

BIOLOGÍA Y PATOBIOLOGÍA HUMANAS DEL COMPLEJO DE ABSORCIÓN Y TRANSPORTE EPITELIAL MEGACUBAM

GRÉGORY A. GARCÍA^{1,3}, SERGIO HERNÁNDEZ V.^{2,3*}, ÓMAR RAMÓN M.^{3,4,5},
SEGUNDO A. BAEZ³ Y ANANÍAS GARCÍA C.^{4,5}

Resumen

En los organismos multicelulares animales, las células epiteliales son estructuras dinámicas que están relacionadas en una compleja, exquisita y regulada serie de procesos fisiológicos, siendo de los más relevantes los relacionados con la absorción, el catabolismo y el reciclaje de nutrientes. De igual forma, estos organismos están en constante desafío debido a la continua interacción con una gran variedad de eventos aleatorios ambientales. Frente a esta serie de agentes potencialmente nocivos, las células epiteliales se constituyen en la primera línea de defensa, protección e interfase de intercambio. En esta revisión de tema se pretende realizar un abordaje de la información actual acerca de una maquinaria de transporte epitelial de absorción, que hace posible desencadenar una respuesta efectiva a tales eventos, se trata del complejo MegaCUBAM.

Palabras clave: alfa-2-macroglobulina, células epiteliales, cubilina, anemia megaloblástica, aterosclerosis, autoinmunidad, cáncer, lipoproteínas, megalina, plasminólisis, quimiotaxis, zinc.

BIOLOGY AND HUMAN PATHOBIOLOGY OF THE OF ABSORPTION AND TRANSPORT EPITHELIAL MEGACUBAM COMPLEX

Abstract

In animal multicellular organisms, epithelial cells are dynamic structures involves in a complex, exquisite and regulated series of physiological process, mainly those related to the absorption, catabolism and recycling of nutrients.

These organisms are continually challenged by a variety of environmental hazards, and the first line of defence, protection and exchange interface, is provided by epithelial cells. This review aims to describe the current information about the epithelial machinery of absorption and transport that makes possible the right response to environmental challenges that is the MegaCUBAM complex.

Key words: alpha-2-macroglobulin, epithelial cells, cubilin, megaloblastic anemia, atherosclerosis, autoimmunity, cancer, lipoprotein, megalin, quimiotaxis, zinc.

¹ Facultad de Medicina, Unisanitas, Bogotá, D.C.

² Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, D.C.

³ Facultad de Medicina, Universidad del Bosque, Bogotá, D.C.

⁴ Facultad de Medicina, Universidad del Rosario, Bogotá, D.C.

⁵ Facultad de Rehabilitación, Terapia y Desarrollo Humano. Instituto de Ciencias Básicas, Universidad del Rosario.

Correspondencia: sergio.hernandez@umng.edu.co

Dirección postal: Tr. 3 #49-00, Facultad de Medicina, Bogotá, D.C.

Recibido: Mayo 18 de 2006. Aceptado: Noviembre 17 de 2006.

Introducción

Las células epiteliales, también denominadas epitelocitos, son quizás las células más especializadas en los organismos multicelulares, específicamente en los metazoarios. Junto con las células conjuntivas o conectivas, musculares y neurales, las células epiteliales hacen parte de los cuatro tipos celulares claves en el mantenimiento de la estructura y función de la arquitectura sistemática animal. Son quizás las primeras células que aparecen ontogénica y filogenéticamente e incluso es interesante relevar a las neuronas como células epiteliales con un altísimo grado de especialización (1-4).

Los epitelocitos que conforman los tejidos epiteliales se diversifican, tanto en variedades de revestimiento, como en glandulares exocrinas y endocrinas. Teniendo en cuenta que las células epiteliales son la primera barrera de defensa inmunológica y de interacción frente a agresores del mundo exterior, los tejidos epiteliales demuestran una gran funcionalidad tanto en funciones de protección, como en nutricionales y neurosensoriales, todas éstas actividades claves para mantener la integridad sistemática y sistémica corporal del individuo (1-4).

En la economía de los organismos animales superiores la gran mayoría de los órganos poseen parénquimas epiteliales con funciones glandulares endocrinas, exocrinas, o ambas. Asimismo, se resaltan las implicaciones de la función epitelial sobre la fisiología sistémica, en especial en su rol para la captación de sustratos mediante procesos de absorción gastrointestinal y su posterior catabolismo hepático y renal (1-4).

Componentes del complejo de captación epitelial MegaCUBAM

En la actualidad existe evidencia clara y consistente de la presencia en la membrana plasmática de las células epiteliales de un gran complejo glicoproteico de captación con fines nutritivos, catabólicos y de reabsorción. Este complejo está formado por proteínas como la megalina, la cubilina, la AMN (del inglés—*Amnionless*) y ciertos tipos de LRP1 (del inglés—*Lipoprotein Receptor related protein*) como la proteína RAP (del inglés “*receptor-related protein-associated protein*”). En conjunto, consti-

tuyen el denominado complejo MegaCUBAM, que se dispone dentro de los enclaves de la membrana ricos en esfingolípidos, colesterol y fosfatidilinositol, caracterizados como balsas esfingolípídicas (Lipid Raft) (5, 6).

La megalina, reconocida en la literatura científica como LRP2 y en el ámbito médico por su capacidad para actuar como receptor alternativo para lipoproteínas, posee además alta afinidad por las apolipoproteínas asociadas a estas estructuras y requeridas para el transporte plasmático de lípidos (5, 6).

Desde el punto de vista ontogénico, al rastrear los genomas de diversas especies animales se encuentra un patrón altamente conservado en la aparición de estas proteínas, de tal suerte que proteínas como la megalina, la RAP, la apolipoproteína E y la proteína murina HBP44 (del inglés “*hyaluronan binding protein 44*”), muestran estrecha homología, al parecer por un ancestro genético común, lo cual permite incluirlas dentro de una misma familia de receptores (6-11).

Megalina (LRP2)

La megalina (MIM600073-locus génico) codificada por el cromosoma 2q24-31, es una glicoproteína de membrana perteneciente a la familia de los receptores para lipoproteínas de baja densidad (LDL -del inglés *Low Density Lipoprotein*), que corresponde en la nomenclatura científica al LRP2 (del inglés *Lipoprotein receptor-related protein-2*); también se la ha llamado proteína gp330 (glicoproteína de 330 kDa) (7-12).

