

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA**

**ENFERMEDADES CONFORMACIONALES EN PEDIATRIA**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA**

**JAVIER MARTÍNEZ BAUTISTA**

**PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN**

**PEDIATRIA MÉDICA**

**TUTORES DE TESIS: MYRIAM M. ALTAMIRANO BUSTAMANTE Y  
NELLY ALTAMIRANO BUSTAMANTE**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## ENFERMEDADES CONFORMACIONALES EN PEDIATRIA

---

Dr. José Reynes Manzur  
Director de Enseñanza

---

Dra. Mirella Vázquez Rivera  
Jefe del departamento de pre y posgrado

---

Dra. Nelly Altamirano Bustamante  
Tutor del trabajo de fin de curso

---

Dra. Myriam M. Altamirano Bustamante

## INDICE

<b>I.</b>	<b>RESUMEN</b>	4.
<b>II.</b>	<b>INTRODUCCION</b>	5.
<b>III.</b>	<b>JUSTIFICACION</b>	7.
<b>IV.</b>	<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	7.
<b>V.</b>	<b>OBJETIVO GENERAL</b>	7.
<b>VI.</b>	<b>HIPOTESIS</b>	8.
<b>VII.</b>	<b>MATERIAL Y METODOS</b>	8.
<b>VIII.</b>	<b>ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LAS PROTEÍNAS</b>	9
	Los péptidos y el enlace peptídico	12.
	Clasificación de las proteínas	13.
	Funciones de las Proteínas	13.
	Los cuatro tipos de estructura de las proteínas	15.
	Estructura nativa y no nativa de las proteínas	23.
	Desnaturalización y plegamiento de proteínas	24.
	Plegamiento de las proteínas	25.
<b>IX.</b>	<b>ENFERMEDADES CONFORMACIONALES</b>	
	Mecanismos de regulación	30.
	Familias de las serpinas	31.
	Citotoxicidad	33.
	Enfermedades conformacionales en pediatría	33.
<b>X.</b>	<b>AMILOIDOSIS</b>	
	Historia	40.
	Definición	46.
	Epidemiología	46.
	Patogenia	46.
	Cuadro clínico	48.
	Diagnostico	54.
	Tratamiento	54.
	Pronostico	55.
<b>XI.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	57.
<b>XII.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	59.

# ENFERMEDADES CONFORMACIONALES EN PEDIATRIA

## I. RESUMEN

Las proteínas son las macromoléculas de la acción, desempeñan funciones cruciales para la vida de las células, son las responsables de la defensa contra las infecciones, catalizan las reacciones químicas, son parte de la estructura celular, etc. Las proteínas están formadas por aminoácidos que se unen y forman una secuencia específica que está codificada en el genoma y se conoce como estructura primaria. Las proteínas se pliegan rápida y espontáneamente, aunque algunas requieren ayuda de otras macromoléculas conocidas como chaperonas, las proteínas al plegarse adquieren su conformación tridimensional o estado nativo, que determina su función.

Los errores en el plegamiento de las proteínas desencadenan un proceso de agregación que da como resultado enfermedades que tienen una base fisiopatológica común a nivel molecular, que son las enfermedades conformacionales.

¿Cómo se pliegan las proteínas? ¿cuáles son las reglas del plegamiento? ¿En que consiste el proceso de agregación de las proteínas? ¿cuáles son los mecanismos celulares que previenen o evitan el proceso de agregación? Son preguntas abiertas en la interface entre la biología, la química, la física y la medicina molecular.

En esta tesis hacemos una revisión bibliográfica de los mecanismos moleculares del plegamiento y del plegamiento incorrecto de las proteínas y su relación con las enfermedades conformacionales en edad pediátrica.

El conocimiento de los mecanismos de plegamiento y de los errores en el plegamiento de las proteínas es crucial para entender la fisiopatología de dichas enfermedades y poder plantear rutas críticas de diagnóstico y tratamiento oportuno.

# ENFERMEDADES CONFORMACIONALES EN PEDIATRIA

## II. INTRODUCCION

Las proteínas son las macromoléculas de la acción y de la Medicina molecular del milenio, con veinte aminoácidos diferentes en su estructura primaria, pueden adquirir conformaciones tridimensionales variables, existen más de 40000 diferentes tipos de proteínas, que despliegan diversas funciones biológicas, a saber, enzimas, receptores, hormonas y anticuerpos entre otras.

La relación estructura-función, es uno de los principales temas de estudio en las investigaciones en el área de proteínas. Los dos cuellos de botella en la ciencia de las proteínas son: a). La necesidad de nuevos biocatalizadores no existentes en la naturaleza o el perfeccionamiento de las proteínas naturales.

El desafío actual es lograr tomar lecciones de la naturaleza para poder imitar y recrear los fenómenos naturales en el laboratorio, para entenderlos, ser capaces de controlarlos y potencialmente perfeccionarlos o re-diseñarlos.

