



El concepto de enfermedad asociado a la conformación de proteínas

Jaime Mas Oliva
Victor Guadalupe García González



El concepto de enfermedad asociado a la conformación de proteínas



La presente obra obtuvo el “Premio Textos Médicos” edición 2010
que otorga la Academia Nacional de Medicina de México.



El trabajo realizado por los autores plasmado en la presente obra se llevó a cabo en
el Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México.



EL LIBRO MUERE CUANDO LO FOTOCOPIA

AMIGO LECTOR:

La obra que usted tiene en sus manos posee un gran valor.

En ella, su autor ha vertido conocimientos, experiencia y mucho trabajo. El editor ha procurado una presentación digna de su contenido y está poniendo todo su empeño y recursos para que sea ampliamente difundida, a través de su red de comercialización.

Al fotocopiar este libro, el autor y el editor dejan de percibir lo que corresponde a la inversión que ha realizado y se desalienta la creación de nuevas obras. Rechace cualquier ejemplar “pirata” o fotocopia ilegal de este libro, pues de lo contrario estará contribuyendo al lucro de quienes se aprovechan ilegítimamente del esfuerzo del autor y del editor.

La reproducción no autorizada de obras protegidas por el derecho de autor no sólo es un delito, sino que atenta contra la creatividad y la difusión de la cultura.

Para mayor información comuníquese con nosotros:



Editorial El Manual Moderno, S. A. de C. V.

Av. Sonora 206, Col. Hipódromo, 06100
México, D.F.

Editorial El Manual Moderno (Colombia), Ltda

Carrera 12-A No. 79-03/05
Bogotá, D.C.

El concepto de enfermedad asociado a la conformación de proteínas

JAIME MAS OLIVA

Investigador titular del Instituto de Fisiología Celular y
Jefe de la División de Investigación de la Facultad de Medicina,
Universidad Nacional Autónoma de México

VICTOR GUADALUPE GARCÍA GONZÁLEZ

Candidato a Doctor en Ciencias Bioquímicas,
Instituto de Fisiología Celular,
Universidad Nacional Autónoma de México

Editor

Dr. Carlos A. Mendoza Murillo
Editorial El Manual Moderno



Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V.
Av. Sonora 206 Col. Hipódromo, C.P. 06100 México, D.F.

Editorial El Manual Moderno, (Colombia), Ltda
Carrera 12-A No. 79-03/05 Bogotá, DC

**Nos interesa su opinión,
comuníquese con nosotros:**



Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V.,
Av. Sonora núm. 206,
Col. Hipódromo,
Deleg. Cuauhtémoc,
06100 México, D.F.



(52-55)52-65-11-00



info@manualmoderno.com
quejas@manualmoderno.com

IMPORTANTE

Los autores y la Editorial de esta obra han tenido el cuidado de comprobar que las dosis y esquemas terapéuticos sean correctos y compatibles con los estándares de aceptación general en la fecha de la publicación. Sin embargo, es difícil estar por completo seguro que toda la información proporcionada es totalmente adecuada en todas las circunstancias. Se aconseja al lector consultar cuidadosamente el material de instrucciones e información incluido en el inserto del empaque de cada agente o fármaco terapéutico antes de administrarlo. Es importante, en especial, cuando se utilizan medicamentos nuevos o de uso poco frecuente. La Editorial no se responsabiliza por cualquier alteración, pérdida o daño que pudiera ocurrir como consecuencia, directa o indirecta, por el uso y aplicación de cualquier parte del contenido de la presente obra.

El concepto de enfermedad asociado a la conformación de proteínas

D.R. © 2012 por Universidad Nacional Autónoma de México

ISBN: 978-607-02-3363-0

Programa Universitario de Investigación en Salud
Ciudad Universitaria, 04510, México, D.F.

En coedición con Editorial El Manual Moderno, SA de CV.
ISBN: 978-607-448-224-9

Miembro de la Cámara Nacional
de la Industria Editorial Mexicana, Reg. núm. 39

Todos los derechos reservados. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, almacenada en sistema alguno de tarjetas perforadas o transmitida por otro medio —electrónico, mecánico, fotocopiable, registrador, etcétera— sin permiso previo por escrito de la Editorial.

Para mayor información sobre:

- Catálogo de producto
- Novedades
- Distribuciones y más

www.manualmoderno.com



Manual Moderno®

es marca registrada de
Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V.

Mas Oliva, Jaime.

El concepto de enfermedad asociado a la conformación de proteínas
/ Jaime Mas Oliva, Victor Guadalupe García González. -- México : UNAM,
Programa Universitario de Investigación en Salud : Editorial El Manual
Moderno, 2012

xii, 107 páginas : ilustraciones ; 23 cm.

Premio: Textos Médicos, edición 2010.

Incluye índice

ISBN 978-607-02-3363-0 (UNAM)

ISBN 978-607-448-224-9 (El Manual Moderno)

1. Pliegamiento de proteínas. 2. Proteínas – Metabolismo – Trastornos. 3. Amiloidosis. I. García González, Victor Guadalupe. II. Universidad Nacional Autónoma de México. Programa Universitario de Investigación en Salud. III. t.

Director editorial y de producción:
Dr. José Luis Morales Saavedra

Editoras asociadas:
Lic. Vanessa Berenice Torres Rodríguez

Lic. Patricia Gamboa Sánchez
Jefe del Departamento de Fortalecimiento
Académico y Promoción PUIS/UNAM

Portada:
DG. Betzabel Bojalil
PUIS/UNAM

Contenido

Prólogo.....	VII
Introducción.....	IX
 Capítulo 1. Consideraciones termodinámicas en el plegamiento de proteínas.....	 1
Interacciones de enlace.....	3
Interacciones no covalentes.....	4
Interacciones iónicas.....	4
Teoría fisicoquímica del plegamiento de proteínas.....	5
 Capítulo 2. Proteínas intrínsecamente desordenadas.....	 11
Descripción de las proteínas desordenadas.....	11
Interacción proteína-RNA.....	14
Proteínas de unión a lípidos. Relación estructura-función.....	17
Proteína p53.....	20
Acercamiento a la relación: proteínas desordenadas y enfermedad.....	21
 Capítulo 3. Plegamiento anómalo de proteínas y enfermedad conformacional.....	 23
 Capítulo 4. Amiloides.....	 33
Definición y características.....	33
Formación de amiloides <i>in vitro</i>	36
Asociación de las estructuras amiloides con enfermedad.....	37
Proteína precursora del β -amiloide (PP β A) y el péptido β -amiloide (β A).....	39
Amiloidosis de nervios periféricos y la proteína transtiretina (TTR).....	41

Polipéptido islote-amiloideo (IAPP) y la beta 2 microglobulina ($\beta 2m$).....	42
Priones.....	43
Priones en levadura.....	44
Capítulo 5. Plegamiento de proteínas y evolución.....	49
La fibra amiloide representa una conformación funcional ampliamente extendida.....	52
Capítulo 6. Desorden. Un nuevo enfoque.....	55
Capítulo 7. Estrategias farmacológicas dirigidas al tratamiento de enfermedades asociadas a la conformación de proteínas.....	59
Estabilización del estado nativo.....	59
Reducción de la concentración de especies propensas a la agregación.....	60
Bloqueo de la nucleación y del crecimiento de agregados.....	61
Optimización de los mecanismos de homeostasis celular.....	62
Análisis de las opciones farmacológicas.....	62
Consideraciones en el desarrollo de fármacos.....	64
Índice.....	81

Prólogo

A lo largo de la evolución, las proteínas han mantenido la responsabilidad de asegurar el funcionamiento metabólico de todo ser vivo. En nuestros días, reconocemos a las proteínas como piezas fundamentales dentro del rompecabezas molecular fundamento de la vida y donde a través de la propia evolución, todos los sistemas vivos han desarrollado mecanismos moleculares altamente regulados, que por un lado aseguran la adquisición y mantenimiento de su estructura tridimensional funcional, así como su correcto catabolismo al final de su ciclo de uso. Sin embargo, en el ser humano, diversas condiciones patológicas en las cuales aún no se ha descrito una etiología definida, han empezado a encontrar su origen a nivel molecular al relacionar de forma directa diversos cuadros fisiopatológicos con alguna modificación en el plegamiento de las proteínas o en los mecanismos que regulan a este fenómeno bioquímico.

En *“El concepto de enfermedad asociado a la conformación de proteínas”* hemos abordado una serie de conceptos que se adentran en la búsqueda y estudio sistemáticos de las modificaciones en el plegamiento de las proteínas y que en nuestros días han empezado a ofrecer una explicación molecular a un número importante de enfermedades con orígenes desconocidos. La primer parte de esta obra comprende la descripción de los principios termodinámicos que rigen el plegamiento de las proteínas, realizando una detallada descripción de las principales interacciones moleculares que participan en este proceso. Con cerca de 40 años desde su publicación, sin duda los trabajos de Christian Anfinsen y Cyrus Levinthal siendo pioneros en este campo del conocimiento, aún continúan no solo siendo vigentes, sino que han dado origen a uno de los campos más fértiles de investigación en las áreas química, biológica y de la salud.

Por muchos años, la función de las proteínas se ha explicado a través de modelos donde la función de las mismas aparentemente reside en estructuras rígidas perfectamente ordenadas como se enfatiza en el modelo denominado de llave-cerradura, en donde se visualiza a las proteínas como estructuras tridimensionales rígidas. Sin embargo, este concepto ha quedado rebasado a través de una amplia serie de estudios que han demostrado que la función puede emerger de proteínas o dominios específicos contenidos en las mismas sin una estructura

tridimensional preestablecida. Actualmente se reconoce que los organismos filogenéticamente más evolucionados contienen un numeroso grupo de proteínas que explican su función a través de lo que se puede considerar como desorden estructural. De este modo, diversas líneas de pensamiento las cuales explican la función de las proteínas a través de cambios de estructura del tipo orden/desorden o desorden/orden, han empezado a emerger. En la presente obra, se amplía este concepto para llegar al planteamiento y discusión del papel que puede presentar el plegamiento anómalo de las proteínas en el desarrollo de enfermedad. Problemas a lo largo de la síntesis o durante la conversión estructural intermedia previa a la adquisición final de una estructura funcional terciaria, es lo que actualmente se empieza a reconocer como enfermedad conformacional. De esta forma por ejemplo, dedicamos suficiente espacio para describir y analizar a los amiloides, estructuras asociadas con padecimientos como la diabetes mellitus tipo II y algunas enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer. Hasta hace pocos años, las llamadas fibras de tipo amiloide, aunque directamente asociadas con estas enfermedades, representaban una entidad estructural poco entendida. Actualmente, sin embargo, múltiples estudios han demostrado que estas fibras del tipo amiloide pueden ser una especie común en la naturaleza, y que en algunos organismos se ha reportado pueden estar asociadas a funciones fisiológicas normales, sin causar toxicidad.

Hacia el final de la obra, el lector encontrará una sección dedicada a las estrategias farmacológicas y a los estudios a gran escala de genómica y proteómica dirigidos al tratamiento y entendimiento de este tipo de enfermedades. Sin duda, estas herramientas en conexión con el conocimiento estructural y funcional de las proteínas generado día a día, en un plazo corto de tiempo nos permitirá establecer novedosas estrategias encaminadas al completo entendimiento de los mecanismos moleculares que serán utilizados en el diseño de tratamientos para enfrentar a las enfermedades asociadas con el plegamiento anómalo de las proteínas.

Desde los primeros estudios de difracción de rayos X enfocados en dilucidar la estructura tridimensional de un número importante de proteínas hasta las investigaciones actuales a nivel de proteómica, el estudio de las proteínas ha sido objeto de constantes adelantos en la forma de entender a estas macromoléculas. Con la realización de esta obra, por un lado deseamos contribuir a la difusión de estos novedosos conceptos con potencial impacto en la medicina científica de nuestro país, así como también poner en perspectiva los conceptos y trabajo experimental realizado dentro de esta área de estudio por nuestro grupo de investigación durante los últimos años.

Jaime Mas Oliva

Victor Guadalupe García González

Introducción

Las proteínas son los “caballos de trabajo” de la célula. Sus funciones abarcan trabajo tan diverso como por ejemplo, funcionar como máquinas moleculares o realizar funciones de señalización muy particular. Asimismo efectúan reacciones catalíticas de transporte, forman cápsides virales, canales membranales y son las responsables de la degradación de ácidos nucleicos y de sí mismas al final de su ciclo de uso. Son también los vehículos de la respuesta inmune y las responsables de la entrada de los nutrientes que necesitan las células. Debido a su importancia, un esfuerzo considerable en ciencias como biología, medicina y química se ha centrado en el estudio de sus múltiples funciones, a través de la investigación de sus cambios estructurales dentro y fuera de las células (figura 1).

En este sentido, la función de las proteínas depende de forma importante de la adquisición de su estructura tridimensional específica, a través del plegamiento en escalas de tiempo fisiológicas. Bajo condiciones de equilibrio y fuera de él, las proteínas desarrollan estados parcialmente estructurados, los cuales siendo intermediarios en el proceso adoptan una estructura altamente similar a la proteína por completo plegada. Estos intermediarios conocidos como glóbulos fundidos tienen la facilidad de adoptar una gran variedad de conformaciones, debido a cambios en las cadenas laterales de los aminoácidos. Considerando que el mecanismo para obtener una estructura por completo empaquetada se considera energéticamente más costoso que la formación de intermediarios plegados de forma parcial, la evolución podría haber conferido a un número importante de proteínas la capacidad de plegarse parcialmente y dependiendo de la presencia de ligandos específicos cambiar por medio de transiciones desorden-al-orden hacia un estado altamente ordenado y alcanzar la conformación energética más baja. El desorden dentro de este contexto puede representar segmentos o las proteínas completas, las cuales pueden coexistir en esta conformación de manera fisiológica. Debido a que este tipo de transición desorden-al-orden es reversible, se ha asociado con frecuencia a eventos importantes de señalización celular. Considerando el papel central de este fenómeno dentro de la fisiología celular, el

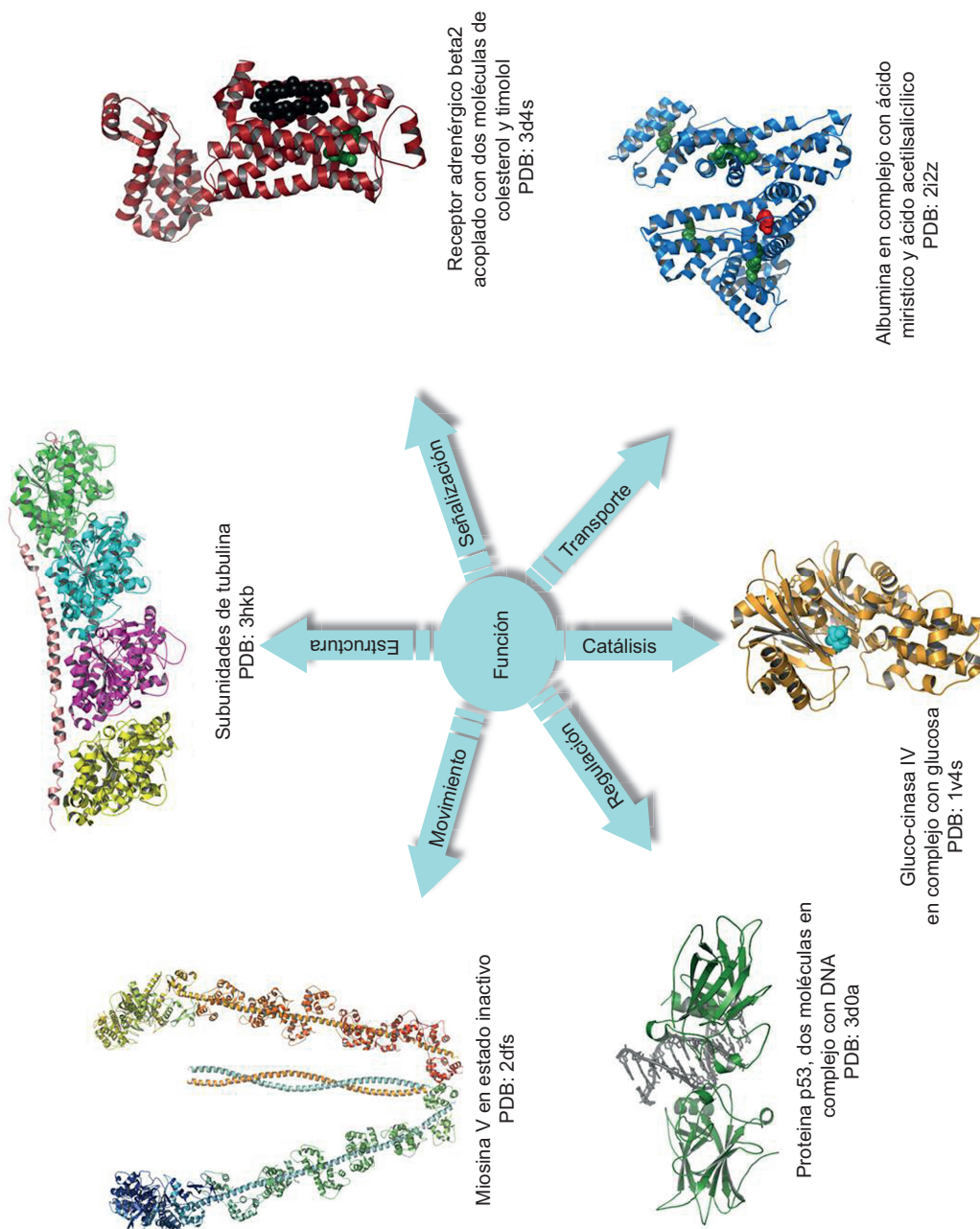


Figura 1. Estructuras tridimensionales de proteínas asociadas a funciones de señalización, transporte, catálisis, regulación, movimiento y estructura. Las estructuras se obtuvieron del *Protein Data Bank* (PDB), y fueron visualizadas empleando el programa PyMOL.²⁵⁷

plegamiento anómalo de proteínas y las transiciones desorden-al-orden se han empezado a relacionar con un número importante de enfermedades.

En consecuencia, el concepto del plegamiento y función de proteínas se encuentra asociado de forma directa con el proceso de transiciones reversibles desorden-al-orden, por medio del cual una cadena polipeptídica desplegada adquiere su estructura funcional específica a través del plegamiento.^{1,2} Aunque por un largo tiempo se pensó que esta propiedad de las proteínas era sólo un concepto teórico, en la actualidad se ha ido dilucidando que las proteínas con un plegamiento anómalo están relacionadas con el desarrollo de enfermedad. Dentro del conocimiento actual que se dispone en relación con las características primarias para que se lleve a cabo un complejo proteína-proteína, el novedoso concepto del desorden presente en las proteínas ha llevado a empezar a dilucidar los mecanismos moleculares fundamentales en la correlación que puede existir entre estructura y función. Se ha estimado que una fracción importante de proteínas celulares son “nativa o intrínsecamente desordenadas”. Bajo esta condición, una proteína puede existir en una relación de conformaciones de rápida interconversión, de esta forma, se ha sugerido que las proteínas intrínsecamente desordenadas son más adaptables y por consecuencia presentan ventajas en su regulación, así como durante la unión a ligandos. Considerando que la conformación nativa-ordenada en las proteínas resulta ser la más abundante, regiones específicas altamente desordenadas en estas proteínas también pueden ser funcionales al mantener un carácter adaptativo.

El número de los diferentes tipos de proteínas en los organismos superiores puede alcanzar hasta 100 000, ya que estas moléculas están involucradas en el control de virtualmente cada una de las funciones sobre las cuales depende la vida. Se ha llegado a estar familiarizados con las formas intrincadas y elegantes que estas moléculas adoptan en sus estados nativos funcionales (figura 1). Sin embargo, en la actualidad se ha empezado a entender en detalle la manera en que estas estructuras se forman a través del complejo proceso del plegamiento, independiente de si el fenómeno ocurre en el interior de la célula de algún tejido o en condiciones *in vitro* en el laboratorio.³⁻⁵ También está llegando a ser evidente que los sistemas biológicos han evolucionado mecanismos altamente controlados para asegurar que las proteínas se plieguen de manera adecuada, y si no lo realizan de forma correcta, son detectadas y degradadas antes de que pueda aparecer un daño celular.⁶

Una forma interesante de llevar a cabo estos estudios estructurales conectados a la búsqueda de funciones, ha sido mediante la identificación de lo que se ha denominado complejos de unión proteína-proteína. De esta forma, si la función de por lo menos uno de los componentes de estos complejos es conocida, esto debe permitir la asignación de la posible función de la segunda proteína que integra el complejo. Esta aproximación es válida, ya que la mayoría de las tareas que realizan las proteínas en la célula involucran interacciones proteína-proteína. Por consiguiente, a través de la intrincada red de estas interacciones se pueden trazar rutas celulares y sus interconexiones, así como su regulación dinámica.

Sí bien, algunas de estas asociaciones son obligatorias y prácticamente permanentes, otras se forman y disocian continuamente de manera muy rápida. En principio, desde el punto de vista fisicoquímico estos complejos son estabilizados mediante interacciones hidrofílicas como los puentes de hidrógeno, así como interacciones electrostáticas y del tipo hidrofóbico, que a nivel molecular son las más fuertes. Para poder predecir una interacción proteína-proteína, se necesita entender las diferentes facetas de su estructura, desde su complementariedad de forma, hasta la organización y la relativa contribución a su estabilidad mediante los diferentes componentes físicos que involucran aspectos estáticos y dinámicos.

Resulta lógico establecer que la estructura de una proteína y su capacidad de llevar a cabo su función están estrechamente vinculadas, de forma tal que cambios en la estructura nativa podrían producir alteraciones funcionales que eventualmente llevan a la aparición de enfermedad. Estos cambios estructurales están presentes en enfermedades como la fibrosis quística y la anemia de células falciformes, causadas por la supresión y mutación respectivamente de un solo aminoácido, ocasionando que las proteínas sean incapaces de llevar a cabo su función fisiológica. De manera específica, la fibrosis quística es un ejemplo clásico de cómo una mutación en el gen que codifica para una proteína clave de transporte molecular resulta en un plegamiento anómalo, originando que no se encuentre en la cantidad requerida para realizar su función. Otras enfermedades, incluyendo algunos tipos de enfisema familiar son el resultado de mutaciones que ocasionan un transporte incorrecto de proteínas a los sitios donde son requeridas.

Este nuevo enfoque empieza a estar asociado con la posibilidad de que alteraciones en el plegamiento de las proteínas pueden estar directamente conectadas al desarrollo de enfermedad. En este sentido, las enfermedades del plegamiento anómalo de las proteínas se pueden dividir en dos grupos: en el primero, cantidades excesivas de proteínas plegadas de manera anómala interaccionan formando agregados moleculares de gran tamaño en forma de estructuras fibrilares.⁷ Éste es el grupo de enfermedades conocido como amiloidosis, entre las cuales la enfermedad de Alzheimer es el caso más estudiado. En el otro grupo, una mutación en el gen correspondiente conduce al plegamiento incompleto o incorrecto de la proteína afectando su función, por ejemplo, esto ocurre con la proteína p53, en donde el mal funcionamiento o pérdida de función de esta proteína supresora de tumores está relacionada con cáncer. Asimismo, este fenómeno se presenta en la fibrosis quística y en la anemia de células falciformes. El plegamiento es un proceso extremadamente eficiente, sin embargo puede existir la posibilidad de que este mecanismo preciso pueda fallar y el encontrar alguna proteína con un plegamiento anómalo puede ser altamente probable, lo cual puede conducir al desarrollo de enfermedad.

1

Consideraciones termodinámicas en el plegamiento de las proteínas

La estructura tridimensional de las proteínas está determinada en gran medida por su estructura primaria, la cual está condicionada por su secuencia de aminoácidos. Este hecho queda demostrado por el gran número de proteínas que pueden desplegarse y después recuperar su estructura nativa *in vitro*, sin la presencia de ningún factor externo. Los recientes descubrimientos de la existencia de proteínas, por ejemplo, de la familia de las chaperonas facilitadoras del plegamiento de las proteínas *in vivo* no cambia el concepto fundamental del campo, el cual considera que las proteínas contienen la información necesaria para plegarse hacia su estado funcional. Aún queda mucho por entender cómo una cadena de aminoácidos adquiere su estructura tridimensional en escalas de tiempo muy cortas, las cuales son requeridas para su funcionamiento dentro de un ambiente celular altamente concentrado. Sin duda, el describir los códigos que rigen el fenómeno del plegamiento de proteínas es una tarea titánica, la cual es considerada por muchos investigadores como una de las más importantes en las ciencias químico-biológicas y con un alto impacto en la medicina.

Para adquirir su estructura tridimensional, las cadenas polipeptídicas desplegadas requieren la intervención de interacciones débiles. Impulsada por interacciones hidrofóbicas, la cadena polipeptídica empieza a plegarse cuando se encuentra en un medio acuoso convirtiéndose rápidamente en un glóbulo fundido a la par de una importante liberación de calor latente. De manera que la estabilización del glóbulo fundido se logra en especial a través de la distribución de residuos hidrofóbicos lejos del medio acuoso. Por otro lado, debido a que los residuos polares contenidos en las proteínas desarrollan puentes de hidrógeno tanto con la red de agua circundante como entre ellos, las estructuras α -hélices y cadenas- β se pueden formar cuando las interacciones cambian entre las moléculas. Se ha calculado que los puentes de hidrógeno podrían estar oscilando en el orden de 10^{-12} s, muy similares a los que se encuentran en el agua sola. De modo que el equilibrio en el estado desple-

gado hacia la adquisición de una estructura específica está determinado por una etapa rápida, en la cual el polipéptido desplegado se convierte en un glóbulo fundido y una etapa lenta, en donde este glóbulo fundido se transforma hacia una forma completamente plegada o estado nativo.⁸

Las proteínas facilitadoras del plegamiento permiten realizar este proceso de una manera más rápida al mejorar la cinética y evitar la formación de estructuras diferentes a la nativa. Uno de los estudios pioneros que ha permitido entender el proceso tan complejo que resulta el plegamiento de proteínas fue realizado por Christian Anfinsen *et al.*, a principios del decenio de 1960-69 del siglo pasado. Su trabajo estuvo enfocado en la proteína ribonucleasa (RNAasa), la cual fue purificada de tejido pancreático de ganado bovino. Esta enzima de 124 aminoácidos que rompe a la molécula de RNA (ácido ribonucleico) puede ser desplegada en temperaturas elevadas o por la adición de agentes químicos, con la consecuente pérdida de su función. Anfinsen mostró que el proceso de desplegamiento puede ser completamente reversible al remover los agentes desnaturizantes o por la disminución de la temperatura, de manera que la ribonucleasa a través de la renaturalización recupera su función.⁹ Anfinsen propuso que toda la información requerida por la proteína para adoptar su estructura tridimensional está contenida en la secuencia de aminoácidos, siendo esta configuración final el estado de más baja energía libre de Gibbs del sistema, por esta aportación le fue otorgado el Premio Nobel de Química en 1972 (figura 1-1).

Sin embargo, ¿cómo encuentran las proteínas la conformación funcional dentro del número interminable de distribuciones que potencialmente pueden



Figura 1-1. Christian Boehmer Anfinsen ganó el Premio Nobel de Química en 1972, en gran medida por su trabajo clásico sobre el plegamiento de proteínas.

adquirir? Cyrus Levinthal fue uno de los pioneros en este campo de investigación, al estudiar cuáles son las fuerzas que permiten que este proceso tan delicado se lleve a cabo de manera fisiológica tanto en un ambiente celular altamente concentrado, como en un modelo *in vitro*, dentro de tiempos que oscilan entre el microsegundo y un minuto. De acuerdo a cálculos matemáticos el tiempo de formación de conformeros resulta ser muy elevado tomando como base que el plegamiento de las proteínas no es una reacción química ortodoxa, en donde existe el rompimiento y formación de enlaces, Levinthal propuso que si el plegamiento de una proteína se lleva a cabo a través de una serie de eventos de prueba y error, es prácticamente imposible que suceda. Este proceso tardaría más tiempo que el representado por la edad del Universo. Por ejemplo, suponiendo que se encuentran estudiando cómo se realiza el plegamiento de una proteína de 100 aminoácidos, considerando que cada residuo es flexible y puede adquirir sólo dos diferentes orientaciones espaciales, de forma teórica esta proteína puede adoptar una cantidad de 10^{30} conformaciones posibles. Además, si para que la proteína alcance su estado nativo tuviera que pasar por cada una de las diferentes conformaciones, y tomando en cuenta que la proteína es capaz de probar 100 billones de conformaciones diferentes por segundo, aun así este proceso tardaría 100 billones de años para probar todas las posibilidades, a este análisis se le ha denominado “la paradoja de Levinthal”.

Cyrus Levinthal propuso que la naturaleza a través de procesos evolutivos tuvo que haber diseñado métodos más efectivos para alcanzar esto, asimismo postuló la existencia de un panel definido de plegamientos, por lo que este proceso puede llevarse a cabo en escalas de tiempo fisiológicas.¹⁰ Ahora bien, el plegamiento de una proteína debe conducir a un mínimo de energía libre, es decir la variación de energía libre a lo largo del proceso es negativa, de manera que debe estar determinada por el balance de los términos entálpico y entrópico. Por lo tanto, el plegamiento debe optimizar al máximo la energía del sistema, mejorando las interacciones proteína-proteína y proteína-agua. Este cambio energético está determinado básicamente por las interacciones que a continuación se describen.

INTERACCIONES DE ENLACE

La estructura nativa de las proteínas presenta todas las distancias y casi todos los ángulos próximos a los valores de equilibrio. En este sentido, la gran mayoría de las torsiones también están en las zonas estéricas más favorecidas, las cuales representan los mínimos dentro del mapa de Ramachandran. Respecto a los enlaces amida, en general se encuentran en la conformación *trans*, con la excepción de las prolinas que pueden encontrarse en la conformación *cis*. Cabe destacar que el cambio de prolinas de conformación *cis* a *trans* es muy importante *in vivo* y que incluso existen enzimas específicas dedicadas a catalizar este proceso, las peptidil-prolina-isomerasas o rotamasas.

Un grupo de enlaces covalentes que merecen especial atención son los puentes disulfuro, los cuales se forman entre dos cisteínas cuyas cadenas laterales se encuentran espacialmente próximas. En general, estos enlaces covalentes estabilizan la estructura de las proteínas, como lo demuestra el hecho de que las proteínas de vida extracelular tienen una buena concentración en sus estructuras. No obstante, los puentes disulfuro no mejoran la cinética del plegamiento, ya que a lo largo del mismo se forman y rompen puentes disulfuro no nativos, lo que puede hacer muy lento el proceso del plegamiento. De hecho, proteínas que se pliegan en microsegundos, pueden tardar minutos si existe la posibilidad de formar puentes disulfuro no nativos durante el plegamiento, de esta forma es posible entender cómo la naturaleza ha diseñado a las disulfuro-isomerasas, como moléculas intermediarias del mecanismo que facilita la formación de puentes disulfuro nativos y la desestabilización de los no nativos.

INTERACCIONES NO COVALENTES

Representan al conjunto de interacciones electrostáticas y de van der Waals que modulan la interacción entre átomos no ligados por enlaces covalentes. Con base en su función teórica en fase gas, estas interacciones agrupan al conjunto de interacciones de van der Waals e interacciones electrostáticas débiles que son por lo general menores a 1 kcal/mol y que *per se* contribuyen poco a la estabilidad de la proteína; sin embargo, en su conjunto son clave, contribuyendo de forma importante a la estabilidad global de las proteínas.

Los puentes de hidrógeno son interacciones básicamente electrostáticas de una intensidad moderada, es decir menores a 10 kcal/mol, estas interacciones se caracterizan por ser direccionales y su presencia es fundamental en los fenómenos de reconocimiento molecular y en la formación de la estructura secundaria. A pesar de su importancia, se ha planteado que los puentes de hidrógeno no son las interacciones determinantes del plegamiento, esto se debe a dos razones fundamentales:

- Son interacciones demasiado direccionales y de corto alcance para organizar el plegamiento global de la proteína.
- Si se consideran los puentes de hidrógeno totales de una proteína (proteína-proteína y proteína-agua), el número de estas interacciones no cambia demasiado después de que ocurre el plegamiento.

INTERACCIONES IÓNICAS

También denominadas puentes salinos, estas interacciones se forman entre las cadenas laterales de aminoácidos cargados. Debido a la propiedad de ser interacciones totalmente electrostáticas, representan una función importante en el reco-

nocimiento molecular a largas distancias y pueden ser extraordinariamente fuertes, superiores a 10 kcal/mol en fases apolares. Durante muchos años se pensó que de la misma manera que ocurre en otros sistemas químicos, los términos de enlace son los determinantes en la estructura tridimensional de las proteínas. Sin embargo, como ya se comentó, este postulado fue refutado por Anfinsen a principios de 1960 en el experimento clásico de desplegamiento de la enzima RNAasa, en donde demostró que las interacciones no enlazantes son las fuerzas determinantes que pueden conducir el plegamiento de las proteínas.⁹

Algo que se puede concluir hasta este momento es que no existe una fuerza única responsable del plegamiento de la proteína, sino más bien el plegamiento depende de un conjunto de interacciones, muchas de ellas de escasa intensidad. Para entender el plegamiento resulta importante pensar en la proteína como una cadena polipeptídica sumergida en agua, y que la estructura va cambiando a lo largo del proceso, hasta adquirir la estructura tridimensional que es la funcional.

TEORÍA FÍSICOQUÍMICA DEL PLEGAMIENTO DE PROTEÍNAS

El plegamiento de una proteína comprende un término entálpico que está asociado a la variación de energía del sistema. De tal manera que la contribución de la entalpía al plegamiento depende del balance de energía proteína-proteína, proteína-agua y agua-agua. En lo que respecta al término entrópico, este parámetro depende del cambio en el grado de desorden que se obtiene durante el fenómeno del plegamiento en la proteína y en el agua que le rodea. Una gran cantidad de estudios han mostrado que durante el plegamiento se produce una mejora en las interacciones proteína-proteína, ya que existe un rearrreglo entre los puentes de hidrógeno proteína-agua y proteína-proteína, de manera que la aparición de la estructura secundaria se favorece por la formación de puentes de hidrógeno entre los aminoácidos que componen a la cadena polipeptídica, por ejemplo, los puentes de hidrógeno intracatenarios en la estructura α -hélice. Por el contrario, el término entrópico es desfavorable, ya que el estado desplegado o “*random-coil*” presenta un índice más alto de desorden comparado con el estado plegado.