La LRP2 se identificó inicialmente en la búsqueda de auto-antígenos relacionados con la nefritis de Heymann, una entidad inflamatoria renal inducida en modelos animales, principalmente en ratas. Es una proteína de 4.630 aminoácidos en su estado maduro, con una masa molecular de 519.636 kDa. Su topología plasmalémica consiste en una región extracelular de 4.398 aminoácidos, una región monotópica transmembranal de 23 aminoácidos y una región carboxiterminal intracelular de 209 aminoácidos (7-12).

En su región extracelular se aprecian tres tipos de regiones ricas en cisteína constituidas así: la pri-

mera, con 36 residuos ordenados secuencialmente que garantizan el acople de las LDL, formando cuatro dominios unión; la segunda, con dieciséis residuos con homología para ciertos factores de crecimiento, que a su vez están separadas entre sí por ocho residuos aminoacídicos espaciadores de tirosina-triptófano-treonina-ácido aspártico (YWTD); y la tercera, configurando un dominio proteico similar al factor de crecimiento epitelial (EGF-del inglés "Epithelial Growth Factor"). (12).

Por su parte, su región intracelular contiene dos copias de la secuencia proteica fenilalanina-X-asparagina-prolina-X-tirosina ([F(X)NPXY]), encargada de mediar su internalización endocítica dependiente de clatrina. Dentro de las secuencias, los residuos de prolina reclutan proteínas con dominios SH3 y los residuos de tirosina, al ser fosforiladas, reclutan proteínas con dominios SH2, en especial las subunidades regulatorias p85 de las fosfatidil-inositol-3'-quinasas (PI3K); también presenta secuencias consenso para fosforilación por proteínas kinasas C (PKC), proteínas kinasas A (PKA), proteína kinasas G (PKG) y caseína-kinasa tipo II. (12).

Debido a la existencia de los dominios SH2 y SH3 en la configuración de la megalina, se deduce su participación en determinadas cascadas de señalización o transducción de señales celulares, modulando posiblemente la actividad de segundos mensajeros intracelulares (12).

En resumen, la megalina es un receptor endocítico localizado en el plasmalema, recubierto por clatrina, que se expresa en tejidos epiteliales incluido en el epitelio del oído interno, el neuroepitelio del tubo neural, el epitelio de las vías respiratorias, el epidídimo, el epitelio del seno endodérmico, los glomérulos y los túbulos proximales renales (12).

LRP1

LRP1 (del inglés *low density lipoprotein receptor-related protein 1*), corresponde a la nomenclatura científica MIM107770. Es codificada por el cromosoma 12q13.1-13.3 y ha recibido acepciones como CD91 y receptor para la apolipoproteína E. Es una proteína altamente conservada en la escala filogenética, con alto grado de homología

entre la variedad humana y la proteína CED1 del *Caenorhabditis elegans* (7-11, 13).

Las dos subunidades que componen este complejo corresponden a una cadena pesada de 515kDa y a una cadena liviana de 85kDa, las cuales derivan del procesamiento proteolítico a partir de un precursor formado por 4.544 aminoácidos y masa molecular de 600kDa. Se considera que una de las subunidades posee topología transmembranal y que la captación de su ligando es dependiente de calcio (13).

LRP1 parece ser, en su mayor parte, un receptor encargado de captar y depurar ciertos catabolitos, con una mínima actividad de señalizador intracelular por sí mismo, aunque favorece el curso de ciertas cascadas de intracelulares de segundos mensajeros. Se requiere de investigaciones adicionales para determinar los ligandos responsables de la activación de las vías intracelulares asociadas a LRP1 (13).

Cubilina

Es una proteína de membrana de 3.597 aminoácidos y una masa molecular de 460kDa. Corresponde a la nomenclatura científica MIM602997 y es codificada por el cromosoma 10p12.1. Forma un complejo muy estable con la megalina (7-11, 14-16).

A nivel extracelular, la cubilina muestra ocho dominios con secuencias ordenadas repetidas para el EGF, seguidas por una gran serie de 27 dominios, denominados CUB. (14-16). Los CUB se introdujeron en el argot molecular en 1993 y se refieren a dominios proteicos encontrados inicialmente como parte de los subcomponentes de la cascada del complemento C1r/C1s, el EGF y la BMP1 (proteína morfogénica ósea 1) (14-16).

AMN

Del inglés *amnionless*, AMN es una proteína de membrana no soluble, requerida para la formación de amnios fetal (de ahí su nombre). Corresponde a la nomenclatura científica MIM605799 y es codificada por el cromosoma 14q32. A partir de la AMN se generan cinco versiones por corte y empalme alternativo del ARNm, siendo la versión de 454 aminoácidos, la más estudiada de ellas (17, 18).

Es miembro de una familia de proteínas acopladoras, transportadoras y moduladoras de la actividad de los diversos factores de crecimiento que pertenecen a la familia de los TGF (Factores Transformantes de Crecimiento Beta), como el mismo TGF, las activinas, las inhibinas, las BMPs, los GDF (factores de crecimiento y diferenciación), el MIF (factor inhibidor mülleriano), la folistatina, la chodina y la noggina (17-20). De igual forma tiene la capacidad de acoplarse al tercio aminoterminal de la cubilina formando el complejo endocítico CUBAM (cubilina-*amnionless*), que a su vez se acopla con la megalina, conformando el complejo MegaCUBAM en las células epiteliales polarizadas, un complejo de captación epitelial altamente especializado, con múltiples y diversificadas funciones (17-20).

En la región extracelular, AMN tiene una región rica en cisteína que le permite unir las BMPs en particular, modulando como correceptor la actividad de estos factores de crecimiento en el endodermo visceral y modulando también el compartimento celular en el epiblasto adyacente (17-20).

RAP

RAP corresponde a la nomenclatura científica MIM104225, es codificada por el cromosoma 4p16.3 y actúa como una de las tres subunidades del complejo receptor para la proteína plasmática alfa-2-macroglobulina (MIM103950), codificada por el cromosoma 12p13.3-p12.3 (7-11, 18-27). Además, sirve como chaperonina de la megalina y de la cubilina desde el retículo endoplásmico rugoso hacia la membrana celular; durante esta ruta secretoria de inhibe la unión prematura de ligandos en el nivel intracelular. Estructuralmente esta constituida por 323 aminoácidos y su masa molecular es de 40kDa (18-27). RAP también se ha denominado como LRPAP1, A2RAP o MRAP (del inglés *low density lipoprotein receptor-related protein-associated protein 1 or alpha-2-macroglobulin receptor-associated protein*) (18-27).