Una cadena polipeptídica recién sintetizada para transformarse en una proteína bien plegada y activa, depende de su secuencia de aminoácidos y del microambiente celular, lleno de otras tantas proteínas, lípidos, sales, etc. Los errores en el plegamiento y la agregación (aglutinación) de proteínas mal plegadas que escapan al estricto control celular, es un factor común de un amplio grupo de enfermedades (como las enfermedades neurodegenerativas: Mal de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer), crónicas ( Diabetes mellitas [1], amiloidosis relacionadas con las hemodiálisis y amiloidosis prostática) [2]. Estas enfermedades son altamente incapacitantes y representan un gran costo social y económico. [3]

La aglutinación y atrincheramiento de proteínas mal plegadas es altamente tóxica para las células vivas [4]. La respuesta a preguntas tales cómo ¿ Porqué las proteínas naturales solubles comienzan a desplegarse? ¿Cuál es el mecanismo a través del cual los oligómeros con errores en el plegamiento inician el proceso de disfunción celular? ¿Cuáles son las condiciones intracelulares que aceleran o afectan a las proteínas naturales e inducen la aglutinación de las proteínas? revolucionarán la medicina del siglo XXI.

Los conocimientos y la experiencia experimental obtenidas en los estudios fisicoquímicos del plegamiento y de replegamiento de proteínas recombinantes in Vitro [3, 5] , nos permite concluir que cualquier proteína natural tiene la posibilidad de presentar errores en su plegamiento y por ende en la adquisición de su conformación activa [6-8] ; esto implica que la mayoría de las proteínas potencialmente pueden formar fibras amiloideas. Los estudios recientes del grupo del Dr. Dobson [9], en dónde se demuestra que proteínas mal plegadas, no relacionadas con la enfermedad, son tóxicas para las células, confirma que la base fisiopatológica, son los errores en el plegamiento y la aglutinación de macromoléculas proteicas [5, 10-12].

Los organismos poseen una compleja maquinaria celular que se encarga del control fino del plegamiento correcto o en su caso de la degradación de las proteínas mal plegadas. Las chaperonas, foldasas juegan un papel fundamental en la adquisición correcta de la estructura tridimensional de muchas proteínas celulares.

En esta tesis presentamos el estado de arte en esta nueva área de frontera que son las enfermedades conformacionales [13], de especial interés para nosotros son las enfermedades conformacionales [14] que se presentan en la edad pediátrica, que es un campo aún no explorado. Para enfrentar el desafío de dilucidar los mecanismos moleculares de las enfermedades conformacionales [15], su diagnóstico y su tratamiento hemos realizado una exhaustiva revisión bibliográfica, una lectura crítica de las mismas y una discusión transfuncional de los resultados. Iniciamos el análisis con una descripción detallada de la estructura y función de proteínas, lo que redundará en un mayor conocimiento de la bases fisiopatológicas de las enfermedades conformacionales. Damos especial énfasis a una de las manifestaciones más exacerbada de la enfermedad como es la amiloidosis. La descripción de las 10 enfermedades conformacionales más comunes en pediatría es la piedra de toque para analizar el porqué los pediatras tienen que saber diagnosticar y tratar estas viejas enfermedades en su nuevo análisis fisiopatológico.

#### **IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Las enfermedades conformacionales en edades pediátricas no han sido estudiadas, se conocen más las asociadas a las edades adultas, sin embargo las enfermedades congénitas, y las enfermedades endócrinas como la diabetes mellitus tipo I y II, y el cáncer son una realidad. El desconocimiento de las mismas como parte de las enfermedades conformacionales retrasa el conocimiento y condiciona un desfase del tratamiento en su causa molecular fundamental.



## **OBJETIVO GENERAL**

1. Conocer el estado del arte de las enfermedades conformacionales mediante un análisis sistemático de la literatura científica.

## **HIPOTESIS**

Las enfermedades conformacionales existen desde la edad pediátrica por lo que es necesario realizar un estudio descriptivo de las mismas.

## **JUSTIFICACION**

En la era postgenómica o también conocida como la era proteómica, las proteínas, sus modificaciones post-transcripcionales y su regulación por el microambiente son las protagonistas.

El 95% de las enfermedades humanas son el resultado de las alteraciones socio-ambientales y no de las alteraciones genéticas. Por lo tanto la medicina genómica queda rebasada y por tal motivo ha surgido una nueva área de frontera que es la Medicina Proteómica. El proteoma humano es mucho más complejo porque es individual y es directamente dependiente de factores socio-ambientales. Se han descrito proteínas que desde el punto de vista de su secuencia son idénticas, pero dependiendo de su localización celular tienen diferente función.

Muchas de las enfermedades tienen como vectores desencadenantes la desnaturalización o desplegamiento de proteínas claves que inducen en forma cooperativa el cambio conformacional de las proteínas tisulares y se crean agregados moleculares.

Las enfermedades como el cáncer y las enfermedades inmunológicas-endocrinas tales como la diabetes mellitus, artritis reumatoide juvenil, fibrosis quística y cáncer en edad pediátrica todas ellas relacionadas con el plegamiento de las proteínas serán nuestras prioridades.