Hasta ahora, la teoría más aceptada para explicar el plegamiento lo representa el modelo del “embudo” o “cono entrópico”. De acuerdo a esta teoría, la proteína se pliega moviéndose dentro de un embudo, considerando que el diámetro se aproxima a la entropía de la cadena polipeptídica y la profundidad determina la parte energética del sistema. Así, la proteína desplegada se asume que está en el borde superior del cono, con una energía interna lejos del valor óptimo, pero con un valor entrópico alto. En esta región del embudo, la proteína puede moverse entre diferentes estados energéticamente desordenados; sin embargo, al ir cayendo por el embudo donde cada vez hay menos entropía, el diámetro se vuelve cada vez más reducido y por lo tanto son accesibles menos estados, de manera que las conformaciones adquiridas se van volviendo energéticamente más esta-

bles. Al final se llega a la forma plegada, donde la energía será óptima y el valor entrópico el más bajo (figura 1-2).

Como ya se ha comentado, aunque el proceso es en extremo eficiente, siempre existe la posibilidad de que este mecanismo tan preciso pueda fallar y encontrar una proteína en un estado diferente al nativo es altamente probable.⁷ De manera que las proteínas que siguen esta ruta pueden presentar conformaciones transitorias estables, las cuales podrían promover su interacción con otras moléculas, formar oligómeros y terminar en un estado de agregación.

Un motivo de análisis durante años se ha originado en relación al valor entrópico del estado desplegado. Por ejemplo, si se consideran alrededor de 1 000 estados o conformeros posibles, el costo entrópico de pasar a uno solo sería enorme, del orden de 200 kcal/mol. Debido a que desde el punto de vista energético esto no es un proceso espontáneo, entonces ¿cuál es el grado de desorden de la forma desplegada? Se asumía que la forma desplegada cambiaba dentro de una gran región del espacio configuracional accesible; sin embargo, trabajos recientes de

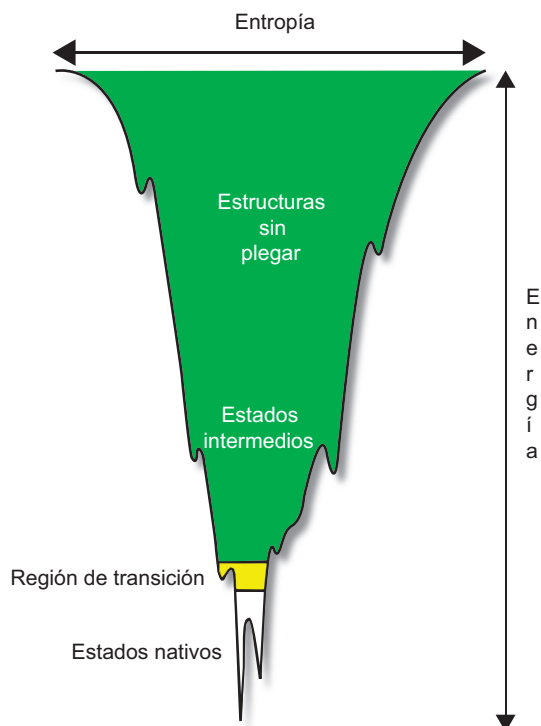


Figura 1-2. Campo energético del plegamiento en forma de embudo. Las proteínas globulares se organizan al inicio como moléculas sin una estructura secundaria y terciaria definida. A lo largo de una pérdida entrópica extensiva, la molécula adquiere la conformación del glóbulo fundido (región de transición). Esta última estructura se transforma a la conformación nativa durante un cambio entrópico pequeño a expensas de una gran pérdida de energía.

dinámica molecular y espectroscopía por resonancia magnética nuclear (RMN) demuestran que la forma desplegada es una combinación finita de un número limitado de estados, la interconversión entre ellos es lo que proporciona una imagen de “desorden”. Esta nueva hipótesis sobre la entropía del estado desplegado tiene consecuencias claras al ser el número de estados alcanzados por la forma desplegada más pequeño de lo que se esperaba, por lo que el costo entrópico del plegamiento de la cadena polipeptídica es también más reducido.

Ahora bien, ¿cuál es la función del agua? Considerando que la cantidad de agua en los alrededores de la proteína es enorme, resulta evidente que tenga un papel clave durante el plegamiento. De hecho, el agua modula el plegamiento de las proteínas tanto a nivel entálpico como entrópico, ya que puede formar puentes de hidrógeno con ella misma y con todos los grupos polares de la proteína, o formar estructuras poliédricas altamente ordenadas alrededor de los residuos hidrofóbicos. En principio se formarán más puentes de hidrógeno proteína-agua en la forma desplegada, por lo que podría pensarse que el agua no favorece el plegamiento. No obstante, se sabe que el agua favorece el plegamiento y de hecho remover agua con agentes hidrofóbicos es uno de los mecanismos utilizados de forma experimental para desnaturalizar a las proteínas. Cuando una cadena polipeptídica se mantiene desplegada, tanto sus grupos polares como los hidrofóbicos se encuentran rodeados de moléculas de agua. De tal manera que cuando el agua está cercana a los grupos hidrofóbicos expuestos (una situación común en la forma desnaturalizada) no puede interaccionar con ellos y responde formando estructuras poliédricas altamente ordenadas a su alrededor. Estas estructuras tienen por objeto maximizar la estabilidad intrínseca del agua en torno al soluto; sin embargo, ocasionan un aumento en el grado de orden del sistema. Cuando grupos hidrofóbicos se encuentran en solución, alrededor de ellos se forman estos poliedros, de tal manera que la situación entrópica se vuelve crítica.

La respuesta del sistema es la de agrupar y comprimir los grupos hidrofóbicos (igual que dos gotas de aceite en agua), para que al juntarse el área accesible al agua se reduzca. De esta manera los poliedros de alto orden se hacen más pequeños, liberándose en el proceso moléculas de agua que aumentan el desorden del sistema. El fenómeno descrito se conoce como “efecto hidrofóbico” y es uno de los factores clave durante el plegamiento de las proteínas. En este sentido, a la formación del glóbulo fundido también se le ha denominado “estado de colapso hidrofóbico”, el cual está determinado por una forma compacta, en donde los residuos hidrofóbicos ya están dirigidos hacia el interior del núcleo proteico durante el plegamiento. La transición de este estado compacto a la forma nativa es entonces menos compleja, ya que implica sólo movimientos localizados de los residuos dentro del proceso de adquisición final de la estructura nativa.

Sin embargo, la cinética del plegamiento es compleja de estudiar, la razón es clara, la escala temporal del proceso es mucho más rápida que la capacidad de medición. Muchas proteínas, pero sobre todo las de bajo peso molecular se pliegan en escalas de tiempo del microsegundo al milisegundo y en muchos casos las

etapas más importantes pueden pasar en el periodo de microsegundos, tiempo demasiado corto para permitir el seguimiento experimental. De esta manera, el mecanismo cinético del plegamiento de una proteína, incluso en estos días de gran adelanto tecnológico dista de estar completamente dilucidado. Aunado a la enorme variedad de plegamientos que pueden adquirir las proteínas, resulta difícil establecer una regla general para todas.

Durante los primeros decenios en los que inició el estudio del plegamiento se planteó la existencia de sólo dos estados conformacionales para una proteína, el nativo y el desplegado. De esta manera, el paso de uno a otro se llevaría a cabo vía un estado de transición y no existirían intermediarios de ningún tipo. La evidencia en la que este modelo se apoya es sólida, derivada de manera fundamental de datos espectroscópicos y calorimétricos, así como de la fuerte cooperatividad que se ha observado experimentalmente durante el desplegamiento. Sin embargo, de forma alternativa se han desarrollado otros modelos, en los cuales se propone que el plegamiento está dado por núcleos, es decir que no es un proceso del “todo o nada”, sino que estaría organizado por una serie de centros de nucleación que se compactan para dar un estado que a continuación evoluciona hacia la estructura tridimensional final. Asimismo, este modelo predice la existencia de formas intermediarias durante el plegamiento, lo cual está apoyado por el hecho de que algunos glóbulos fundidos se han encontrado experimentalmente. De hecho, este estado puede visualizarse como una estructura nativa desordenada, con los elementos fundamentales del empaquetamiento ya definidos, pero carente de la definición fina de la estructura tridimensional. En este sentido, se ha propuesto que la formación del glóbulo fundido es rápida y que su reorganización hasta adquirir la estructura tridimensional es el proceso que limita la velocidad del plegamiento.

De acuerdo a lo anterior, se ha planteado que fenómenos relacionados con la agregación proteica pueden surgir a partir de intermediarios que —basados en el tipo de estructura secundaria adquirida durante el plegamiento— podrían o no parecerse al estado nativo (figura 1-3).^{11,12} Considerando que el estado nativo está localizado en el punto más bajo del “embudo del plegamiento”, esto indica que es la configuración más estable desde el punto de vista termodinámico bajo condiciones fisiológicas; sin embargo, cuando concentraciones altas de proteína se encuentran presentes en el sistema, un número importante de interacciones no nativas proteína-proteína pueden llevarse a cabo, lo que favorece la posibilidad de observar agregados. A lo largo del campo energético caracterizado por una alta o baja entropía, los agregados moleculares podrían estar organizados en forma de fibras o cristales (figura 1-3). Por lo que en proteínas cuyo estado funcional está determinado por un plegamiento globular, un plegamiento incompleto ocurre con menos probabilidad y de esta manera se mantienen protegidas las proteínas contra la aparición de fenómenos como la agregación,¹³ que conducen a la formación de estructuras anómalas. En los siguientes capítulos se abordará en detalle este planteamiento.

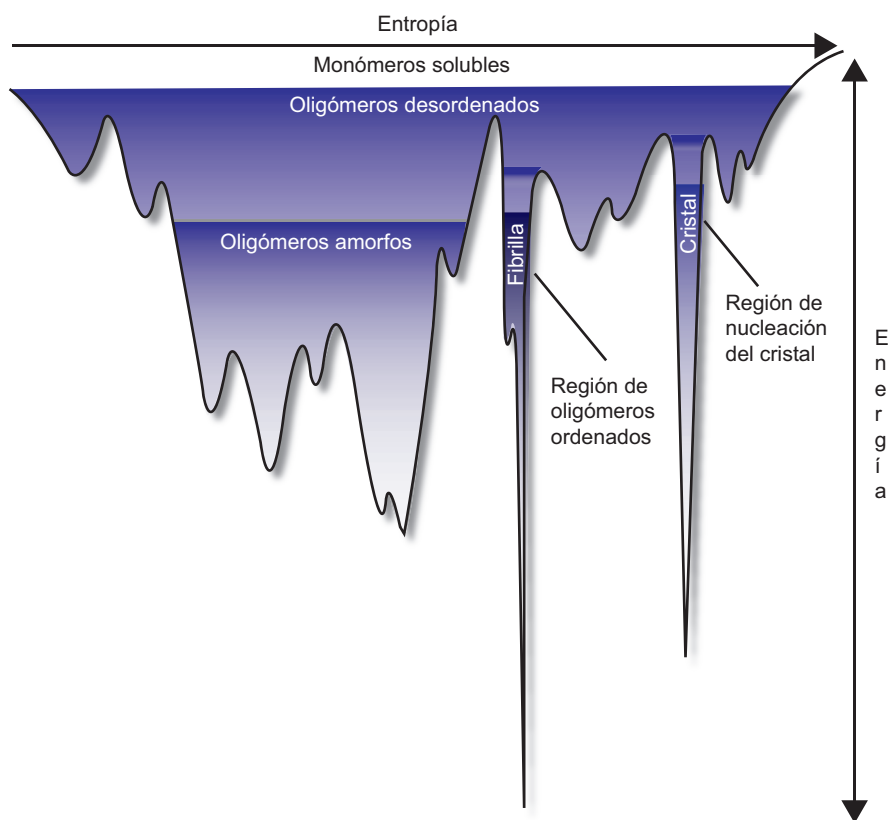


Figura 1-3. Campo energético de la agregación de proteínas.

2

Proteínas intrínsecamente desordenadas

A diferencia de las proteínas altamente ordenadas, en las cuales las estructuras tridimensionales exhiben sólo pequeños cambios del eje central de átomos de carbono sobre sus posiciones de equilibrio, también existen proteínas desordenadas, las cuales se visualizan como ensamblajes dinámicos, en donde las posiciones de los átomos y los ángulos de Ramachandran del eje varían de forma significativa en el tiempo. Por lo tanto, las proteínas y regiones intrínsecas desordenadas se diferencian de sus contrapartes estructuradas en su dinámica, y no necesariamente en la presencia o ausencia temporal de una estructura secundaria. En este contexto, se ha encontrado que segmentos desordenados presentes en las proteínas pueden localizarse dentro de regiones espaciales únicas, caracterizadas por presentar una combinación de una hidropatía global baja y una carga neta elevada, siendo enriquecidas en aminoácidos promotores del desorden como ácido aspártico, metionina, lisina, arginina, serina, glutamina, prolina y ácido glutámico.¹⁴ Es precisamente esta habilidad la que permite al concepto de “desorden en proteínas”, de que sea propuesto como una propiedad clave en la capacidad de las proteínas de presentar regiones específicas con características de interruptor molecular,^{15–17} lo cual bajo condiciones específicas puede modular la función.

DESCRIPCIÓN DE LAS PROTEÍNAS DESORDENADAS

Resulta impresionante notar que alrededor de 30% de las estructuras tridimensionales reportadas en el *Protein Data Bank* (PDB) están por completo exentas del desorden.¹⁸ De manera que las proteínas por completo estructuradas en apariencia representan la excepción y no la regla. Desde un enfoque general, las regiones desordenadas en las proteínas se han dividido en dos clases, la primera está relacionada con proteínas que presentan un porcentaje bajo de estructura secundaria junto con una estructura terciaria inestable durante el estado de glóbulo fundido, la cual es conocida como la clase

colapsada y la clase extendida, en la cual las proteínas con un esqueleto de carbono altamente extendido son similares a una conformación de hoja- β .^{19,20} A este respecto, un grupo internacional de trabajo encabezado por Keith Dunker, Zoran Obradovic y Vladimir Uversky han planteado un cambio en el paradigma de la relación proteica estructura-función, extendido más allá del concepto clásico, en el cual se visualiza que las estructuras tridimensionales altamente ordenadas son indispensables para realizar la función, ya que se ha comprobado que la función de las proteínas podría emerger de manera tan eficiente de las estructuras ordenadas como de las desordenadas, sean estados de glóbulos profundos (clase extendida) o el glóbulo fundido como tal (clase colapsada). Incluso la función puede derivar de las transiciones entre algunas de estas conformaciones. Esta propuesta ha sido definida como “el modelo del cuarteto de transición estructural de proteínas” (figura 2-1). En este sentido se ha encontrado que un gran número de funciones están directamente asociadas a transiciones desorden-al-orden y otra parte importante puede estar relacionada con la presencia específica del estado desordenado. De manera que el planteamiento que relaciona la secuencia-estructura y función ha quedado rebasado.

Un ejemplo de esta propiedad está representado por la proteína α -sinucleína, la cual ha mostrado estar plegada de manera parcial; sin embargo, esta condición puede modificarse hacia una conformación de glóbulo profundo en la presencia de iones metálicos divalentes y trivalentes, los cuales interaccionan con los sitios específicos de unión a cationes presentes en la α -sinucleína.²¹ Asimismo, los

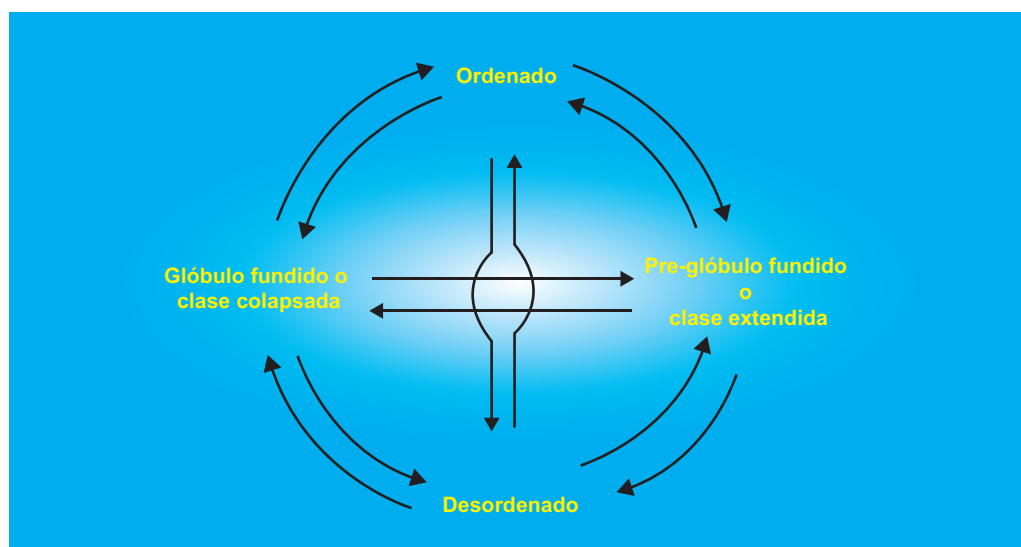


Figura 2-1. Modelo del cuarteto de transición estructural en las proteínas (adaptado de las referencias 19 y 20).

arreglos estructurales que ocurren de una conformación desordenada hacia un estado similar al glóbulo fundido, se han observado en la proteína básica mielina bajo la interacción con lípidos.²² Incluso, se ha propuesto que desde un punto de vista evolutivo, el desorden intrínseco en las proteínas podría haber sido una de las fuerzas motoras detrás de muchos de los procesos de adaptabilidad encontrados en las proteínas.^{7,23}

Dentro de la clasificación de las funciones asociadas a proteínas con regiones desordenadas y a las transiciones entre diferentes estados conformacionales se han agrupado ocho clases, siendo la asociación proteína-proteína la más común, seguida por uniones entre proteína-DNA y proteína-RNA,²⁴ incluso es posible que la función de las chaperonas esté basada en el desorden intrínseco.²⁵ A continuación se mencionan las clases funcionales que hasta ahora se han asociado al “cuarteto proteico” y a las transiciones que ocurren entre los cuatro estados conformacionales de acuerdo a la figura 2-1.²⁶

- Chaperonas: ayudan a otras proteínas o al RNA a alcanzar el estado plegado, evitando la aparición de fenómenos de agregación proteica. Asimismo participan en la renaturalización de las proteínas mal plegadas.
- Ensamblaje molecular: participan en el ensamblaje, regulación y estabilización de complejos proteicos.
- Como moléculas efectoras de reconocimiento molecular: permiten la unión de múltiples ligandos con alta especificidad y baja afinidad, por lo común usado en la señalización celular.
- Como moléculas quelantes de reconocimiento molecular: acumulan y neutralizan a sus ligandos, o ambas funciones.
- Formación de cadenas favorecidas de manera entrópica: funcionan como producto del desorden, a menudo conectan dos dominios ordenados y permiten la regulación a distancia entre ellos.
- Unión a metales: participan en la unión y neutralización de metales pesados.
- Sitios de modificación: permiten la modificación de proteínas, ya sea por modificación química o a través de la digestión por proteasas.
- En funciones que aún no se han definido.

En la actualidad 667 proteínas con 1 467 regiones desordenadas se han incluido en la base de datos DisProt: *Database of Protein Disorder*, este sitio electrónico es una de las bibliotecas virtuales que acumula una amplia información sobre las proteínas desordenadas, además funciona como conector para servidores electrónicos que predicen la presencia de regiones desordenadas. Asimismo, en una caracterización más amplia de las funciones asociadas a proteínas desordenadas y a las transiciones entre los cuatro estados conformacionales, en el sitio DisProt se encuentran descritas más de 35 funciones específicas derivadas de las ocho clases mencionadas previamente, entre las cuales destacan de manera interesante funciones como la unión proteína-proteína, activación transcripcional, unión a ligandos, unión a DNA, fosforilación, señalización celular, unión a metales, la autorregulación

y funciones asociadas con regiones conectoras que permiten el movimiento entre dominios adyacentes (cuadro 2-1).²⁴

De acuerdo con resultados experimentales, las proteínas intrínsecamente desordenadas están extendidas con amplitud.^{27,28} Varios acercamientos computacionales han sido aplicados para predecir las regiones desordenadas de una gran cantidad de secuencias polipeptídicas (DisEMBL™, DISOPRED2, IUPred, PONDR®, VL3, VL3H, VL3E). En este sentido, la exactitud del desorden calculado de forma teórica, comparado con el desorden observado de manera experimental es mayor a 80% para cadenas mayores a 40 residuos contiguos.^{29,30} De tal forma, que el número de proteínas caracterizadas de manera experimental como desordenadas, en adición al número de evidencias documentadas del involucramiento del desorden en la señalización y regulación celular, está creciendo con rapidez.^{24,26,31,32}

La aplicación del programa computacional PONDR® a varios proteomas indica que las proteínas de organismos eucariontes contienen largas regiones desordenadas que va de 35 a 51% en sus secuencias, mientras sólo de 7 a 33% y de 9 a 37% están presentes en bacterias y hongos, respectivamente.²⁷ De forma similar, la aplicación de un método de consenso a genomas enteros, arrojó que los organismos más complejos contienen fracciones sustancialmente más grandes de proteínas desordenadas que los más sencillos.^{28,33} Este aumento en la predicción del desorden en eucariontes comparado con bacterias o arqueobacterias, se ha sugerido como una consecuencia del uso importante del desorden en las proteínas para funciones como señalización y regulación celular en organismos multicelulares.^{27,28} Como fue demostrado en un estudio reciente, 82% de las proteínas asociadas con la regulación celular y 66% de las proteínas de señalización celular contienen por estudios de predicción regiones desordenadas.³² Dentro de este contexto, la primera evidencia experimental específica sobre una transición desorden-al-orden fue presentada hace más de 30 años en la descripción del mecanismo de conversión del tripsinógeno a su forma activa, la tripsina.³⁴ Este mecanismo se caracteriza por la remoción de un hexapéptido de la región N-terminal del tripsinógeno para formar la tripsina, este cambio mínimo promueve la transición de un estado desordenado en la cavidad específica del tripsinógeno hacia un estado ordenado presente en la tripsina funcional.³⁵

Esta relativamente “nueva visión” del plegamiento, está empezando a ser estudiada de forma extensiva; sin embargo, también se ha encontrado que las condiciones del microambiente que rodea a las proteínas son clave en las transiciones bien comprobadas entre los estados desordenados y ordenados.^{19,36,37} A continuación se analizan tres casos, en donde las transiciones desorden-al-orden están asociadas a funciones celulares específicas.

INTERACCIÓN PROTEÍNA-RNA

En lo relacionado a la función del RNA, varias RNA-chaperonas con una participación clave en el metabolismo celular del RNA se han descrito como organizadoras de varias redes de interacción RNA-RNA, RNA-proteína y proteína-proteína.³⁸

Cuadro 2-1. Funciones específicas asociadas a las proteínas desordenadas*

Función	Descripción	Número de proteínas descritas
Acetilación	Conduce la adición de un grupo acetilo durante el proceso de modificación química de la proteína	4
Ribosilación del ADP	Regula la biogénesis de las vesículas en el tráfico intracelular, asimismo debe modular el brote de las vesículas y el desensamblaje dentro del aparato de Golgi. Está envuelta en el transporte de proteínas	0
Regulación de la apoptosis	Regulación de las vías celulares	8
Función autorregulatoria	Relacionada con la regulación de la función/actividad de las proteínas	16
Unión a cofactores	Participación en la unión a cofactores específicos, por ejemplo, el grupo hemo en la hemoglobina	2
Regiones desordenadas no esenciales para la función proteica	Se han encontrado experimentalmente regiones desordenadas que no están asociadas con alguna función proteica	5
Curvatura del DNA	Participa en la modificación de la estructura del DNA	1
Desenrollamiento del DNA	Promueve el desenrollamiento del DNA	1
Transferencia de electrones	Participa en la transferencia de electrones	2
Pico entrópico	Relacionada con una región desordenada que crea una zona de exclusión por el movimiento entrópico	1
Reloj entrópico	Provee un mecanismo de tiempo que surge del escaneo aleatorio, tal como el observado en el modelo de bolas y cadenas para el cierre de canales iónicos dependientes de voltaje	1
Salto entrópico	Provee una fuerza restauradora resultante de la aleatorización de los ángulos de torsión de los enlaces que se vuelven restringidos bajo la extensión	1
Aclilación de proteínas	Guía la adición de ácidos grasos durante la modificación postraduccional de las proteínas	3
Conectores flexibles ⁴⁶	Proveen la separación y permiten el movimiento entre dominios adyacentes de las proteínas	
Glicosilación	Conduce la adición de carbohidratos, tales como glicanos durante la modificación postraduccional de las proteínas	1
Unión a metales	Une iones metálicos	16
Metilación	Conduce la adición de un grupo metilo durante la modificación postraduccional de las proteínas	1
Localización nuclear	Actúan como una señal sobre la superficie de las proteínas para dirigir a la proteína blanco hacia el núcleo celular a través de los poros nucleares	8

Cuadro 2-1. Funciones específicas asociadas a las proteínas desordenadas* (continuación)

Función	Descripción	Número de proteínas descritas
Fosforilación	Guía la adición de un grupo fosfato a la proteína	28
Polimerización	Facilita la polimerización de cadenas peptídicas	12
Función detergente	Facilita la unión a los grupos hidrofóbicos, aumentando la solubilidad	1
Proteínas de unión a DNA	Unen DNA	41
Proteínas de unión a RNA	Unión a RNA	4
Interacción proteína-lípido	Localizadas en la interface de la proteína y la molécula lipídica con la que interaccionan	5
Unión proteína-mRNA	Unión al mRNA	2
Interacción proteína-proteína	Unión a otras proteínas	181
Unión proteína-rRNA	Unión a rRNA	2
Unión proteína-tRNA	Unión a tRNA	2
Regulación de la proteólisis <i>in vivo</i>	Dirige la lisis proteica bajo condiciones fisiológicas dentro de la célula	3
Transporte a través de los canales	Permite el movimiento de moléculas a través de los canales de la membrana	1
Mortero estructural	Proteínas ribosomales que llenan los huecos y espacios del rRNA	2
Unión a sustrato/ligando	Une al sustrato, ligando o ambos	51
Activación transcripcional	Media la activación transcripcional	20
Función desconocida	No existe evidencia experimental que soporte una función específica	117

*Modificado de referencia ²⁴.

Estas moléculas chaperonas que presentan un importante desorden intrínseco participan en la función del RNA a través de ciclos sucesivos de transiciones desorden-al-orden y orden-al-desorden, con el propósito de ayudar al RNA a adquirir la conformación más estable requerida para su función.³⁹ Un ejemplo clásico es la NCp7, una proteína de 55 aminoácidos de la nucleocápside del virus VIH tipo 1, la cual representa un segmento estructural importante de la nucleocápside del virus VIH. NCp7 está caracterizada por tener en su estructura dos motivos dedos de zinc,^{40,41} asimismo participa en varias funciones clave durante el ciclo viral, las dos principales funciones de NCp7 están asociadas a la desestabilización de estructuras en loop del RNA⁴²⁻⁴⁴ y la condensación-agregación del ácido nucleico.⁴⁵⁻⁴⁷ NCp7 ha sido estudiada en especial a través de la interacción de sus cuatro estructuras contiguas en asa, en donde estas regiones denominadas SL1, SL2, SL3 y SL4 pertenecientes al sitio clave de reconocimiento ψ del VIH-1⁴⁸⁻⁵⁰ muestran un alto grado de desorden, representando sitios excelentes de adaptación para su interacción con un amplio rango de secuencias de RNA y DNA (figura 2-2).⁴⁹⁻⁵³

PROTEÍNAS DE UNIÓN A LÍPIDOS: RELACIÓN ESTRUCTURA-FUNCIÓN

En un intento por definir la posibilidad de que las características clave del plegamiento en proteínas que participan en la unión y transporte de lípidos puedan

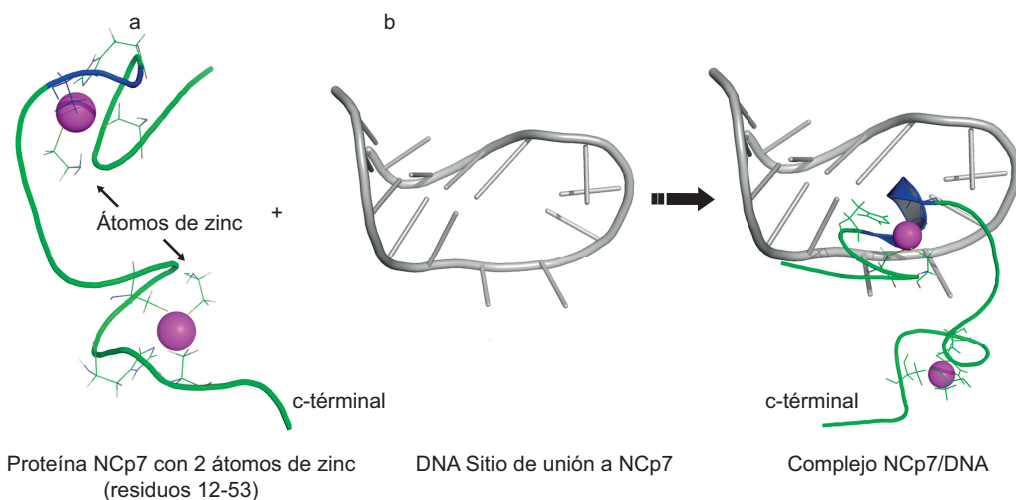


Figura 2-2. Conformaciones estructurales en la proteína NCp7 (residuos 12-53). **a)** se muestra a NCp7 en un estado poco estructurado en coordinación con átomos de zinc; **b)** en la presencia de DNA (sitio de unión a NCp7) se observa un cambio en la estructura secundaria (α -hélice en color azul) al formarse un complejo alrededor del sitio de interacción de DNA. Las estructuras se obtuvieron del *Protein Data Bank* (PDB), códigos de acceso: 1esk y 2jzw. Imágenes visualizadas empleando el programa PyMOL.²⁵⁷

proporcionarnos la manera de cómo explicar funciones básicas, como el reconocimiento a receptores, la actividad de transferencia de lípidos y el autointercambio llevado a cabo por varias apolipoproteínas, nuestro grupo de investigación ha estudiado estas propiedades a través de mediciones directas de los cambios de conformación molecular de las apolipoproteínas en interfaces aire/agua y lípido/agua.⁵⁴ Esto se ha logrado empleando monocapas de Langmuir en conjunción con microscopía de ángulo de Brewster, microscopía de fuerza atómica en películas de proteínas⁵⁵ y por medio de mediciones de fuerza superficial.⁶⁰ Después de una amplia serie de investigaciones realizadas por nuestro grupo de trabajo, no se logró definir si la estructura secundaria de segmentos específicos de las apolipoproteínas CI y -AII se mantiene estable independiente de su posición en interfases aire/agua y lípido/agua (figura 2-3); sin embargo, en la actualidad se ha manejado la posibilidad de que estas regiones específicas responden a cambios específicos del microambiente circundante de lípidos y por medio de transiciones desorden-al-orden pueden funcionar como interruptores moleculares que disparan la función.^{61,62}

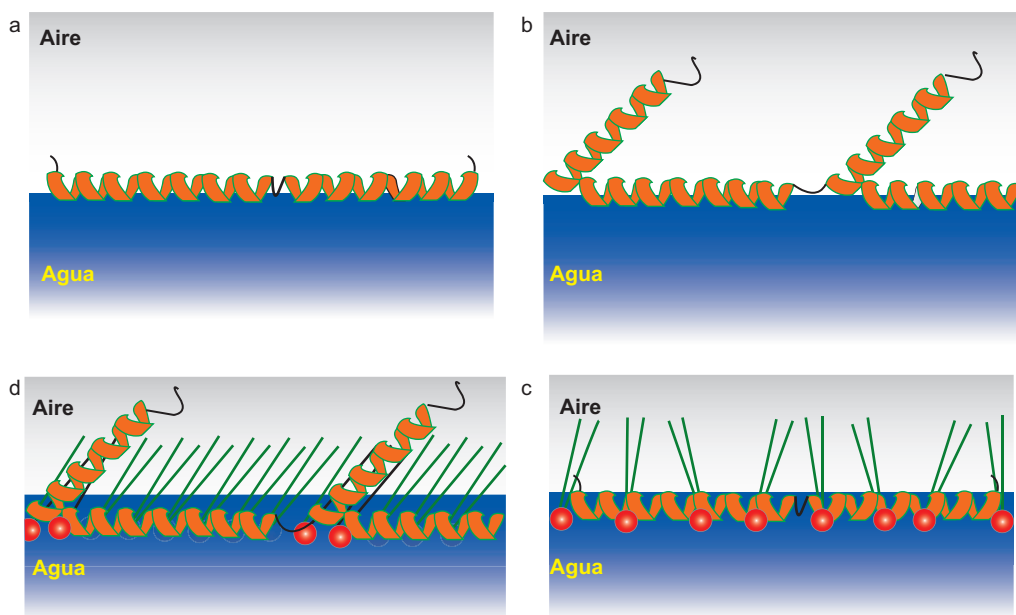


Figura 2-3. Representación de monocapas de Langmuir de apo CI en interfaces aire/agua bajo presiones laterales bajas (a) y altas (b). Monocapas de Langmuir binarias de fosfatidilcolina/apoCI en interfaces lípido/agua a presiones laterales bajas (c) y altas (d). La propuesta de nuestro grupo de trabajo está enfocada en que la región C-terminal presenta un cambio conformacional en presiones laterales altas, el cual puede funcionar como un interruptor molecular.

