcției organului implicat datorită depozitelor
- Declanșarea unor mecanisme de citotoxicitate prin intermediul receptorilor RAGE și a procesului de fibrilogeneza
- Stress oxidativ și declanșarea mecanismului de apoptoză celulară

Amiloidoza ereditara tip TTR

- **TTR**

- proteina plasmatica anterior denumita 'prealbumina'
- sintetizata la nivel **hepatic, celule epiteliale ale plexurilor coroidiene ale encefalului si celule epiteliului pigmentar al retinei**
- rol: **transport al tiroxinei si a proteinei de legare a retinolului**

Localizarea genei TTR



Locatia citogenetica: 18q12.1. Localizarea mai precisa de la perechea de Baze 27425837 la perechea de baze 27432780

Manifestari clinice ale ATTR

- Transmitere autozomal dominanta cu debut tardiv: 30-70 ani
- Variabilitate a tabloului clinic:
 1. neuropatie periferica
 2. sindrom de tunel carpian
 3. cardiomiopatia
 4. nefropatia
 5. leziuni oculare

Mutatii ale genei TTR

1. **MET 30 VAL** (PAF tip I, mutatia portugheza)
2. **ALA 60 TRE** (amiloidoza tip Appalachian)
3. **HIS 58 LEU** (FAP II)
4. **SER 84 ILE** (PAF II)
5. **ILE 122 VAL**

Amiloidoza ereditara tip LYZ

- Enzima bacteriolitica
- Prezenta in: **secretii externe(saliva,transpiratii,mucus) , leucocite polimorfonucleare si macrofage**
- Boala are o transmitere **autozomal dominanta** cu debut la 30-40 ani
- Manifestarile clinice apar in tesuturile unde productia de lizozim este crescuta: **ficat , rinichi, tract gastro-intestinal**

Mutatii ale genei LYZ

1.ILE 56 THR

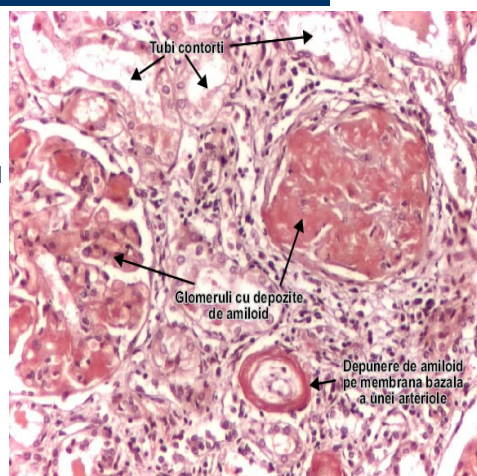
2.ASP 67 HIS

3.PHE 57 ILE

4.ASP 67 GLY

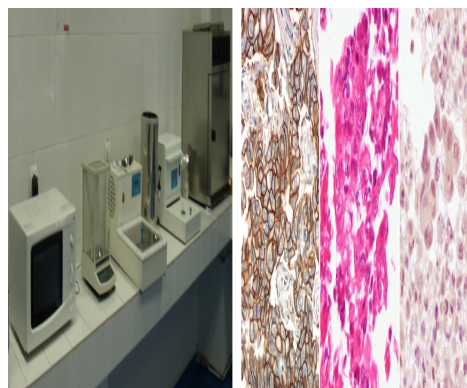
Diagnosticul de laborator al amiloidozei

- 1. Biopsie de organ , respectiv punctia din tesut adipos subcutanat. Colorarea materialului biptic cu rosu de Congo demonstreaza birefringenta caracteristica” mar verde”



Diagnostic de laborator al amiloidozei

- 2. Imunohistochimie. Se utilizeaza anticorpi policlonali anti-precursor proteic suspectat



Diagnostic de laborator al amiloidozei

3. Determinarea structurii primare a fibrilelor de amiloid. Se realizează digestia triptică a peptidelor acestea sunt separate prin HPLC

Metode de biologie moleculară

- ❖ **Analiza ADN este metoda standard de diagnostic a amiloidozelor ereditare**
- ❖ **Etape:**
 - ❖ **a) izolare ADN.** Se face din orice probă biologică: sânge periferic, celule bucale, preparate histologice
 - b) amplificarea ADN prin reacție PCR**
 - c) secvențializare directă**
 - d) RFLP**

Caz

Pacient in varsta de 45 ani originar din jud.Ialomita

Motivele internarii:

- a) epistaxis repetat
- b) hemoragie digestiva superioara

APP:

absenta

AHC:

mama - IRA

tatal sanatos

masiva

2 unchi decedati prin IRA respectiv hemoragie
post apendicectomie

CAZ

- Examenul obiectiv si investigatiile paraclinice au decelat:
- anemie
- hepatosplenomegalie
- cresteri ale creatininei si ureei

Protocolul de diagnostic molecular

- 1. Izolare ADN din sange periferic
- 2. Amplificare ADN prin reacție PCR
produsul PCR=242 pb
- 3. secvențiere
identificarea mutației ASP 67 GLY ce
corespunde unei mutații punctiforme cu înlocuirea
adeninei cu **guanina** în codonul 85

EXONUL 2 AL GENEI LYZ SI PRIMERI

- AGTCACTTAGTGTTGCTGTTTATTACTAAAAATAAGTTCTTTTCAGGGAT
GTGTTTGGCCAAATGGGAGAGTGGTTACAACACACGAGCTACAACTA
CAATGCTGGAGACAGAAGCACTGATTATGGGATATTCAGATCAATAGC
CGCTACTGGTGTAATTGATGGCAAAACCCCAGGAGCAGTTAATGCCTGT
CATTTATCCTGCAGTGGTAAGACAAGCTAATATTTGACCAATCTGGT

__ALELA MUTANTA

AGTCACTTAGTGTTGCTGTTTATTACTAAAAATAAGTTCTTTTCAGGGAT
GTGTTTGGCCAAATGGGAGAGTGGTTACAACACACGAGCTACAACTA
CAATGCTGGAGACAGAAGCACTGATTATGGGATATTCAGATCAATAGC
CGCTACTGGTGTAATTGGTGGCAAAACCCCAGGAGCAGTTAATGCCTGT
CATTTATCCTGCAGTGGTAAGACAAGCTAATATTTGACCAATCTGGT

PCR

- Imagine a migrării în gel de electroforeza a produsului PCR