## **MATERIAL Y METODOS**

La base metodológica fundamental esta constituida por dos pivotes principales, la revisión de material bibliográfico con una visión transfuional y los grupos de discusión entre los miembros del equipo que tienen una formación multidisciplinaria. Se realizaron búsquedas bibliográficas en las bases de datos EBSCO Host, ProQuest, Medline y Scirus, cubriendo el período 1990-2006. Se cruzarán los siguientes términos: conformational diseases, folding and disease, unfolding and disease, amyloidosis, Huntington's disease, B-amiloid protein, alpha1-antritrypsin deficiency in childhood, sickle cell anemia

Los criterios de inclusión fueron las enfermedades conformacionales de la edad pediátrica. El criterio de exclusión fueron las enfermedades conformacionales de la edad adulta y del anciano.

## RESULTADOS

### 8. Estructura y Función de Proteínas

El término de proteína deriva de la palabra griega *protos*, que significa “primero” o “primario”. El 90% del peso corporal es proteína. La proteína más abundante en el cuerpo humano es la colágena, que es el componente del tejido conectivo. [16], [17], [18, 19], [20].

Los aminoácidos son las unidades elementales de las proteínas, se caracterizan por poseer un grupo carboxilo (-COOH) y un grupo amino (-NH<sub>2</sub>). Fig.



Figura 1: estructura de aminoácidos [21].

Los aminoácidos tienen cuatro sustituyentes diferentes: un grupo carboxilo, uno amino, un hidrógeno, y una cadena lateral característica llamada R (cadena lateral). Excepto la glicina, que no tiene un átomo de carbono quiral (un átomo de carbono con cuatro sustituyentes diferentes). La glicina es el aminoácido más simple. La glicina contiene unidos al carbono alfa un grupo amino cargado positivamente, un grupo carboxilo cargado negativamente y dos hidrógenos. Fig 2.

De los 20 aminoácidos, ocho resultan indispensables (o esenciales) para la vida humana y dos resultan “semiindispensables” [18]. En la figura 2 se observa la estructura de los 20 aminoácidos.

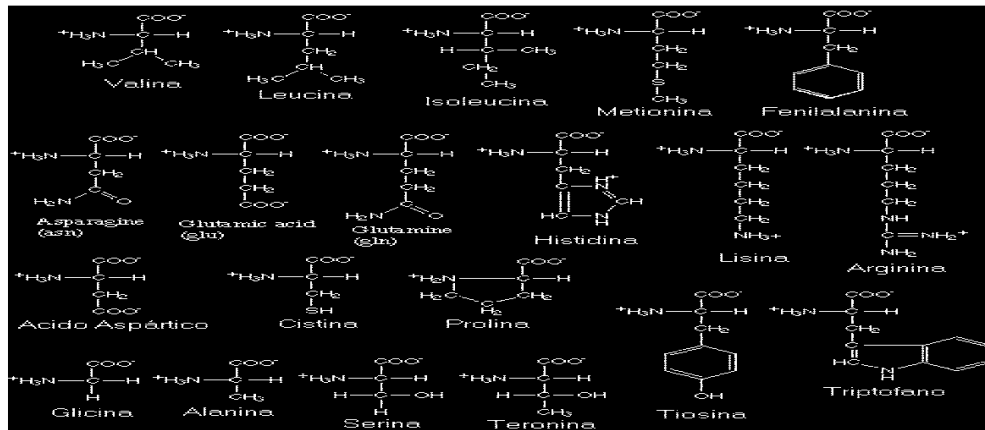


Figura 2: estructura química de las aminoácidos [21].

**Aminoácidos comunes con cadenas laterales de hidrocarburo [16, 19, 21]:**

onfórm: Contiene cuatro átomos de carbono.

Valina: Tiene cinco átomos de carbono y un grupo R ramificado.

Leucina: Tiene seis átomos de carbono y un grupo R ramificado.

Isoleucina: Es un isómero de la leucina que contiene un grupo metilo en el átomo de carbono beta.

**Aminoácidos aromáticos: Están unidos por un grupo alanil y tres carbonos, son hidrofóbicos [16, 21]:**

Fenilalanina: Como lo indica su nombre es un grupo fenilo pegado a la alanita.

Tirosina: Tiene un grupo carboxilo en el anillo aromático, haciendo de ella un derivado del fenol, el grupo hidroxilo de algunos residuos de tiroxina en las proteínas puede estar fosforilado.

Triptófano: Contiene un anillo de indol pegado a la cadena lateral del alanil.

**Aminoácidos que contienen azufre [16, 21]:**

onfórm: Tiene tres átomos de carbono, posee un grupo tiol. El dímero que se forma cuando se oxida se le conoce cistina. En la síntesis de proteínas, el aminoácido que se incorpora es la onfórm, en tanto que la cistina es la forma que se encuentra en la sangre.

Metionina: Es el segundo aminoácido que contiene un átomo de azufre. Es el aminoácido inicial para la biosíntesis de las proteínas, ya que provee de grupos metilo para el metabolismo.