La apolipoproteína C-I (apoC-I) es sintetizada con un péptido señal de 26 aminoácidos que es removido cotranslacionalmente en el retículo endoplásmico rugoso. ApoC-I inhibe a la fosfolipasa A2^{63,64} y a la lipasa hepática,⁶⁵ asimismo activa a la lecitín-colesterol aciltransferasa (LCAT)⁶⁶ y se ha reportado que la región C-terminal actúa como inhibidor de la proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP).⁶⁷ Por otro lado, el descubrimiento de que las partículas lipoproteicas de muy baja densidad (β -VLDL) enriquecidas en apoE se unen al receptor relacionado a lipoproteínas (LRP)⁶⁸ ha permitido estudiar el efecto del contenido de la apoC-I bajo esta unión.⁶⁹ En este sentido, cuando se estudiaron los miembros de la familia de apolipoproteínas-C, se encontró que específicamente la apoC-I es el inhibidor más potente de la unión de apoE- β -VLDL hacia el LRP.⁷⁰ Se ha sugerido que aparte del desplazamiento de la apoE de la partícula lipoproteica, la unión de la apoC-I podría inducir un cambio en la conformación de la apoE, que en su turno suprimiría la capacidad de interacción con el LRP. La apoE es una proteína de 299 residuos que existe con tres variantes alélicas, denominadas apoE2, -3 y -4. En la enfermedad de Alzheimer, el alelo apoE4 es un factor de riesgo asociado con una forma temprana de inicio de la enfermedad en casos esporádicos.^{71,72}

Aunque la función dependiente de manera específica de las proteínas completamente desordenadas representa el caso extremo, el concepto de tener segmentos desordenados en proteínas que sólo responden y adquieren una estructura secundaria definida bajo la unión a ligandos específicos, es ya un fenómeno más común de lo que se había pensado. En este sentido, la adquisición de una rápida conformación α -helicoidal dependiente de lípidos a partir de una transición desorden-al-orden en el dominio C-terminal de la apoC-I ha proporcionado una nueva visión sobre como esta proteína puede modular su función.^{60,62} Cambios en la composición de lípidos de las partículas HDL podrían promover una modificación en las transiciones desorden-al-orden normales encontradas en la apoC-I, alterando sus propiedades de interruptor molecular y de esta forma originar una predisposición a la aparición de enfermedades relacionadas con la activación de LCAT y la función de CETP.⁶² Además, en el estudio de péptidos derivados de regiones específicas de la apolipoproteína A-I, cuando se mantuvieron en agua a 4 °C una muy lenta transición desorden-al-orden se desarrolló durante el curso de semanas, desde un estado desordenado hacia una bien definida estructura secundaria- β .⁷³ Este comportamiento apoya el hecho de que las características fisicoquímicas del microambiente que rodea a las proteínas deben ser consideradas como un factor clave en el desplazamiento del equilibrio, dentro de la estructura secundaria de una proteína o segmentos específicos hacia la formación de α -hélices o cadenas- β .⁷⁴ En este caso, el resultado de que segmentos específicos de la apolipoproteína A-I lentamente desarrollan estructuras parecidas a las fibras amiloides, indica la posibilidad de que mecanismos patológicos como la aterogénesis también se podrían considerar como procesos de tipo amiloidótico (figura 2-4).⁷⁵

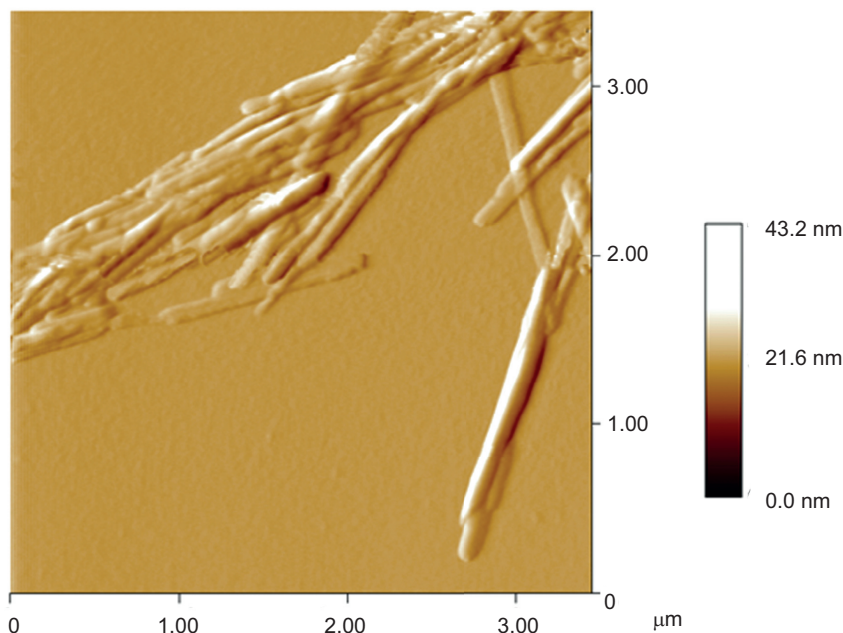


Figura 2-4. Imagen obtenida a través de microscopia de fuerza atómica del péptido denominado DRV, derivado de la región N-terminal de la apolipoproteína A1 (residuos 9-24). Se muestran fibras de tipo amiloide con una longitud promedio de 300 nm y un grosor de 25 nm después de cuatro meses de incubación a 4 °C.

PROTEÍNA p53

Otro ejemplo corresponde a la proteína supresora de tumores p53, una de las proteínas más estudiadas en la historia, activadora de un gran número de genes. Considerando que su principal función es el arresto del ciclo celular en las fases G1 y G2, p53 permite la activación de los mecanismos de reparación del DNA lo cual origina el desarrollo de sus propiedades inhibitorias en la aparición de cáncer. Por lo general el sistema p53 está desconectado o en espera, se activa dentro de una célula si ésta llega a estar excesivamente estresada o dañada, originando mutaciones genéticas en el DNA que pueden ser la causa de una división no controlada y el desarrollo de la proliferación celular, el sello distintivo de la formación tumoral.

La proteína p53 ejecuta tan bien su trabajo que una simple modificación en la cadena de DNA es suficiente para activarla. Esta proteína es movilizadada al núcleo de la célula e induce la síntesis de otras proteínas, las cuales paran la división celular descontrolada o en algunos casos disparan el proceso de apoptosis. Esta función supresora de tumores asociada a p53 es de tan alta importancia que la proteína ha sido llamada “el guardián del genoma y de la célula”. Individuos que heredan una sola copia del gen p53 están predispuestos a desarrollar varios

tipos de tumor, esta condición ha sido encontrada en el síndrome de Li-Fraumeni (FLS), en donde los portadores están predispuestos a desarrollar sarcomas, leucemias, carcinomas adrenocorticales y cáncer de mama a edades tempranas.^{76,77} En este contexto, más de 50% de los cánceres en humanos se han relacionado con mutaciones en p53, el análisis sistemático de 882 mutaciones revela que 304 afectan la estructura del dominio nuclear de p53, modificando el plegamiento global de la proteína.⁷⁸ Aunque la agregación reversible podría jugar un papel importante en el plegamiento del núcleo proteico de p53,⁷⁹ queda pendiente estudiar si un porcentaje de estos cambios estructurales están asociados con transiciones localizadas desorden-al-orden, las cuales a su vez podrían modular y entonces afectar las interacciones proteína-DNA (figura 2-5).

ACERCAMIENTO A LA RELACIÓN ENTRE PROTEÍNAS DESORDENADAS Y ENFERMEDAD

Considerando el papel central que juega el plegamiento de proteínas en biología, resulta inevitable pensar que un plegamiento anómalo puede dar origen a la pérdida de la función, modificando el proceso en donde participa la proteína, lo cual puede llevar hacia un estado patológico. De forma interesante, se ha observado

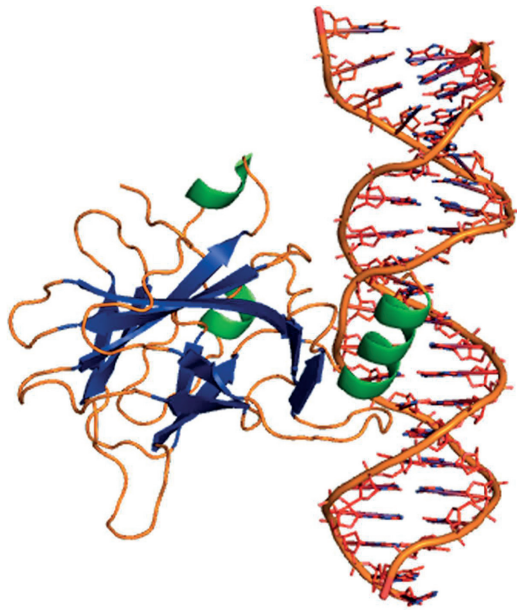


Figura 2-5. Arreglo molecular entre la proteína supresora de tumores p53 y un fragmento de DNA. La estructura fue obtenida del *Protein Data Bank* (código de acceso: 1 tup) y visualizada empleando el programa PyMOL.²⁵⁷

que la propiedad de desorden puede ser común entre las proteínas relacionadas con varias enfermedades humanas, incluyendo cáncer, enfermedades degenerativas, cardiovasculares y diabetes. En el caso concreto de proteínas asociadas con cáncer se ha encontrado que contienen fracciones 1.7 y 6.1 más altas de secuencias con regiones desordenadas, en relación con proteínas eucariotas normales.³² Siguiendo una tendencia similar, se ha calculado que más de 60% de las alrededor de 480 proteínas asociadas con enfermedad cardiovascular contienen largas regiones desordenadas. Otro estudio indicó que la mayoría de autoantígenos sistémicos nucleares responsables de las altas concentraciones de anticuerpos en pacientes con enfermedades sistémicas autoinmunes, son muy ricos en proteínas consideradas como altamente desordenadas.⁸⁰ De este modo, se ha empezado a encontrar la conexión entre el desorden en proteínas y la aparición de enfermedad.

Debido a que en muchas de estas condiciones, mecanismos de señalización celular están involucrados, existe una fuerte posibilidad de que transiciones desorden-al-orden en las proteínas que realizan funciones normales de interruptores moleculares podrían verse modificadas, así eliminando o transformando las interacciones normales proteína-proteína en un lenguaje aberrante. De tal manera, las propiedades clave de un mecanismo de interruptor molecular deben estar basadas en un equilibrio entre alta especificidad y baja afinidad, estando el mecanismo acoplado a un descenso importante de entropía conformacional. Este fenómeno se fundamenta en que al momento de unión, las transiciones desorden-al-orden deben superar las restricciones estéricas, permitiendo la interacción de superficies grandes en los complejos proteína-proteína, comparado a los que pudieran llevarse a cabo en proteínas rígidas.⁸¹ A pesar de la enorme importancia de este tipo de transiciones, aún continúa carente la falta de estudios biofísicos detallados que pudieran demostrar la relación cercana entre este tipo de transiciones desorden-al-orden y la función proteica.

Con base en una amplia serie de investigaciones y considerando los resultados de predicción obtenidos a través de PONDR®,⁸² un alto porcentaje de las proteínas involucradas con algún tipo de enfermedad se ha relacionado con la presencia de regiones desordenadas. Tomando en cuenta las funciones clave en las que participa este tipo de proteínas, en especial asociadas a la regulación, reconocimiento, señalización y control celular, la pérdida de función debe estar relacionada con fenómenos patológicos. Asimismo, en un análisis computacional a gran escala de las interacciones que se pueden llevar entre genes directamente relacionados con enfermedad, se ha encontrado de manera sorprendente que muchos de estos genes codifican para proteínas con regiones desordenadas, por lo que se ha planteado la existencia de un panel de proteínas con la propiedad de poseer regiones desordenadas dentro de la expresión global de proteínas (proteoma). Sin duda este concepto denominado *unfoldome* (sin una traducción al español) va a ser motivo de un amplio análisis en los años venideros.^{83,84}

3

Plegamiento anómalo de proteínas y enfermedad conformacional

Tomando en cuenta que existen varias estrategias de regulación y control que han evolucionado en los sistemas biológicos para proteger al proceso del plegamiento en las proteínas, es sólo cuando éstos fallan que la condición patológica asociada al plegamiento anormal se torna evidente. En este sentido, el número de enfermedades conocidas en la actualidad que están relacionadas con un plegamiento anómalo aumenta de forma gradual; estas enfermedades son a menudo familiares, debido a que el cambio en el plegamiento reside en una mutación en la secuencia del DNA. De manera que las mutaciones pueden incrementar la tendencia de una proteína a plegarse de una forma anormal, esta situación es el origen de enfermedades como la relacionada con el funcionamiento anormal de la antitripsina- α 1 durante procesos inflamatorios.

En este sentido, se ha enfocado mucha atención en las enfermedades en donde el plegamiento anómalo conduce a un estado de agregación, en especial cuando estos agregados se presentan hacia una forma altamente organizada, denominada fibra de tipo amiloide. A este respecto, una serie de enfermedades que están asociadas con la formación de depósitos extracelulares e intracelulares de agregados con características amiloides se presentan en el cuadro 3-1, junto con la proteína o péptido específico que en cada caso es la especie predominante de los depósitos. Algunas de estas condiciones incluyen a la enfermedad de Alzheimer y la de Creutzfeldt-Jakob, así como una variedad de otras enfermedades neurológicas o sistémicas, como las polineuropatías. Dentro de este contexto, resulta importante mencionar que estas enfermedades no sólo están asociadas a la presencia de mutaciones genéticas (formas familiares de la enfermedad) sino también con fenómenos relacionados al envejecimiento. En ambos casos, los mecanismos de control y regulación deben estar alterados. En el primer caso, esto puede estar asociado a que las secuencias de las proteínas involucradas no son las que han sido optimizadas durante la evolución y en el segundo caso, debido a los cambios en la fidelidad de la estructura molecular, así como al deterioro de los procesos celulares de control que son el resultado del paso del tiempo. Asimismo, existen

Cuadro 3-1. Enfermedades humanas relacionadas a la formación de agregados extracelulares e intracelulares con características amiloides*

Enfermedad	Distribución	Proteína/péptido precursor	Estructura nativa de la proteína/péptido	Número de residuos
Enfermedades neurodegenerativas				
Enfermedad de Alzheimer: esporádica, familiar y de inicio temprano	Localizada	Péptido β -amiloide (β A)	Nativamente desplegada	39 a 43
Encefalopatías espongiiformes [Kuru, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, insomnio familiar fatal, síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheiker y la angiotopatía amiloide PrP-cerebral]	Localizada	Proteína priónica (PrP ^C) y fragmentos de ella	Nativamente desplegada en los residuos 1-120 y α -hélice (121 a 230), en esta región se ha detectado un cambio conformacional hacia una cadena- β (PrP ^{Sc})	253
Enfermedad de Parkinson	Localizada	α -sinucleína	Nativamente desplegada	140
Demencia de cuerpos de Lewy	Localizada	α -sinucleína	Nativamente desplegada	140
Demencia frontotemporal con Parkinsonismo	Localizada	Tau	Nativamente desplegada, se han encontrado fibras compuestas de diversos fragmentos de Tau	352 a 441
Esclerosis lateral amiotrófica	Localizada	Superóxido dismutasa I. Localizada en citoplasma	Es homodimérica con una estructura mayoritariamente β . Las mutaciones más comunes son A ₄ V y G ₈₃ A	153
Enfermedad de Huntington	Localizada	Huntingtina con una cadena larga de poli-glutamina	Nativamente desordenada en casi toda la secuencia	3 144
Ataxia espinocerebelar	Localizada	Ataxinas con una cadena larga de poliglutamina	La mayor parte del plegamiento es $-\beta$, en el fragmento 562 a 694 es abundante el motivo AXH. X corresponde a cualquier aminoácido	816
Ataxia espinocerebelar (SCA 17)	Localizada	Proteína unidora de cajas TATA (TBP) con una cadena de poliglutamina en el N-terminal	Plegamiento de tipo α - β en los residuos 159-339, parecido a TBP. No se conoce en la parte de los residuos 1-158	339

Cuadro 3-1. Enfermedades humanas relacionadas a la formación de agregados extracelulares e intracelulares con características amiloides* (continuación)

Enfermedad	Distribución	Proteína/péptido precursor	Estructura nativa de la proteína/péptido	Número de residuos
Enfermedades neurodegenerativas				
Atrofia muscular espinobulbar	Localizada	Receptor androgénico con una expansión de poliglutamina	Mayoritariamente α -hélice, parecido al dominio de unión a ligando del receptor nuclear en los restos, 669-919 el resto no se conoce	919
Atrofia hereditaria dentatorubral I-palidulovsiana	Localizada	Atrofina 1 con una cadena de poliglutamina	No determinada	1185
Demencia familiar Británica	Localizada	Péptido ABri, el cual se genera a partir de una mutación en el codon 267 del gen <i>BR12</i>	Nativamente desplegado	23
-Demencia familiar Danesa	Localizada, afectando a varios órganos	Péptido ADan	Nativamente desplegado	23
Amiloidosis no-neuropáticas				
Amiloidosis AL (cadena ligera de las inmunoglobulinas)	Localizada, sistémica	La cadena ligera de inmunoglobulinas (Ig)	En especial adoptan una estructura- β , similar a las inmunoglobulinas (Ig)	~90
Amiloidosis AA	Sistémica	Apoproteína sérica amiloide A (SAA)	Todo $-\alpha$, plegamiento global desconocido	76 a 104
Fiebre mediterránea familiar	Sistémica	Apoproteína sérica amiloide A (SAA)	Todo $-\alpha$, plegamiento global desconocido	76 a 104
Amiloidosis senil sistémica	Sistémica	Transtiretina nativa	En especial en hoja- β , parecido al de albúmina	127
Polineuropatía amiloide-familiar (PAF)	Sistémica	Mutantes de la transtiretina (figura 4-5)	En especial en hoja- β , parecido al de albúmina	127
Amiloidosis debida a hemodíalisis crónica	Sistémica, en menor proporción localizada	β 2 Microglobulina	En especial en hoja- β , plegamiento similar al de las Ig	99

Cuadro 3-1. Enfermedades humanas relacionadas a la formación de agregados extracelulares e intracelulares con características amiloides* (continuación)

Enfermedad	Distribución	Proteína/péptido precursor	Estructura nativa de la proteína/péptido	Número de residuos
Amiloidosis no-neuropáticas				
Amiloidosis debida a apoA-I	Sistémica	Región N-terminal de ApoA-I, se han encontrado fragmentos de varias longitudes	En la apoA-I nativa, la región N-terminal está estructurada en α -hélice	80 a 93
Amiloidosis relacionada con apoA-II	Sistémica	Fragmento N-terminal de la apolipoproteína A-II	En α -hélice, sin embargo la amiloidosis está relacionada con una mutación en el codón de paro, originando una isoforma con 21 residuos adicionales	98
Amiloidosis debida a apoA-IV	Posiblemente localizada	Región N-terminal de apoA-IV	Desconocida, aunque un cambio de α -hélice hacia cadena- β es posible	~70
Amiloidosis familiar de tipo finlandés (AFF). Se presenta neuropatía, dis-trofia corneal y problemas en la piel	Sistémica	Fragmentos de la proteína gelsolina	Intrinsecamente desordenada	71
Amiloidosis debida a lisozima	Sistémica	Mutaciones en la lisozima (Ile56Thr, Asp67His, Tyr64Arg)	Plegamiento $\alpha+\beta$ característico de la lisozima	130
Amiloidosis relacionada con fibrinógeno	Localizada (glomérulos)	Fragmentos de diversos tamaños de la cadena αA del fibrinógeno	No determinada	27 a 81
Angiopatía amiloide cerebral de tipo islandés	Sistémica	Mutantes de cistatina C	Plegamiento tipo $\alpha+\beta$, característico de la cistatina	120
Enfermedades localizadas no-neuropáticas				
Diabetes mellitus tipo II	Localizada en las células β de los islotes de Langerhans	Polipéptido isote-amiloideo (amilina) (figura 4-6)	Mayoritariamente α -hélice	37

Cuadro 3-1. Enfermedades humanas relacionadas a la formación de agregados extracelulares e intracelulares con características amiloides* (continuación)

Enfermedad	Distribución	Proteína/péptido precursor	Estructura nativa de la proteína/péptido	Número de residuos
Enfermedades localizadas no-neuropáticas				
Carcinoma medular de la tiroides	Localizada	Calcitonina	Intrínsecamente desordenado	32
Amiloidosis en aurículas	Localizada	Factor natriurético atrial	Nativamente desordenado	28
Hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis	Localizada	Mutaciones en el péptido β -amiloide	Nativamente desordenado	40 o 42
Prolactinomas de la glándula pituitaria asociados al envejecimiento	Localizada	Prolactina	Específicamente una estructura de tipo α -hélice	199
Amiloidosis de inyección-localizada (iatrogénica)	Localizada	Insulina. Fragmentos generados a partir de las cadenas A y B	Estructura en α -hélice, característico de la insulina	21 y 30
Amiloidosis situada en la parte intermedia de las aortas	Localizada	Péptido medin, correspondiente a la región 245-294 de la proteína lactaderina	No determinada	50
Distrofia corneal hereditaria	Localizada	Relacionada con fragmentos del C-terminal de la keratoepitelina	No determinada	50 a 200 residuos
Amiloidosis corneal asociada con triquiasis	Localizada	Lactoferrina	Plegamiento $\alpha+\beta$ característico de la proteína unidora de periplasma II	692
Cataratas	Localizada	γ -cristalinos	Plegamiento β , característico del γ -cristalino	Variable
Proteinosis de los alvéolos pulmonares	Localizada	Proteína surfactante pulmonar C	No determinada	35
Miositis asociada a cuerpos de inclusión	Localizada	Péptido β -amiloide	Nativamente desordenado	40 a 42
Amiloidosis cutánea	Localizada	Queratinas	No determinada	Variable

* Modificado de referencia ¹²⁵

estados patológicos como las enfermedades priónicas, en los cuales muchas de las formas se transmiten por medio de costumbres por lo general evitadas por las prácticas sociales; por ejemplo, la causa primordial de las encefalopatías espongiformes transmisibles está relacionada con prácticas caníbales y actividades debidas a la exposición de animales portadores de estas patologías.

Aunque las enfermedades relacionadas con amiloides poseen diferentes características, sus orígenes moleculares pueden tener mucho en común. La agregación de proteínas plegadas de forma incompleta o degradadas parcialmente es un proceso complejo que progresa de oligómeros pequeños a estructuras más organizadas como los protofilamentos, antes de la formación de las fibras bien definidas. Sin embargo, también la agregación puede generar grandes ensamblajes desorganizados que de manera frecuente se consideran como estructuras “amorfas”. En este sentido, se ha planteado que la agregación inespecífica y la formación de las fibras bien definidas son dos fenómenos competitivos, en donde debe intervenir un equilibrio sutil y dinámico de interacciones que inducen a la formación de fibras, en gran medida conducido por las condiciones fisicoquímicas específicas del microambiente que rodea a las secuencias peptídicas. A través del uso del fragmento 25-35 del péptido β amiloide (βA_{25-35}), en nuestro laboratorio se ha confirmado que cambios mínimos en el microambiente pueden ser suficientes para favorecer la transición entre diferentes estados conformacionales (figura 3-1). Cuando el βA_{25-35} es incubado en condiciones de pH 7.2 forma agregados desordenados con características amorfas, no registrándose las estructuras fibrilares típicas con tamaños de 7 a 13 nm de ancho. Sin embargo, cuando se mantiene en H_2O pH 5.5 se evidenció la formación característica de las fibras amiloides (figura 3-1), las cuales inducen mecanismos de citotoxicidad, como modificaciones en la expresión de proteínas adaptadoras funcionalmente importantes como β -adaptina y CALM que participan en la maquinaria de endocitosis de microglia, células que de manera fisiológica pueden entrar en contacto con fibras del βA .⁸⁵ Al evaluar los agregados amorfos no se encontró un efecto citotóxico, ni cambios en la expresión diferencial de estas proteínas⁸⁶ (figura 3-1).

Debido a que existen propiedades comunes en la forma en que se pliegan las proteínas, es probable que también exista una conexión en cuanto a la manera en que se agregan las cadenas polipeptídicas monoméricas de estas estructuras; sin embargo, su efecto sobre los procesos biológicos puede ser muy diferente. Por ejemplo, existe un número muy grande de proteasas de serina en los sistemas biológicos, estas enzimas poseen características mecánicas y estructurales similares, pero pueden tener funciones en la biología que oscilan desde la regulación de la coagulación sanguínea hasta la digestión de alimentos. Así, aunque dos proteínas se agregan en formas muy similares, si el proceso ocurre en tejidos diferentes o en organelos celulares separados, los efectos pueden ser sorprendentemente opuestos.

A pesar de esta complejidad, las semejanzas de los mecanismos a través de los cuales las proteínas se agregan *in vitro*, por ejemplo, para formar estructuras amiloides,

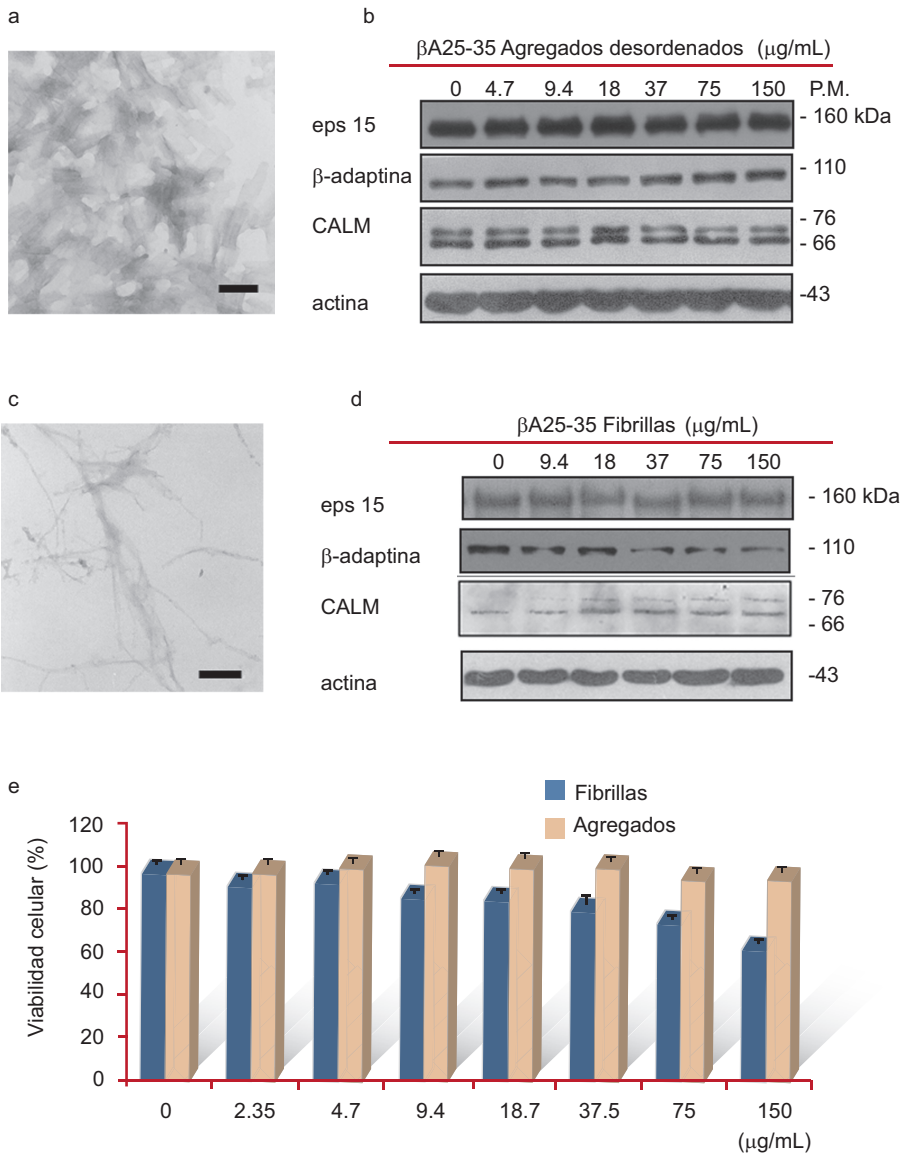


Figura 3-1. Efecto de las propiedades fisicoquímicas del microambiente en la formación de fibras amiloides en el péptido β A₂₅₋₃₅. (a) El péptido β A₂₅₋₃₅ incubado por 72 h bajo un pH 7.2 induce la formación de agregados amorfos; (b) Células de microglia tratadas con estos agregados amorfos no producen cambios en la expresión de proteínas endocíticas; (c) La incubación del β A₂₅₋₃₅ por 72 h bajo un pH 5.5 induce la formación de fibras bien definidas; (d) Células tratadas con estas fibras muestran cambios en la expresión de proteínas como β -adaptina y CALM; (e) Estructuras fibrilares bien definidas del β A₂₅₋₃₅ inducen una disminución gradual de la viabilidad celular de microglia. Las barras en las imágenes de microscopía electrónica de transmisión corresponden a 200 nm (Obtenida por nuestro grupo de trabajo).

empieza a sugerir características comunes *in vivo*. Por ejemplo, en nuestro grupo de trabajo se ha enfocado un esfuerzo considerable en el estudio de la proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP), la cual facilita la transferencia de ésteres de colesterol y triglicéridos entre lipoproteínas en el plasma, en especial direccionando el flujo de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL) a lipoproteínas de baja y muy baja densidad (LDL y VLDL, respectivamente). De esta forma, la presencia de altas concentraciones de CETP en plasma se considera como un factor importante de riesgo aterogénico. Se ha definido que el sitio crítico para su función está situado en el dominio carboxilo terminal de la proteína, siendo la estructura secundaria α -hélice de este sitio, la conformación funcional para la transferencia de lípidos. Sin embargo, hemos demostrado que este dominio puede sufrir cambios conformacionales cuando se mantiene, por un lado fuera de un ambiente de lípidos, así como mediante la inducción de la mutación puntual D₄₇₀N. Utilizando una serie de péptidos derivados de esta región carboxilo terminal, se ha demostrado que estos cambios favorecen la inducción de una conformación secundaria- β y la formación de estructuras fibrilares del tipo amiloide, las cuales durante su caracterización funcional se ha definido que inducen una alta citotoxicidad en varios modelos celulares en cultivo. Esta investigación ha permitido establecer que este tipo de estructuras no asociadas con fenómenos patológicos pueden promover una respuesta celular de citotoxicidad mediante cambios en el balance de diversas moléculas proteicas que participan en endocitosis, muy similares a las inducidas por el péptido β A asociado a la enfermedad de Alzheimer.⁸⁶ De igual forma, se ha planteado la existencia de una regulación fina entre la secuencia peptídica de la región carboxilo terminal de CETP, su carga neta y el microambiente que le rodea, lo cual define el tipo de estructura secundaria adquirida. Cambios en este balance podrán favorecer un plegamiento anómalo de esta región, lo que podría conducir a la formación de estructuras aberrantes del tipo amiloide y a la pérdida de la capacidad de transferencia de ésteres de colesterol llevada a cabo por CETP.

No obstante, cabe mencionar que existe una evidencia emergente relacionada a que las especies más tóxicas para las células son quizá los agregados oligoméricos que son precursores a la formación de las fibras maduras y no las fibras *per se*. También es importante considerar que una vez que las cadenas polipeptídicas se agregan en una fibra bien organizada, ésta puede ser sustancialmente tóxica, ya que su acumulación en esta forma reduce la concentración de la proteína soluble funcional y podría además, desorganizar de manera física el compartimento biológico dentro del cual se forma. Por ejemplo, en el caso de la anemia de células falciformes la función de los eritrocitos está suprimida por la acumulación de agregados fibrilares de hemoglobina, como resultado de la sustitución de un grupo funcional carboxilo por un metilo (mutación E₆V) en una de las cadenas laterales que se encuentra en la superficie, generando el cambio morfológico clásico en forma de hoz de los eritrocitos. En este sentido, existe la fascinante posibilidad de que especies tóxicas con un plegamiento anómalo pueden ser pro-

tectivas al mismo tiempo que sean patógenas, haciendo referencia a la protección que la anemia de células falciformes realiza en contra de algunas formas agresivas de paludismo.

Dentro de los mecanismos de protección contra la aparición de amiloides parece que las chaperonas evolucionaron de forma preferente hacia el mantenimiento de una baja especificidad, quizá esto les permite unirse a una proteína blanco y de esta forma resguardar aquellas regiones de la proteína aún en proceso de plegamiento. Estos mecanismos se asocian a la disposición de un ambiente favorable en su interior, en donde la proteína pueda plegarse con rapidez y de manera eficiente evitar la formación de interacciones no nativas. Se ha encontrado que las chaperonas moleculares son capaces de reconocer de forma específica segmentos expuestos altamente propensos a la agregación, evitando que interaccionen de manera anómala con otros componentes celulares o con segmentos similares en otras moléculas proteicas, lo que podría conducir a la aparición de fenómenos de nucleación.⁸⁷

Asimismo, resulta conveniente mencionar que la toxicidad de los precursores oligoméricos ha generado un espectro de puntos interesantes, como la posibilidad de que exista una variedad de efectos patológicos de bajo nivel, que se relacionan a las enfermedades amiloidóticas y que todavía están por detectarse, por ejemplo, en los padecimientos vinculados al envejecimiento. Puesto que una concentración alta de una proteína plegada de manera anómala puede causar amiloidosis, otro grupo de enfermedades relacionadas con el plegamiento está causado por la falta de una proteína con un plegamiento nativo, este tipo de condición está involucrada en enfermedades como la fibrosis quística, pero en especial afecta a la proteína p53, la cual ocupa la posición más importante conocida en la defensa celular contra cambios neoplásicos.