Fisiología del complejo MegaCUBAM

El proceso de captación de nutrientes, catabolismo y reciclaje de sustancias se considera bastante complejo y hay incluso evidencias de su alta variabilidad

entre tejido y tejido, así como de la amplia variedad de ligandos que puede acoplar el complejo.

Metabolismo lipoproteico

El complejo MegaCUBAM participa en la captación epitelial de lípidos (fosfolípidos, colesterol esterificado, colesterol no esterificado y triacilglicérol) transportados en lipoproteínas, al reconocer sus apolipoproteínas. Esta incorporación de lípidos tiene fines nutricionales necesarios para las actividades celulares normales y para los procesos catabólicos derivados del procesamiento de estas sustancias. (28-30). Tanto LRP1 como la megalina unen proteínas relacionadas al metabolismo lipídico, tales como la lipoproteína lipasa (LPL) y las lipoproteínas LDL, por medio de la apolipoproteína E. El reconocimiento de las LDL y la actividad de LPL regulada por insulina permiten la incorporación de lípidos al interior de las células. De igual forma, LRP1 participa en la captación y el catabolismo de los remanentes de quilomicrones (28-30) y por otra parte, la cubilina acopla lipoproteínas HDL mediante la apolipoproteína A1. Es así como el reconocimiento de las HDL le permite a la célula epitelial entregar los lípidos, hecho que resulta particularmente relevante para las células endoteliales al evitar la formación de ateromas, estructuras asociadas con el desarrollo de aterosclerosis (28-30).

Captación de proteínas transportadoras de vitaminas liposolubles

La megalina tiene, dentro de sus diversas funciones, favorecer la fijación de los complejos formados entre el calcitriol y su proteína transportadora DBP (proteína de unión a la Vitamina D) y las diversas variantes estructurales del complejo vitamínico A, unidas a la lipocalina RBP4 (del inglés retinol-binding protein 4) ó MIM180250, codificada por el cromosoma 10q24 (7-11), (31-33).

Este fenómeno se relaciona fundamentalmente con la recaptación renal de la vitamina y de la proteína transportadora. Para el caso particular del complejo Retinol-RBP4, se induce a su vez la incorporación de la transtirretina, llamada también prealbúmina plasmática, con el propósito de minimizar al máximo la filtración glomerular del RBP4-retinol; pero a pesar de esto se ha verificado

la presencia del complejo ternario transtiretina-RBP4-retinol a nivel tubular, donde es finalmente reabsorbido (31-33).

Unión de la alfa-2-macroglobulina y su multifuncionalidad

Al LRP1 se pueden acoplar proteínas plasmáticas como la alfa-2-macroglobulina, la cual se comporta como un inhibidor proteolítico de amplio espectro, que además une y transporta zinc. Asimismo, LRP1 puede reconocer proteínas como la PZP, para lo cual se requiere que PZP se encuentre como isoforma monoamino-activada (MA-PZP) (18-27,34-36). La alfa-2-macroglobulina es una proteína de producción principalmente hepática, que pertenece a una familia génica conformada por las fracciones C3 y C4 del complemento y que contiene 1451 aminoácidos en su estructura homotetramérica (dímeros formados por cuatro subunidades monoméricas unidas por puentes disulfuro de cerca de 185kDa de masa molecular) (16-27).

Otras proteínas que poseen homología estructural y por ende interactúan con receptores a los cuales se liga la alfa-2-microglobulina son la PZP (*pregnancy zone protein*), que se une no covalentemente con la lipocalina glicodelina (Gd), llamada también PP14 (proteína placentaria 14), para permitir su transporte plasmático formando un complejo muy estable. Este mecanismo acarreador de la Gp también puede ser llevado a cabo, aunque menos eficientemente, por la alfa-2-microglobulina. El papel funcional de la PZP y de la Gd se relaciona con sus niveles elevados durante la gestación, donde garantizan roles inmunomoduladores e inmunosupresores durante el curso fisiológico de la misma (34-36).

La alfa-2-macroglobulina compite por el zinc con la timulina, hormona que depende de este metal para promover su actividad biológica plena. (34-38). En los casos de carcinomatosis, los niveles elevados de la alfa-2-macroglobulina podrían relacionarse con mecanismos de inmunoregulación del huésped frente a células neoplásicas. (34-38).

La función depuradora del LRP1, específica para complejos formados por la alfa-2-macroglobulina con mediadores de comunicación celular tales como FGF (factores de crecimiento fibroblásticos),

IL-1(interleuquina 1), IL-2 (interleuquina 2), IL-6 (interleuquina 6), NGF (factor de crecimiento neural), PDGF (factores de crecimiento derivados de las plaquetas), TGF β y TNF α (factores de necrosis tumoral), se realiza por células epiteliales y macrófagos del sistema retículo endotelial que expresan LRP1 (34-38).

En la actualidad se postula que la alfa-2-macroglobulina y la PZP tienen un receptor modulador de la actividad quimiotáctica de macrófagos y células neoplásicas, así como de procesos mitogénicos, particularmente de células neoplásicas prostáticas. La interacción de este receptor con el complejo de chaperoninas solubles GRP78 (proteína regulada por glucosa78) y MTJ1, ubicadas ambas en el retículo endoplásmico rugoso, promueven la función secretoria de estas células o sus productos, a través de la membrana plasmática. Normalmente, GRP78 se expresa en la membrana plasmática, formando parte de péptidos dentro del contexto de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad I (HLA-I) y, se la considera incluso, como plataforma de entrada para ciertos virus (34-38).

LRP1 y la cascada de la plasminólisis epitelial

LRP1 reconoce y fija al activador tisular del plasminógeno (tPA-MIM173370), llevando a la consecuente conversión del plasminógeno a plasmina, la cual está involucrada en la degradación de los coágulos cuando se ha efectuado la remodelación tras un daño tisular. La plasmina también es importante en el proceso de degradación de la matriz extracelular durante la embriogénesis, para facilitar la migración celular durante la quimiotaxis leucocitaria y en la regeneración tisular post-traumatismo. El tPA hace incluso un retrocontrol positivo en este proceso proteásico, dado que regula positivamente la expresión génica de la metaloproteinas 9 (MMP9-MIM120361) en las células epiteliales (7-11, 39).