**Aminoácidos con ácidos dicarboxilicos o sus derivados [16, 21]:**  
Tienen grupos R carboxilato que lleva que llevan una carga negativa a Ph fisiológico. Los carboxilatos pueden funcionar como aceptores de protones, y los ácidos pueden actuar como donadores de protones. Estas cadenas laterales pueden formar enlaces iónicos y también pueden funcionar como aceptores de puentes de hidrogeno. Contienen grupos amida de tipo polar como R.

Aspartato: Aislado originalmente de los espárragos, tiene cuatro átomos de carbono

Glutamato: Tiene cinco átomos de carbono, es el neurotransmisor excitatorio más abundante en el sistema nervioso central.

### **Aminoácidos con cadenas laterales polares básicas con nitrógeno [16, 21]:**

Lisina: Es un aminoácido de seis carbonos que contiene un segundo grupo amino unido al carbono  $\epsilon$ -. Su cadena lateral está cargada positivamente a Ph fisiológico.

Arginina: contiene un grupo guanidino unido al esqueleto de cinco carbonos de aminoácidos. Su cadena lateral está cargada positivamente a Ph fisiológico.

Histidina: Contiene un grupo imidazol unido a la  $\alpha$ -onóform. La histidina es  $\alpha$ -onóformelo. Los nitrógenos del anillo amidazol son buenos nucleófilos y buenos aceptores de protones.

### **Aminoácidos con grupos hidroxilo alifáticos [16, 21]:**

Serina: Es un aminoácido de tres carbonos con una cadena lateral de alcohol. Es el sitio activo de muchas enzimas.

Treonina: Es un aminoácido de cuatro carbonos que tiene un grupo hidroxilo. Tiene dos átomos de carbono quirales.

Prolina: Es el último de los aminoácidos codificados genéticamente. El átomo de nitrógeno de la prolina está unido a dos átomos de carbono. La prolina es un hidrocarburo por lo tanto se esperaría que fuera hidrofóbico. Debido a que la prolina ocurre a menudo en vueltas en la cadena polipeptídica de las proteínas, y no se encuentran en el interior de las proteínas con tanta frecuencia como la leucina o la valina.

## LOS PÉPTIDOS Y EL ENLACE PEPTÍDICO

Los péptidos están formados por la unión de aminoácidos mediante un enlace peptídico. Es un enlace covalente que se establece entre el grupo carboxilo de un aminoácido y el grupo amino del siguiente, dando lugar al desprendimiento de una molécula de agua [21, 22].

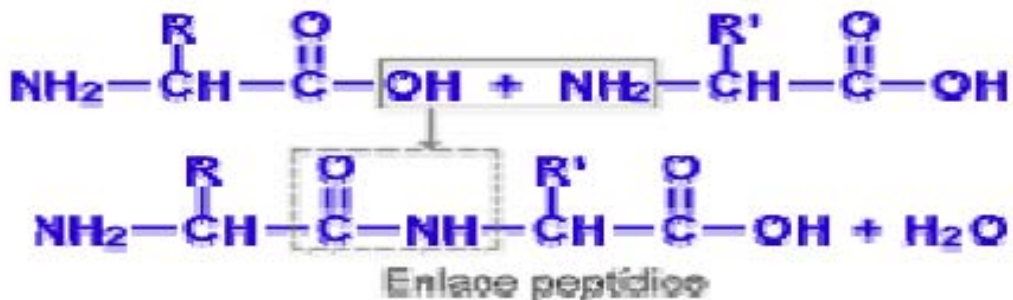


Figura 3: Enlace peptídico[23].

Así pues, para formar péptidos los aminoácidos se van enlazando entre sí formando cadenas de longitud y secuencia variable. Para denominar a estas cadenas se utilizan prefijos convencionales como [17, 23]:

**Oligopéptidos:** Cuando el número de aminoácidos es menor de 10.

**Dipéptidos:** Cuando el número de aminoácidos es 2.

**Tripéptidos:** Cuando el número de aminoácidos es 3.

**Tetrapéptidos:** Cuando el número de aminoácidos es 4.

**Polipéptidos o cadenas polipeptídicas:** Cuando el número de aminoácidos es mayor de 10.

Cada péptido o polipéptido se suele escribir, convencionalmente, de izquierda a derecha, empezando por el extremo N-terminal que posee un grupo amino libre y finalizando por el extremo C-terminal en el que se encuentra un grupo carboxilo libre, de tal manera que el eje o esqueleto del péptido, formado por una unidad de seis átomos (-NH-CH-CO-), es idéntico a todos ellos. Lo que varía de unos péptidos a otros, y por extensión, de unas proteínas a otras, es el número, la naturaleza y el orden o secuencia de sus aminoácidos.

Si la hidrólisis de una proteína produce únicamente aminoácidos, la proteína se denomina simple. Si, en cambio, produce otros compuestos orgánicos o inorgánicos, denominados grupo prostético, la proteína se llama conjugada.

## CLASIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS

No existe una clasificación universalmente aceptada, las proteínas se pueden clasificar con base en su solubilidad, la forma, la función biológica o la estructura tridimensional [19]. Con base en su solubilidad de soluciones salinas acuosas, se pueden clasificar en “albúminas”, “globulinas” e “histonas” [17]. En base a su forma se pueden clasificar en proteínas globulares y fibrosas. Las proteínas globulares presentan cadenas polipeptídicas compactas, con hélices dobladas, que tienen dimensiones axiales menores de 10 y por lo general no mayor de 3-4. y al contrario las proteínas fibrosas presentan proporciones axiales mayores de 10 hélices dobladas.

Con base a sus funciones biológicas, las proteínas pueden clasificarse como enzimas (deshidrogenadas, cinasas), proteínas de almacenamiento (ferritina, mioglobina), proteínas reguladoras (proteínas que se unen al DNA, hormonas peptídicas), proteínas estructurales (colágena, peptidoglicanos), proteínas protectoras (factores de coagulación sanguínea, inmunoglobulinas), proteínas de transporte (hemoglobina, lipoproteínas plasmáticas) y proteínas contráctiles y móviles (actina, tubulina) [20].

## FUNCIONES DE LAS PROTEINAS

De todas las moléculas que se encuentran en los seres vivos, las proteínas son las que tienen funciones más diversas las cuales se enumeran de la siguiente forma [16]:

**1.- Catálisis:** Las *enzimas* son proteínas que dirigen y aceleran miles de reacciones bioquímicas en procesos como la digestión, la captura de energía y la biosíntesis. Por ejemplo, pueden aumentar la velocidad de reacción por factores comprendidos entre  $10^6$  y  $10^{12}$ . Pueden realizar estas funciones en condiciones de Ph y temperatura óptimos.

**2.- Estructura:** Algunas proteínas proporcionan protección y sostén. Las proteínas estructurales suelen tener propiedades muy especializadas. Por ejemplo el colágeno (el componente principal de los tejidos conjuntivo) y la fibroína (proteína de la seda) poseen una fuerza mecánica significativa. La elastina, es una proteína semejante a la goma que se encuentra en las fibras elásticas, que se encuentran en varios tejidos (como en los vasos sanguíneos y la piel) que para operar adecuadamente deben ser elásticos.

**3.- Movimiento:** Las proteínas participan en todos los movimientos celulares. Por ejemplo, la actina, la tubulina, y otras proteínas que forman el citoesqueleto. Las proteínas del citoesqueleto son activas en la división celular, la endocitosis, la exocitosis y el movimiento ameboide de los leucocitos.

**4.- Defensa:** Una extensa variedad de proteínas son protectoras. Por ejemplo la queratina, la cual se encuentra en la piel y que ayuda a proteger al organismo contra los daños mecánicos y químicos. Las proteínas de la coagulación de la sangre, fibrinógeno y trombina que impiden la pérdida de sangre cuando los vasos sanguíneos se lesionan. Las inmunoglobulinas que producen los linfocitos cuando el organismo es invadido por antígenos.

**5.- Regulación:** Se lleva a cabo cuando una proteína con función hormonal o factor de crecimiento se une a receptores en sus células diana y modifica su función celular. Por ejemplo las diferentes hormonas como la insulina y el glucagón las cuales ambos regulan la glucosa en la sangre.

**6.- Transporte:** Muchas proteínas actúan como transportadoras de moléculas o iones a través de membranas o entre las células. Por ejemplo las proteínas de membrana como  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATP asa y el transportador de glucosa. Otras son la hemoglobina que transporta oxígeno, y las HDL y LDL que transporta los lípidos desde el hígado al intestino.

**7.- almacenamiento:** Algunas proteínas actúan como reserva de nutrientes esenciales. Por ejemplo la caseína de los mamíferos son fuentes abundantes de nitrógeno no orgánico.

**8.- respuesta a las agresiones:** Esta función esta representada por el citocromo  $\text{P}_{450}$ , un grupo diverso de enzimas que se encuentran en los animales y las plantas que normalmente convierten a un gran numero de contaminantes orgánicos tóxicos en derivados menos tóxicos. Las temperaturas excesivamente elevadas y otras agresiones dan lugar a la síntesis de una clase de proteínas denominadas **proteínas de choque térmico** las cuales consiguen el plegamiento correcto de las proteínas dañadas.



## LOS CUATRO TIPOS DE ESTRUCTURA DE LAS PROTEINAS

Las proteínas son moléculas extraordinariamente complejas. El estudio bioquímico ha permitido diferenciar varios niveles en la organización estructural de las proteínas. La **estructura primaria**, la secuencia de aminoácidos, está especificada por la información genética. Al plegarse la cadena polipeptídica se forman determinadas disposiciones localizadas de los aminoácidos adyacentes que constituyen la **estructura secundaria**. La forma tridimensional global que asume un polipéptido se denomina **estructura terciaria**. Las proteínas que constan de dos o más cadenas polipeptídicas son de **estructura cuaternaria** [17, 24].

### ESTRUCTURA PRIMARIA

La estructura primaria está determinada por la secuencia de aminoácidos en la cadena proteica, es decir, el número de aminoácidos presentes y el orden en que están enlazados. Las posibilidades de estructuración a nivel primario son prácticamente ilimitadas. Como en casi todas las proteínas existen 20 aminoácidos diferentes, el número de estructuras posibles está dado por las variaciones con repetición de 20 elementos tomados de  $n$  en  $n$ , siendo  $n$  el número de aminoácidos que componen la molécula [20].