Como ya ha sido comentado, proteínas nativas desordenadas sobre las cuales es conocida la falta permanente de estructura secundaria o terciaria, han sido reconocidas al menos en la ausencia de otras proteínas de presentar la tendencia a organizarse en estructuras amiloidogénicas. Este es el caso de la α -sinucleína, una proteína encontrada en los cuerpos de Lewy en cerebros de pacientes con la enfermedad de Parkinson.⁸⁸ En el caso de las enfermedades relacionadas con priones, la proteína P_{Sc} ha sido aislada de placas amiloides, en donde un cambio conformacional evidente de una estructura α -helicoidal hacia una cadena- β por medio de un mecanismo de templado es reconocido como el proceso que causa la agregación.⁸⁹

En el interés de poder establecer la conexión entre regiones o proteínas desordenadas con el fenómeno de agregación, se han realizado una serie de estudios en péptidos y proteínas modelo. Por ejemplo, Chen *et al.*, mostraron que la poliglutamina monomérica en solución representa el núcleo para la formación de agregados con una estructura β a través de una transición inicial desorden-al-orden.⁹⁰ En este sentido, múltiples trabajos de simulación a través de dinámica molecular han proporcionado una caracterización cuantitativa de estos péptidos de

poliglutamina, mostrando fluctuaciones desorden-al-orden directamente relacionadas con la longitud de la cadena y el grado de compactación.⁹¹ Asimismo, se ha encontrado que la concentración de las amidas primarias de las cadenas laterales alrededor de las unidades del esqueleto de carbono y el grado de solvatación, ya sea por puentes de hidrógeno o por moléculas de agua a su alrededor, contribuyen de forma importante a estos valores promedio de compactación.⁹¹

Sin embargo, la pérdida de estabilidad del estado globular de una proteína y la consiguiente exposición de cadenas laterales con un potencial alto de interacción, no representa un factor único en la promoción del fenómeno de agregación. De hecho, la mayoría de las proteínas nativamente desordenadas no sufren de agregación amiloide. Esto es indicativo de la existencia de otros factores que deben promover la agregación del estado desplegado. Varios autores han sugerido que la capacidad de prevenir la formación de amiloides puede actuar como una fuerza conductora en la evolución de proteínas, en donde estas biomoléculas han diseñado estrategias basadas en la secuencia y estructura para prevenir la agregación.⁹² Considerada como un factor clave, el mantenimiento de una carga neta suficientemente elevada sin desestabilizar a la proteína nativa es uno de los mecanismos propuestos, en este sentido existe una evidencia sólida de que proteínas intrínsecamente desordenadas mantienen una carga neta alta como una estrategia para evitar la agregación⁹³ y permanecer solubles en el ambiente celular altamente concentrado. En cambio una alta hidrofobicidad, junto con una alta tendencia para mantener una estructura secundaria de tipo β se consideran factores claves en la transición hacia estructuras amiloides.

Independiente del origen de las enfermedades desencadenadas por un plegamiento anómalo de las proteínas, se ha planteado una serie de preguntas sobre las cuales un importante número de laboratorios alrededor del mundo están buscando las respuestas, por ejemplo ¿cuál es el nivel de agregados moleculares que un sistema biológico puede tolerar como normal? ¿Existen mecanismos celulares bien establecidos de eliminación de las proteínas agregadas, aún como fibras amiloides? ¿Cuál es la causa de que los agregados de una misma proteína formados en órganos diferentes o en sitios diferentes dentro de estos órganos para que originen diversas manifestaciones de una enfermedad? ¿Existe alguna relación entre las enfermedades del plegamiento anormal de proteínas con el envejecimiento? ¿Pudieran estar afectados otros mecanismos relacionados con la regulación y eliminación de proteínas, por ejemplo, el proteasoma? y ¿por qué son transmisibles las enfermedades priónicas, mientras otras enfermedades del tipo amiloidótico no lo son? En este contexto, es muy probable que la progresión rápida de muchas enfermedades de agregación esté asociada con el hecho que una vez formados los agregados, éstos funcionan como núcleos que aceleran la formación de fibras. Si bien, se tienen algunas respuestas a estas preguntas, aún queda mucho por conocer de este campo, que es una de las áreas de investigación biomédica más fértiles y de alto impacto en el área sociomédica de la salud.

4

Amiloides

DEFINICIÓN Y CARACTERÍSTICAS

Un importante número de enfermedades humanas que afectan a varios tejidos y producen una serie de síntomas comunes, encuentran su origen en el autoensamblaje aberrante de proteínas formando depósitos insolubles.^{94,95} Aunque el establecimiento absoluto de esta conexión no ha sido demostrado, una evidencia sólida indica una fuerte correlación entre la formación de fibras amiloides y su toxicidad.⁹⁶⁻⁹⁸ El punto faltante reside en el entendimiento de las propiedades básicas de las denominadas proteínas-amiloidogénicas que determinan su capacidad de auto-organizarse en una conformación- β . Dicha capacidad ha sido relacionada con un componente hereditario en varias enfermedades autosómico dominantes y con formas esporádicas de la enfermedad.^{99,100} En este sentido, independientemente si la proteína precursora es sintetizada como una molécula funcional normal, factores externos en especial los relacionados con el microambiente proteico durante la síntesis o durante el tránsito hacia el espacio celular en donde realiza su función, pueden definir una parte de su potencial amiloidogénico. Como no todas las proteínas que se agregan forman depósitos amiloides, el estudio y de manera eventual el entendimiento de los mecanismos que gobiernan; primero, el plegamiento de proteínas y segundo, los fenómenos relacionados con la agregación, pueden incluir posibles implicaciones para las transiciones desorden-al-orden. De nuevo, aún falta evaluar de forma completa la implicación funcional de tener segmentos desordenados en estas proteínas, que pudieran presentar transiciones conformacionales a estados ordenados.

Los amiloides son agregados de proteínas que se depositan en los tejidos durante el transcurso de diversas enfermedades. En condiciones normales, estas proteínas se encuentran en forma soluble, debido a múltiples factores aún no del todo conocidos adquieren un plegamiento anómalo, se vuelven insolubles y resisten la degradación enzimática. Aunque la secuencia de aminoácidos difiere de una proteína amiloide a otra, todas se depositan formando una estructura común, la fibra amiloide. Cada fibra está constituida por un solo tipo de proteína que se ensambla en forma repetitiva, por lo general la proteína adquiere la conformación de hoja- β plegada. Como ya se ha comentado, un número importante de enferme-

dades han sido vinculadas con problemas en el plegamiento simple de las proteínas; es decir, se origina un plegamiento anómalo sin que exista un cambio o mutación en algún aminoácido de la secuencia de la proteína.

A lo largo del texto se ha referido como amiloides a una serie de estructuras supramoleculares en forma de fibras, las cuales se originan a partir de diferentes proteínas. La denominación “amiloides” fue usada por primera vez hace más de 100 años por el fisiólogo alemán Rudolf Virchow (figura 4-1), quien empleó el término para referirse a depósitos que encontró en muestras *post mortem* de tejidos, los cuales reaccionaban con el yodo, por lo que sugirió que la reacción química estaba determinada por la presencia de moléculas parecidas al almidón. Ahora se sabe que la reacción está asociada con un tipo particular de moléculas glucosídicas, los glicosamínglicos. Más adelante se le dará un mayor hincapié a estas moléculas, que son importantes en la deposición y estabilización de los amiloides. Asimismo, se ha visto que las fibras son estructuras muy ordenadas de cientos de copias de péptidos o proteínas, interaccionan con moléculas anfifílicas como el colorante rojo Congo y la tioflavina-T y al examinarlas bajo el microscopio de luz polarizada muestran la propiedad de birrefringencia. A través de técnicas de microscopía de fuerza atómica y microscopía electrónica de barrido se ha encontrado que las fibrillas consisten de un número que va de 2 a 6 unidades precursoras denominadas protofilamentos, cada una de las cuales mide de 2 a 5 nm de diámetro. Varias unidades de protofilamentos se ensamblan para formar fibras que tienen un ancho de 7 a 13 nm y pueden alcanzar una longitud de varias micras (figura 4-2). A este respecto, la mayor parte de proteínas amiloides son relativamente pequeñas,



Figura 4-1. El fisiólogo alemán Rudolf Ludwig Karl Virchow fue quien acuñó el término amiloide, en la descripción de ciertos depósitos que encontró en muestras *post mortem* de tejidos, los cuales reaccionaban con el yodo.

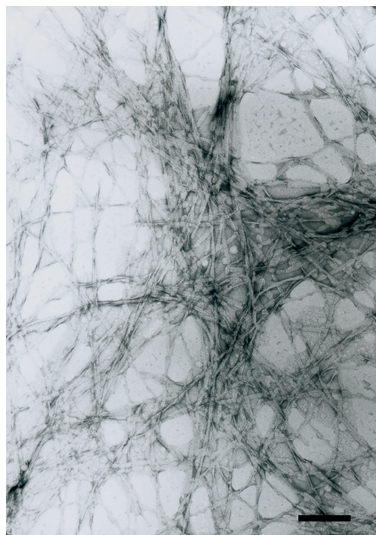


Figura 4-2. Fibras amiloides obtenidas del péptido βA_{25-35} . La imagen fue obtenida con la técnica de tinción negativa a través de microscopía electrónica de transmisión. La barra corresponde a una escala de 200 nm (obtenida por nuestro grupo de trabajo).

su peso molecular oscila entre 4 000 y 25 000 daltones, sin embargo también se ha reportado su formación en proteínas de peso molecular más elevado. De igual forma algunas están truncadas en sus extremos amino y carboxilo terminales en diferentes puntos de la secuencia de aminoácidos.

Experimentos de difracción de rayos X han mostrado que las fibras poseen un motivo estructural de hoja- β cruzada, en la actualidad mediante resonancia magnética nuclear (RMN) en estado sólido y complementación por mutagénesis se han caracterizado de forma estructural las fibras que forma el péptido- βA , los resultados mostraron que las cadenas- β individuales corren perpendiculares al eje de la fibra con una separación de 4.7Å entre las cadenas, mientras la distancia que separa a las hojas- β es alrededor de 10Å. Esto ha permitido tener un primer acercamiento a nivel molecular de las fibras amiloides, para conocer su estructura, las principales interacciones que les confiere la alta estabilidad, incluso este tipo de información estructural está siendo usada en el diseño y modelaje de moléculas inhibitoras que puedan interferir en los mecanismos iniciales de formación y oligomerización. En la actualidad este tipo de estudios ya se han extendido de manera muy amplia, por ejemplo, hasta el año 2009 se habían realizado cerca de 40 estudios usando la técnica de RMN en estado sólido para dilucidar la estructura de una amplia serie de fibras amiloides, incluyendo fibras como las que forma el polipéptido islote-amiloideo (IAPP), la α -sinucleína y la proteína priónica, entre otros.¹⁰¹

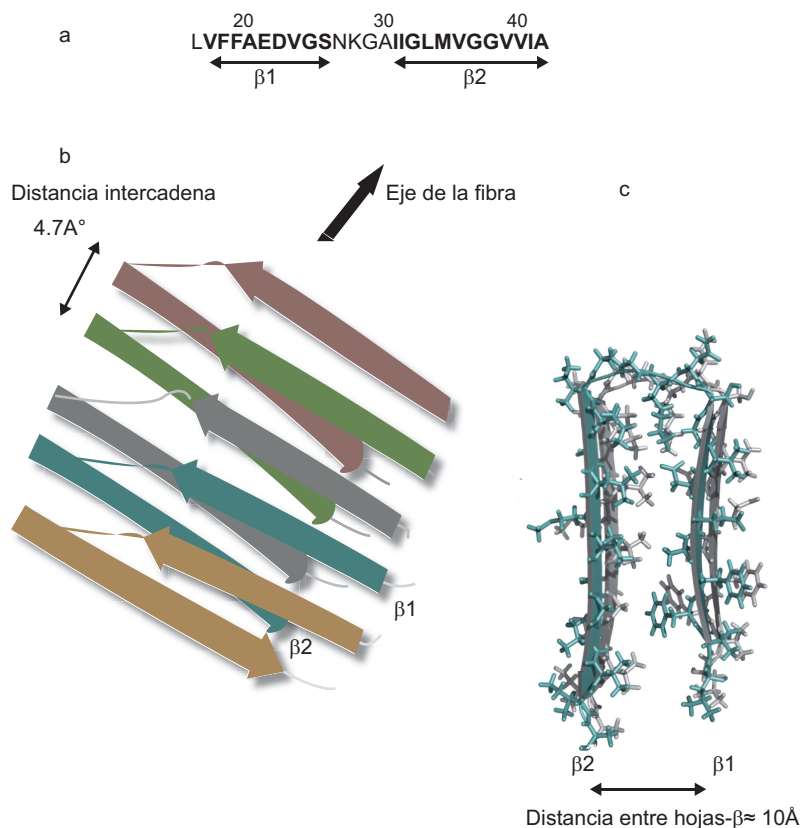


Figura 4-3. Representación estructural de los péptidos βA ; a) secuencia primaria del fragmento que abarca los residuos 17–42. Se muestran los segmentos que corresponden a $\beta 1$ (18–26) y $\beta 2$ (31–42) conectados a través de una región poco estructurada (residuos 27–30); b) estructura fibrilar obtenida por medio de RMN y complementación por mutagénesis. La estructura muestra un pentámero con distancias intercadenas alrededor de 4.7 Å; c) vista lateral a través del eje de la fibra βA con los aminoácidos laterales de ambas cadenas- β separados por una distancia de 10 Å. Código de acceso PDB: 2beg. Imágenes visualizadas empleando el programa PyMOL.²⁵⁷

Formación de amiloides *in vitro*

Los diversos estudios realizados sobre el mecanismo de conversión de una proteína normal soluble a estructuras fibrilares del tipo amiloide, han resultado estimulantes en el hecho de que estas transiciones estructurales pueden reproducirse bajo condiciones de laboratorio.¹⁰² Para llegar a este nivel, un procedimiento común ha sido el exponer a las diferentes proteínas en su conformación nativa a diversas condiciones de estrés estructural, como pH bajos, temperaturas elevadas o la adición de agentes químicos que ocasionan una disminución en la estabilidad.

En un estudio de RMN realizado en el dominio SH3 de la cinasa P13, que no tiene conexión con ninguna enfermedad conocida,¹⁰³ bajo condiciones de pH bajo

y después de varias horas de incubación, la solución de proteína se convirtió en un gel viscoso. Cuando este gel fue examinado por microscopía electrónica, los investigadores descubrieron que la solución contenía fibrillas bien definidas, presentando una morfología idéntica a la del tipo amiloide que se encuentra en muestras biológicas. Siguiendo estos resultados, el cultivo *in vitro* de fibrillas del dominio SH3 durante semanas resultó en material lo suficientemente bien ordenado para poder ser estudiado en detalle por medio de microscopía crioelectrónica.¹⁰⁴ Técnicas de reconstrucción de imágenes mostraron que las fibrillas están compuestas de protofilamentos, los cuales contienen segmentos específicos de hojas- β entrelazadas en un ensamblaje helicoidal.¹⁰⁴ Si bien, la resolución de esta técnica todavía no es suficiente para revelar la estructura molecular en detalle, estudios de difracción de rayos X han mostrado que en cada protofilamento individual las moléculas de péptido o proteína están arregladas espacialmente, de tal manera que la cadena polipeptídica forma estructuras en hoja- β que corren perpendiculares a lo largo del eje de la fibra.¹⁰⁵

Los datos que han resultado de experimentos cinéticos son consistentes con la posibilidad de que estados conformacionales “intermediarios” o “parecidos a los glóbulos fundidos” están en equilibrio y que el proceso de formación fibrilar puede ocurrir a través de un cambio mínimo en el equilibrio.¹⁰⁶ Debido a que la amiloidogénesis corresponde a una reacción de dos etapas con un periodo lento o *lag* asociado con la formación de un centro de nucleación y una etapa posterior relacionada con la propagación, este proceso se ha comparado con la formación de cristales en proteínas¹⁰⁷ y la gelificación de polímeros. Por otro lado, la propiedad de que se lleve a cabo el crecimiento fibrilar por medio de técnicas de sembrado, ha permitido proponer un mecanismo de progresión en la formación de fibrillas, secuencial a lo que puede ser un mecanismo de disparo de transición estructural de la proteína a alguna enfermedad amiloidótica, como las encefalopatías espongiiformes.^{108,109}

Un mejor entendimiento del mecanismo de formación de las fibras amiloide y la manera en que se estabilizan, debe traducirse en un conocimiento más sólido de las condiciones patológicas que llevan a muchas de las enfermedades que emergen en la población de más edad en la sociedad y de las oportunidades para su prevención, así como su tratamiento. A su vez, estimulará nuevas ideas sobre la naturaleza de las secuencias que van surgiendo de los estudios detallados tanto del genoma humano como del proteoma y quizá llevar a un análisis más profundo de las fuerzas impulsoras detrás de la evolución de las proteínas.

ASOCIACIÓN DE LAS ESTRUCTURAS AMILOIDES CON ENFERMEDAD

Sin duda, la aparición de enfermedades relacionadas con amiloides debe estar en directa conexión con la presencia de alguna falla en los mecanismos regulatorios celulares,

que por lo general aseguran que las proteínas se mantengan en su estado funcional, conservando su plegamiento nativo.¹¹⁰ Estos mecanismos y sistemas de control incluyen la acción de proteínas catalizadores del plegamiento, chaperonas moleculares, enzimas líticas y la degradación asociada al retículo endoplásmico que por lo general detecta proteínas mal plegadas o dañadas, organelo en donde las proteínas son rescatadas o destruidas.^{13,111} Si la función de estos mecanismos protectores está disminuida, la probabilidad de que se desarrolle el fenómeno de patogénesis se ve aumentada.^{112,113}

Asimismo, se ha encontrado que todos los tipos de amiloides están invariablemente unidos a un grupo de macromoléculas, en especial proteínas que incluyen al componente P, a las apolipoproteínas E y J, a la amplia gama de proteoglicanos sulfatados y a la α 1-antiquimiotripsina, así como algunos iones metálicos. Estas moléculas han mostrado la propiedad de modular la formación de amiloides,¹¹⁴⁻¹¹⁶ de tal manera que estas “chaperonas patológicas” como se les ha nombrado, también han mostrado contribuir a la toxicidad causada por amiloides.¹¹⁷ Quizá las moléculas asociadas en mayor cantidad con los amiloides son los proteoglicanos, los cuales contienen un gran número de cadenas unidas de glicosamínglicos sulfatados (GAG) a lo largo del núcleo de la proteína.^{118,119} Incluso, se ha sugerido que la interacción de las proteínas precursoras con los GAG contribuye como una fuerza impulsora en el ensamblaje de las fibras y por lo tanto en la formación de placas.¹²⁰ Cabe mencionar que los proteoglicanos se expresan de forma ubicua en la mayoría de membranas celulares y son comunes en todos los amiloides estudiados hasta ahora,¹²¹⁻¹²³ por lo que se ha considerado que varios de estos componentes intervienen en la síntesis de las placas maduras, funcionando como una plataforma para su formación y contribuyendo a que las fibras no puedan ser removidas de los tejidos por digestión enzimática.

Los sitios de depósito de los amiloides en el organismo son variados, pueden afectar a diferentes órganos como en las amiloidosis generalizadas o a un solo órgano como en las amiloidosis localizadas. En la época en que no existían los antibióticos, la forma más común de amiloidosis era la generalizada, la cual afectaba en especial al hígado, bazo, riñones y aparecía como consecuencia de infecciones crónicas tales como tuberculosis, lepra o malaria. En el caso de las amiloidosis localizadas en raras ocasiones adoptan la forma de una masa identificable; sin embargo, pueden provocar síntomas similares a los ocasionados por los tumores neoplásicos, de hecho en la actualidad son las formas más frecuentes de amiloidosis, se relacionan con la diabetes del adulto, en la que está afectado el páncreas por los depósitos de amilina (un péptido de 37 residuos producido en las células- β de los islotes de Langerhans) y con la enfermedad de Alzheimer, caracterizada por el depósito en el cerebro del péptido β -amiloide (β A). Puesto que los depósitos de amiloides intervienen en la patogenia de dos de las enfermedades diabetes y enfermedad de Alzheimer que afectan a una parte muy importante de los seres humanos, se está llevando a cabo una activa investigación sobre los mecanismos implicados en la formación y mantenimiento de las fibras amiloide. Sin embargo, muchas de las amiloidosis son hereditarias, en donde el cambio de un sólo aminoácido puede ser suficiente para favorecer el plegamiento anormal de la proteína hacia la conformación que

determina la fibrillogénesis. Estos mecanismos moleculares, así como la interacción de las proteínas amiloides con otras biomoléculas (proteínas, carbohidratos y lípidos) que favorecen la formación de las fibras, son temas de intenso estudio. Uno de los objetivos de los investigadores especializados en este campo es encontrar fármacos o moléculas que impidan o retrasen el depósito de fibras, y así evitar o disminuir el daño que dicho proceso provoca en los órganos afectados.

Otros casos están relacionados con enfermedades priónicas como la encefalopatía espongiforme bovina (EEB) y sus equivalentes en el ser humano, la enfermedad de Creutzfeld-Jakob (ECJ), enfermedad de Parkinson y una variedad de condiciones menos conocidas, pero igualmente serias, como el insomnio familiar fatal.¹²⁴ Estas enfermedades pueden ser esporádicas, hereditarias o adquiridas y a menudo se manifiestan sólo en etapas avanzadas de la vida.

A la fecha, se han descrito cerca de 40 enfermedades asociadas al depósito extracelular e intracelular de péptidos y proteínas con características del tipo amiloide,¹²⁵ en donde cada una de ellas manifiesta un cuadro clínico distinto (cuadro 3-1). Sin embargo, el autoensamblaje en estructuras fibrilares no es una característica restringida a un grupo reducido de péptidos y proteínas que presentan un patrón específico en la secuencia de aminoácidos o a nivel del plegamiento global. En los últimos diez años, se ha encontrado un gran número de secuencias polipeptídicas no relacionadas con enfermedad que presentan la capacidad de formar estas estructuras bajo condiciones que promueven un desplegamiento parcial, tales como un pH bajo, temperaturas elevadas o presiones altas, las cuales son indistinguibles de las asociadas a condiciones patológicas. Incluso, existe la propuesta de que la formación de estructuras amiloides puede ser una propiedad genérica a las cadenas polipeptídicas.¹³

Cada enfermedad está relacionada con una proteína en particular y se ha considerado que agregados de estas proteínas son el origen directo o indirecto de las condiciones patológicas asociadas con la enfermedad en cuestión (cuadro 3-1). En algunos casos, la cantidad de proteína agregada es enorme, llegando a ser de gramos en ciertas manifestaciones de amiloidosis sistémicas. A pesar del rango de proteínas involucradas en estas enfermedades, incluyendo varias proteínas muy conocidas como la lisozima, transtiretina y los priones (figura 4-4), las cuales poseen plegamientos nativos únicos, la forma fibrilar que se encuentra en los estados patológicos es un patrón constante (figura 4-2).¹⁰⁵

A continuación se describe una serie de proteínas en las que se ha descrito la formación de estructuras amiloides, como un factor clave en la aparición de enfermedad.

PROTEÍNA PRECURSORA DEL β -AMILOIDE (PP β A) Y EL PÉPTIDO β -AMILOIDE (β A)

La proteína precursora del β -amiloides (PP β A) junto con el péptido β -amiloides (β A) son consideradas moléculas normales encontradas en el plasma, fluido cere-

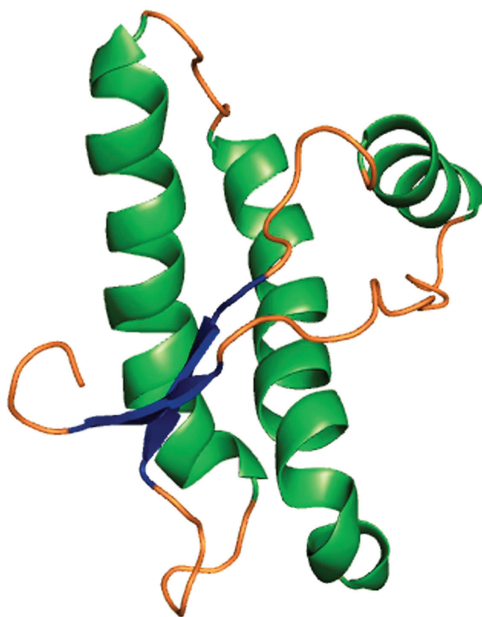


Figura 4-4. Estructura cristalográfica del fragmento proteolítico del prión humano (PrP^C) obtenida del PDB (código de acceso: 1g m2), visualizada con el programa PyMOL.²⁵⁷

broespinal y en el espacio extracelular. La PPβA corresponde a una proteína transmembranal con un potencial amiloidogénico muy bajo *in vitro*, lo cual contrasta con la alta tendencia del péptido-βA de formar agregados fibrilares.¹²⁶ A la fecha han sido descritas tres isoformas de la PPβA con tamaños de 751, 770, y 695 residuos,¹²⁷ por medio de la acción de una α-secretasa se forma un ectodominio soluble con el fragmento C-terminal retenido en la membrana plasmática.¹²⁸ Sin embargo, de forma secundaria a la acción de las secretasas β y γ se libera el péptido β-amiloide (βA), generando diversas formas de péptidos β-amiloides, los cuales varían en tamaño de 39 a 43 residuos, siendo el βA₄₂ la molécula con el potencial fibrillogénico más alto (figura 4-3).¹²⁹

Hace varios años, en estudios realizados por nuestro grupo de trabajo se encontró que las plaquetas al activarse secretan un proteoglicano de 120 kDa, el cual presenta la habilidad de inhibir la internalización en macrófagos de lipoproteínas de baja densidad-acetiladas (LDL-Ac) a través de la unión con el receptor *scavenger* clase-A (RS-A).¹¹⁹ Este proteoglicano fue identificado como un producto α-secretasa durante el procesamiento de la PPβA,¹³⁰ el resultado apoya la posibilidad de que el RS-A puede participar en el aclaramiento de varias formas de la PPβA en lesiones ateroscleróticas, contribuyendo de esta manera a la reducción en la formación de células espumosas. Además, la competencia de la PPβA por la entrada del β-amiloide en células de microglia a través del RS-A puede con-

tribuir a la acumulación del β -amiloide en el espacio extracelular del cerebro. Aunque cambios en la estructura secundaria de la PP β A relacionados con una transición desorden-al-orden no han sido propuestos, esta posibilidad puede estar latente. También se ha demostrado en nuestro laboratorio que el β -amiloide es capaz de promover un importante estado de estrés oxidativo celular,⁸⁵ y como ya es conocido el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer, la amiloidosis más común y la mayor causa de demencia en personas de edad avanzada.

AMILOIDOSIS DE NERVIOS PERIFÉRICOS Y LA PROTEÍNA TRANSTIRETINA (TTR)

La amiloidosis de nervios periféricos es una condición común en la polineuropatía amiloide-familiar (PAF),¹³¹ pudiendo ser una característica clave en la amiloidosis primaria de la cadena ligera de inmunoglobulinas y en la amiloidosis relacionada con la β 2-microglobulina. Las PAF representan un grupo heterogéneo de trastornos autosómico-dominantes, caracterizados por la deposición de la proteína transtiretina (TTR) en la forma de estructuras amiloides.^{132,133} La proteína TTR compuesta de cuatro subunidades idénticas de 127 aminoácidos es la proteína plasmática responsable del transporte de la hormona tiroxina y de la vitamina A.^{134,135} Aunque se han descrito varias mutaciones en TTR causantes de la deposición extracelular selectiva en tejidos, las bases clínicas de la manifestación predominante de cada mutación aún no se han establecido.^{136,137} Sin embargo, la patogénesis se ha relacionado con la disociación de la molécula tetramérica nativa a especies monoméricas parcialmente desplegadas, las cuales de forma subsecuente pueden ensamblarse en oligómeros y por último en fibras del tipo amiloide (figura 4-5).¹³⁸⁻¹⁴⁰

La polineuropatía amiloide-familiar también puede aparecer de manera secundaria a la deposición de la apolipoproteína A-I y de la proteína gelsolina,^{142,143} en este sentido dos mutaciones descritas en el gen de gelsolina han sido asociadas directamente con este padecimiento.^{144,145} Asimismo, se ha demostrado que las concentraciones séricas de la apolipoproteína A-II (apo-AII) son más altas en pacientes con PAF que en los individuos controles o en portadores asintomáticos, sugiriendo que la apo-AII puede jugar un papel determinante en la formación de amiloides en estos pacientes.¹⁴⁶ De hecho en el año 2001 se informó por primera vez una mutación en el codón de paro, lo cual ocasiona la síntesis de una isoforma anómala de apo-AII asociada a la aparición de amiloidosis hereditaria renal con 21 residuos adicionales.¹⁴⁷

La enfermedad conocida como amiloidosis familiar tipo-finlandés (AFF) relacionada con la deposición de la proteína gelsolina, se caracteriza por la neuropatía craneal progresiva, distrofia corneal y complicaciones en la elasticidad de la piel.^{148,149} La primera etapa en la aparición de la AFF está determinada por una proteólisis aberrante en la proteína gelsolina llevado a cabo por la enzima furina,¹⁵⁰ en donde de manera secundaria al corte pro-



Figura 4-5. Estructura tridimensional del monómero de transtirina (TTR) obtenida por difracción de rayos X. Las flechas representan la estructura secundaria en hoja- β mostrando en color la posición de las regiones con las mutaciones amiloidogénicas más comunes. El color blanco representa las regiones sin ninguna incidencia de mutación; el rojo una mutación; el verde dos mutaciones y el azul, cuatro o más mutaciones. La cita para cada mutación se puede encontrar en la base de datos de TTR mantenida por CE Costello de la Facultad de Medicina de la Universidad de Boston (<http://www.bumc.bu.edu/msr/ttr-database/>). Código de acceso PDB: 1rlb. Imagen visualizada empleando el programa PyMOL.²⁵⁷

teolítico de una metaloproteasa (MT1-matrix) se generan péptidos amiloidogénicos de 5 u 8 kDa altamente propensos a la agregación.¹⁵¹ En este sentido, de forma interesante este procesamiento es muy similar al que sufre la PP β A, por lo que posiblemente estos mecanismos pudieran tener alguna conexión evolutiva que no se ha descrito.

POLIPÉPTIDO ISLOTE-AMILOIDEO (IAPP) Y LA BETA 2 MICROGLOBULINA (β 2m)

El IAPP o amilina sintetizada en las células β de los islotes de Langerhans sufre una serie de modificaciones postraduccionales generando un péptido maduro de 37 aminoácidos.^{152,153} La amilina es una molécula involucrada en la regulación del metabolismo de la glucosa,^{154,155} así como en el metabolismo del calcio.¹⁵⁶ Sin embargo, se ha descrito que los agregados de amilina son los componentes primarios de los depósitos que se encuentran en las células β -pancreáticas de pacientes con diabetes mellitus tipo II.¹⁵⁷ De manera interesante, las formas oligoméricas prefibrilares han mostrado la propiedad de poder permeabilizar las membranas celulares a través de un mecanismo parecido a la formación de poros, sugiriendo que este proceso podría estar relacionado con el mecanismo patogénico involucrado en el origen de la dia-

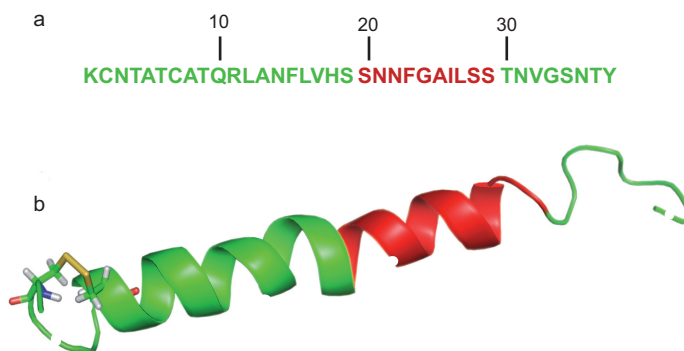


Figura 4-6. Estructura tridimensional de la amilina humana; a) secuencia primaria de aminoácidos de la amilina (residuos 1–37), mostrando en rojo la región amiloidogénica. Una mutación que cambia la Ser20 por Gly ha sido directamente relacionada con los casos más graves de diabetes mellitus no dependiente de insulina; b) estructura secundaria de la amilina determinada por RMN usando micelas de dodecil sulfato de sodio. La región amiloidogénica se muestra en rojo como en el panel (a). Código de acceso PDB: 2kb8. Imagen visualizada empleando el programa PyMOL.²⁵⁷

betes mellitus tipo II y de otras enfermedades relacionadas con los amiloides.¹⁵⁸ Bajo esta condición se ha observado que más del 90% de pacientes con este trastorno presentan depósitos amiloides en los islotes de Langerhans,¹⁵⁹ estos resultados sugieren que la formación de amiloides a partir de la agregación de la amilina puede ser uno de los mecanismos críticos en el desarrollo de la diabetes tipo II (figura 4-6).