LRP1 y la captación de cuerpos apoptóticos por células epiteliales

LRP1 también reconoce cuerpos apoptóticos, en un proceso dependiente de calreticulina sola, o unida a la fracción C1q del complemento. Igualmente, LRP1 tiene la capacidad de desencadenar una cascada de segundos mensajeros, que llevan a

la reorganización de los microfilamentos del citoesqueleto de la célula epitelial o de los macrófagos, a fin de remover reductos apoptóticos (40).

LRP1 y captación catabólica de la clusterina

El LRP1 y la megalina están en capacidad de captar la proteína polifuncional clusterina, apolipoproteína J o Sp-40,40 (MIM185430), codificada por el cromosoma 8p21-12, y encargada de la degradación lisosomal (41). La importancia de este descubrimiento no es clara aún, si se tiene en cuenta la amplia variedad de funciones de la clusterina en el control sérico del complemento, en el mantenimiento de la integridad química de la matriz extracelular, el plasma sanguíneo y el plasma seminal y los roles variables que tiene en el crecimiento y diferenciación epitelial. Además, actúa como chaperonina tanto intra como extracelularmente (41).

LRP1 y captación intestinal de la vitamina B12 (cobalamina)

El LRP1 y la cubilina captan intestinalmente, en forma calcio dependiente, el complejo formado por el factor intrínseco de la vitamina B12 (MIM609342) producido por las células parietales oxínticas y la cobalamina (42).

Megalina y reabsorción tubular proximal renal de hierro

Tras la filtración glomerular de transferrina unida al hierro férrico, se induce la reabsorción tubular dependiente de megalina. La LCN2 (lipocalina 2) también une y transporta hierro y existen evidencias de que también es filtrada en el glomérulo y recaptada por la megalina, con la consecuente reabsorción del hierro. La LCN2 forma parte del llamado NTBI (*pool* del hierro no unido a transferrina), el cual resulta vital durante el desarrollo intrauterino y en estados de ferropenia. La capacidad del LCN2 se relaciona con su afinidad para unir y transportar los complejos ferro-ascorbato, ferro-citrato y ferro-nitritotriacetato (43).

Otras funciones no epiteliales de LRP1

Se debe aclarar que los procesos previamente mencionados y asociados con el LRP1 no son ex-

clusivos de las células epiteliales, sino que también se presentan en células del sistema hematoinmunitario, en especial en fagocitos. Además, la expresión de LRP1 por células no epiteliales está involucrada en los siguientes procesos:

LRP1 y captación catabólica del β -amiloide en la microglia y las neuronas

LRP1 media la endocitosis y degradación del β -amiloide cerebral, el cual se produce normalmente, pero que en el caso de enfermedades neurodegenerativas incrementa su producción anormal y por ende supera la habilidad endocítica y catabólica de LRP1. En condiciones normales, el β -amiloide se dispone para ser captado por medio de la alfa-2-macroglobulina (44- 46). Una de las enzimas encargadas del procesamiento de la proteína precursora del amiloide (APP), denominada BACE1 (MIM604252), es secretada durante el tránsito secretor de membrana de la APP y la LRP1, gracias a la interacción de la cadena liviana de LRP1 con la BACE1. El complejo APP - BACE1 - LRP1 así formado se ubica temporoespacial y funcionalmente en la membrana plasmática neuronal, de tal manera que BACE1 tiene la capacidad de romper la región extracelular de LRP1, generando vías de regulación especializadas, posiblemente involucradas con el catabolismo del β -amiloide (44- 46).

LRP1 y las señales de daño en la respuesta inmunológica

La chaperonina Gp96 (MIM191175), denominada también TRA1 (del inglés *tumor rejection antigen 1*), SITR (del inglés *stress-inducible tumor rejection antigen gp96*) o grp94 (del inglés *glucose-regulated protein, 94kDa*), cuyo gen se localiza en el cromosoma 12q24.2-q24.3, es una proteína de 803 aminoácidos, perteneciente a la familia de las proteínas de choque térmico Hsp90 (47). Se clasifica como una inmunochaperonina que participa en el plegamiento antigénico intracelular de los linfocitos CD8⁺ y es liberada como una proteína extracelular que se produce y exporta por células de tejidos que han experimentado alteraciones morfológicas y funcionales, durante sus fases preneocrótica y neocrótica. Su unión a la LRP1 de macrófagos y células dendríticas activa una vía inductora de necrosis (47).

Gp96 compete inhibitoriamente con la alfa-2-macroglobulina para unirse a LRP1 en tal forma que Gp96 genera una respuesta proinflamatoria y precipitante de necrosis, mientras la alfa-2-macroglobulina induce tolerancia co-apoptótica. (48, 49). Gp96 también tiene la capacidad de acoplar ligandos que poseen en su estructura marcadores de superficie del tipo CD91, activando una cascada de segundos mensajeros que induce la transcripción y traducción génica, que conllevan a la expresión de señales coestimuladoras B7-1(CD80) y B7-2(CD86), y citoquinas como la IL-12 (interleuquina 12) y el TNF α (factor de necrosis tumoral alfa) (48, 49).

Por su parte, LRP1 también puede acoplar a la Hsp90 (HSPCA-MIM140571), a la Hsp70 (HSPA1A-MIM140550) y a la calreticulina (CALR-MIM109091); esta última, unida a la LRP1, sirve como mecanismo de andamiaje para la fracción C1q del complemento, lo que permite entender su participación en el retención de complejos inmunes y cuerpos apoptóticos opsonizados por esa fracción del complemento. Igualmente la calreticulina, *per se*, funciona como una opsonina para cuerpos apoptóticos (47). Para Gp96 se han encontrado dos pseudogenes en el genoma humano, reconocidos como TRAP1 y TRAP2 y localizados en los cromosomas 15q25-q26 y 1p22 respectivamente (47).

LRP1 como un regulador de la señalización dependiente de PDGF en células musculares lisas vasculares

En las células musculares lisas vasculares, LRP1 se acopla con los receptores para PDGF (factores de crecimiento derivados de las plaquetas), manifestando la inhibición de la señalización de los receptores de tirosina-kinasa promovida por estos factores de crecimiento (50).

LRP1 como regulador del señalamiento glutámico

LRP1 interactúa con las subunidades NR2A (MIM138253) y NR2B(MIM138252) del receptor tipo NMDA (N-Metil-D-Aspartato) para glutamato y con la proteína adaptadora y señalizadora PSD95 (MIM602887), de tal forma que supone una regulación de las sinapsis glutamatérgicas por LRP1 (51).