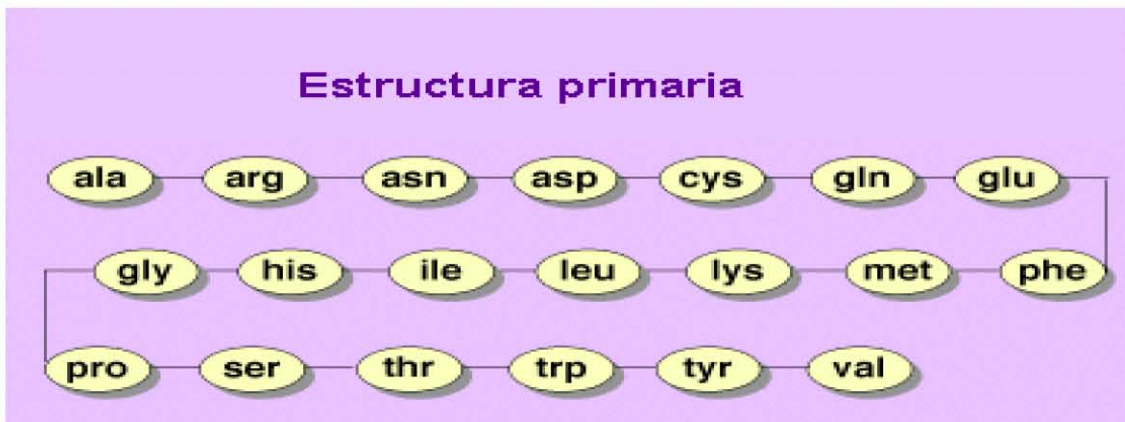


Figura 4: Estructura primaria [22].

Generalmente, el número de aminoácidos que forman una proteína oscila entre 80 y 300. Los enlaces que participan en la estructura primaria de una proteína son covalentes: son los enlaces peptídicos. Como consecuencia del establecimiento de enlaces peptídicos entre los distintos aminoácidos que forman la proteína se origina una **cadena principal o “esqueleto”** a partir del cual emergen las  **cadenas laterales** de los aminoácidos. Los átomos que componen la cadena principal de la proteína son el N del grupo amino (condensado con el aminoácido precedente), el  $C_{\alpha}$  (a partir del cual emerge la cadena lateral) y el C del grupo carboxilo (que se condensa con el aminoácido siguiente) [24]. Por lo tanto, la unidad repetitiva básica que aparece en la cadena principal de una proteína es: (-NH- $C_{\alpha}$ -CO-)

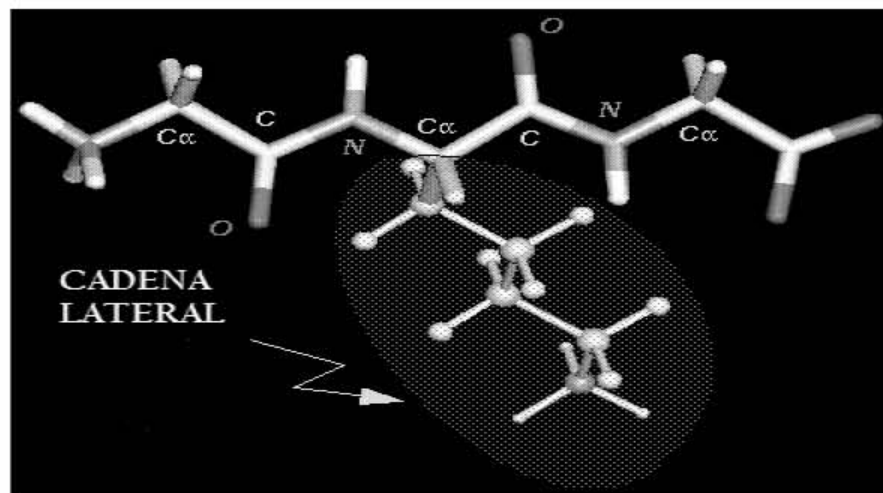


Figura 5: Cadena principal. Modificado de [24].

Como la estructura primaria es la que determina los niveles superiores de organización, el conocimiento de la secuencia de aminoácidos es del mayor interés para el estudio de la estructura y función de una proteína.

## ESTRUCTURA SECUNDARIA

La estructura secundaria de los polipéptidos consta de varios patrones repetitivos. Los tipos de estructura secundaria que se observan con mayor frecuencia son las hélice  $\alpha$  y la lámina plegada  $\beta$ . Tanto la hélice  $\alpha$  como la lámina plegada  $\beta$  están estabilizadas por enlaces de hidrógeno entre los grupos carbonilo y N—H del esqueleto polipeptídico. Estos patrones se producen cuando todos los ángulos  $\phi$  ( $\phi$ ) (ángulo de rotación alrededor de C-C) en un segmento polipeptídico son iguales y todos los ángulos  $\psi$  ( $\psi$ ) (ángulo de rotación alrededor de C-N) son iguales [21]. Debido a que los enlaces peptídicos son rígidos, los carbonos  $\alpha$  son puntos de giro para cada cadena polipeptídica. Varias propiedades de los grupos R unidos a carbono  $\alpha$  influyen sobre el ángulo  $\phi$  y  $\psi$  [25].