La beta-2-microglobulina ($\beta 2m$) es una proteína encontrada en asociación no-covalente con la cadena pesada del complejo mayor de histocompatibilidad clase I (MHCI). Debido al recambio natural que sufre la $\beta 2m$, esta molécula por lo general se encuentra en el plasma y entonces es transportada a los riñones, en donde de manera fisiológica es catabolizada y excretada.¹⁶⁰ Ocasionada por la insuficiencia renal, la concentración de $\beta 2m$ en plasma puede aumentar hasta 60 veces, lo cual induce la acumulación de una estructura filamentosa en tejidos conectivos, causando la aparición de la amiloidosis relacionada con diálisis.¹⁶¹⁻¹⁶³ Aunque se conoce que la disociación del MHCI predispone hacia la transición amiloide en la proteína $\beta 2m$,¹⁶⁴ el mecanismo de la formación de fibras *in vivo* aún es poco entendido.^{165,166}

PRIONES

Las enfermedades priónicas son trastornos crónico-neurodegenerativos asociados a la acumulación de formas anormales de la proteína PrP en cerebro. Entre estas enferme-

dades se reconoce al escrapie en borregos y cabras, la encefalopatía espongiforme en ganado,^{167,168} y en humanos el Kuru,¹⁶⁹ así como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob,¹⁷⁰ el insomnio familiar fatal, la enfermedad de Gerstmann-Sträusler-Scheiker y la angiopatía amiloide PrP-cerebral.¹⁷¹⁻¹⁷³ La proteína priónica celular (PrP^c) corresponde a una sialoglicoproteína de 35 kDa codificada por un solo gen,¹⁷⁴ la cual es transportada en vesículas de secreción estando anclada a estas estructuras por medio de una mitad del glicolípido glicosilfosfatidilinositol (GPI).¹⁷⁵ La forma madura contiene 253 aminoácidos con repeticiones de octapéptidos ricos en glicina/prolina abarcando los residuos 51–91; PrP^c es polimórfica en el residuo 129 con metionina/valina y en el residuo 219 con ácido glutámico/lisina, presentando dos glicosilaciones en los residuos 181 y 197.¹⁷⁶ Aunque la función normal de PrP^c continúa siendo desconocida, se ha sugerido que puede jugar un papel en la función sináptica.¹⁷⁷

Mediante estudios de dicroísmo circular se ha demostrado que PrP^c presenta un alto contenido de estructura secundaria α -helicoidal (figura 4-4) y no muestra indicios de una conformación estructural- β .¹⁷⁸ Considerando que ratones *knockout* para PrP han mostrado ser resistentes al desarrollo de escrapie, se ha postulado que la síntesis de la forma nativa de PrP^c es un prerequisite absoluto para la aparición de la forma anormal de esta proteína (PrP^{sc}), en donde está involucrado un cambio conformacional de una estructura secundaria α -hélice hacia una cadena- β .¹⁷⁹ Como parte de la amplia investigación que se realiza en este campo, en la actualidad se ha reportado la formación de material fibrilar con la morfología característica de tipo amiloide a partir de un fragmento recombinante de la proteína priónica humana,¹⁸⁰ esto se alcanzó por medio de la exposición de la forma soluble de la proteína a condiciones extremas, con la reducción del único puente disulfuro que estabiliza al estado nativo. De forma interesante, esta transición se asoció con la presencia de un intermediario soluble con una estructura predominante β , en lugar de la naturaleza mayormente α -helicoidal de la proteína nativa,^{105,181} esto da solidez al planteamiento referente a que es clave el cambio conformacional de la estructura α -hélice hacia la cadena- β . Inclusive, las estructuras supramoleculares que forman los priones poseen las mismas propiedades de unión que las fibras amiloides, como la propiedad de interactuar con las moléculas amiloidofílicas tioflavina-T y rojo-Congo,¹⁸² siendo similares a las fibras amiloides encontradas *in vivo* (figura 4-7).^{183,184}

PRIONES EN LEVADURAS

Estudios realizados con la levadura *Saccharomyces cerevisiae* han conducido al descubrimiento de proteínas que poseen propiedades infectivas parecidas a los priones de mamífero.^{185,186} Se ha encontrado que estos “priones de levadura”, se convierten en agregados ordenados, presentando todas las características de las fibras amiloides *in vitro* y además exhiben el comportamiento clásico de sembrado.^{187,188} No obstante, un resultado en particular notable de este trabajo, está

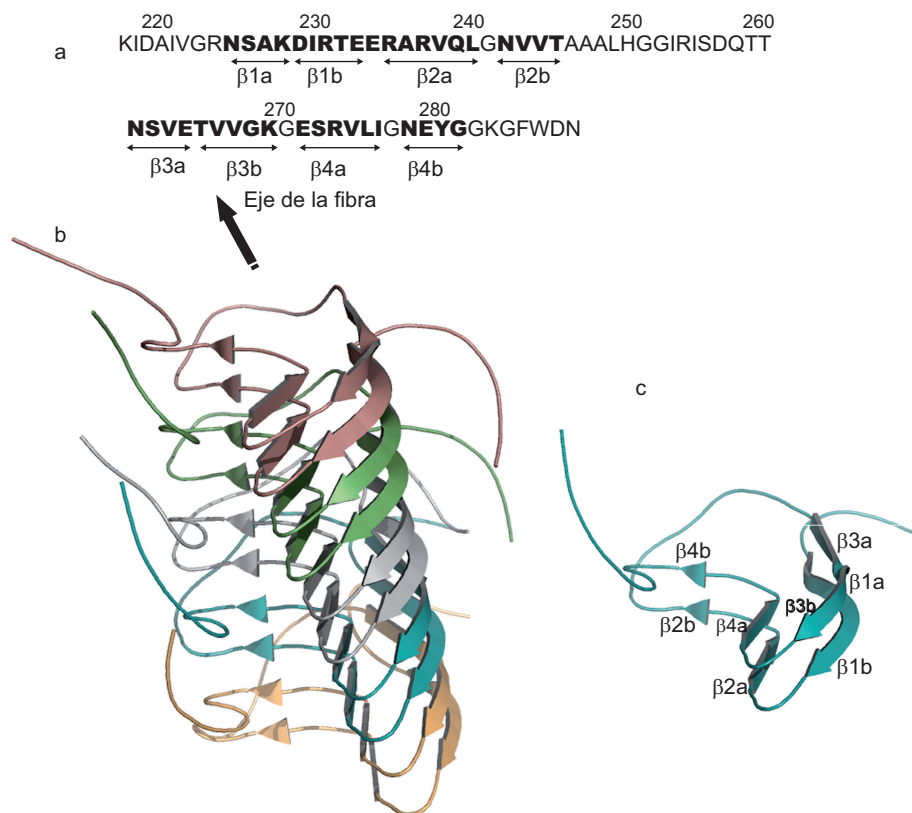


Figura 4-7. Estructura del dominio príónico de la proteína HET-s (residuos 218–289); a) secuencia primaria del fragmento 218–289 mostrando los segmentos que corresponden a las cadenas- β : $\beta 1a$ (226–229), $\beta 1b$ (230–234), $\beta 2a$ (236–241), $\beta 2b$ (243–246), $\beta 3a$ (262–265), $\beta 3b$ (266–270), $\beta 4a$ (272–277) y $\beta 4b$ (279–282), separados por una región poco estructurada (residuos 247–261); b) vista lateral de cinco dominios de HET-s (218–289), calculados a través de RMN en estado sólido, en donde se muestra una estructura tridimensional en forma de solenoide. Cada color representa un dominio individual; c) vista lateral de un solo dominio mostrando las regiones β -estructuradas como se marcan en (a). Código de acceso PDB: 2 mm. Imágenes visualizadas empleando el programa PyMOL.²⁵⁷

relacionado con la habilidad de que las formas amiloide pueden pasar de un progenitor a su descendiente a través de la división celular, por consiguiente estos priones se han descrito como material genético no cromosomal. Este fenómeno revolucionario también se ha descrito en la actualidad en proteínas con características similares encontradas en hongos filamentosos, como las hidrofobinas EAS en *Neurospora crassa*¹⁸⁹ y la proteína HET-s descrita en *Podospora anserina* (figura 4-7).¹⁹⁰ De hecho, existe una evidencia experimental sólida de que los priones están involucrados en funciones celulares fisiológicas sin estar vinculados con alteraciones que conducen a enfermedad,^{185,186} de manera específica la formación de priones a partir de proteínas como Ure2p, Sup35p, Swi1 y Cyc8 en *S. cerevisiae* está relacionada con la regulación de la expresión génica (cuadro 4-1).

Cuadro 4-1. Amiloides funcionales en diferentes organismos			
Especie	Proteína precursora	Función asociada a la fibra amiloide	Referencias
Bacteria			
<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> spp	Curlin	Relacionada con la colonización de superficies inertes y en la mediación de la unión a proteínas del huésped	215
<i>Streptomyces coelicolor</i>	<i>Chaplinas</i>	Disminuir la tensión superficial del agua y permitir el desarrollo aéreo de las hifas	216
Fungi			
<i>Neurospora crassa</i>	Hidrofobinas EAS	Disminuir la tensión superficial del agua y permitir el desarrollo aéreo de las hifas	189
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ure2p	Regulación del catabolismo del nitrógeno. URE3 - la forma priónica— está asociada al crecimiento de la cepa en fuentes pobres de nitrógeno	251
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Sup35p	Confiere nuevos fenotipos [PSI+], facilitando la lectura más allá del codón de paro en el mRNA, lo cual incrementa los niveles de supresiones sin sentido	217
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Rnq1p (proteína rica en asparagina y glutamina)	Aún no está por completo dilucidada; sin embargo, el estado fibrilar [PIN+] promueve la agregación de otros priones	252
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Swi1	Participa en la remodelación de la cromatina, presenta un importante rol en la regulación de la transcripción. Bajo la forma priónica [SWI+] las células pierden parcialmente la función de Swi1	253
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Cyc8	Cyc8 está asociada con la represión transcripcional; sin embargo, en la forma priónica [OCT+] existe una de-represión transcripcional de múltiples genes	254
<i>Podospora anserina</i>	HET-s	Regula la formación del heterocarionte entre cepas incompatibles [figura 4-7]	190

Cuadro 4-1. Amiloides funcionales en diferentes organismos (continuación)			
Especie	Proteína precursora	Función asociada a la fibra amiloide	Referencias
Animales			
<i>Nephila edulis</i> (araña)	Espidroina	Proteína estructural que forma parte de las fibras de seda de la red	
<i>Bombyx mori</i> (gusano de la seda)	Proteínas del corion de la pared del huevo	Protección de un amplio rango de amenazas ambientales del ovocito y el embrión en desarrollo	218, 219
<i>Homo sapiens</i>	Dominio intraluminal de la proteína Pmel17 (fragmento Mα)	Las fibras que forma Pmel17 sirven de estructuras de soporte durante la poli-merización de melanina y aíslan los intermediarios altamente citotóxicos	191 a 193
<i>Aplisia californica</i> (caracol marino)	Isoforma neuroespecífica de la proteína CPEB	Promueve el mantenimiento a largo plazo de los cambios sinápticos asociados con la conservación de la memoria	256

Asimismo se han descrito estructuras similares en algunos insectos como *Nephila edulis* (araña) y *Bombyx mori* (gusano de la seda). En organismos superiores está bien caracterizado el papel que juegan las fibras de la proteína Pmel17 como estructuras de soporte durante la polimerización de melanina (cuadro 4-1).¹⁹¹⁻¹⁹³ Si este fenómeno puede extenderse a otros organismos, consistirá en un importante ejemplo de que el control de los eventos del plegamiento de proteínas está estrechamente relacionado a diferentes niveles con la actividad biológica.

Sí bien, el descubrimiento de priones en los mamíferos ha conducido a la hipótesis de que una infección puede ocurrir sin la presencia de bacterias o virus, estas propiedades de los priones de levadura y hongos sugieren que la transferencia de información genética puede ser posible sin la intervención de los ácidos nucleicos. Esto se une al escenario de la investigación del RNA, ya que el descubrimiento de la capacidad catalítica de esta molécula, ha desplazado la exclusividad de la catálisis biológica que mantenían las proteínas.¹⁹⁴ Además, estos conceptos llevan a pensar sobre la manera en que la transferencia de información podría haber ocurrido en las formas tempranas de la vida (figura 4-8).¹⁹⁵



Figura 4-8. Stanley B. Prusiner premio Nobel de fisiología y medicina 1997, encontró que la forma Pr^{PC} (conformación nativa con estructura secundaria basada en α -hélice) puede ser transformada a la forma Pr^{SC} (conformación propensa a la agregación basada en estructura β -plegada), propuso un mecanismo para la infección del tipo priónico. La adición de Pr^{SC} de una fuente infectada puede causar enfermedad, por lo que Pr^{SC} posee la capacidad de catalizar la conversión de Pr^{PC} a Pr^{SC} por medio de un mecanismo de templado.

5

Plegamiento de proteínas y evolución

La regla común en toda la naturaleza es una infinita diversidad de estructuras para alcanzar los mismos fines, y esto también se desprende lógicamente del mismo gran principio, como la selección natural obra sólo por la vida y la muerte, por la supervivencia de los más aptos y por la destrucción de los menos adaptados.

Cita textual de Charles Darwin en “El origen de las especies”

Considerando la evidencia experimental de que la estructura fibrilar del tipo amiloide puede ser una conformación muy extendida en las cadenas polipeptídicas, ¿Por qué su ocurrencia en la biología está restringida a un número tan pequeño de proteínas? ¿Qué previene al resto de las proteínas de formar este material en las células? y ¿por qué muchas veces se observan por lo general los agregados sólo después de una infección o durante la vejez? Estas preguntas aún no tienen una respuesta completa; sin embargo, han resultado oportunas, ya que una vez formadas las fibras amiloides son prácticamente indestructibles bajo condiciones fisiológicas. Sin duda, algunas secuencias de aminoácidos son más propensas a la agregación que otras y algunas proteínas están presentes *in vivo* en concentraciones mucho más altas que otras. Sin embargo, las respuestas fundamentales a estas preguntas deben estar relacionadas con el hecho de que la naturaleza ha desarrollado mecanismos para evitar la formación de este material no deseado bajo condiciones fisiológicas. En este sentido, un número considerable de laboratorios alrededor del globo, en este preciso momento se encuentran desarrollando un esfuerzo importante en descifrar cuáles son los códigos, a través de los cuales la naturaleza ha sido exitosa en evitar que las proteínas cambien hacia la formación de amiloides. Muchos factores deben estar involucrados en los mecanismos de protección, por ejemplo, la selección de secuencias que pueden adquirir de forma

eficiente una estructura globular, junto con las características básicas de la secuencia primaria de las proteínas seleccionadas a través de la evolución. En este sentido la formación de puentes de hidrógeno intercadena, la hidrofobicidad, la carga global de regiones específicas en la secuencia y la preferencia de formar estructura- β son características básicas en la contestación a estas preguntas.¹⁹⁶

Estudios previos revelan que la naturaleza ha usado varias estrategias para conseguir esta tarea, incluyendo:

- Reducir el número de patrones que son ideales para la formación de estructura- β , como los agrupamientos de tres o más residuos hidrofóbicos consecutivos. De manera que la naturaleza ha diseñado mantener grupos alternados de residuos hidrofóbicos e hidrofílicos.¹⁹⁷
- Mantener una carga neta alta en la secuencia.¹⁹⁸
- Colocar aminoácidos cargados de forma estratégica a través de la secuencia.¹⁹⁹
- Generar cadenas- β cortas en los bordes o márgenes de las grandes hojas- β .¹⁹⁹
- Incorporar residuos de prolina.¹⁹⁹ También se ha descrito la importancia de algunos residuos de glicina evolutivamente conservados que disminuyen la tendencia a la agregación de las cadenas polipeptídicas.²⁰⁰
- Cubrir las hojas- β con estructuras α -hélices y asas.¹⁹⁹

Una propiedad interesante de las proteínas es que dentro de un rango considerado como normal o fisiológico, la estructura de las proteínas es marginalmente estable en relación a los estados que puede adquirir la proteína durante su transición a las formas desplegadas o de agregación. Este proceso está directamente asociado al fenómeno de cooperatividad y al porcentaje de segmentos de la cadena polipeptídica que está concentrado en estructuras bien empaquetadas. Asimismo, el fenómeno de cooperatividad ha estado asociado con la existencia de proteínas nativas que son capaces de efectuar funciones extremas, como la resistencia a la degradación por proteólisis. En la actualidad se ha considerado que la cooperatividad y la participación de proteínas accesorias como las chaperonas pueden ser igualmente cruciales en evitar el proceso de agregación.²⁰¹

De esta manera, la estabilidad de las secuencias peptídicas se ha considerado como uno de los factores más importantes que previenen la conversión de una proteína globular hacia fibras del tipo amiloide bajo condiciones no patológicas, ya que diversos estudios han mostrado que la pérdida de estabilidad del estado nativo es un mecanismo primario por el cual mutaciones que ocurren de forma natural promueven su efecto patogénico en algunas formas hereditarias de amiloidosis. En este sentido, no resulta sorprendente que de acuerdo a cálculos teóricos realizados con base en una amplia evidencia experimental indiquen que la desestabilización de la estructura nativa por no más de 2 kcal/mol (efecto de mutaciones puntuales) puede incrementar la probabilidad de nucleación de agregados desordenados a partir de los cuales se originan los amiloides.²⁰²

La naturaleza genérica en la formación de amiloides, sugiere que la existencia de enfermedades relacionadas con estas estructuras puede asociarse de forma parcial al mal funcionamiento de los mecanismos normales de control y regulación encontrados en la célula. En apoyo a esta posibilidad, las condiciones encontradas en el interior de un endosoma, con valores de pH bajos y en directa conexión con la translocación de proteínas o en lisosomas asociados con la degradación de proteínas han sido implicadas en estas enfermedades.⁸ De manera adicional, la mayor parte de las mutaciones asociadas con diversas enfermedades del tipo familiar se han relacionado con la formación de intermediarios parcialmente plegados, ocasionando la pérdida de cooperatividad original presente en la proteína nativa.¹⁰²

A lo largo del diseño evolutivo que ha seguido la naturaleza, las células debieron haber desarrollado mecanismos para evitar la agregación y por lo tanto la formación de fibras amiloides muy insolubles. Esto es de particular importancia, considerando las características extraordinariamente concentradas del ambiente celular.²⁰³ Este punto resulta clave, porque las condiciones en que por lo general se realizan los experimentos *in vitro*, no están relacionadas con el ambiente celular altamente concentrado. Sin embargo, de manera interesante se ha encontrado que varias proteínas se pliegan en condiciones cercanas a los límites impuestos por los principios físicos que se aplican a todas las moléculas,²⁰⁴ esto concuerda con el concepto preconcebido que posiciona a los procesos biológicos como de máxima eficiencia, por ejemplo, muchas enzimas parecen haber alcanzado la perfección en términos de su eficiencia catalítica.²⁰⁵ En este sentido, la habilidad de las proteínas de plegarse con rapidez no es sólo una manera efectiva de generar su actividad biológica, sino que también podría, por lo menos en algunos casos conferir una ventaja evolutiva al minimizar los procesos intermoleculares que compiten con la agregación.²⁰⁶

No obstante, es probable que las especies patógenas en mayor concentración en algunas enfermedades no se puedan catalogar como fibras, sino que son agregados más pequeños, precursores a su formación. Si ésta es una generalidad, la formación de fibras podría ser de hecho un mecanismo que permite el secuestro de estas especies en una forma en la cual se reduce la toxicidad.²⁰⁷ Esto ha originado un debate muy fructífero en la comunidad científica especializada en el campo, ya que no sólo tiene una relevancia clave en la generación del conocimiento, sino en el desarrollo de las estrategias terapéuticas más adecuadas para combatir los efectos patológicos de estas especies, ya que a finales del decenio pasado se empezaron a desarrollar moléculas enfocadas en evitar la formación de las fibras. De acuerdo a la evidencia experimental es probable que éste no sea el enfoque más adecuado, sino el empleo de moléculas que estabilizen a las especies monoméricas de las proteínas precursoras.

Considerando que la estabilidad de las proteínas depende en gran medida de que los residuos hidrofóbicos se encuentren orientados hacia el núcleo proteico, se ha propuesto la existencia de un sistema de alerta evolutivamente muy conservado, en el que

la exposición de regiones hidrofóbicas de las proteínas actúa como un patrón molecular asociado a la presencia de un efecto tóxico, para iniciar la reparación, la remodelación o activar la respuesta inmune en los organismos.²⁰⁸ Es posible que dentro de los mecanismos primarios de formación de fibras sea clave la exposición de residuos hidrofóbicos, de tal manera que la naturaleza pudo haber diseñado la formación de estas estructuras como una forma de atenuar los efectos citotóxicos, considerando que los amiloides son conformaciones altamente estables y en donde se minimiza la exposición de residuos hidrofóbicos. Aunque se necesitan más estudios al respecto y sólo es una propuesta, se quiere ejemplificar con este tipo de análisis que existe una amplia discusión en este apasionante campo de la ciencia y aún no todo está por completo dilucidado. Por ejemplo, bajo condiciones desestabilizantes, ¿será que las proteínas al exponer residuos hidrofóbicos al medio acuoso, bajo la formación de estructuras amiloides encontraron un estado más estable para disminuir efectos tóxicos mayores? En este sentido, proteínas extracitoplásmicas con un plegamiento anómalo tienden a exponer regiones hidrofóbicas, las cuales por lo general están alejadas o escondidas del ambiente acuoso, ya sea por las características del plegamiento, por la inserción en membranas o por la ayuda de moléculas accesorias. Esta exposición puede ocasionar efectos citotóxicos, asociados en especial a la interacción anómala con membranas lipídicas, provocando un daño serio en la bicapa y la activación de la respuesta inmune innata que conduce a inflamación, lo cual se ha descrito como uno de los primeros mecanismos de toxicidad asociado a los priones, el péptido β A, la amilina y la calcitonina.²⁰⁸

LA FIBRA AMILOIDE REPRESENTA UNA CONFORMACIÓN FUNCIONAL AMPLIAMENTE EXTENDIDA.

Sin duda la biología ha sido exitosa a través de la selección de secuencias de aminoácidos y ambientes celulares óptimos en los cuales las proteínas se pliegan y funcionan, evitando la formación de fibras amiloides. Sin embargo, pudo haber evolucionado la forma amiloide en las proteínas al grado de representar algún beneficio funcional en los sistemas biológicos. En general, esto parece ser poco probable, debido a la naturaleza poco maleable de las fibras y a la dificultad en el control de su crecimiento una vez iniciado. No obstante, estudios recientes han modificado el viejo paradigma que relaciona a las estructuras amiloides con la aparición de enfermedad, de hecho, se ha planteado que la estructura amiloide pudiera ser común en la naturaleza y no una especie esotérica asociada a un grupo reducido de proteínas. Incluso, algunos investigadores proponen que la entidad amiloide pudo haber existido en el mundo prebiótico, y haber sido el primer plegamiento funcional de las proteínas en las células.

Varios estudios han demostrado que un número determinado de polipéptidos que no están relacionados de manera directa con enfermedad pueden formar estructuras amiloides bajo condiciones desestabilizantes.²⁰⁹⁻²¹⁴ Sin embargo, de forma sorprendente se ha encontrado que bacterias,²¹⁵⁻²¹⁶ hongos,^{189,190,217} insectos,^{218,219} y mamíferos^{191,220} han adaptado funciones celulares específicas

asociadas a la formación de estructuras fibrilares de tipo amiloide (cuadro 4-1), lo cual es sugerente de que la deposición de amiloides puede ser una propiedad común a las cadenas polipeptídicas.²²¹ Por ejemplo, la bacteria *Escherichia coli* forma una estructura fibrilar extracelular llamada *curli* que está relacionada con la colonización de superficies inertes y en la mediación de la unión a proteínas del huésped para su colonización;²¹⁵ estas estructuras poseen las mismas propiedades que los amiloides patológicos, tienen un tamaño de 6 a 12 nm de diámetro, poseen una estructura compuesta de hojas- β e interactúan con el rojo-Congo y la tioflavina-T.²¹⁵ Las proteínas del corion adherido a la pared del huevo del gusano de la seda también forman una estructura amiloide que protege de un amplio rango de amenazas ambientales al ovocito y al embrión durante su desarrollo.^{218,219} Otro ejemplo sucede en la bacteria filamentososa *Streptomyces coelicolor* que produce hifas aéreas, las cuales permiten la dispersión eficiente de sus esporas, en donde una clase de proteínas llamadas chaplinas se han identificado como las formadoras de fibras amiloides que actúan cooperativamente para permitir el desarrollo aéreo de las hifas.²¹⁶ Por otra parte, la proteína priónica HET-s del hongo *Podospora anserina* puede formar amiloides infectivos que están relacionados con la regulación de la síntesis del heterocarionte entre cepas incompatibles.¹⁹⁰ De hecho, la estructura priónica del dominio que comprende a los residuos 218-289 de HET-s fue determinada a través de RMN en estado sólido, el modelo refinado muestra una estructura tridimensional altamente organizada a manera de β -solenoides con un núcleo triangular hidrofóbico en el centro de las moléculas, ya que cada molécula peptídica forma una especie de enroscamiento helicoidal²²² (figura 4-7). Sin embargo, modificaciones en posiciones clave de la estructura debido a la introducción de residuos como prolina que interrumpen la conformación en hoja- β resultan en la pérdida de infectividad, lo cual es indicativo de que la estructura amiloide es determinante en la propiedad infectiva del prion HET-s.²²³ Aún queda por determinar si esta estructura puede ser una conformación extendida a otros priones que han sido descritos en levaduras y mamíferos. No obstante, todos estos sistemas deben tener mecanismos de ensamblaje altamente regulados para evitar la aparición de efectos citotóxicos.

La diferencia entre amiloides “funcionales” y los que están asociados con enfermedad se podría explicar en términos de los mecanismos regulatorios involucrados en su formación y que han sido adaptados a través de la evolución. A este respecto, los mecanismos podrían haber evolucionado en los amiloides funcionales, de manera que la toxicidad celular asociada con su formación puede estar amortiguada por otras proteínas,²²⁴ como en el caso de la proteína Pmel17.^{191,192} Siendo una proteína transmembranal localizada en la membrana plasmática de los melanocitos,¹⁹³ Pmel17 es de central importancia en la síntesis de melanina. La formación de un fragmento proteolítico denominado M α es capaz de formar fibras muy parecidas a las amiloides, las cuales son clave como una estructura de andamiaje en la polimerización de melanina, reduciendo el tiempo y toxicidad que ocasiona esta polimerización, ya que los intermediarios

que se originan durante este proceso son altamente citotóxicos.¹⁹¹ Asimismo, se ha demostrado que la amiloidogénesis del fragmento M α de Pmel17 es cuatro órdenes de magnitud más rápida que la del péptido- β A y de la α -sinucleína, por lo que puede considerarse a este proceso organizado de fibrillogénesis como una forma evolutiva de evitar la toxicidad asociada a la formación de las fibras.¹⁹² Este ejemplo representa una evidencia directa de que a menudo en organismos superiores la formación de amiloides puede ser usada para funciones biológicas específicas, de tal forma que su regulación debe llevarse a cabo a través de condiciones altamente controladas.

Si bien la formación de fibras amiloides conduce en último término el estado termodinámico más estable, el cual es una conformación estabilizada por una alta densidad de puentes de hidrógeno intermoleculares e interacciones estéricas complementarias. La diferencia entre la funcionalidad y la aparición de toxicidad asociada a las estructuras amiloides puede depender en gran medida de los mecanismos regulatorios que las células han desarrollado para controlar su formación.

6

Desorden: un nuevo enfoque

En la actualidad existe un enfoque indirecto en el uso de proteínas intrínsecamente desordenadas dentro del proceso de descubrimiento de nuevos fármacos, aunque de forma general esta característica es poco conocida. Por ejemplo, los sitios de fosforilación de las proteína-cinasas que residen de manera esencial dentro de las regiones intrínsecamente desordenadas,^{24,225-227} han sido blanco de grandes esfuerzos en el descubrimiento de fármacos durante más de un decenio. Las estrategias para un diseño de fármacos basado en la estructura (*structure-based drug design*, SBDD) se han desarrollado con un enfoque primordial en los sitios activos de las proteína-cinasas, los cuales son altamente ordenados, en lugar de centrarse en blancos intrínsecamente desordenados, ya que el proceso basado en el uso del SBDD está desarrollado con base en las bien definidas estructuras tridimensionales de las proteínas ordenadas. Sin embargo, una meta general ha sido emplear el conocimiento del desorden para identificar en una escala proteómica, las interacciones proteína-proteína que pueden comprender los blancos más prometedores para la intervención terapéutica.

Si bien, las proteínas desordenadas existen como ensamblajes dinámicos sin una estructura tridimensional fija, existe evidencia de que muchas de las regiones flexibles de las proteínas pasan por un plegamiento ordenado, subsecuente a la unión de una segunda proteína o un ligando específico (figura 6-1).²²⁸ Una reducción significativa en la entropía conformacional acompaña a tales transiciones desorden-al-orden, lo cual conlleva a una combinación de alta especificidad y baja afinidad.²²⁹ Desde la perspectiva del descubrimiento de fármacos, se ha enfatizado que las interacciones determinantes del plegamiento secundario presentan una baja energía por unidad de área de interacción, por lo que estas interacciones pueden ser relativamente fáciles de bloquear con moléculas pequeñas.

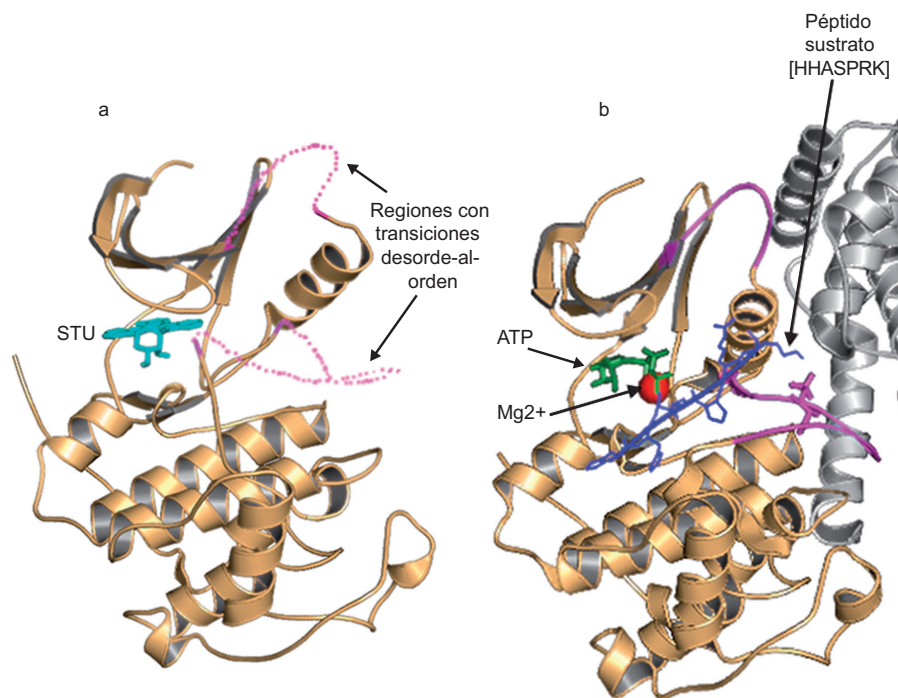


Figura 6-1. Ejemplo de regiones flexibles presentes en proteínas que pasan por un estado ordenado, subsecuente a la unión de una segunda proteína o ligando específico. a) Estructura de la proteína CDK2 en complejo con el inhibidor estaurosporina (STU), y con el péptido sustrato y una ciclina en color gris (b). Las líneas continuas en magenta denotan la posición aproximada de los fragmentos desordenados. Imagen adaptada de la referencia 258, códigos de acceso PDB: 1AQ1:A y 1QMZ:A. Imágenes visualizadas empleando el programa PyMOL.²⁵⁷

Por ejemplo, en un estudio reciente fue utilizado un péptido intrínsecamente desordenado en la estabilización de la proteína p53 contra la desnaturalización, encontrándose un número importante de interacciones con un potencial farmacológico muy prometedor.²³⁰

Utilizando el algoritmo del PONDR® VL-XT, en la actualidad se conocen varios sitios para identificar transiciones estructurales del tipo desorden-al-orden,²³¹ siendo la transición desorden hacia α -hélice la más común.²³² Estas regiones se pueden estudiar a partir de su secuencia primaria de aminoácidos, al contener elementos de reconocimiento molecular formadores de α -hélice (α -MoREs). A partir de una serie de ejemplos específicos encontrados en el *Protein Data Bank* (PDB), se ha desarrollado un algoritmo para encontrar segmentos en las proteínas que contienen estos elementos α -MoRE.²³³ En la actualidad, un juego de datos actualizado de MoREs fue derivado del PDB, el análisis detallado reveló que existen por lo menos tres tipos básicos de MoRE basados en la estructura que se adopta después de la unión a un ligando específico, estos son α -MoRE, β -MoRE y τ -MoRE, los cuales forman estructuras α -hélices, cadenas- β y una con-

formación desordenada, respectivamente. Algoritmos para la identificación de todo tipo de MoRE se encuentran bajo desarrollo para complementar el actual. Sin embargo, la aplicación del algoritmo actual a las bases de datos genómicos y a una clase de proteínas funcionales revela que los α -MoRE quizá juegan un papel importante en las interacciones proteína-proteína que puede conllevar tanto a la señalización celular como a la aparición de enfermedad.²³³ Se ha estimado que las proteínas eucariotas contienen más secuencias con α -MoRE que las proteínas bacterianas, estos resultados sugieren el uso del motivo de señalización desorden α -hélice como el más utilizado por células eucariotas comparado con los otros reinos y probablemente esté relacionado con los procesos celulares altamente regulados, necesarios para la homeostasis celular en eucariontes.

En este sentido se ha encontrado que las proteínas asociadas con la regulación, división celular, diferenciación y organización del citoesqueleto exhiben un enriquecimiento sustancial de segmentos α -MoRE comparadas con las proteínas humanas en general. Con respecto a las proteínas asociadas con enfermedad cardiovascular y padecimientos neurodegenerativos, las proporciones de estas proteínas con α -MoRE son similares a las proteínas humanas en general, mientras las proteínas asociadas con cáncer, diabetes y enfermedades autoinmunes son enriquecidas también en α -MoRE.

En la actualidad, muchos blancos farmacológicos que involucran interacciones proteína-proteína en las rutas de señalización han resultado ser prometedoros.²³⁴ Asimismo, se ha descubierto que varias moléculas pequeñas son capaces de inhibir las interacciones proteína-proteína, siendo esenciales en la proliferación celular.²³⁵⁻²³⁸ Estas moléculas actúan a través de la simulación de la forma y de las características fisicoquímicas de un fragmento de proteína desordenado, después de que se ha podido cambiar a una estructura helicoidal como resultado de la interacción con su proteína accesoria.