Correlación clínica

Aspectos farmacológicos y tóxicológicos

La megalina ha mostrado captación renal de metabolitos procedentes de la degradación lisosomal de fármacos polipeptídicos, que funcionan como antibióticos citotóxicos renales y óticos (aminoglucósidos y polimixina B) y de proteínas como la aprotinina, un inhibidor pancreático bovino desimmunogenizado de la tripsina, con un peso molecular de 6kDa y que es utilizado por vía intravenosa para el manejo terapéutico antifibrinolítico en situaciones de pancreatitis aguda (52, 53).

Fármacos y tóxicos polibásicos también son captados por la megalina y por LRP1 para su posterior degradación (52, 53). A la luz de estos conocimientos se abre la posibilidad para el diseño de nuevos fármacos con baja toxicidad.

Aspectos relacionados con trastornos genéticos

La proteína RAP tiene alta expresión renal y es codificada por el cromosoma 4, lo que podría explicar la nefrohipoplasia manifiesta en el síndrome de Wolf-Hirschhorn, un tipo de aneumía segmentaria (7-11,54).

Aspectos relacionados con enfermedades autoinmunes

Tanto la megalina como RAP se consideran autoantígenos del modelo experimental animal de glomerulonefritis autoinmune de Heymann que no existe en el hombre (55-59). En seres humanos, la mejor aproximación para la comprensión de la función de la megalina como autoantígeno son las enfermedades inflamatorias del tiroides, encontrándose títulos séricos tanto en autoinmunidad, como en variedades no autoinmunes; incluso se han llegado a detectar autoanticuerpos para carcinomas de este órgano (55-59).

Una situación asociada con el control del desarrollo de procesos de autoinmunidad tiene que ver con la eficiente capacidad de la proteína plasmática alfa-2-macroglobulina para unir fragmentos de MBP (proteína básica de la mielina) que puedan ser inmunógenas (55-59).

Aspectos relacionados a proteinuria por tubulopatía proximal

En variedades patológicas primarias o secundarias que afectan la reabsorción proteico tubular proximal, consideradas conjuntamente como parte del síndrome de Debré-Toni-Fanconi, hay pérdida de diversas moléculas lipofílicas como hormonas, debido a la pérdida de captación y reabsorción de proteínas transportadoras como DBP y lipocalinas del tipo RBP4 (60).

Aspectos relacionados con la anemia megaloblástica

La deficiencia vitamínica de uno de los miembros del complejo B, la cobalamina, se manifiesta como anemia megaloblástica asociada a trastornos neurológicos. La captación y aprovechamiento de esta vitamina, procedente de la dieta, depende en primera instancia de su unión al factor intrínseco gástrico (MIM261000) y, subsecuentemente, de su unión a la transcobalamina (MIM275370) (61-65). Defectos genéticos relacionados con la deficiencia de esta vitamina se asocian con la producción cualitativa anormal del factor intrínseco, la síntesis disminuida de la transcobalamina, defectos en la cubilina y el AMN. En estos dos últimos casos, la anemia se denomina megaloblástica tipo 1 de Imerslund-Grasbeck (MIM261100), por haber sido fue descrita simultáneamente en 1960 en Noruega por Imerslund y en Finlandia por Grasbeck. (61-68).

Corresponde, fisiopatológicamente, a un síndrome que cursa con anemia perniciosa de presentación juvenil y a síndrome nefrótico de origen tubular proximal. Es un trastorno poco frecuente de herencia autosómica recesiva, predominante en poblaciones de países nórdicos, con una prevalencia de 0,8/100000 habitantes y manifiesto clínicamente por mala absorción intestinal selectiva, debida probablemente a una translocación anormal de la cobalamina, secundaria a una expresión y a una función disminuidas de la cubilina y de AMN. La mutación más frecuentemente encontrada está en la posición 1.297 de la secuencia aminoacídica de la cubilina, en donde se cambia una prolina por una leucina (61-68).

Las mutaciones que afectan al gen codificante de AMN para este trastorno se han descrito tanto en

Noruega, como en poblaciones judías de Tunisia y tiene que ver, en Noruega, con la delección de un par de bases dentro del cromosoma 14, la cual modifica el marco de lectura del gen que codifica anormalmente para isoleucina en la posición 41, en vez de treonina. Por su parte, en poblaciones judías de Tunisia la mutación más frecuente es una inversión dentro del gen previamente descrito (61-68).

Deficiencia de alfa-2-Macroglobulina

La deficiencia parcial o total de alfa-2-macroglobulina se ha documentado individuos de forma esporádica o hereditaria, debido posiblemente al alto grado de polimorfismo génico en la especie humana. Lo anterior explicaría lo disímil de las manifestaciones clínicas, por cuanto hay individuos sanos y otros que presentan enfermedad pulmonar crónica y cirrosis hepática, que se correlaciona con la pérdida de la actividad neutralizadora proteásica de esta proteína plasmática (69-77).

LRP1 y alfa-2-macroglobulina en la génesis de la enfermedad de Alzheimer

Como ya se describió, el β -amiloides unido a la alfa-2-macroglobulina es un blanco de captación por parte de la microglia y el soma, o región proximal de los procesos neuríticos y axonales neuronales, a través de LRP1. Sin embargo, es necesario relevar dentro de la génesis de la enfermedad de Alzheimer, al gen que codifica para apolipoproteína E, la cual también es captada, ya sea aisladamente, o a través de su asociación con complejos lipoproteicos por la LRP1 (78-92).

Un gran número de estudios epidemiológicos y de genética de poblaciones muestran enorme variabilidad en la asociación entre presentación, riesgo-susceptibilidad y fenotipo de la enfermedad de Alzheimer, con diversas alteraciones generadoras de polimorfismos génicos en los genes codificantes para la alfa-2-macroglobulina, LRP1 y APP. Igualmente, una alta asociación del alelo E4 de la apolipoproteína E con esta patología (78-92).

LRP1 y cáncer

Uno de los patrones característicos de la historia natural de las neoplasias malignas carcinomatosas

es la invasión. La explicación molecular de este rasgo se ha encontrado en la sobreexpresión e hiperfunción del sistema proteásico de la plasminólisis, que tiene como finalidad la degradación de la matriz extracelular para la generación de metástasis (93, 94). Por otra parte, se han evidenciado concomitantemente niveles aumentados de alfa-2-macroglobulina en algunos pacientes con cáncer. Teniendo en cuenta que esta proteína plasmática es un inhibidor de la plasmina y de las MMPs dependientes de zinc, se sugiere entonces el efecto benéfico de esta proteína, mucho más si se analiza su actividad intrínseca en el acople competitivo de zinc, lo cual reduce la concentración funcional de las MMPs (37, 38). Sin embargo, en la mayoría de los pacientes prevalece la actividad pro-mitogénica y pro-quimiotáctica de alfa-2-microglobulina al actuar sobre GRP78, ampliamente expresada a nivel tisular neoplásico. De ahí que los estudios tiendan a catalogar a la alfa-2-microglobulina como un factor pro-neoplásico más que antineoplásico (37, 38).