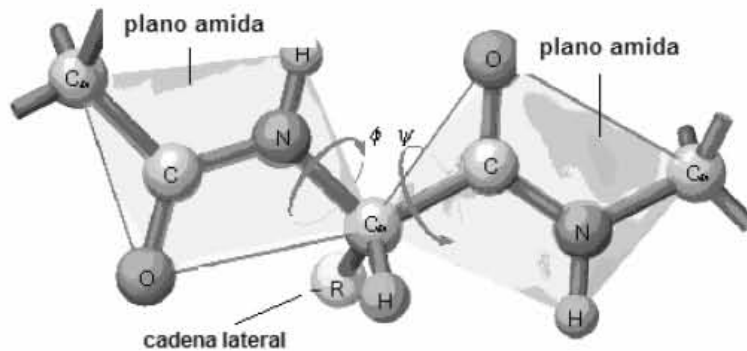


Figura 6:  
Enlace peptídico.  
Modificado de [25]

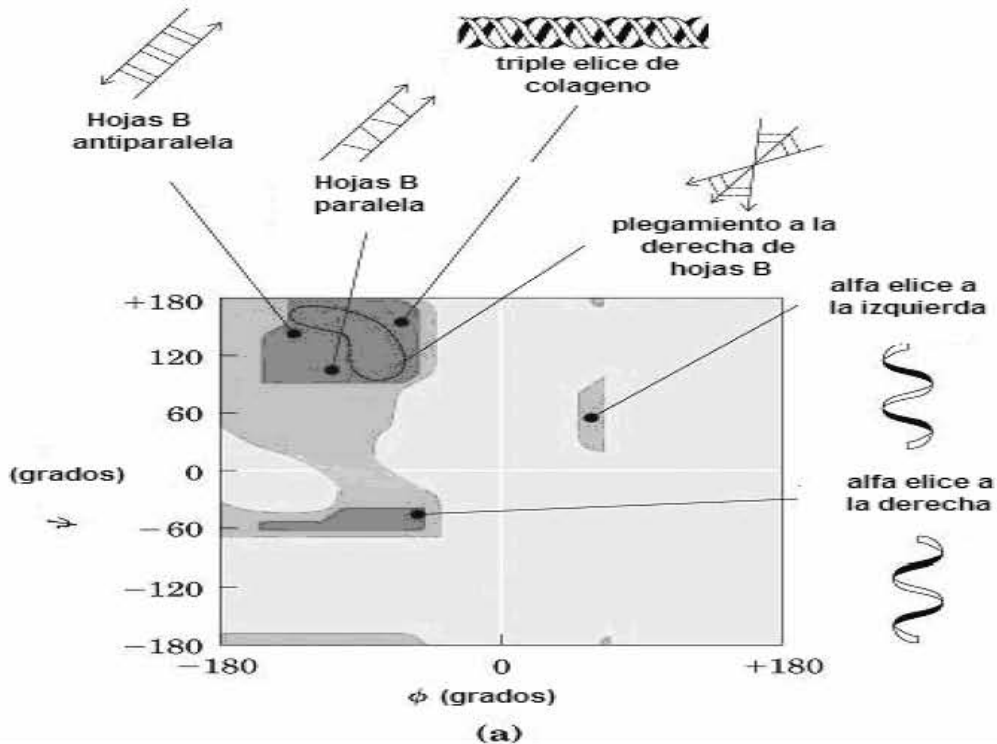
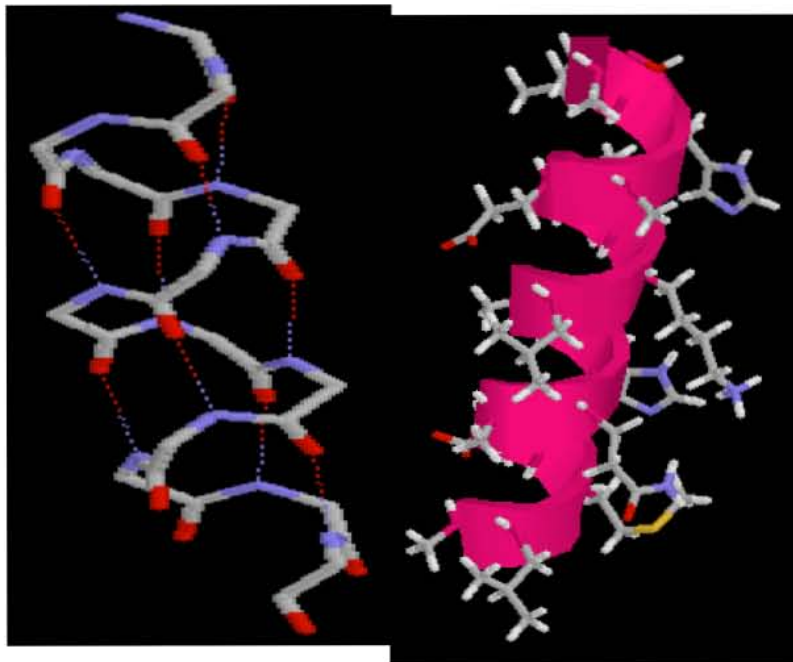