La proteína supresora de tumores p53 está en el centro de una enorme red de señalización, la cual regula la expresión de los genes involucrados en procesos celulares como la progresión del ciclo celular, inducción a la apoptosis, reparación del DNA y la respuesta al estrés celular.²³⁹ Esta proteína se regula por medio de varios mecanismos,²⁴⁰ uno de ellos es la inhibición de su actividad a través de la interacción con la ubiquitin ligase E3, la cual se une a la región de los residuos 15-29, localizados dentro del dominio de transactivación. Debido a la interacción tan sutil p53-E3, se ha investigado esta unión proteína-proteína como un posible blanco farmacológico. Asimismo, varios inhibidores exitosos de péptidos derivados de la región que se une a E3 han sido creados,²⁴⁰⁻²⁴³ todos contienen los tres residuos cruciales en la interacción: Phe19, Trp23 y Leu26.²³⁷ Al combinar las predicciones de desorden con el análisis de la organización de los grupos hidrofóbicos de superficie, se han identificado a las proteínas accesorias en la interacción p53-E3. La lista actual contiene 35 proteínas y 781 sitios con las características similares a p53-E3, los cuales también podrían convertirse en blancos para moléculas pequeñas.

7

Estrategias farmacológicas dirigidas al tratamiento de enfermedades asociadas a la conformación de proteínas

Considerando las enormes implicaciones en materia de salud y socioeconómicas de las enfermedades asociadas a la conformación de proteínas, se está efectuando un esfuerzo importante, tanto en la dirección de la terapia como en su prevención. La información analizada en las secciones previas proporciona una plataforma a través de la cual se pueden desarrollar acercamientos farmacológicos específicos para estas enfermedades. Sin embargo, considerando que la mayoría de las estrategias para combatir estas condiciones no corresponden a una sola categoría, es posible vincular los diferentes acercamientos planteados a diferentes rutas de acción, lo cual puede ser clave en el desarrollo de estrategias novedosas.

ESTABILIZACIÓN DEL ESTADO NATIVO

Si la premisa es correcta, en donde el plegamiento hacia el estado nativo es un mecanismo a través del cual las proteínas globulares evitan la conversión a fibras amiloides, entonces la estabilización del estado nativo debe constituir un método poderoso para reducir la propensión a la agregación. Las proteínas globulares desplegadas exponen grandes regiones de residuos hidrofóbicos al medio acuoso y por lo tanto son altamente susceptibles a la pérdida de estabilidad y a la formación de agregados. Esta estrategia puede ser ilustrada por medio de los estudios realizados con la proteína transtiretina (TTR), y su asociación con varias condiciones patológicas, las cuales incluyen trastornos neurológicos y sistémicos. La transtiretina es una proteína homotetramérica que transporta vitamina A y a la hormona

tiroxina. La capacidad del tetrámero de disociarse en monómeros propensos a la agregación es el fenómeno que en apariencia constituye la fuerza impulsora que promueve la formación de fibras amiloides. El impedir que el homotetrámero se desorganice en presencia de la hormona o la vitamina A y mantenga su estructura nativa mediante medios químicos o farmacológicos es un tratamiento prometededor. De forma interesante esta estrategia ya ha sido utilizada con éxito, mediante el desarrollo del fármaco tafamidis (Fx-1006A), una molécula pequeña que actúa como chaperona farmacológica de la proteína TTR. El mecanismo de acción del fármaco es por medio de la estabilización de la TTR nativa y de algunas variantes, de manera que evita la disociación del tetrámero y por tanto del plegamiento anómalo del monómero que origina la formación de fibras. Los estudios clínicos se han enfocado para dos padecimientos: la polineuropatía y la cardiomiopatía amiloide. La empresa farmacéutica que ha desarrollado este fármaco ha completado los ensayos clínicos fase II en la polineuropatía una condición en la cual los amiloides se depositan en tejido nervioso periférico, y ha finalizado la fase III en el caso de cardiomiopatías.

Dado que existen bases termodinámicas sólidas indicadoras de que los procesos de unión intermolecular estabilizan a una proteína, este tipo de acercamiento puede ser aplicado a otras condiciones, en las cuales la pérdida de estabilidad de una proteína como resultado de una mutación puede disparar el inicio de la enfermedad. De manera que, a través del desarrollo específico de moléculas estabilizadoras de bajo peso molecular se pueden evitar cambios anómalos en la conformación de las proteínas, manteniendo su estabilidad intrínseca y su plegamiento nativo. Sin embargo, una alternativa a la estabilización por moléculas pequeñas es la de emplear moléculas grandes, donde los anticuerpos pueden ser una opción prometedora. La producción de un anticuerpo específico para una proteína podría formar un complejo que estabilice a la proteína blanco, considerando que bajo condiciones fisiológicas se presenta una inestabilidad estructural comprometida y por lo tanto la falla en su función.

REDUCCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ESPECIES PROPENSAS A LA AGREGACIÓN

La agregación de proteínas es un proceso complejo y uno que depende de las condiciones del microambiente que rodea a estas biomoléculas. Los compartimentos como los lisosomas y diversos procesos celulares como la endocitosis, pueden ser importantes en el control de la agregación asociada a enfermedad. Uno de los cambios más factibles que pueden llevarse a cabo con proteínas susceptibles a la agregación, es la de reducir su concentración localizada. Esta estrategia podría ser efectiva, ya que la agregación es altamente dependiente de la concentración. Este punto puede aplicarse con algunos tipos de amiloidosis, como los que están asociados con hemodiálisis o inflamación, donde se ha observado una importante elevación en la concentración de las proteínas amiloidogénicas.

Además, el efecto de diversas mutaciones también ha estado asociado al aumento en la concentración de intermediarios totalmente desplegados o parcialmente plegados. Un ejemplo de una estrategia terapéutica basada en esta idea, aunque corresponde a un procedimiento poco frecuente, es el trasplante de hígado. Muchas de las proteínas asociadas con la enfermedad amiloide se sintetizan en el hígado y son transportadas a otras partes del cuerpo. Para los individuos que sufren de la enfermedad amiloide familiar, el trasplante de hígado representa la única terapia efectiva, ya que el hígado de reemplazo genera la forma normal de la proteína. La presencia de la proteína normal en el organismo podría reducir la concentración de intermediarios propensos a la agregación y más aún, el tratamiento en algunos tipos de proteínas puede conducir a la desaparición lenta de los depósitos formados, previos al trasplante. De hecho la hepatectomía parcial es una de las estrategias usadas en la cardiomiopatía y la polineuropatía relacionada con la deposición de la proteína TTR. En un futuro cercano, la terapia génica proporcionará un acercamiento alternativo para alcanzar el mismo objetivo.

BLOQUEO DE LA NUCLEACIÓN Y DEL CRECIMIENTO DE AGREGADOS

Un acercamiento alternativo consiste en inhibir el desarrollo de agregados de las proteínas, cuando éstas se encuentren en un plegamiento diferente al nativo. Debido a que la agregación ha sido descrita como un proceso análogo a la nucleación, la prevención del desarrollo de estos núcleos o la interferencia en el crecimiento es una idea atractiva. Existen algunos precedentes de este tipo en la biología, por ejemplo, peces que viven en aguas frías contienen proteínas “anticongelantes” que interaccionan con los cristales de hielo y previenen la congelación de la solución, aun cuando ésta se encuentre por debajo del punto de fusión. En la enfermedad amiloide, se ha propuesto un enfoque muy especial en péptidos diseñados para unirse al extremo terminal de una fibra en desarrollo, el objetivo es disponer de una molécula de este tipo que posea una superficie en la cual otros péptidos encuentren un impedimento para interaccionar.

Acercamientos utilizando moléculas de este tipo, a menudo han sido descritos como bloqueadores de estructuras- β y han empezado a mostrar buenos resultados en estudios *in vitro*. Sin embargo, tomando en cuenta que la formación de los agregados tempranos podría ser el verdadero promotor de la enfermedad, esto significa que las moléculas tendrán que bloquear la formación de especies oligoméricas y no sólo de las fibras bien desarrolladas. De manera que los agentes bloqueadores podrían generar la acumulación de agregados pequeños, si sólo intervienen en el desarrollo de las especies más grandes. Como una alternativa a esta estrategia, métodos de tamizaje se pueden aplicar para probar un número elevado de moléculas pequeñas y así observar su eficiencia en el bloqueo del crecimiento de núcleos de agregación. Con el desarrollo de métodos de alta capacidad dentro de la biología estructural, las herramientas para llevar a cabo estas estrategias comienzan a estar disponibles.

OPTIMIZACIÓN DE LOS MECANISMOS DE MANTENIMIENTO CELULAR

Como se mencionó previamente y basados en la premisa de que las enfermedades de agregación pueden ser consecuencia de fallas en los sistemas regulatorios que controlan el plegamiento, diversos métodos para mantener la homeostasis de estos mecanismos celulares deben ser procedimientos poderosos. Tratamientos con base en la inmunización se pueden incluir en esta opción, si pueden actuar por medio del estímulo del sistema inmunológico en la limpieza de proteínas agregadas. Una característica particularmente atractiva es que moléculas que optimicen el estímulo inmune de defensa, podrían combatir los efectos adversos de la agregación anómala de proteínas, como sucede en el envejecimiento (figura 7-1).

Otra posibilidad involucra el uso de moléculas diseñadas para inhibir la unión a los agregados. A este respecto resulta interesante el caso de la proteína amiloide sérica (SAP), una proteína pentamérica que se une a las fibras amiloides, y que se encuentra asociada con la mayoría de los depósitos amiloide en los tejidos. El uso de SAP marcada radioactivamente es la base para la detección por tomografía computarizada de los depósitos amiloide. La estructura cristalográfica de SAP se conoce, lo cual ha permitido la síntesis de moléculas pequeñas que están diseñadas para inhibir la unión de SAP a las estructuras amiloide. Estas moléculas han demostrado ser efectivas en reducir los depósitos amiloide en modelos de animales, siendo un ejemplo exitoso de la promoción a ensayos clínicos en humanos que presentan amiloidosis sistémica familiar avanzada. Aunque todavía no se ha demostrado la efectividad en la reducción de depósitos amiloide, se ha encontrado un efecto notable relacionado con la reducción sorprendente de la proteína SAP en el plasma.

ANÁLISIS DE LAS OPCIONES TERAPÉUTICAS

Uno de los mayores enfoques en el desarrollo de fármacos para padecimientos relacionados con el plegamiento de proteínas, tales como la enfermedad de Alzheimer o la de Creutzfeldt-Jakob, ha sido diseñar fármacos dirigidos contra los grandes depósitos fibrilares, los cuales representan una de las características patológicas de estas enfermedades, pero como ya se ha puntualizado, existe una importante evidencia experimental que indica que los ensamblajes de agregados pequeños (oligómeros) son más tóxicos para las células que las propias fibras completamente formadas.

Si esto prueba ser el caso, las estrategias farmacológicas desarrolladas en la prevención de la formación de grandes agregados o que favorezcan la desagregación, pueden ser más perjudiciales que el efecto terapéutico deseado. De tal forma que las investigaciones deben considerar el bloqueo en las etapas tempranas del plegamiento anómalo y de la formación de agregados pequeños, incluso tratar de inducir las interacciones entre pequeños agregados para formar rápidamente los depósitos fibrilares, aunque este enfoque requiere de una evidencia

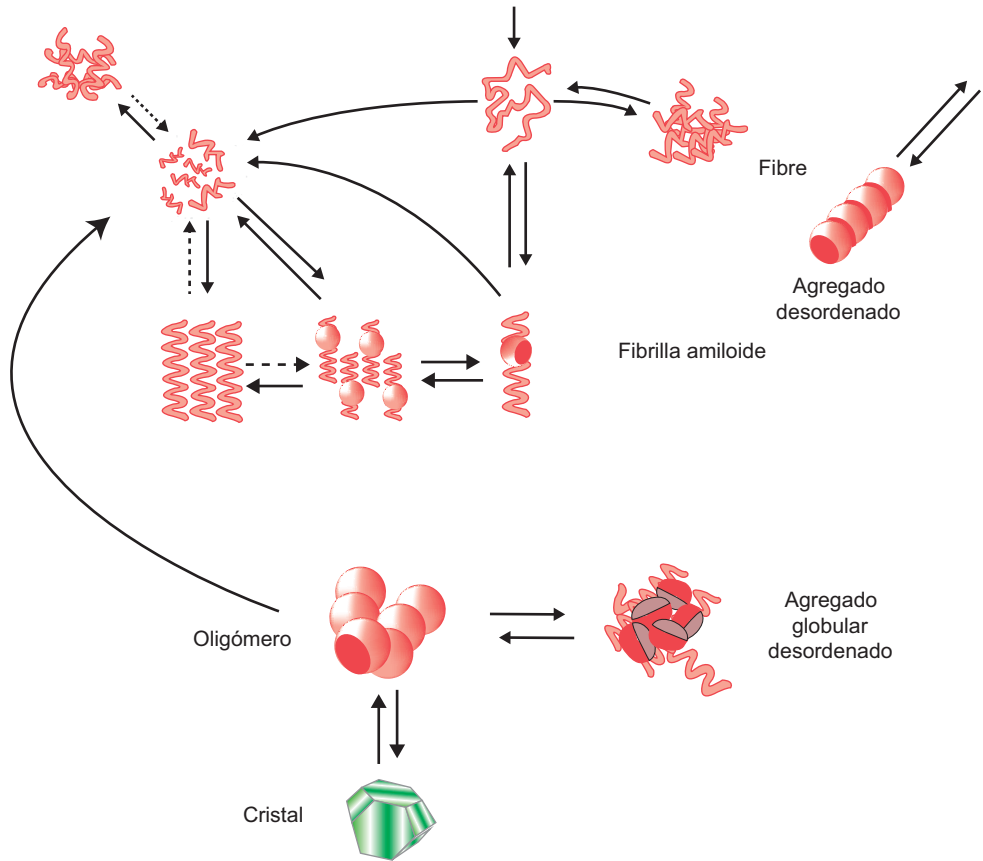


Figura 7-1. Representación esquemática del mecanismo de formación de fibras amiloide a partir de una proteína globular. Después de su síntesis sobre el ribosoma, la proteína se pliega en el retículo endoplásmico ayudado por proteínas chaperonas, las cuales previenen a las especies parcialmente plegadas del proceso de agregación. La proteína con su plegamiento nativo se secreta de la célula y funciona por lo general en su ambiente extracelular. Bajo ciertas condiciones, la proteína se despliega, por lo menos en forma parcial y se vuelve propensa a la agregación. Esto puede resultar en la formación de fibrillas y otros agregados que se acumulan en los tejidos. Agregados pequeños de proteína, así como de fibrillas y placas altamente organizadas, dan origen a diversas condiciones patológicas.

experimental más sólida. En este orden de ideas vale la pena situar el caso de los estudios con la vacuna AN-1792 enfocada en el péptido βA_{1-42} , la cual en su momento (1999) representó una estrategia farmacológica prometedora para el combate del Alzheimer; sin embargo, en los estudios de segunda fase se evidenció su falta de seguridad, abortando las pruebas clínicas. No obstante, esta experiencia dejó un gran aprendizaje a la comunidad científica y aún continúan en estudio varias vacunas enfocadas en la enfermedad de Alzheimer.

En contraste con el abordaje farmacológico tradicional en donde los fármacos están dirigidos contra blancos muy específicos, ya sea una proteína o una biomolécula específica, en la actualidad se ha puesto atención a una aproximación biológica global. En lugar de centrarse en una proteína blanco vinculada a enfermedad, en esta estrategia se modulan redes proteicas celulares, es decir en la modulación de las vías metabólicas que pueden facilitar una mejora en los mecanismos que mantienen activas, por ejemplo, las vías de síntesis de chaperonas, las proteínas de choque térmico (en general vías que participan en el plegamiento) de manera que pueda recuperarse la homeostasis celular. Si bien, este enfoque se encuentra en sus primeras etapas, sin duda el uso de varios abordajes farmacológicos se puede traducir en una mejora en el tratamiento de las que han sido denominadas “enfermedades relacionadas con la conformación de proteínas”.

CONSIDERACIONES EN EL DESARROLLO DE FÁRMACOS

Los espacios biológicos celulares y extracelulares son ambientes altamente saturados que permiten una enorme variedad de interacciones entre moléculas que son esenciales para que la vida se lleve a cabo de manera eficiente y productiva. Sin embargo, condiciones de autoasociación o interacciones inespecíficas entre diferentes especies moleculares deben estar favorecidas dentro de tan altos ambientes concentrados. De manera que no todos los compuestos biológicamente activos tienen las propiedades fisicoquímicas deseadas para ser un fármaco. Un compuesto biológicamente activo debe ser lo suficiente lipofílico para ser absorbido, así como tener propiedades polares para cruzar la pared gastrointestinal o debe tener una funcionalidad química vulnerable para que pueda ser blanco de los sistemas catabólicos del hígado y no permanecer intacto por un largo tiempo, pero suficiente para tener un efecto *in vivo*. En la actualidad, la toxicidad ha reemplazado las propiedades de un metabolismo pobre en fármacos, como uno de los mayores fracasos en las primeras etapas clínicas del descubrimiento de fármacos.²⁴⁴

El conocimiento que se ha obtenido sobre el plegamiento de proteínas, la caracterización estructural y funcional se ha realizado a través de un enfoque multidisciplinario, usando técnicas espectroscópicas, fluorométricas, difracción de rayos X, espectrometría de masas, análisis mutacional y herramientas computacionales. Debido a razones metodológicas y propias de la investigación, los experimentos por lo general se realizan bajo condiciones controladas, por ejemplo, en el pH, fuerza iónica, potencial redox o concentración de metabolitos. Sin embargo, las condiciones de trabajo pueden estar muy distantes de las condiciones fisiológicas de un ambiente celular o extracelular, en donde se ha calculado que la concentración macromolecular puede ser de 300 a 400 mg/mL. Lo que observamos en un tubo de ensayo ¿qué tan cercano puede ser a lo que está sucediendo en un ambiente celular, lo cual es clave en el desarrollo de fármacos y en la presencia de efectos tóxicos?

Esta faceta, a menudo referida como ambiente macromolecular saturado, tiene importantes consecuencias en términos termodinámicos, afectando el estado conformacional de las proteínas.²⁴⁵ Una muy alta concentración macromolecular significa que el volumen libre disponible para una molécula es sólo una fracción del volumen total donde la molécula está disuelta, de ahí que los efectos del volumen excluido resultante pueden favorecer de manera termodinámica estados compactos incluido el plegamiento nativo, así como estados de agregación de las proteínas, considerando la diferente extensión dependiendo de la proteína. Sobre este aspecto, se ha calculado que un incremento en la saturación macromolecular de 30 a 33% (en términos del volumen de un espacio dado ocupado por las moléculas) puede resultar en un aumento de la unión molecular.²⁴⁶

Sin embargo, a pesar de los incrementos sustanciales en el financiamiento para la investigación en la industria farmacéutica, la velocidad de descubrimiento de fármacos parece haber llegado a un estado estacionario o quizá se encuentre en declive, sugiriendo la necesidad de buscar nuevas estrategias para poder avanzar. Desde hace tiempo, se ha propuesto que las interacciones proteína-proteína proporcionan interesantes blancos para el descubrimiento de nuevos compuestos. En contraste a la tendencia histórica, el poco éxito obtenido en la actualidad ha mejorado las esperanzas para una identificación sistemática de las interacciones proteína-proteína que pueden ser aprovechadas en el diseño de nuevas moléculas con potencial farmacológico. Dichos ejemplos han estado siempre asociados al descubrimiento de regiones desordenadas en las proteínas. Por lo cual, esta novedosa estrategia basada en las proteínas intrínsecamente desordenadas posee el potencial de incrementar de forma significativa la velocidad del descubrimiento de nuevas moléculas que pueden ser fármacos efectivos.

Considerando que el gasto para investigación y desarrollo (I&D) ha aumentado en un promedio de 8% anual en los últimos 35 años, el número de pruebas clínicas finalizadas de fase III aun no iguala el número de entidades moleculares nuevas aprobadas por la *Food and Drug Administration* (FDA). Por ejemplo, a pesar de un incremento del doble en el gasto para I&D durante el último decenio, el número de moléculas nuevas aprobadas aumentó sólo 10%. A finales de 2005 sólo 18 nuevas moléculas fueron aprobadas por la FDA, mostrando que ese año fue particularmente pobre para el descubrimiento de fármacos y uno de los peores desde 1990.^{247,248} Más aún, las nuevas estrategias incluyendo la búsqueda de alta velocidad o *high-throughput screening*, así como el diseño basado en estructuras provenientes de estudios proteómicos y el análisis por microarreglos, todavía no han rendido los frutos esperados. Sin embargo, el juego de interacciones proteína-proteína dentro de una célula proporciona una fuente potencial de nuevos blancos farmacológicos, ya que al generarse complejas redes de interacción proteína-proteína como respuesta a los diversos estímulos dentro de un ambiente celular, estas

interacciones ofrecen blancos atractivos para la intervención terapéutica. Sin embargo, las interacciones proteína-proteína involucradas en los mecanismos de señalización celular son transitorias y difíciles de analizar, lo cual dificulta el proceso de descubrimiento de fármacos. La comprensión del mapa llamado “interactoma”, sin duda podrá ayudar en la identificación de las interacciones proteína-proteína que pudieran ser blancos farmacológicos.²³⁴ Aunque la búsqueda de moléculas que modulen las interacciones proteína-proteína no ha sido exitosa en el pasado,²⁴⁹ ejemplos prometedores recientes están creando un nuevo optimismo en esta área.^{235,236}

Después de reflexionar en los diferentes aspectos planteados en el presente texto, se vuelve aparente que la biología ha desarrollado un juego sofisticado de proteínas como las chaperonas, así como mecanismos celulares bien definidos involucrados en la degradación molecular para controlar y regular el plegamiento específico de las cadenas polipeptídicas. De esta manera, la biología ha explorado las leyes de la física y concientizado a la ciencia en general de la complejidad biológica a través del estudio de la evolución. Este logro iguala la forma en que la biología ha empezado a entender las propiedades químicas de las moléculas a través de la evolución, por ejemplo, de las enzimas, las cuales controlan el complejo metabolismo intermedio. El estudio de las conversiones estructurales de las proteínas que resultan en el accionar de este metabolismo, habilita el diseño racional de fármacos para controlar las denominadas enfermedades “conformacionales”.

De acuerdo con los científicos que trabajan en diferentes campos del conocimiento, la naturaleza en apariencia ha empleado el desorden para crear altos niveles de organización. Es más, en algunos casos, la naturaleza parece haber creado el desorden, cuando hay en primer lugar, una falta del mismo.²⁵⁰ Esta última situación extrapolada a la medicina ha mostrado que muchas enfermedades encuentran su origen en la forma en que las proteínas llevan a cabo transiciones estructurales, al emplear las altamente elegantes transiciones desorden-al-orden y orden-al-desorden.

Tomando en consideración que varias estructuras funcionales de los amiloides han sido caracterizadas en bacterias,^{215,216} hongos,^{189,190,217} insectos^{218,219} y mamíferos^{191,220} existe un consenso de que la formación de fibrillas amiloides representa una vía evolutiva bien conservada en la estructura proteica.^{224,250} Por lo tanto, las diferencias entre amiloides “funcionales” y “patológicos” pueden residir en los mecanismos regulatorios que participan durante su síntesis. De forma interesante Christopher M. Dobson, un experto en el campo ha comentado que “uno puede pensar entonces en las enfermedades amiloides como el resultado de una reversión de las altamente evolucionadas formas funcionales de péptidos y proteínas hacia un estado estructural alternativo y no deseado, que existe como resultado de la naturaleza fisicoquímica inherente a las cadenas polipeptídicas”.¹³ Sin duda, se puede decir que en un futuro cercano, muchas enfermedades con mecanismos moleculares de origen poco entendidos, encontrarán su explicación en la forma en la que el fenómeno del plegamiento de las proteínas es regulado.

REFERENCIAS

1. Rose GD, Fleming PJ, Banavar JR, Maritan A: A backbone-based theory of protein folding. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103(43):16623-16633.
2. Eaton WA, Muñoz V, Hagen SJ, Jas GS, Lapidus LJ, Henry ER, Hofrichter J: Fast kinetics and mechanisms in protein folding. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 2000;29: 327-359.
3. Fersht AR: *Structure and Mechanism in Protein Science: A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding* (W.H. Freeman, New York) Cambridge University 1999:650.
4. Radford SE & Dobson CM: From computer simulations to human disease: emerging themes in protein folding. *Cell* 1999; 97(3):291-298.
5. Dobson CM, Ptitsyn OB: Folding and binding. The biological consequence of physical principles (editorial overview) *Current Opinion in Structural Biology* 1999;9:89-91.
6. Plemper RK, Wolf DH: Retrograde protein translocation: eradication of secretory proteins in health and disease. *Trends Biochem Sci* 1999; 24(7):266-270.
7. Dobson CM: Protein misfolding, evolution and disease. *Trends Biochem Sci* 1999;24(9):329-332.
8. Huang K: *Lectures on Statistical Physics and Protein Folding*. World Scientific, New Jersey 2005.
9. Anfinsen C *et al.*: The kinetics of formation native ribonuclease during oxidation of the reduced polypeptide chain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1961;47:1309-1314.
10. Levinthal C: Are there pathways for protein folding. *Journal de Chimie Physique et de Physico-Chimie Biologique* 1968;65:44-45.
11. Gsponer J, Vendruscolo M: Theoretical approaches to protein aggregation. *Protein Pept Lett* 2006;13(3): 287-293.
12. Eisenberg D, Nelson R, Sawaya MR, Balbirnie M, Sambashivan S, Ivanova MI, Madsen AO, Riekel C: The structural biology of protein aggregation diseases: Fundamental questions and some answers. *Acc Chem Res* 2006;39(9):568-575.
13. Dobson CM: Protein chemistry. In the footsteps of alchemists. *Science* 2004;304 (5675):1259-1262.
14. Uversky VN, Gillespie JR, Fink AL: Why are natively unfolded proteins unstructured under physiologic conditions? *Proteins* 2000;41(3):415-427.
15. Bustos DM, Iglesias AA: Intrinsic disorder is a key characteristic in partners that bind 14-3-3 proteins. *Proteins* 2006;63(1):35-42.
16. Kriwacki RW, Hengst L, Tennant L, Reed SI, Wright PE: Structural studies of p21Waf1/Cip1/Sd1 in the free and Cdk2-bound state: conformational disorder mediates binding diversity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93(21):11504-11509.
17. Dalal S, Regan L: Understanding the sequence determinants of conformational switching using protein design. *Protein Sci* 2000;9(9):1651-1659.
18. Obradovic Z *et al.*: Predicting intrinsic disorder from amino acid sequence. *Proteins* 2003;53(Suppl 6):566-572.
19. Dunker AK *et al.*: Intrinsically disordered protein. *J Mol Graph Model* 19(1):26-59
20. Uversky VN. 2002 What does it mean to be natively unfolded? *Eur J Biochem* 2001;269(1):2-12.
21. Pagel K, Vagt T, Kokscho B: Directing the secondary structure of polypeptides at will: from helices to amyloids and back again? *Org Biomol Chem* 2005;3(21):3843-3850.
22. Polverini E, Fasano A, Zito F, Riccio P, Cavatorta P: Conformation of bovine myelin basic protein purified with bound lipids. *Eur Biophys J* 1999;28(4):351-355.

23. Dunker AK, Garner E, Guilliot S, Romero P, Albrecht K, Hart J, Obradovic Z, Kissinger C, Villafranca JE: Protein disorder and the evolution of molecular recognition: theory, predictions and observations. *Pac Symp Biocomput*: 1998;473-484.
24. Dunker AK *et al.*: Intrinsic disorder and protein function. *Biochemistry* 2002;41(21):6573-6582.
25. Tompa P, Csermely P: The role of structural disorder in the function of RNA and protein chaperones. *FASEB J* 2004;18(11):1169-1175.
26. Tompa P: Intrinsically unstructured proteins. *Trends Biochem Sci* 2002;27(10):527-533.
27. Dunker AK *et al.*: Intrinsic Protein Disorder in Complete Genomes. *Genome Informatics Series: Proceedings of the Workshop on Genome Informatics* 2000;11:161-171.
28. Oldfield CJ *et al.*: Comparing and combining predictors of mostly disordered proteins. *Biochem* 2005;44(6):1989-2000.
29. Romero P *et al.*: Sequence complexity of disordered protein. *Proteins* 2001;42(1):38-48.
30. Peng K *et al.*: Optimizing long intrinsic disorder predictors with protein evolutionary information. *J Bioinform Comput Biol* 2005;3(1):35-60.
31. Uversky VN *et al.*: Why are "natively unfolded" proteins unstructured under physiologic conditions? *Proteins* 2000;41(3):415-427.
32. Iakouchcheva LM *et al.*: Intrinsic disorder in cell-signaling and cancer-associated proteins. *J Mol Biol* 2002;323(3):573-584.
33. Liu J, Rost B: Comparing Function and Structure between Entire Proteomes. *Protein Sci* 2001;10(10):1970-1979.
34. Bode W, Huber R: Induction of the bovine trypsinogen-trypsin transition by peptides sequentially similar to the N-terminus of trypsin. *FEBS Lett* 1976;68(2):231-236.
35. Huber R, Bode W: Structural basis of the activation and action of trypsin. *Acc Chem Res* 1978;11:114-122.
36. Dunker AK, Obradovic Z: The protein trinity-linking function and disorder. *Nat Biotech* 2001;19(9):805-806.
37. Uversky VN: Natively unfolded proteins: a point where biology waits for physics. *Protein Sci* 2002;11(4):739-756.
38. Ivanyi-Nagy R, Davidovic L, Khandjian EW, Darlix JL: Disordered RNA chaperone proteins: from functions to disease. *Cell Mol Life Sci* 2005;62(13):1409-1417.
39. Tompa P, Csermely P: The role of structural disorder in the function of RNA and protein chaperones. *FASEB J* 2004;18(11):1169-1175.
40. Mély Y, De Rocquigny H, Morellet N, Roques BP, Gerad D: Zinc binding to the HIV-1 nucleocapsid protein: a thermodynamic investigation by fluorescence spectroscopy. *Biochemistry* 1996;35(16):5175-5182.
41. South TL, Blake PR, Sowder RC, Arthur LO, Henderson LE, Summers MF: The nucleocapsid protein isolated from HIV-1 particles binds zinc and forms retroviral-type zinc fingers. *Biochemistry* 1990;29(34):7786-7789.
42. Hargittai MR, Gorelick RJ, Rouzina I, Musier-Forsyth K: Mechanistic insights into the kinetics of HIV-1 nucleocapsid protein-facilitated tRNA annealing to the primer binding site. *J Mol Biol* 2004;337(4):951-968.
43. Urbaneja MA, Wu M, Casas-Finet JR, Karpel RL: HIV-1 nucleocapsid protein as a nucleic acid chaperone: spectroscopic study of its helix-destabilizing properties, structural binding specificity, and annealing activity. *J Mol Biol* 2002;318(3):749-764.
44. Williams MC, Rouzina I, Wenner JR, Gorelick RJ, Musier-Forsyth K, Bloomfield VA: Mechanism for nucleic acid chaperone activity of HIV-1 nucleocapsid protein revealed by single molecule stretching. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98(11):6121-6126.

45. Dib-Hajj F, Khan R, Giedroc DP: Retroviral nucleocapsid proteins possess potent nucleic acid strand renaturation activity. *Protein Sci* 1993;2(2):231-243.
46. Kankia BI, Barany G, Musier-Forsyth K: Unfolding of DNA quadruplexes induced by HIV-1 nucleocapsid protein. *Nucleic Acids Res* 2005;33(14):4395-4403.
47. Stoylov SP, Vuilleumier C, Stoylova E, De Rocquigny H, Roques BP, Gérard D, Mély Y: Ordered aggregation of ribonucleic acids by the human immunodeficiency virus type 1 nucleocapsid protein. *Biopolymers* 1997;41(3):301-312.
48. De Guzman RN, Wu ZR, Stalling CC, Pappalardo L, Borer PN, Summers MF: Structure of the HIV-1 nucleocapsid protein bound to the SL3 psi-RNA recognition element. *Science* 1998;279(5349):384-388.
49. Amarasinghe GK, De Guzman RN, Turner RB, Chancellor KJ, Wu ZR, Summers MF: NMR structure of the HIV-1 nucleocapsid protein bound to stem-loop SL2 of the psi-RNA packaging signal. Implications for genome recognition. *J Mol Biol* 2000;301(2):491-511.
50. Amarasinghe GK *et al.*: Stem-loop SL4 of the HIV-1 psi RNA packaging signal exhibits weak affinity for the nucleocapsid protein. Structural studies and implications for genome recognition. *J Mol Biol* 2001;314(5):961-970.
51. Tisné C, Roques BP, Dardel F: Heteronuclear NMR studies of the interaction of tRNA(Lys)3 with HIV-1 nucleocapsid protein. *J Mol Biol* 2001;306(3):443-454.
52. Johnson PE, Turner RB, Wu ZR, Hairston L, Guo J, Levin JG, Summers MF: A mechanism for plus-strand transfer enhancement by the HIV-1 nucleocapsid protein during reverse transcription. *Biochemistry* 2000;39(31):9084-9091.
53. Bourbigot S, Ramalanjaona N, Boudier C, Salgado GF, Roques BP, Mély Y, Bouaziz S, Morellet N: How the HIV-1 nucleocapsid protein binds and destabilises the (-) primer binding site during reverse transcription. *J Mol Biol* 2008;383(5):1112-1128.
54. Xicohtencatl-Cortés J, Castillo R, Mas-Oliva J: In search of new structural states of exchangeable apolipoproteins. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;324(2):467-470.
55. Bolaños-García VM, Mas-Oliva J, Ramos S, Castillo R: Phase transitions in monolayers of human apolipoprotein C-I. *J Phys Chem B* 1999;103(30):6236-6242.
56. Bolaños-García VM, Ramos S, Xicohtencatl-Cortés J, Castillo R, Mas-Oliva J: Monolayers of apolipoproteins at the air/water interface. *J Phys Chem B* 2001;105(24):5757-5765.
57. Mas-Oliva J, Moreno A, Ramos S, Xicohtencatl-Cortés J, Campos J, Castillo R: Frontiers in cardiovascular health. Dhalla NS, et al (editors). Monolayers of apolipoprotein AII at the air/water interface, Kluwer Academic Publishers, Boston USA 2003:341-352.
58. Xicohtencatl-Cortés J, Mas-Oliva J, Castillo R: Phase transitions of phospholipid monolayers penetrated by apolipoproteins. *J Phys Chem B* 2004;108:7307-7315.
59. Ruíz-García J, Moreno A, Brezesinski G, Möhwald H, Mas-Oliva J, Castillo R: Phase transitions, conformational changes in monolayers of human apolipoprotein CI and AII. *J Phys Chem B* 2003;107:11117-11124.
60. Campos-Terán J, Mas-Oliva J, Castillo R: Interactions and conformations of a-helical human apolipoprotein CI on hydrophilic and on hydrophobic substrates. *J Phys Chem B* 2004;108:20442-20450.
61. Ramos S, Campos-Terán J, Mas-Oliva J, Nylander T, Castillo R: Forces between hydrophilic surfaces adsorbed with apolipoprotein AII alpha helices. *Langmuir* 2008;24:8568-8575.
62. Mendoza-Espinosa P, Moreno A, Castillo R, Mas-Oliva J: Lipid dependant disorder-to-order conformational transitions in apolipoprotein CI derived peptides. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;365:8-15.