Este evento se pone de manifiesto en lesiones neoplásicas no epiteliales, primarias o secundarias a cambios epigenéticos. En el primer caso, se ha encontrado amplificación de los genes contiguos codificantes de LRP1 en neoplasias rhabdomyosarcomatosas (93, 94).

LRP1 y aterosclerosis

LRP1, al interactuar directamente y funcionar como un regulador negativo de la cascada de señalización del PDGF en células musculares lisas vasculares arteriales, se considera agente protector frente a la proliferación anómala celular en lesiones ateromatosas (50).

Conclusión

El complejo MegaCUBAM epitelial, así como algunos de sus componentes expresados independientemente en tejidos neurales y hemato-inmunes, constituyen un nuevo campo de experimentación en biología, patobiología y bioclínica humana.

Muchos de los roles fisiológicos, e incluso fisiopatológicos aquí reseñados, permiten entender

con mayor claridad diversos eventos celulares, tisulares y sistémicos, generando expectativas de exploración clínica para la aplicación de futuros fármacos.

Referencias

1. Zhao H, Adler KB, Bai C. Epithelial proteomics in multiple organs and tissues: similarities and variations between cells, organs, and diseases. *J Proteome Res.* 2006;5:743-55.
2. Thiery JP, Sleeman JP. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006;7:131-42.
3. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/disppubmed>
4. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/disppgenbank>
5. <http://www.medgen.med.ualberta.ca>
6. Willnow TE, Armstrong SA, Hammer RE. Functional expression of low density lipoprotein receptor-related protein is controlled by receptor-associated protein in vivo. *Proc Nat Acad Sci USA.* 1995;92:4537-41.
7. <http://genoma.ad.jp/kegg/pqtway/map/map011100.html>
8. <http://www.hugo-international.org/index.html> o <http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/>
9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/disppomim>
10. <http://www.dsi.univ-paris5.fr/genatlas/>
11. <http://www.genecards.org/>, <http://www.weizmann.ac.il/> o <http://www.xennexinc.com/>
12. Hjalms G, Murray E, Crumley G. Cloning and sequencing of human gp330, a Ca(2+)-binding receptor with potential intracellular signaling properties. *Europ J Biochem.* 1996;239: 132-37.
13. Kristensen T, Moestrup SK, Gliemann J. Evidence that the newly cloned low-density-lipoprotein receptor related protein (LRP) is the alpha-2-macroglobulin receptor. *FEBS.* 1990;276:151-55.
14. Kozyraki R, Kristiansen M, Silahatoglu A. The human intrinsic factor-vitamin B12 receptor, cubilin: molecular characterization and chromosomal mapping of the gene to 10p within the autosomal recessive megaloblastic anemia (MGA1) region. *Blood.* 1998;91:3593-3600.
15. Birn H, Verroust PJ, Nexo El. Characterization of an epithelial approximately 460-kDa protein that facilitates endocytosis of intrinsic factor-vitamin B12 and binds receptor-associated protein. *J Biol Chem.* 1997;272:26497-504.
16. Bork P, Beckmann G. The CUB domain: a widespread module in developmentally regulated proteins. *J Molec Biol.* 1993;231:539-45.
17. Kalantry S, Manning S, Haub Ol. The amnionless gene, essential for mouse gastrulation, encodes a visceral-endothelium-specific protein with an extracellular cysteine-rich domain. *Nature Genet.* 2001;27:412-16.
18. Tanner SM, Aminoff M, Wright F. Amnionless, essential for mouse gastrulation, is mutated in recessive hereditary megaloblastic anemia. *Nature Genet.* 2003;33:426-29.
19. Tomihara-Newberger C, Haub O, Lee HG. The amnion gene product is required in extraembryonic tissues for the generation of middle primitive streak derivatives. *Dev Biol.* 1998;204:34-54.
20. Wang X, Bornslaeger EA, Haub O. A candidate gene for the amnionless gastrulation stage mouse mutation encodes a TRAF-related protein. *Dev Biol.* 1996;177:274-90.

