

# Processamento Intracelular da Fibrilina-1 Mutada Na Síndrome de Marfan: Escape do Controle de Qualidade pela Dissulfeto Isomerase Proteica

THAYNA MEIRELLES SANTOS

Orientador: Prof. Dr. Francisco Rafael Martins Laurindo  
Programa de Cardiologia

## Resumo

**2014 Santos T M.** *Processamento intracelular da fibrilina-1 mutada na Síndrome de Marfan: escape do controle de qualidade pela dissulfeto isomerase proteica [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.*

A Síndrome de Marfan (SMF) é a enfermidade hereditária mais comum dentre as que afetam o sistema conjuntivo, causada por mutações da glicoproteína fibrilina-1, o principal componente estrutural das microfibrilas elásticas da matriz extracelular. As manifestações fenotípicas da SMF são sistêmicas e acometem tipicamente os sistemas ocular, esquelético e cardiovascular, sendo uma importante causa de morbi-mortalidade. Entretanto, não está claro como a mutação induz a doença. Estudos anteriores sugerem anomalias morfológicas do retículo endoplasmático (RE) ou retenção intracelular da fibrilina-1 nos estágios avançados da SMF. Entretanto, a contribuição do enovelamento da fibrilina-1 mutada e do estresse do RE na fisiopatologia celular da SMF não é conhecida. Proteínas mal-enoveladas podem levar à retenção intracelular e/ou aumento da degradação através da via de degradação associada ao RE (ERAD), além da indução da resposta a proteínas mal-enoveladas (UPR), ambas com potencial contribuição à fisiopatologia de doenças, incluindo a SMF. Assim, estudamos em fibroblastos embrionários isolados de camundongos (MEFs) com SMF se a fibrilina-1 mutada é reconhecida pelo controle de qualidade do RE pelo seu mal-enovelamento e induz estresse do RE por sua retenção intracelular. Demonstramos que a mutação na fibrilina-1 por si não promoveu chaperonas marcadoras de UPR ou geração de oxidantes. Além disso, não levou a uma maior sensibilização das células à indução exógena

de estresse do RE, nem promoveu maior morte celular após inibição do proteassoma. Além disso, não foi observada retenção intracelular da fibrilina-1 nas células SMF, e mesmo após inibição da via secretora ou indução de estresse do RE, a inibição da secreção da fibrilina-1 foi similar nos MEFs SMF e wild-type (WT). A dissulfeto isomerase proteica (PDI), uma importante chaperona redox do RE, interage com fibrilina-1, e seu silenciamento levou a um aumento na secreção da fibrilina-1 pelos MEFs WT, mas não SMF. Além disso, o silenciamento da PDI promoveu a desorganização da matriz extracelular depositada de fibrilina-1 nos MEFs WT, enquanto nos MEFs SMF, a desorganização basal da matriz não foi adicionalmente alterada. Em paralelo, investigações in vivo mostraram que o estresse do RE não é induzido em camundongos SMF com 1 ou 3 meses de idade, apesar de manifestações fenotípicas evidentes. Entretanto, concomitante à progressão da doença, detectamos a ocorrência de estresse do RE nas aortas ascendentes dos camundongos aos 6 meses. Esta detecção foi exclusiva desta região da aorta e não ocorreu em outros órgãos afetados ou não afetados pela SMF. Assim, a manifestação do fenótipo clássico da SMF não requer uma perda da homeostase do RE diretamente induzida pela fibrilina-1 mutada. Ao contrário, esta é capaz de evadir mecanismos de controle de qualidade mediados pela PDI, sendo secretada normalmente. Assim, esta evasão do controle de qualidade pela PDI é uma condição permissiva essencial para o fenótipo da SMF. Por outro lado, o estresse do RE é uma característica evolutiva do aneurisma da aorta ascendente na SMF concomitante ao agravamento do fenótipo neste tecido.

**Descritores:** 1.Síndrome de Marfan 2.Fibrilina 1 3.Dobramento de proteína 4.Estresse do retículo endoplasmático 5.Isomerase de dissulfetos de proteínas 6.Camundongos mutantes