63. Conde-Knape K, Bensadoun A, Sobel JH, Cohn JS, Shachter NS: Overexpression of apoC-I in apoE-null mice: severe hypertriglyceridemia due to inhibition of hepatic lipase. *J Lipid Res* 2002;43(12):2136-2145.
64. Poensgen J: Apolipoprotein C-1 inhibits the hydrolysis by phospholipase A2 of phospholipids in liposomes and cell membranes. *Biochim Biophys Acta* 1990;1042(2):188-192.
65. Kinnunen PK, Ehnolm C: Effect of serum and C-apoproteins from very low density lipoproteins on human postheparin plasma hepatic lipase. *FEBS Lett* 1976;65(3):354-357.
66. Soutar AK, Garner CW, Baker HN, Sparrow JT, Jackson RL, Gotto AM, Smith LC: Effect of the human plasma apolipoproteins and phosphatidylcholine acyl donor on the activity of lecithin: cholesterol acyltransferase. *Biochemistry* 1975;14(14):3057-3064.
67. Dumont L *et al.*: Molecular mechanism of the blockade of plasma cholesteryl ester transfer protein by its physiological inhibitor apolipoprotein CI. *J Biol Chem* 2005 ;280(45):38108-38116.
68. Kowal RC, Herz J, Goldstein JL, Esser V, Brown MS: Low density lipoprotein receptor-related protein mediates uptake of cholesteryl esters derived from apoprotein E-enriched lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86:5810-5814.
69. Kowal RC, Herz J, Weisgraber KH, Mahley RW, Brown MS, Goldstein JL: Opposing effects of apolipoproteins E and C on lipoprotein binding to low density lipoprotein receptor-related protein. *J Biol Chem* 1990;86(15):10771-10779.
70. Weisgraber KH, Mahley RW, Kowal RC, Herz J, Goldstein JL, Brown MS: Apolipoprotein C-I modulates the interaction of apolipoprotein E with beta-migrating very low density lipoproteins (beta-VLDL) and inhibits binding of beta-VLDL to low density lipoprotein receptor-related protein. *J Biol Chem* 1990;265 (36):22453-22459.
71. Roses AD: Apolipoprotein E alleles as risk factors in Alzheimer's disease. *Annu Rev Med* 1996;47:387-400.
72. Morishima-Kawashima M, Oshima N, Ogata H, Yamaguchi H, Yoshimura M, Sugihara S, Ihara Y: Effect of apolipoprotein E allele epsilon4 on the initial phase of amyloid beta-protein accumulation in the human brain. *Am J Pathol* 2000;157(6):2093-2099.
73. Mendoza Espinosa P, García-González V, Moreno A, Castillo R, Mas-Oliva J: Amyloid-like-fibril structure developed by apolipoprotein A1 derived peptides (En revisión).
74. Andreola A, Bellotti V, Giorgetti S, Mangione P, Obici L, Stoppini M, Torres J, Monzani E, Merlini G, Sunde M: Conformational switching and fibrillogenesis in the amyloidogenic fragment of apolipoprotein a-I. *J Biol Chem* 2003;278(4):2444-2451.
75. Westermarck P, Mucchiano G, Marthin T, Johnson KH, Sletten K: Apolipoprotein A1-derived amyloid in human aortic atherosclerotic plaques. *Am J Pathol* 1995;147(5):1186-1192.
76. Birch JM *et al.*: Prevalence and diversity of constitutional mutations in the p53 gene among 21 Li-Fraumeni families. *Cancer Res* 1994;54(5):1298-1304.
77. Olivier M, Goldgar DE, Sodha N, Ohgaki H, Kleihues P, Hainaut P, Eeles RA: Li-Fraumeni and related syndromes: correlation between tumor type, family structure, and TP53 genotype. *Cancer Res* 2003;63(20):6643-6650.
78. Martin AC, Facchiano AM, Cuff AL, Hernández-Boussard T, Olivier M, Hainaut P, Thornton JM: Integrating mutation data and structural analysis of the TP53 tumor-suppressor protein. *Human Mutat* 2002;19(2):149-164.
79. Ishimaru D, Lima LMTR, Maia LF, López PM, Bom APA, Valente AP, Silva JL: Reversible aggregation plays a crucial role on the folding landscape of p53 core domain. *Biophys J* 2004;87(4):2691-2700.

80. **Carl PL *et al.***: Most nuclear systemic autoantigens are extremely disordered proteins: implications for the etiology of systemic autoimmunity. *Arthritis Res Ther* 2005;7(6):R1360-R1374.
81. **Cheng Y, LeGall T, Oldfield CJ, Mueller JP, Van YY, Romero P, Cortese MS, Uversky VN, Dunker AK**: Rational drug design via intrinsically disordered protein. *Trends Biotechnol* 2006;24(10):435-442.
82. **Romero PZ, Obradovic C, Dunker AK**: Intelligent data analysis for protein disorder prediction. *Artif Intelligence Rev* 2000;14(6):447-484.
83. **Midic U, Oldfield CJ, Dunker AK, Obradovic Z, Uversky VN**: Protein disorder in the human diseasome: unfoldomics of human genetic diseases. *BMC Genomics* 2009;7:10 Suppl 1:S12.
84. **Uversky VN, Oldfield CJ, Midic U, Xie H, Xue B, Vucetic S, Iakoucheva LM, Obradovic Z, Dunker AK**: Unfoldomics of human diseases: linking protein intrinsic disorder with diseases. *BMC Genomics* 2009;7:10(Suppl 1):S7.
85. **Manzano-León N, Delgado-Coello NB, Guaderrama-Díaz M, Mas-Oliva J**: Beta-adaptin: key molecule for microglial scavenger receptor function under oxidative stress. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;351(3):588-594.
86. **García-González V, Mas-Oliva J**: Amyloidogenic properties of a D/N mutated 12 aminoacid fragment of the C-terminal domain of the cholesterol -ester transfer protein (CETP). *Int J Mol Sci* 2011; 12(3):2019-2035
87. **Hartl FU, Hayer-Hartl M**: Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein. *Science* 2002;295:1852-1858.
88. **Chandra S, Chen X, Rizo J, Jahn R, Südhof TC**: A broken alpha-helix in folded alpha-synuclein. *J Biol Chem* 2003;278(17):15313-15318.
89. **Fink AL**: Protein aggregation: folding aggregates, inclusion bodies and amyloid. *Fold Des* 1998;3(1):R9-R23.
90. **Chen S, Ferrone FA, Wetzel R**: Huntington's disease age-of-onset linked to polyglutamine aggregation nucleation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(18):11884-11889.
91. **Wang X, Vitalis A, Wyczalkowski MA, Pappu RV**: Characterizing the conformational ensemble of monomeric polyglutamine. *Proteins* 2006;63(2):297-311.
92. **Monsellier E, Chiti F**: Prevention of amyloid-like aggregation as a driving force of protein evolution. *EMBO reports* 2007;8:737-742.
93. **Uversky VN**: Natively unfolded proteins: a point where biology waits for physics. *Protein Sci* 2002;11:739-756.
94. **Ban T, Hoshino M, Takahashi S, Hamada D, Hasegawa K, Naiki H, Goto Y**: Direct observation of Abeta amyloid fibril growth and inhibition. *J Mol Biol* 2004;344(3):757-767.
95. **Collinge J**: Prion diseases of humans and animals: their causes and molecular basis. *Annu Rev Neurosci* 2001;24:519-550.
96. **Manzano-León N, Mas-Oliva J**: Estrés oxidativo, péptido β -amiloide y enfermedad de Alzheimer. *Gac Med Mex* 2006;142(3):229-238.
97. **Zhu X, Smith MA, Honda K, Aliev G, Moreira PI, Nunomura A, Casadesus G, Harris PL, Siedlak SL, Perry G**: Vascular oxidative stress in Alzheimer disease. *J Neurol Sci* 2007;257(1-2):240-246.
98. **Lazar KL, Miller-Auer H, Getz GS, Orgel JP, Meredith SC**: Helix-turn-helix peptides that form alpha-helical fibrils: turn sequences drive fibril structure. *Biochemistry* 2005;44(38):12681-12689.
99. **Zhang-Nunes SX, Maat-Schieman ML, van Duinen SG, Roos RA, Frosch MP, Greenberg SM**: The cerebral beta-amyloid angiopathies: hereditary and sporadic. *Brain Pathol* 2006;16(1):30-39.

100. Cabrejo L, Chassagne P, Doucet J, Laquerrière A, Puech N, Hannequin D: Sporadic cerebral amyloidotic angiopathy. *Rev Neurol (Paris)* 2006;162(11):1059-1067.
101. Maji SM, Wang L, Greenwald J, Riek R: Structure-activity relationship of amyloid fibrils. *FEBS Letters* 2009;583:2610-2617.
102. Kelly JW: The alternative conformations of amyloidogenic proteins and their multi-step assembly pathways. *Curr Opin Struct Biol* 1998;8(1):101-106.
103. Guijarro JL, Sunde M, Jones JA, Campbell ID, Dobson CM: Amyloid fibril formation by an SH3 domain. *Proc Natl Acad Sci USA* 95(8):1998;4224-4228.
104. Jimenez JL *et al.*: Cryo-electron microscopy structure of an SH3 amyloid fibril and model of the molecular packing. *EMBO J* 1999;18(4):815-821.
105. Sunde M, Blake C: The structure of amyloid fibrils by electron microscopy and X-ray diffraction. *Adv Protein Chem* 1997;50:123-159.
106. Morozova-Roche LA: Equine lysozyme: the molecular basis of folding, self-assembly and innate amyloid toxicity. *FEBS Lett* 2007;581(14):2587-2592.
107. Wetzel R: Kinetics and thermodynamics of amyloid fibril assembly. *Acc Chem Res* 2006;39(9):671-679.
108. Harper JD, Lansbury PT: Models of amyloid seeding in Alzheimer's disease and scrapie: mechanistic truths & physiological consequences of the time dependent solubility of amyloid proteins. *Annu Rev Biochem* 1997;66:385-407.
109. Horwich AL, Weissman JS: Deadly conformations-protein misfolding in prion disease. *Cell* 1997;89(4):499-510.
110. Dobson CM: Protein folding and misfolding. *Nature* 2003;426(6968):884-890.
111. Bukau B, Weissman J, Horwich A: Molecular chaperones and protein quality control. *Cell* 2006;125(3):443-451.
112. Bence NF, Sampat RM, Kopito RR: Impairment of the ubiquitin-proteasome system by protein aggregation. *Science* 2001;292(5521):1552-1555.
113. Sherman MY, Goldberg AL: Cellular defenses against unfolded proteins: a cell biologist thinks about neurodegenerative diseases. *Neuron* 2001;29(1):15-32.
114. Magaki S, Raghavan R, Mueller C, Oberg KC, Vinters HV, Kirsch WM: Iron, copper, and iron regulatory protein 2 in Alzheimer's disease and related dementias. *Neurosci Lett* 2007;418(1):72-76.
115. Kuo YM, Crawford F, Mullan M, Kokjohn TA, Emmerling MR, Weller RO, Roher AE: Elevated A beta and apolipoprotein E in A betaPP transgenic mice and its relationship to amyloid accumulation in Alzheimer's disease. *Mol Med* 2000;6(5):430-439.
116. Matsubara E, Soto C, Governale S, Frangione B, Ghiso J: Apolipoprotein J and Alzheimer's amyloid beta solubility. *Biochem J* 1996;316(P+2):671-679.
117. Alexandrescu AT: Amyloid accomplices and enforcers. *Protein Sci* 2005;14(1):1-12.
118. Lindahl B, Eriksson L, Lindhal U: Structure of heparan sulfate from human brain, with special regard to Alzheimer's disease. *Biochem J* 1995;306(P+1):177-184.
119. Mas-Oliva J, Arnold KS, Wagner WD, Phillips DR, Pitas RE, Innerarity TL: Isolation and characterization of a platelet-derived macrophage-binding proteoglycan. *J Biol Chem* 1994;269(13):10177-10183.
120. Bussini S, Meda L, Scarpini E, Clementi E, Conti G, Tiriticco M, Bresolin N, Baron P: Heparan sulfate proteoglycan induces the production of NO and TNF-alpha by murine microglia. *Immun Ageing* 2005;2:11.
121. Snow AD, Wight TN: Proteoglycans in the pathogenesis of Alzheimer's disease and other amyloidoses. *Neurobiol Aging* 1989;10(5):481-497.

122. **Castillo GM, Ngo C, Cummings J, Wight TN, Snow AD:** Perlecan binds to the beta-amyloid proteins (A beta) of Alzheimer's disease, accelerates A beta fibril formation, and maintains A beta fibril stability. *J Neurochem* 1997;69(6):2452-2465.
123. **Ancsin JB:** Amyloidogenesis: historical and modern observations point to heparan sulfate proteoglycans as a major culprit. *Amyloid* 2003;10(2):67-79.
124. **Tan SY, Pepys MB:** Amyloidosis. *Histopathology* 1994;25: 403-414.
125. **Chiti F, Dobson CM:** Protein misfolding, functional amyloid, and human disease. *Annu Rev Biochem* 2006;75:333-366.
126. **Jarrett JT, Berger EP, Lansbury PT Jr.:** The C-terminus of the beta protein is critical in amyloidogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 1993;695:144-148.
127. **Selkoe DJ:** Cell biology of the amyloid beta-protein precursor and the mechanism of Alzheimer's disease. *Annu Rev Cell Biol* 1994;10:373-403.
128. **Sisodia SS:** Beta-amyloid precursor protein cleavage by a membrane-bound protease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89(13):6075-6079.
129. **Hardy JA, Higgins GA:** Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* 1992;256(5054):184-185.
130. **Santiago-García J, Mas-Oliva J, Innerarity TL, Pitas RE:** Secreted forms of the amyloid- β -precursor protein are ligands for the A scavenger receptor. *J Biol Chem* 2001;276(33):30655-30661.
131. **Hou X, Aguilar MI, Small DH:** Transthyretin and familial amyloidotic polyneuropathy. Recent progress in understanding the molecular mechanism of neurodegeneration. *FEBS J* 2007;274(7):1637-1650.
132. **Costa PP, Figueira AS, Bravo FR:** Amyloid fibril protein related to prealbumin in familial amyloidotic polyneuropathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978;75(9):4499-4503.
133. **Sousa MM, Cardoso I, Fernandez R, Guimarães A, Saraiva MJ:** Deposition of transthyretin in early stages of familial amyloidotic polyneuropathy: evidence for toxicity of nonfibrillar aggregates. *Am J Pathol* 2001;159(6):1993-2000.
134. **Monaco HL:** Three-dimensional structure of the transthyretin-retinol-binding protein complex. *Clin Chem Lab Med* 2002;40(12):1229-1236.
135. **Redondo C, Damas AM, Saraiva MJ:** Designing transthyretin mutants affecting tetrameric structure: implications in amyloidogenicity. *Biochem J* 2000;348(Pt1):167-172.
136. **Jacobson DR, Pastore RD, Yaghoubian R, Kane I, Gallo G, Buck FS, Buxbaum JN:** Variant-sequence transthyretin (isoleucine 122) in late-onset cardiac amyloidosis in black Americans. *N Engl J Med* 1997;336(7):466-473.
137. **Buxbaum JN, Tagoe CE:** The genetics of the amyloidoses. *Annu Rev Med* 2000;51:543-569.
138. **Kelly JW, Colon W, Lai Z, Lashuel HA, McCulloch J, McCutchen SL, Miroy GJ, Peterson SA:** Transthyretin quaternary and tertiary structural changes facilitate misassembly into amyloid. *Adv Protein Chem* 1997;50:161-181.
139. **Kelly JW:** The alternative conformations of amyloidogenic proteins and their multi-step assembly pathways. *Curr Opin Struct Biol* 1998;8(1):101-106.
140. **Reixach N, Deechongkit S, Jian X, Kelly JW, Buxbaum JN:** Tissue damage in the amyloidoses: transthyretin monomers and nonnative oligomers are the major cytotoxic species in tissue culture. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(9):2817-2822.
141. **Kelly JW:** Amyloid fibril formation and protein misassembly: a structural quest for insights into amyloid and prion diseases. *Structure* 1997;5(5):595-600.
142. **Nichols WC, Dwulet FE, Liepnieks J, Benson MD:** Variant apolipoprotein AI as a major constituent of a human hereditary amyloid. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;156(2):762-768.

143. Gorevic PD, Munoz PC, Gorgone G, Purcell JJ Jr, Rodrigues M, Ghiso J, Levy E, Haltia M, Frangione B: Amyloidosis due to a mutation of the gelsolin gene in an American family with lattice corneal dystrophy type II. *N Engl J Med* 1991;325(35):1780-1785.
144. Levy E, Haltia M, Fernández-Madrid I, Koivunen O, Ghiso J, Prelli F, Frangione B: Mutation in gelsolin gene in Finnish hereditary amyloidosis. *J Exp Med* 1990;172(6):1865-1867.
145. De la Chapelle A, Tolvanen R, Boysen G, Santavy J, Bleeker-Wagemakers L, Maury CP, Kere J: Gelsolin-derived familial amyloidosis caused by asparagine or tyrosine substitution for aspartic acid at residue 187. *Nat Genet* 1992;2(2):157-160.
146. Wisniewski T, Golabek A, Kida E, Wisniewski K, Frangione B: Conformational mimicry in Alzheimer's disease. Role of apolipoproteins in amyloidogenesis. *Am J Pathol* 1995;147(2):238-244.
147. Benson MD, Liepnieks JJ, Yazaki M, Yamashita T, Hamidi Asl K, Guenther B, Kluge-Beckerman B: A new human hereditary amyloidosis: the result of a stop-codon mutation in the apolipoprotein AII gene. *Genomics* 2001;15;72(3):272-277.
148. Maury CP, Kere J, Tolvanen R, de la Chapelle A: Finnish hereditary amyloidosis is caused by a single nucleotide substitution in the gelsolin gene. *FEBS Lett* 1990;276(1-2):75-77.
149. Kiuru S: Gelsolin-related familial amyloidosis, Finnish type (FAF), and its variants found worldwide. *Amyloid* 1998;5(1):55-66.
150. Chen CD, Huff ME, Matteson J, Page L, Phillips R, Kelly JW, Balch WE: Furin initiates gelsolin familial amyloidosis in the Golgi through a defect in Ca^{2+} stabilization. *EMBO J* 2001;20(22):6277-6287.
151. Page LJ, Suk JY, Huff ME, Lim HJ, Venable J, Yates J, Kelly JW, Balch WE: Metalloendoprotease cleavage triggers gelsolin amyloidogenesis. *EMBO J* 2005;24:4124-4132.
152. Bhattacharya S, Latha JN, Kumresan R, Singh S: Cloning and expression of human islet amyloid polypeptide in cultured cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;356(3):622-628.
153. Westermark P: Amyloid and polypeptide hormones: what is their inter-relationship? *Amyloid* 1994;1:47-60.
154. Koopmans SJ, Radder JK, Krans HM, Barge RM: Biological action of pancreatic amylin: relationship with glucose metabolism, diabetes, obesity and calcium metabolism. *Neth J Med* 1992;41(1-2):82-89.
155. Cooper GJ, Day AJ, Willis AC, Roberts AN, Reid KB, Leighton B: Amylin and the amylin gene: structure, function and relationship to islet amyloid and to diabetes mellitus. *Biochim Biophys Acta* 1989;1014(3):247-258.
156. Edwards BJ, Morley JE: Amylin. *Life Sci* 1992;51(25):1899-1912.
157. Nilsson MR, Raleigh DP: Analysis of amylin cleavage products provides new insights into the amyloidogenic region of human amylin. *J Mol Biol* 1999;294(5):1375-1385.
158. Anguiano M, Nowak RJ, Lansbury Jr.: Protofibrillar islet amyloid polypeptide permeabilizes synthetic vesicles by a pore-like mechanism that may be relevant to type II diabetes. *Biochemistry* 2002;41(38):11338-11343.
159. Westermark P, Wernstedt C, Wilander E, Hayden DW, O'Brien TD, Johnson KH: Amyloid fibrils in human insulinoma and islets of Langerhans of the diabetic cat are derived from a neuropeptide-like protein also present in normal islet cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84(11):3881-3885.

160. Rosano C, Zuccotti S, Bolognesi M: The three-dimensional structure of b2 microglobulin: results from X ray crystallography. *Biochim Biophys Acta* 2005;1753(1):85-91.
161. Floege J, Ehlerding G: b2-Microglobulin-associated amyloidosis. *Nephron* 1996;72(1):9-26.
162. Gejyo F *et al.*: A new form of amyloid protein associated with chronic hemodialysis was identified as beta 2-microglobulin. *Biochem Biophys Res Commun* 1985;129(3):701-706.
163. Gouin-Charnet A, Mourad G, Argilés A: Alpha 2-macroglobulin protects some of the protein constituents of dialysis-associated amyloidosis from protease degradation. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;231(1):48-51.
164. Trinh CH, Smith DP, Kalverda AP, Philips SE, Radford S: Crystal structure of monomeric human b-2-microglobulin reveals clues to its amyloidogenic properties. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;99:9771-9776.
165. McParland VJ, Kad NM, Kalverda AP, Brown A, Kirwin-Jones P, Hunter MG, Sunde M, Radford SE: Partially unfolded states of b2-microglobulin amyloid formation *in vitro*. *Biochemistry* 2000;39(30):8735-8746.
166. Ohhashi Y, Hagihara Y, Kozhukh G, Hoshino M, Hasegawa K, Yamaguchi I, Naiki H, Goto Y: The intrachain disulfide bond of b2-microglobulin is not essential for the immunoglobulin fold at neutral pH, but is essential for amyloid fibril formation at acidic pH. *J Biochem* 2002;131(1):45-52.
167. Prusiner SB: Prion diseases and the BSE crisis. *Science* 1997;278(5336):245-251.
168. Cohen FE, Prusiner SB: Pathologic conformations of prion proteins. *Annu Rev Biochem* 1998;67:793-819.
169. Ghetti B, Piccardo P, Frangione B, Bugiani O, Giaccone G, Young K, Prelli F, Farlow MR, Dlouhy SR, Tagliavini F: Prion protein amyloidosis. *Brain Pathol* 1996;6(2):127-145.
170. Richardson EP, Masters CL: The nosology of Creutzfeldt-Jakob disease and conditions related to the accumulation of PrPCJD in the nervous system. *Brain Pathol* 1995;5(1):33-41.
171. De Armond SJ, Prusiner SB: Prion protein transgenes and the neuropathology in prion diseases. *Brain Pathol* 1995;5(1):77-89.
172. Giaccone G, Verga L, Bugiani O, Frangione B, Serban D, Prusiner SB, Farlow MR, Ghetti B, Tagliavini F: Prion protein preamyloid and amyloid deposits in Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease, Indiana kindred. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89(19):9349-9353.
173. Revesz T, Ghiso J, Lashley T, Plant G, Rostagno A, Frangione B, Holton JL: Cerebral amyloid angiopathies: a pathologic, biochemical, and genetic view. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003;62(9):885-898.
174. Liao YC, Lebo RV, Clawson GA, Smuckler EA: Human prion protein cDNA: molecular cloning, chromosomal mapping, and biological implications. *Science* 1986;233(4761):364-367.
175. Gasset M, Baldwin MA, Lloyd DH, Gabriel JM, Holtzman DM, Cohen F, Fletterick R, Prusiner SB: Predicted alpha-helical regions of the prion protein when synthesized as peptides form amyloid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89(22):10940-10944.
176. Prusiner SB: Molecular biology of prion diseases. *Science* 1991;252(5012):1515-1522.
177. Büeler H, Fischer M, Lang Y, Bluethmann H, Lipp HP, DeArmond SJ, Prusiner SB: Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell-surface PrP protein. *Nature* 1992;356(6370):577-582.

178. Pan KM, Baldwin M, Nguyen J, Gasset M, Serban A, Groth D, Mehlhorn I, Huang Z, Fletterick RJ, Cohen FE, Prusiner SB: Conversion of alpha-helices into beta-sheets features in the formation of the scrapie prion proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90(23):10962-10966.
179. Büeler H, Aguzzi A, Sailer A, Greiner RA, Autenried P, Aguet M, Weissmann C: Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. *Cell* 1993;73(7):1339-1347.
180. Jackson GS, Hosszu LLP, Power A, Hill AF, Kenney J, Saibil H, Craven CJ, Waltho JP, Clarke AR, Collinge J: Reversible Conversion of Monomeric Human Prion Protein Between Native and Fibrillogenic Conformations. *Science* 1999;283:1935-1937.
181. Fink AL: Protein aggregation: Folding aggregates, inclusion bodies and amyloid. *Fold Des* 1998;3(1):9-23.
182. Prusiner SB, McKinley MP, Bowman KA, Bolton DC, Bendheim PE, Groth DF, Glenner GG: Scrapie prions aggregate to form amyloid-like birefringent rods. *Cell* 1983;35:349-358.
183. De Armond SJ, McKinley MP, Barry RA, Braunfeld MB, McColloch JR, Prusiner SB: Identification of prion amyloid filaments in scrapie-infected brain. *Cell* 1985;41(1):221-235.
184. Wasmer C, Lange A, Van Melckebeke H, Siemer AB, Riek R, Meier BH: Amyloid fibrils of the HET-s(218-289) prion form a beta solenoid with a triangular hydrophobic core. *Science* 319:1523-1526 Erratum: *Science* 2008;320(5872):50.
185. Lindquist S: Mad cows meet Psychotic yeast: The expansion of the prion hypothesis. *Cell* 1997;89(4):495-498.
186. Wickner RB *et al.*: Prions of yeast and fungi. Proteins as genetic material. *J Biol Chem* 1999;274(2):555-558.
187. Glover JR *et al.*: Self-Seeded Fibers Formed by Sup35, the Protein Determinant of [PSI⁺], a Heritable Prion-like Factor of *S. cerevisiae*. *Cell* 1997;89(5):811-819.
188. King CY *et al.*: Prion-inducing domain 2-114 of yeast Sup35 protein transforms *in vitro* into amyloid-like filaments. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94(13):6618-6622.
189. Mackay JP, Matthews JM, Winefield RD, Mackay LG, Haverkamp RG, Templeton MD: The hydrophobin EAS is largely unstructured in solution and functions by forming amyloid-like structures. *Structure* 2001;9(2):83-91.
190. Coustou V, Deleu C, Saupe S, Begueret J: The protein product of the het-s heterokaryon incompatibility gene of the fungus *Podospora anserina* behaves as a prion analog. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94(18):9773-9778.
191. Berson JF, Theos AC, Harper DC, Tenza D, Raposo G, Marks MS: Proprotein convertase cleavage liberates a fibrillogenic fragment of a resident glycoprotein to initiate melanosome biogenesis. *J Cell Biol* 2003;161(3):521-533.
192. Fowler DM, Koulov AV, Alory-Jost C, Marks MS, Balch WE, Kelly JW: Functional amyloid formation within mammalian tissue. *PLoS Biol* 2006;4(1):e6.
193. Lee ZH, Hou L, Moellmann G, Kuklinska E, Antol K, Fraser M, Halaban R, Kwon BS: Characterization and subcellular localization of human Pmel 17/silver, a 110-kDa (pre)melanosomal membrane protein associated with 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA) converting activity. *J Invest Dermatol* 1996;106(4):605-610.
194. Cech TR: RNA as an enzyme. *Sci Am* 1986;255(5):64-75.
195. Csermely P: Proteins, RNAs and chaperones in enzyme evolution: a folding perspective. *Trends Biochem Sci* 1997;22:147-149.
196. Chiti F *et al.*: Designing conditions for *in vitro* formation of amyloid protofilaments and fibrils. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:3590-3594.

197. **Schwartz R, Istrail S, King J:** Frequencies of amino acid strings in globular protein sequences indicate suppression of blocks of consecutive hydrophobic residues. *Protein Sci* 2001;10(5):1023-1031.
198. **Chiti F, Taddei N, Baroni F, Capanni C, Stefani M, Ramponi G, Dobson CM:** Kinetic partitioning of protein folding and aggregation. *Nat Struct Biol* 2002;9(2):137-143.
199. **Richardson JS, Richardson DC:** Natural beta-sheet proteins use negative design to avoid edge-to-edge aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(5):2754-2759.
200. **Parrini C, Taddei N, Ramazzotti M, Degl'Innocenti D, Ramponi G, Dobson CM, Chiti F:** Glycine residues appear to be evolutionarily conserved for their ability to inhibit aggregation. *Structure* 2005;13(8):1143-1451.
201. **Dobson CM, Karplus M:** The fundamentals of protein folding: bringing together theory and experiment. *Curr Opin Struct Biol* 1999;9(1): 92-101.
202. **Perutz MF, Pope BJ, Owen D, Wanker EE, Scherzinger E:** Aggregation of proteins with expanded glutamine and alanine repeats of the glutamine-rich and asparagine-rich domains of Sup35 and of the amyloid beta-peptide of amyloid plaques. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(8):5596-5600.
203. **Luby-Phelps K:** Physical properties of cytoplasm. *Curr Opin Cell Biol* 1994;6(1):3-9.
204. **Eaton WA, Munoz V, Thompson PA, Henry ER, Hofrichter J:** Kinetics and dynamics of loops, α -helices, β -hairpins, and fast folding proteins. *Acc Chem Res* 1998;31:745-753.
205. **Shakhnovich E, Abkevich V, Ptitsyn O:** Conserved residues and the mechanism of protein folding. *Nature* 1996;379(6560):96-98.
206. **Wildegger G, Liemann S, Glockshuber R:** Extremely rapid folding of the C-terminal domain of the prion protein without kinetic intermediates. *Nat Struct Biol* 1999;6(6):550-553.
207. **Lansbury P:** Evolution of amyloid: What normal protein folding may tell us about fibrillogenesis and disease? *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:3342-3344.
208. **Seong SY, Matzinger P:** Hydrophobicity: an ancient damage-associated molecular pattern that initiates innate immune responses. *Nat Rev Immunol* 2004;4(6):469-478.
209. **Gross M, Wilkins DK, Pitkeathly MC, Chung EW, Higham C, Clark A, Dobson CM:** Formation of amyloid fibrils by peptides derived from the bacterial cold choque protein CspB. *Protein Sci* 1999;8(6):1350-1357.
210. **Krebs MR, Wilkins DK, Chung EW, Pitkeathly MC, Chamberlain AK, Zurdo J, Robinson CV, Dobson CM:** Formation and seeding of amyloid fibrils from wild-type hen lysozyme and a peptide fragment from the beta-domain. *J Mol Biol* 2000;300(3):541-549.
211. **Pertinhez TA, Bouchard M, Tomlinson EJ, Wain R, Ferguson SJ, Dobson CM, Smith LJ:** Amyloid fibril formation by a helical cytochrome. *FEBS Lett* 2001;495(3):184-186.
212. **Zurdo J, Guijarro JJ, Jiménez JL, Saibil HR, Dobson CM:** Dependence on solution conditions of aggregation and amyloid formation by an SH3 domain. *J Mol Biol* 2001;311(2):325-340.
213. **Srisailam S, Kumar TK, Rajalingam D, Kathir KM, Sheu HS, Jan FJ, Chao PC, Yu C:** Amyloid-like fibril formation in an all beta-barrel protein. Partially structured intermediate state(s) is a precursor for fibril formation. *J Biol Chem* 2003;278(20):17701-17709.