- 21- Farquhar M. G, Saito A, Kerjaschki, D et al. The Heymann nephritis antigenic complex: megalin (gp330) and RAP. *J Am Soc Nephrol.* 1995;6:35-4.
22. Jou YS, Goold RD, Myers RM. Localization of the alpha-2-macroglobulin receptor-associated protein 1 gene (LRPAP1) and other gene fragments to human chromosome 4p16.3 by direct cDNA selection. *Genomics.* 1994;24:410-13.
23. Korenberg JR, Argraves KM, Chen XN. Chromosomal localization of human genes for the LDL receptor family member glycoprotein 330 (LRP2) and its associated protein RAP (LRPAP1). *Genomics.* 1994;22:88-93.
24. Nielsen PR, Ellgaard L, Etzerodt M. The solution structure of the N-terminal domain of alpha-2-macroglobulin receptor-associated protein. *Proc Nat Acad Sci USA.* 1997;94:7521-25.
25. Strickland DK, Ashcom JD, Williams S. Primary structure of alpha-2-macroglobulin receptor-associated protein: human homologue of a Heymann nephritis antigen. *J Biol Chem.* 1991;266:13364-69.
26. Van Leuven F, Hilliker C, Serneels L. Cloning, characterization, and chromosomal localization to 4p16 of the human gene (LRPAP1) coding for the alpha-2-macroglobulin receptor-associated protein and structural comparison with the murine gene coding for the 44-kDa heparin-binding protein. *Genomics.* 1995;25:492-500.
27. Willnow TE, Rohmann A, Horton J. RAP, a specialized chaperone, prevents ligand-induced ER retention and degradation of LDL receptor-related endocytic receptors. *EMBO J.* 1996;15:2632-39.
28. Beisiegel U, Weber W, Ihrke G. The LDL-receptor-related protein, LRP, is an apolipoprotein E-binding protein. *Nature.* 1989;341:162-64.
29. Hussain MM, Maxfield FR, Mas-Oliva J. Clearance of chylomicron remnants by the low density lipoprotein receptor-related protein/alpha 2-macroglobulin receptor. *J Biol Chem.* 1991;266:13936-40.
30. Kozyraki R, Fyfe J, Kristiansen M.. The intrinsic factor-vitamin B12 receptor, cubilin, is a high-affinity apolipoprotein A-I receptor facilitating endocytosis of high-density lipoprotein. *Nature Med.* 1999;5:656-61.
- 31-Marino M, Andrews D, Brown D. Transcytosis of retinol-binding protein across renal proximal tubule cells after megalin (gp 330)-mediated endocytosis.. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12:637-48.
32. Nykjaer A, Dragun D, Walther D. An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D3. *Cell.* 1999;96:507-515.
33. Nykjaer A, Fyfe JC, Kozyraki R. Cubilin dysfunction causes abnormal metabolism of the steroid hormone 25(OH) vitamin D3. *Proc Nat Acad Sci USA.* 2001;98:13895-900.
34. Misra UK, Gonzalez-Gronow M, Gawdi G. A novel receptor function for the heat shock protein Grp78: silencing of Grp78 gene expression attenuates alpha2M*-induced signalling. *Cell Signal.* 2004;16:929-38.
35. Misra UK, Deedwania R, Pizzo SV. Binding of activated alpha2-macroglobulin to its cell surface receptor GRP78 in 1-LN prostate cancer cells regulates PAK-2-dependent activation of LIMK. *J Biol Chem.* 2005;280:26278-86.
36. Misra UK, Gonzalez-Gronow M, Gawdi G. The role of MTJ-1 in cell surface translocation of GRP78, a receptor for alpha 2-macroglobulin-dependent signaling. *J Immunol.* 2005;174:2092-7.
37. Skornicka EL, Kiyatkina N, Weber MC. Pregnancy zone protein is a carrier and modulator of placental protein-14 in T-cell growth and cytokine production. *Cell Immunol.* 2004;232:144-56.
38. Borth W. Alpha 2-macroglobulin, a multifunctional binding protein with targeting characteristics. *FASEB J.* 1992;6:3345-53
39. Wang X, Lee SR, Arai K. Lipoprotein receptor-mediated induction of matrix metalloproteinase by tissue plasminogen activator. *Nature Med.* 2003;9:1313-17.
40. Kinchen JM, Cabello J, Klingele D. Two pathways converge at CED-10 to mediate actin rearrangement and corpse removal in *C. elegans*. *Nature.* 2005;434:93-99.
41. Kounnas MZ, Loukinova EB, Stefansson S. Identification of glycoprotein 330 as an endocytic receptor for apolipoprotein J/clusterin. *J Biol. Chem.* 1995;270:13070-75.
42. Fyfe JC, Madsen M, Hojrup P. The functional cobalamin (vitamin B12)-intrinsic factor receptor is a novel complex of cubilin and amnionless. *Blood.* 2004;103:1573-79.
43. Kozyraki R, Fyfe J, Verroust PJ. Megalin-dependent cubilin-mediated endocytosis is a major pathway for the apical uptake of transferrin in polarized epithelia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98:12491-6.
- 44- Kounnas MZ, Moir RD, Rebeck GW. LDL receptor-related protein, a multifunctional ApoE receptor, binds secreted beta-amyloid precursor protein and mediates its degradation. *Cell.* 1995;82:331-340.
45. Narita M, Holtzman DM, Schwartz AL. Alpha-2-macroglobulin complexes with and mediates the endocytosis of beta-amyloid peptide via cell surface low-density lipoprotein receptor-related protein. *J. Neurochem.* 1997 69:1904-11.
46. Von Arnim CAF, Kinoshita A, Peltan ID. The low density lipoprotein receptor-related protein (LRP) is a novel beta-secretase (BACE1) substrate. *J Biol Chem.* 2005;280:17777-85.
47. Basu S, Binder RJ, Ramalingam T. CD91 is a common receptor for heat shock proteins gp96, hsp90, hsp70, and calreticulin. *Immunity.* 2001;14:303-313.
48. Binder RJ, Han DK, Srivastava PK. CD91: a receptor for heat shock protein gp96. *Nature Immun.* 2000;1:151-55.
49. Schild H, Rammensee HG. gp96: the immune system's Swiss army knife. *Nature Immun.* 2000;1:100-101.
50. Takayama Y, May P, Anderson RG. Low density lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP1) controls endocytosis and c-CBL-mediated ubiquitination of the platelet-derived growth factor receptor beta (PDGFR beta). *J Biol Chem.* 2005;280:18504-10.
51. May P, Rohmann A, Bock HH. Neuronal LRP1 functionally associates with postsynaptic proteins and is required for normal motor function in mice. *Molec Cell Biol.* 2004;24:8872-83.
52. Moestrup SK, Cui S, Vorum H. Evidence that epithelial glycoprotein 330/megalyn mediates uptake of polybasic drugs. *J Clin Invest.* 1995;96:1404-1413
53. Schmitz C, Hilpert J, Jacobsen C. Megalin deficiency offers protection from renal aminoglycoside accumulation. *J Biol Chem.* 2002;277:618-22.
54. Bergemann AD, Cole F, Hirschhorn K. The etiology of Wolf-Hirschhorn syndrome. *Trends Genet.* 2005;21:188-95.
55. Paul WE. *Fundamental Immunology.* 5 edition. New York: Editorial Lippincott Williams & Wilkins; 2003