214. Fändrich M, Forge V, Buder K, Kittler M, Dobson CM, Diekmann S: Myoglobin forms amyloid fibrils by association of unfolded polypeptide segments. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(26):15463-15468.
215. Chapman MR, Robinson LS, Pinkner JS, Roth R, Heuser J, Hammar M, Normark S, Hultgren SJ: Role of *Escherichia coli* curli operons in directing amyloid fiber formation. *Science* 2002;295(5556):851-855.
216. Claessen D, Rink R, de Jong W, Siebring J, de Vreugd P, Boersma FG, Dijkhuizen L, Wosten HA: A novel class of secreted hydrophobic proteins is involved in aerial hyphae formation in *Streptomyces coelicolor* by forming amyloid-like fibrils. *Genes Dev* 2003;17(14):1714-1726.
217. King CY, Tittmann P, Gross H, Gebert R, Aebi M, Wüthrich K: Prion-inducing domain 2-114 of yeast Sup35 protein transforms *in vitro* into amyloid-like filaments. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94(13):6618-6622.
218. Ionomidou VA, Vriend G, Hamodrakas SJ: Amyloids protect the silkworm oocyte and embryo. *FEBS Lett* 2000;479(3):141-145.
219. Ionomidou VA, Chrysikos GD, Gionis V, Galanis AS, Cordopatis P, Hoenger A, Hamodrakas SJ: Amyloid fibril formation propensity is inherent into the hexapeptide tandemly repeating sequence of the central domain of silkworm chorion proteins of the A-family. *J Struct Biol* 2006;156(3):480-488.
220. Kobayashi T, Urabe K, Orlow SJ, Higashi K, Imokawa G, Kwon BS, Potterf B, Hearing VJ: The Pmel 17/silver locus protein. Characterization and investigation of its melanogenic function. *J Biol Chem* 1994;269(46):29198-29205.
221. Guijarro JI, Sunde M, Jones JA, Campbell ID, Dobson CM: Amyloid fibril formation by an SH3 domain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(8):4224-4228.
222. Wasmer C, Schütz A, Loquet A, Buhtz C, Greenwald J, Riek R, Böckmann A, Meier BH: The molecular organization of the fungal prion HET-s in its amyloid form. *J Mol Biol* 2009;394(1):119-127.
223. Ritter C, Maddelein ML, Siemer AB, Luhrs T, Ernst M, Meier BH, Saupe SJ, Riek R: Correlation of structural elements and infectivity of the HET-s prion. *Nature* 2005;435:844-848.
224. Fowler DM, Koulov AV, Balch WE, Kelly JW: Functional amyloid from bacteria to humans. *Trends Biochem Sci* 2007;32(5):217-224.
225. Puntervoll P *et al.*: ELM server: a new resource for investigating short functional sites in modular eukaryotic proteins. *Nucleic Acids Res* 2003;31(13):3625-3630.
226. Iakouchava LM *et al.*: The importance of intrinsic disorder for protein phosphorylation. *Nucleic Acids Res* 2004;32(3):1037-1049.
227. Diella F *et al.*: *BMC Bioinformatics* 2004;5:79.
228. Dyson HJ, Wright PE: Intrinsically unstructured proteins and their functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005;6(3):197-208.
229. Schulz GE: In *Molecular Mechanism of Biological Recognition* (Balaban, M., ed.) 1979;79-94 Elsevier.
230. Issaeva N *et al.*: Rescue of mutants of the tumor suppressor p53 in cancer cells by designed peptide. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(23):13303-13307.
231. Garner E *et al.*: *Genome Inform. Serv. Workshop Genome Inform* 1998;9:20-213.
232. Fuxreiter M *et al.*: Performed structural elements feature in partner recognition by intrinsically unstructured proteins. *J Mol Biol* 2004;338(5):1015-1026.
233. Oldfield CJ *et al.*: Coupled folding and binding with alpha helix-forming molecular recognition elements. *Biochemistry* 2005;44(37):12454-12470.

234. Estrada E: Virtual identification of essential proteins within the protein interaction network of yeast. *Proteomics* 2006;6(1):35-40.
235. Arkin M: Protein-protein interactions and cancer: small molecules going in for the kill. *Curr Opin Chem Biol* 2005;9:317-324.
236. Fry DC, Vassilev LT: Targeting protein-protein interactions for cancer therapy. *J Mol Med* 2005;83(12):955-963.
237. Chène P: Inhibition of the p53-MDM2 interaction: targeting a protein-protein interface. *Mol Cancer Res* 2004;2(1):20-28.
238. Vassilev LT *et al.*: *In vivo* activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2. *Science* 2004;303:844-848.
239. Anderson CW, Appella E: In *Handbook of Cell Signalling* (Bradshaw, RA and Dennis, EA ed). Academic Press 2004:237-247.
240. Wasylyk C *et al.*: p53 mediated death of cells overexpressing MDM2 by an inhibitor of MDM2 interaction with p53. *Oncogene* 1999;18:1921-1934.
241. Chene P: A small synthetic peptide, which inhibits the p53-hdm2 interaction, stimulates the p53 pathway in tumour cell lines. *J Mol Biol* 2000;299(1):245-253.
242. Böttger A *et al.*: Design of a synthetic MDM2-binding mini protein that activates the p53 response *in vivo*. *Curr Biol* 1997;7(11):860-869.
243. Vassilev LT: Small-molecule antagonists of p53-MDM2 binding: Research Tools and potential therapeutics. *Cell Cycle* 2004;3(4): 419-421.
244. Lipinski C, Hopkins A: Navigating chemical space for biology and medicine. *Nature* 2004;432:855-861.
245. Ellis RJ: Macromolecular crowding: An important but neglected aspect of the intracellular environment. *Curr Opin Struct Biol* 2001;11:114-119.
246. Stefani M: Protein Folding and Misfolding on Surfaces. *Int J Mol Sci* 2008;9:2515-2542.
247. Drews J, Ryser S: The role of innovation in drug development. *Nat Biotechnol* 1997;15(13):1318-1319.
248. Drews J: Drug discovery: a historical perspective. *Science* 2000;287(5460):1960-1964.
249. Cochran AG: Antagonists of protein-protein interactions. *Chem Biol* 2000;7(4): R85-R94.
250. Gribbin JR: Deep simplicity: bringing order to chaos and complexity. Random House, Inc., New York, 2004:1-304.
251. Edskes HK, Gray VT, Wickner RB: The [URE3] prion is an aggregated form of Ure2p that can be cured by overexpression of Ure2p fragments. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:1498-1503.
252. Wickner RB, Dyda F, Tycko R: Amyloid of Rnq1p, the basis of the [PIN+] prion, has a parallel in-register beta-sheet structure. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(7): 2403-2408.
253. Du Z, Park KW, Yu H, Fan Q, Li L: Newly identified prion linked to the chromatin remodeling factor Swi1 in *Saccharomyces cerevisiae*, *Nat Genet* 2008;40(4):460-465.
254. Patel BK, Gavin-Smyth J, Liebman SW: The yeast global transcriptional co-repressor protein Cyc8 can propagate as a prion. *Nat Cell Biol* 2009;11(3):344-349.
255. Kenney JM, Knight D, Wise MJ, Vollrath F: Amyloidogenic nature of spider silk. *Eur J Biochem* 2002;269(16):4159-63.

- 256. **Si K, Lindquist S, Kandel ER:** A neuronal isoform of the aplysia CPEB has prion-like properties. *Cell* 2003;115(7):879-891.
- 257. **DeLano WL:** The PyMOL Molecular Graphics System. DeLano Scientific, Palo Alto, CA, USA 2002. <http://www.pymol.org>
- 258. **Zhang Y, Stec B, Godzik A:** Between order and disorder in protein structures: analysis of “dual personality” fragments in proteins. *Structure* 2007;15(9):1141-1147.

Índice

NOTA: Los números de página en **negritas** indican cuadros y en *cursivas* corresponden a figuras

A

Abordaje farmacológico, 64

Acetilación, **15**

Ácido(s)

aspártico, 11

glutámico, 11, 44

nucleicos, 48

ribonucleico, 2

Acilación de proteínas, **15**

Activación transcripcional, 13

Actividad de transferencia de
lípidos, 18

β -adaptina, 28

AFF (amiloidosis familiar tipo-
finlandés), 41

Agente(s)

bloqueadores, 61

desnaturalizantes, 2

hidrofóbicos, 7

químicos, 2, 36

Agregación

amiloide, 32

proteica, 8, 13

Agregados moleculares, 8

Agrupamientos hidrofóbicos,
57

Agua, 7

Agua-agua, 5

Almidón, 34

Alvéolos pulmonares, **27**

Alzheimer, 63

combate del, 63

Ambiente(s)

- celular, 64
- altamente concentrado, 3, 32
- macromolecular saturado, 65

Amidas primarias, 32

Amilina, 38, 42

Amiloide(s), 23, **24**, 33

- aparición de, 31
- características, 33
- definición, 33
- depósito de, 38
- estabilización de, 34
- estructura fibrilar del tipo, 49
- formación de, 36, 49
- funcionales, **46**, 53, 66
- in vitro*, 36
- patológicos, 53, 66

Amiloidogénesis, 37

Amiloidosis, 38

- AA, **25**
- AL, **25**
- corneal asociada con triquiasis, **27**
- cutánea, **27**
- de inyección-localizada, **27**
- de nervios periféricos, 41
- debida a, apoA-I, **26**

apoA-IV, **26**hemodiálisis crónica, **25**lisozima, **26**en aurículas, **27**familiar tipo finlandés, **26**, 41

generalizadas, 38

iatrogénica, **27**

localizadas, 38

no-neuropáticas, **25**, **26**

relacionada,

apoA-II, **26**

diálisis, 43

fibrinógeno, **26**senil sistémica, **25**

sistémicas, 39

situada en la parte intermedia de aortas, **27**

Amino, 35

Aminoácido(s), 1

estructura tridimensional, 1

promotores, 11

puentes de hidrógeno, 5

secuencia, 33, 35, 49

primaria de, 56

Análisis

de las opciones terapéuticas, 62

mutacional, 64

por microarreglos, 65

Angiopatia amiloide, **24**

cerebral de tipo islandés, **26**
 PrP-cerebral, 44
 Ángulo
 de Brewster, 18
 de Ramachandran, 11
 Animales, **47**
 Antibióticos, 38
 Anticuerpos, 60
 en pacientes, 22
 α 1-antiquimiotripsina, 38
 Antitripsina- α 1, 23
Aplisia californica, **47**
 Apo-AII (apolipoproteína A-II), 41
 apoC-I (apolipoproteína C-I), 19
 Apolipoproteína(s), 18
 A-I, 19
 A-II, 41
 C-I, 19
 E, 38
 J, 38
 Apoptosis, 57
 regulación de, **15**
 Arginina, 11
 Archeobacterias, 14
 Arreglo molecular, 21
 Asparagina, **46**
 Ataxia espinocerebelar, **24**
 Aterogénesis, 19

Átomo
 de carbono, 11
 no ligados por enlaces, 4
 Atrofia
 hereditaria dentatorubra, **25**
 muscular espinobulbar, **25**
 Autoantígenos sistémicos nucleares, 22
 Autoasociación, 64

B

Bacteria, 14, **46**
 Balance de energía proteína-proteína, 5
 Banco de datos de proteínas, 11
 Base de datos genómicos, 57
 Bazo, 38
 Bibliotecas virtuales, 13
 Biología, 21, 61, 66
 funciones, 28
 Biomoléculas, 39, 60, 64
 Blanco farmacológico, 57
 Bloqueo de la nucleación, 61
Bombyx mori, **47**, 48

C

- Cadena ligera de inmunoglobulinas, **25**
- Cadena polipeptídica, 5, 7, 8, 39, 49, 66
- desplegada, 7
- estructura tridimensional, 1
- individual, 28
- interacciones hidrofóbicas, 1
- Campo
- de investigación, 3
- energético, 8
- de agregación de proteínas, 9
- del plegamiento, 6
- Cáncer, 20, 57
- de mama, 21
- en humanos, 21
- Carbono, 11
- Carboxilo, 35
- Carcinoma(s)
- adrenocorticales, 21
- medular de la tiroides, **27**
- Cardiomiopatía, 60
- amiloide, 60
- Catálisis biológica, 48
- Cataratas, **27**
- Célula(s)
- de microglia, 28, 40
- espumosas, 40
- eucariotas, 57
- falciformes, 31
- Centro de nucleación, 8
- Cerebro, espacio extracelular del, 41
- Chaperonas, 13, 31
- moleculares, 38
- patológicas, 38
- Chaplinas*, **46**
- Ciclina, 56
- Ciclo celular, 20, 57
- Ciencias químico-biológicas, 1
- Cinética del plegamiento, 4
- Citoesqueleto, 57
- Citotoxicidad, 28
- Coagulación sanguínea, 28
- Complejidad biológica, 66
- Complejo
- mayor de histocompatibilidad, 43
- proteína-proteína, 22
- Componente
- hereditario, 33
- hereditario, 33
- P, 38
- Concentración macromolecular, 65

Condición patológica, 23

Conformación

cis, 3

molecular, 18

trans, 3

Confórmeros, 3

Costo entrópico, 7

Crecimiento fibrilar, 37

Cristales, 8

Cuarteto proteico, 13

Cuerpos de Lewy, **24**, 31

Curli, 53

D

Database of Protein Disorder,
13

Datos

calorimétricos, 8

espectroscópicos, 8

Degradación

enzimática, 33

molecular, 66

Demencia

de cuerpos de Lewy, **24**

en personas de edad avanzada, 41

familiar,

británica, **25**

danesa, **25**

frontotemporal con Parkinsonismo, **24**

Depósito(s)

amiloides, 33

extracelulares, 23

fibrilares, 62

intracelulares, 23

Desarrollo

de escrapie, 44

de estrategias novedosas, 59

Desorden, 55

nuevo enfoque, 55

Diabetes, 22, 57

del adulto, 38

mellitus tipo II, **26**, 43

Digestión

de alimentos, 28

enzimática, 38

Dinámica molecular, 7, 31

Distrofia corneal, **26**, 41

hereditaria, **27**

Disulfuroisomerasas, 4

División celular, 45, 57

DNA

curvatura del, **15**

desenrollamiento del, **15**

mutación(es),

en la secuencia del, 23

genéticas, 20
Dominio nuclear de p53, 21

E

ECJ (enfermedades de Creutzfeld-Jakob), 39

EEB (encefalopatía espongi-
forme bovina), 39

Efecto(s)

citotóxicos, 52

hidrofóbico, 7

patológico de bajo nivel, 31

Eje central de átomos de car-
bono, 11

Embudo del plegamiento, 8

Empresa farmacéutica, 60

Encefalopatía(s)

espongiforme, **24**, 37, 44

bovina, 39

en ganado, 44

transmisible, 28

Endocitosis, 60

de células de microglia, 28

Endosoma, 51

Energía, 6

del sistema, 3

libre, 3

de Gibbs, 2

proteína-proteína, 5

Enfermedad(es)

amiloide, 61

amiloidótica, 31, 37

asociadas a la conformación
de proteínas, 59

autoinmunes, 57

autosómico dominantes, 33

cardiovasculares, 22, 57

conformacional, 23, 66

de agregación, 32, 62

de Alzheimer, 19, 23, 38

de inicio temprano, **24**

esporádica, **24**

familiar, **24**

de Creutzfeld-Jakob, 23,
24, 39, 44

de Gerstmann-Sträusler-
Scheiker, 44

de Huntington, **24**

de Parkinson, **24**, 31, 39

degenerativas, 22

del tipo amiloidótico, 32

esporádicas, 33

humanas, formación de
agregados, 22, 33

extracelulares, **24**

intracelulares, **24**

localizadas no-neuropáti-
cas, **26**, **27**

- neurodegenerativas, 24, 25
- neurológicas, 23
- por plegamiento anómalo
 - de proteínas, 32
- priónicas, 32, 39, 43
- relacionadas,
 - con amiloides, 28, 37
 - con el plegamiento, 31
- sistémicas, 23
 - autoinmunes, 22
- Enlaces covalentes, 4
- Ensamblaje
 - helicoidal, 37
 - molecular, 13
- Entálpico, 3, 5
- Entropía del estado desplegado, 7
- Entrópico, 3, 5
- Envejecimiento, 23, 62
- Enzima(s)
 - de 124 aminoácidos, 2
 - desplegamiento de, 5
 - furina, 41
- Escala(s)
 - de tiempo,
 - del microsegundo al milisegundo, 7
 - fisiológico, 3
 - proteómica, 55
- Esclerosis lateral amiotrófica, 24
- Escrapie, 44
- Escherichia coli*, 46, 53
- Espacio
 - celular, 33
 - extracelular, 40
- Especies oligoméricas, 61
- Espectrometría de masas, 64
- Espectroscopia, 7
 - por resonancia magnética nuclear, 7
- Esporas, 53
- Esqueleto de carbono, 12
- Estado(s)
 - conformacionales, 8, 37
 - de agregación, 6, 23
 - de colapso hidrofóbico, 7
 - de glóbulo fundido, 11
 - desplegado, 5, 6, 32
 - energéticamente desordenados, 5
 - funcional, 1
 - globular, 32
 - nativo, 2, 59
 - patológico, 21
 - plegado, 5
 - random-coil*, 5
 - termodinámico, 54
- Ésteres de colesterol, 19
- Estrategias farmacológicas, 59
- Estrés
 - estructural, 36

oxidativo celular, 41
 Estructura(s)
 α -helicoidal, 32
 amiloides, 28, 32, 37, 52
 amiloidogénicas, 31
 amorfas, 28
 fibrilares, 39
 autoensamblaje, 39
 poliédricas, 7
 supramoleculares, 34
 Estudio(s)
 de dicroísmo circular, 44
 de difracción, 37
 del plegamiento, 8
 en péptidos, 31
 Eucariontes, 14, 57
 Expresión génica, 45

F

Fármaco(s)
 consideraciones en desarrollo, 64
 descubrimiento de, 64
 tafamidis, 60
 Fenómeno

 de agregación, 31
 de cooperatividad, 50
 de nucleación, 31
 del plegamiento, 5
 patológicos, 22
 Fibra(s), 8
 amiloides, 19, 23, 28, 32, 33, 60
 conformación funcional
 ampliamente extendida, 52
 formación de, 63
 mecanismo de, 63
 por microscopia electrónica, 35
 Fibrilogénesis, 39, 54
 Fibrillas, 37
 amiloides, 66
 del dominio SH3, 37
 Fibrinógeno, 26
 Fibrosis quística, 31
 Fiebre mediterránea familiar, 25
 Fluido cerebroespinal, 39
Food and Drug Administration (FDA), 65
 Fosfolipasa, 19
 Fosforilación, 13, 16
 de proteincinasas, 55
 Fragmento proteolítico del
 prión humano, 40

Función
 detergente, 16
 proteica, 22
 Fungi, 46

G

GAG (glucosaminoglicano sulfatados), 38
 Ganado bovino, 2
 Gel viscoso, 37
 Gelificación de polímeros, 37
 Gelsolina, 41
 Genes, 20
 Genoma
 enteros, 14
 guardián del, 20
 humano, 37
 Glicina/prolina, 44
 Glóbulos
 fundidos, 1, 37
 prefundidos, 12
 Glicolípido glicosilfosfatidilinositol, 44
 Glucosa, metabolismo, 42
 Glicosaminoglicanos, 34
 sulfatados, 38

Glicosilación, 15
 Glutamina, 11, 46
 GPI (glicolípido glicosilfosfatidilinositol), 44
 Grupos hidrofóbicos, 7
 Guardián del genoma, 20

H

Hemodiálisis, 60
 crónica, 25
 Hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis, 27
 Hepatectomía parcial, 61
 Hexapéptido, 14
 Hidrofobicidad, 32, 50
 Hidrofobinas, 45
 Hidrógeno, 1
 Hidropatía global baja, 11
 Hifas, 46
 aéreas, 53
 Hígado, 38
 de reemplazo, 61
 transplante de, 61
 Hoja- β plegada, 33
 Homeostasis, 62
 celular, 64

en eucariontes, 57
Homo sapiens, 47
 Homotetrámero, 60
 Hongos, 14
 filamentosos, 45
 Hormona tiroxina, 41

I

IAPP (polipéptido islote-
 amiloideo), 35, 42
 Imagen de desorden, 7
 Industria farmacéutica, 65
 Infecciones crónicas, 38
 Inflamación, 60
 Información genética, 48
 Inhibidor estaurosporina, 56
 Insomnio familiar fatal, 24,
 39, 44
 Insuficiencia renal, 43
 Interacción(es)
 de van der Waals, 4
 electrostáticas débiles, 4
 iónicas, 4
 no nativas proteína-proteí-
 na, 8

proteína-lípido, 16
 proteína-proteína, 57
 RNA-RNA, 14
 Interactoma, 66
 Interfase(s)
 aire/agua, 18
 lípido/agua, 18
 Iones metálicos, 38
 Islotes de Langerhans, 38
 depósitos amiloides en, 43

K

Kuru, 24

L

LCAT (lecitincolesterol acil-
 transferasa), 19
 Lenguaje aberrante, 22
 Lepra, 38
 Lesiones ateroscleróticas, 40
 Leucemias, 21

Lipasa hepática, 19

Lípido(s)

actividad de transferencia
de, 18

autointercambio, 18

Lipoproteínas, 19

de baja densidad-acetiladas,
40

Lisina, 11

Lisomas, 51, 60

Lisozima, 26, 39

M

Macromoléculas, 38

Malaria, 38

Mantenimiento celular, 62

mecanismos de, 62

Mapa de Ramachandran, 3

Materia de salud, 59

Material genético, 45

Matriz acuosa, 1

Medicina, 1

Melanina, 53

Membranas celulares, 38

Metabolitos, 64

Metaloproteasa, 42

Metilación, 15

Metionina, 11

Metionina/valina, 44

Método

de consenso a genomas
enteros, 14

de tamizaje, 61

Microambiente, 14, 19, 28,
60

propiedades fisicoquímicas
del, 29

proteínico, 33

β 2 microglobulina, 43

Microscopia

crioelectrónica, 37

de fuerza atómica, 18

electrónica, 35, 37

Microsegundo, 3, 4

Miositis asociada a cuerpos
de inclusión, 27

Modelo

de cono entrópico, 5

del cuarteto de transición
estructural de proteínas,
12

del embudo, 5

Molécula(s), 1

accesorias, 52

amiloidofilicas tioflavina, 44
 anfífilicas, 34
 con potencial farmacológico, 65
 chaperonas, 17
 de agua, 7, 32
 glucosídicas, 34
 inhibidoras, 35
 intermediarias, 4
 peptídica, 53
 pequeñas, 60
 quelantes, 13
 tetramérica, 41
 Monocapas de Langmuir, 18
 Monómero de transtiterina, 42
 α -MoRE, 57
 Mortero estructural, 16
 Mutaciones genéticas, 20, 23
 Mutagénesis, 35

N

Nephila edulis, 47, 48
 Nervios periféricos, 41

Neuropatía, 26
 craneal progresiva, 41
 Neurospora *crassa*, 45, 46
 Nivel
 entálpico, 7
 entrópico, 7
 Nucleación, 61
 Núcleo
 proteico, 7
 triangular hidrofóbico, 53
 Nucleocápside, 17
 Nuevos fármacos, 55

O

Oligomerización, 35
 Oligómeros, 6, 41, 62
 pequeños, 28
 Organelos celulares separados, 28
 Organismo(s)
 eucarióticos, 14
 multicelulares, 14
 Origen de las especies, 49
 Ovocito, 53

P

- Padecimientos neurodegenerativos, 57
- PAF (polineuropatía amiloide-familiar), 25
- 1-Palidoluysiana, 25
- Paludismo, 31
- Paradoja de Levinthal, 3
- Parkinsonismo, 24
- Partículas lipoproteicas, 19
- Patogénesis, 38
- PDB (banco de datos de proteínas), 11
- Peptidil-prolina-isomerasas, 3
- Péptido(s)
 - β -amiloide, 39
 - βA_{25-35} , 28
 - de poliglutamina, 31
 - intrínsecamente desordenado, 56
- Pérdida entrópica, 6
- Periodo de microsegundos, 8
- pH
 - bajos, 36
 - muy bajos, 51
- Pico entrópico, 15
- Placas amiloides, 31
- Plegamiento, 5, 23
 - anómalo de proteínas, 23
 - globular, 8
 - incompleto, 8
 - nativo, 38
 - velocidad del, 8
- Podospora anserina*, 45, 46, 53
- Poliedros, 7
 - de alto orden, 7
- Poliglutamina monomérica, 31
- Polimerización, 16
 - de melanina, 48, 53
- Polineuropatía, 23, 60
- Polineuropatía amiloide-familiar (PAF), 25, 41
- Polipéptido(s)
 - desplegado, 2
 - islote-amiloideo, 35, 42
- Potencial amiloidogénico, 33
- Priones, 39, 43
 - de hongos, 48
 - en levaduras, 44, 48
- Proceso(s)
 - biológicos, 28
 - celulares, 57, 60
 - de plegamiento, 4
 - de tipo amiloidótico, 19

- del todo o nada, 8
- evolutivos, 3
- Programa computacional
 - PONDR®, 14
- Prolactinomas, 27
 - de glándula pituitaria asociados al envejecimiento, 27
- Proliferación celular, 20
 - desarrollo de, 20
- Prolina, 3, 11
 - residuos de, 50
- Proteasoma, 32
- Proteína-agua, 4
- Proteína-amiloidogénica, 33
- Proteína-DNA, 13
- Proteína-proteína, 3, 4
- Proteína-RNA, 13
 - interacción, 14
- Proteína-solvente, 3
- Proteína(s), 1
 - accesorias, 50, 57
 - acilación de, 15
 - agregación, 60
 - anómala, 62
 - agregadas, 32
 - agua en los alrededores de, 7
 - AI, 18
 - altamente ordenadas, 11
 - amiloide, 33
 - sérica, 62
 - amiloidogénicas, 60
 - aminoácido de secuencia
 - primaria, 34
 - anormales, 33
 - anticongelantes, 61
 - autoensamblaje aberrante
 - de, 33
 - bacterianas, 57
 - banco de datos de, 11
 - básica mielina, 13
 - blanco, 60
 - campo energético de agregación, 9
 - catalizadores del plegamiento, 38
 - CDK2, 56
 - CI, 18
 - con 1 269 regiones desordenadas, 13
 - con plegamiento nativo, 31
 - consideraciones termodinámicas, 1
 - chaplinas, 53
 - dañadas, 38
 - de aminoácidos, 3, 17
 - de choque térmico, 64

- de organismos eucarióticos, 14
- de regulación, 14
- de señalización celular, 14
- de unión a DNA, 16
- de unión a lípidos, 17
 - relación estructura-función, 17
- de unión a RNA, 16
- de vida extracelular, 4
- del corion, 53
- del huésped, 53
- desarrollo de agregados, 61
- desorden en, 11
- desordenadas, 11
 - descripción de, 11
 - enfermedad y, 21
 - funciones específicas asociadas a, 15
- desplegada, 5
- en forma soluble, 33
- enfermedades asociadas a la conformación de, 59
 - estrategias farmacológicas, 59
 - tratamiento, 59
- enfermedades conformacional y, 23
- estabilidad de, 4
 - global de, 4
- estabilización del estado nativo, 59
- estado nativo, 3, 59
- estructura,
 - nativa *in vitro*, 1
 - secundaria, 5
 - tridimensional, 1, 2, 55
- eucariotas, 22, 57
- evolución, 37, 49
- extracitoplásmicas, 52
- facilitadoras del plegamiento, 2
- familia de chaperonas facilitadoras, 1
- fenómeno del plegamiento, 1
- funciones asociadas a, 13
- gelsolina, 41
- globulares, 6, 59
 - desplegadas, 59
- grupos polares, 7
- homotetramérica, 59
- interacciones,
 - de enlace, 3
 - electrostáticas, 4
 - no covalentes, 4
- intrínsecamente desordenadas, 11, 32, 55

- juego sofisticado de, 66
- mal plegadas, 38
- modelo, 31
- nativamente desordenadas, 32
- NCp7, 17
- ordenadas, 55
- p53, 20, 56
- paradoja de Levinthal, 3
- parcialmente degradadas, 28
- películas de, 18
- pentamérica, 62
- plasmática, 41
- plegadas incompletas, 28
- plegamiento de, 1, 3, 33, 49, 64
 - anómalo, 23, 34
- precursora, 33, 38
- priónica,
 - celular, 44
 - humana, 44
- PrP, 31
- puentes de hidrógeno, 1
- regiones,
 - desordenadas, 13
 - flexibles, 56
- ribonucleasa, 2
- señalización y regulación, 14
- supresora de tumores p53, 20, 57
- teoría fisicoquímica del plegamiento, 5
- transferidora de ésteres de colesterol, 19
- transiciones desorden-al-orden, 19
- transmembranal, 40
- transtiretina, 41
- Proteincinasas, 55
- Proteinosis de alvéolos pulmonares, 27
- Proteoglicanos sulfatados, 38
- Proteólisis, 16, 50
 - aberrante, 41
- Proteoma, 14, 22, 37
- Protofilamentos, 34
- Puente(s)
 - de hidrógeno, 1, 4
 - interacciones, 54
 - intermoleculares, 54
 - intracatenarios, 5
 - proteína-agua, 7
- disulfuro, 4
 - no nativos, 4
- salinos, 4

R

Ratones *knockout*, 44
 Rayos X, 35
 Reacción química, 34
 Reconocimiento molecular, 13
 Redes proteicas celulares, 64
 Regiones
 hidrofóbicas, 52
 N-terminal del tripsinógeno, 14
 Regulación celular, 14
 Relación proteica, estructura-función, 12, 17
 Reloj entrópico, 15
 Representación
 de monocapas de Langmuir, 18
 estructural de los péptidos, 36
 Residuos
 hidrofílicos, 50
 hidrofóbicos, 1, 7, 52, 59
 consecutivos, 50
 polares, 1
 Resonancia magnética nuclear, 7, 35

Retículo endoplásmico, 38, 63
 rugoso, 19
 Ribonucleasa, 2
 Ribosilación, 15
 Ribosoma, 63
 Riñones, 38
 RMN (resonancia magnética nuclear), 7, 35
 RNA (ácido ribonucleico), 2
 función del, 14
 metabolismo celular del, 14
 RNA-chaperonas, 14
 RNA-proteína, 14
 RNAasa (proteína ribonucleasa), 2
 Rotamasas, 3

S

Saccharomyces cerevisiae, 44, 46
Salmonella, 46
 Salto entrópico, 15
 SAP (proteína amiloide sérica), 62

Sarcomas, 21

Saturación macromolecular,
65

Secretasas

α , 40

β , 40

γ , 40

Secuencias

peptídicas, 28

polipeptídicas, 14

Serina, 11

Sialoglucoproteína, 44

Síndrome

de Gerstmann-Sträusler-
Scheiker, **24**

de Li-Fraumeni, 21

α -Sinucleína, 31, 54

Sistema

biológicos, 23, 32, 52

de alerta evolutivo, 51

p53, 20

químicos, 5

Sitio DisProt, 13

β -solenoide, 53

Soluto, 7

Streptomyces coelicolor, **46**, 53

T

Tafamidis, 60

Técnica(s)

de RMN, 35

espectroscópicas, 64

fluorométricas, 64

Tejido

nervioso periférico, 60

pancreático, 2

Teoría fisicoquímica del ple-
gamiento de proteínas, 5

Terapia génica, 61

Tioflavina-T, 34

Tiroides, **27**

Tomografía computarizada,
62

Toxicidad, 31

Transiciones desorden-al-
orden, 22

Transplante de hígado, 61

Transtiretina (TTR), 39, 41, 59

Trastorno(s)

autosómico-dominantes,
41

crónico-neurodegenerati-
vos, 43

neurológicos, 59
 sistémicos, 59
 Tripsina, 14
 funcional, 14
 Tripsinógeno, 14
 Triquiiasis, 27
 Tuberculosis, 38
 Tumor(es)
 neoplásicos, 38
 p53, 20, 57

U

Unfoldome, 22
 Unión(es)
 a cofactores, 15
 a DNA, 13
 a ligandos, 13
 a metales, 13, 15
 a sustrato/ligando, 16
 intermolecular, 60
 proteína-mRNA, 16
 proteína-proteína, 13, 57

proteína-rRNA, 16
 proteína-tRNA, 16
 Universo, 3

V

Valor entrópico, 6
 Virus VIH, 17
 Vitamina A, 41, 59

Y

Yodo, 34

Z

Zonas estéricas, 3

Notas...

Notas...

Notas...

Notas...

Notas...

Notas...

Notas...

Notas...

Esta obra, El concepto de enfermedad asociado a la conformación de proteínas, ha sido publicada por Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V., el 31 de agosto de 2012.

Se imprimó en prensa plana en los talleres gráficos de Fuentes Impresores, S.A. de C.V., Centeno 109, Col. Granjas Esmeralda, Del. Iztapalapa, C.P. 09810, México, D. F.

El tiraje consta de 400 ejemplares de 16.5 x 23 cm, con 120 páginas cada uno, a cuatro tintas, encuadernación pasta blanda. En su composición se utilizó la familia Berling Roman de 9, 10, 11 y 12 puntos, y Arial de 12, 26 y 55 puntos.

Se empleó papel couché de 80 gramos para páginas interiores y cartulina couché brillante de 2 caras y 300 g para los forros.

1ª edición, 2012



El concepto de enfermedad asociado a la conformación de proteínas es una obra que explora la relación entre la estructura de las proteínas, su función y la manifestación de sus alteraciones en padecimientos clínicos.

Los organismos superiores pueden llegar a tener muchos miles de tipos diferentes de proteínas y su función estar ligada de forma estrecha a su conformación o estructura tridimensional. De esta forma, las alteraciones en la manera en la que llevan a cabo su plegamiento para llegar a su forma termodinámica más estable, pueden estar directamente ligadas al desarrollo de enfermedad. El plegamiento es el mecanismo mediante el cual proteínas recién sintetizadas adquieren su estado nativo funcional; en condiciones normales, aquellas proteínas con defectos en el plegamiento son eliminadas por diversos sistemas especializados en la célula. Sin embargo, bajo condiciones específicas algunas escapan a esta eliminación y pueden conducir al desarrollo de enfermedades caracterizadas por el depósito de agregados moleculares entre los cuales se encuentran los amiloides. Por otro lado, algunos tipos de padecimientos se relacionan con diversas modificaciones génicas que condicionan el plegamiento incorrecto de las proteínas. En gran medida, estos dos grupos de enfermedades caracterizan las condiciones fisiopatológicas asociadas a los defectos en el plegamiento de proteínas. Esta obra dirigida tanto al investigador básico como al investigador clínico, pretende estimular el tan necesario acercamiento entre estas dos esferas de trabajo, así como la imaginación de nuestros jóvenes estudiantes de posgrado.

Mas Oliva y García González han realizado un notable trabajo vertiendo su amplia experiencia en el estudio de la bioquímica de las proteínas aplicado al desarrollo de una verdadera medicina científica en el inicio de este nuevo siglo.

Títulos afines:

- **Lizcano;** Fundamentos moleculares en medicina.
- **Laguna, Piña, Martínez;** Bioquímica de Laguna, 6ª edición corregida y aumentada
- **Pratt, Cornely;** Bioquímica

El concepto de enfermedad asociado a la conformación de proteínas



www.manualmoderno.com