56. Sthiem ER, Ochs HD, Winklestein JA. *Immunology Disorders in Infant & Childrens*. 5 Edición. New York: Editorial Saunders; 2004
57. Gunnarsson M, Jensen PE. Binding of soluble myelin basic protein to various conformational forms of alpha2-macroglobulin. *Arch Biochem Biophys*. 1998;359:192-8.
58. Tramontano A, Makker SP. Conformation and glycosylation of a megalin fragment correlate with nephritogenicity in Heymann nephritis. *J Immun*. 2004;172:2367-73.
59. Stamatoyannopoulos G, Majerus PW, Perlumutter RM. *The Molecular Basis of Blood Disorders*. 3 Edición. New York: Editorial Saunders; 2001
60. Christensen EI, Gburek J. Protein reabsorption in renal proximal tubule-function and dysfunction in kidney pathophysiology. *Pediatr Nephrol*. 2004;19:714-21.
61. Fyfe JC, Madsen M, Hojrup P. The functional cobalamin (vitamin B12)-intrinsic factor receptor is a novel complex of cubilin and amnionless. *Blood*. 2004;103:1573-79.
62. Aminoff M, Carter JE, Chadwick RB. Mutations in CUBN, encoding the intrinsic factor-vitamin B12 receptor, cubilin, cause hereditary megaloblastic anaemia 1. *Nature Genet*. 1999;21:309-313.
63. Aminoff M, Tahvanainen E, Grasbeck R. Selective intestinal malabsorption of vitamin B12 displays recessive mendelian inheritance: assignment of a locus to chromosome 10 by linkage. *Am J Hum Genet*. 1995;57:824-831.
64. Fyfe JC, Giger U, Hall CA. Inherited selective intestinal cobalamin malabsorption and cobalamin deficiency in dogs. *Pediatr Res*. 1991;29:24-31
65. Grasbeck R, Gordon R, Kantero I. Selective vitamin B12 malabsorption and proteinuria in young people. *Acta Med Scand*. 1960;167:289-96.
66. Imerslund O. Idiopathic chronic megaloblastic anemia in children. *Acta Paediat Scand* 1960;115(1 Suppl 15): s15-19.
67. Kristiansen M, Aminoff M, Jacobsen C. Cubilin P1297L mutation associated with hereditary megaloblastic anemia 1 causes impaired recognition of intrinsic factor-vitamin B12 by cubilin. *Blood*. 2000;96:405-409.
68. Xu D, Kozyraki R, Newman TC. Genetic evidence of an accessory activity required specifically for cubilin brush-border expression and intrinsic factor-cobalamin absorption. *Blood*. 1999;94:3604-06.
69. Strickland DK, Ashcom JD, Williams S. Sequence identity between the alpha-2-macroglobulin receptor and low density lipoprotein receptor-related protein suggests that this molecule is a multifunctional receptor. *J Biol Chem*. 1990;265:17401-17404.
70. Scriver CR, Sly WS, Childs B. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 8 Edición. New York: McGraw-Hill Professional; 2001.
71. Bergqvist D, Nilsson IM. Hereditary alpha-2-macroglobulin deficiency. *Scand J Haemat*. 1979;23:433-436
72. Fukushima Y, Bell GI, Shows TB. The polymorphic human alpha-2-macroglobulin gene (A2M) is located in chromosome region 12p12.3-p13.3. *Cytogenet Cell Genet*. 1988;48:58-59.
73. Gallango ML, Castillo O. Alpha-2-macroglobulin polymorphism: a new genetic system detected by immuno-electrophoresis. *J Immunogenet*. 1974;1:147-151
74. Leikola J, Fudenberg HH, Kasukawa R. A new genetic polymorphism of human serum: alpha(2) macroglobulin (AL-M). *Am J Hum Genet*. 1972;24:134-144.
75. Matthijs G, Marynen P. A deletion polymorphism in the human alpha-2-macroglobulin (A2M) gene. *Nucleic Acids Res*. 1991;19:5102.
76. Poller W, Barth J, Voss B. Detection of an alteration of the alpha-2-macroglobulin gene in a patient with chronic lung disease and serum alpha-2-macroglobulin deficiency. *Hum Genet*. 1989;83:93-96.
77. Poller W, Faber JP, Klobeck G. Cloning of the human alpha-2-macroglobulin gene and detection of mutations in two functional domains: the bait region and the thiolester site. *Hum. Genet*. 1992;88:313-319.
78. Baum L, Chen L, Ng HK. Low density lipoprotein receptor related protein gene exon 3 polymorphism association with Alzheimer's disease in Chinese. *Neurosci Lett*. 1998;247:33-36.
79. Blacker D, Wilcox MA, Laird NM. Alpha-2 macroglobulin is genetically associated with Alzheimer disease. *Nature Genet*, 1998;19:357-360.
80. Dow DJ, Lindsey N, Cairns NJ. Alpha-2 macroglobulin polymorphism and Alzheimer disease risk in the UK. (Letter) *Nature Genet*. 1999;22:16-17.
81. Hollenbach E, Ackermann S, Hyman BT. Confirmation of an association between a polymorphism in exon 3 of the low-density lipoprotein receptor-related protein gene and Alzheimer's disease. *Neurology*. 1998;50:1905-07.
82. Kang DE, Pietrzik CU, Baum L. Modulation of amyloid beta-protein clearance and Alzheimer's disease susceptibility by the LDL receptor-related protein pathway. *J Clin Invest*. 2000;106:1159-66.
83. Kang DE, Saitoh T, Chen X. Genetic association of the low-density lipoprotein receptor-related protein gene (LRP), an apolipoprotein E receptor, with late-onset Alzheimer's disease. *Neurology*. 1997;49:56-61.
84. Lendon CL, Talbot CJ, Craddock NJ. Genetic association studies between dementia of the Alzheimer's type and three receptors for apolipoprotein E in a Caucasian population. *Neurosci Lett*. 1997; 222:187-190.
85. Liao A, Nitsch RM, Greenberg SM. Genetic association of an alpha-2-macroglobulin (val1000ile) polymorphism and Alzheimer's disease. *Hum Molec Genet*. 1998;7:1953-56.
86. McLroy SP, Dynan KB, Vahidassr DJ. Common polymorphisms in LRP and A2M do not affect genetic risk for Alzheimer disease in Northern Ireland. *Am J Med Genet*. 2001;105:502-506.
87. Pericak-Vance MA, Bass MP, Yamaoka LH. Complete genomic screen in late-onset familial Alzheimer disease: evidence for a new locus on chromosome 12. *JAMA*. 1997;278:1237-1241.
88. Rogaeva EA, Premkumar S, Grubber J. An alpha-2-macroglobulin insertion-deletion polymorphism in Alzheimer disease. (Letter) *Nature Genet*. 1999;22:19-21.
89. Rudrasingham V, Wavrant-De Vrieze F, Lambert JC. Alpha-2 macroglobulin gene and Alzheimer disease. (Letter) *Nature Genet*. 1999; 22:17-19.
90. Saunders AJ, Bertram L, Mullin K. Genetic association of Alzheimer's disease with multiple polymorphisms in alpha-2-macroglobulin. *Hum Molec Genet*. 2003;12:2765-76.
91. Scott WK, Yamaoka LH, Bass MP. No genetic association between the LRP receptor and sporadic or late-onset familial Alzheimer disease. *Neurogenetics*. 1998;1:179-183.
92. Zappia M, Manna I, Serra P. Increased risk for Alzheimer disease with the interaction of MPO and A2M polymorphisms. *Arch Neurol*. 2004;61:341-344.