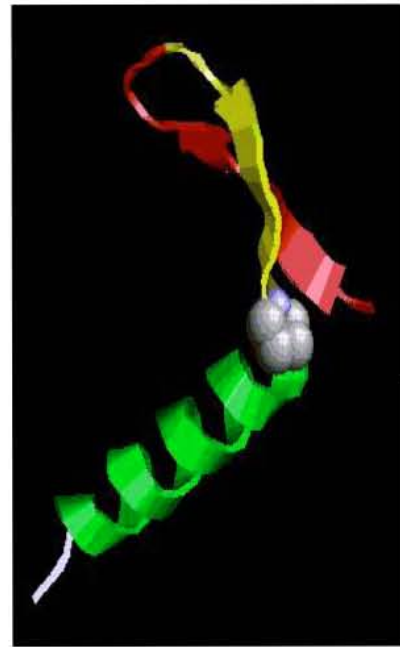
Figura 7: Gráfica de Ramachandran. Modifica de [25].

La gráfica de Ramachandran define las parejas de valores de phi y psi que están permitidos. La gran mayoría de los aminoácidos en las proteínas se sitúan en las regiones permitidas. Los elementos de estructura secundaria de las proteínas (hélices, láminas, giros) están constituidos por residuos de aminoácidos con ángulos phi y psi característicos [25].

Cuando la cadena principal o esqueleto de un polipéptido se pliega en el espacio en forma de helicoide dextrógiro se adopta una conformación denominada **hélice  $\alpha$** . Esta estructura es periódica y en ella cada enlace peptídico puede establecer dos puentes de hidrógeno. Un puente de hidrógeno se forma entre el grupo —NH- del enlace peptídico del aminoácido en posición **n** y el grupo —CO- del enlace peptídico del aminoácidos situado en posición **n-4**. El otro puente de hidrógeno se forma entre el grupo —CO- del enlace peptídico del AA en posición **n** y el grupo —NH- del enlace peptídico del aminoácido situado en posición **n+4**. Cada vuelta de la hélice implica 3,6 aminoácidos, con una translación media por residuo de 0,15 nm, lo que indica que la hélice tiene un paso de rosca de 0,54 nm. Dicho con otras palabras, una vuelta completa de la hélice  $\alpha$  representa una distancia de 0,54 nm y contiene 3,6 residuos de aminoácidos. **Figura 8 [22]**.



Las cadenas laterales de los aminoácidos se sitúan en la parte externa del helicoide, lo que evita problemas de impedimentos estéricos (Figura de la izquierda). En consecuencia, esta estructura puede albergar a cualquier aminoácido, a excepción de la



prolina, cuyo  $C_{\alpha}$  no gira, por estar integrado en un heterociclo. Por este motivo, la prolina suele determinar una interrupción en la conformación en hélice  $\alpha$  (Figura de la derecha). Los aminoácidos muy polares (Lys, Glu) también desestabilizan la hélice  $\alpha$  porque los enlaces de hidrógeno pierden importancia frente a las interacciones electrostáticas de atracción o repulsión. Por este motivo, la estructura en hélice  $\alpha$  es la que predomina a valores de  $\Phi$  en los que los grupos ionizables no están cargados. En caso contrario, adoptan la conformación al azar. **Figura 9 [24]**.

La segunda clase de estructura secundaria que se describirá se ha llamado hoja plegada  $\beta$ . En esta, los grupos  $>N-H$  y  $>C=O$  (carbonilo) de residuos separados de la cadena polipeptídica, o aún residuos de cadenas polipeptídicas diferentes, forman puentes de hidrógeno. Las cadenas polipeptídicas que forman las hojas plegadas  $\beta$  se llaman hebras  $\beta$ . Las hebras  $\beta$  se encuentran completamente estiradas a partir de su  $\alpha$  anfómero amino hasta su  $\alpha$  anfómero carboxilo. Según su polaridad de sus cadenas polipeptídicas, se reconocen dos variedades de hojas plegadas  $\beta$ . Cuando las cadenas van en la misma dirección a partir de la  $\alpha$  anfómero amino a la carboxilo de la molécula, la estructura es una hoja plegada  $\beta$  paralela. Cuando las cadenas participantes se encuentran en direcciones opuestas respecto a sus terminales amino y carboxi, la estructura es una hoja plegada  $\beta$  antiparalela. Tanto las hojas plegadas  $\beta$  antiparalelas como las paralelas forman dobleces, es decir, los átomos de carbono  $\alpha$  están sucesivamente un poco por encima y por debajo del plano de la hoja.

Cuando la cadena principal de un polipéptido se estira al máximo que permiten sus enlaces covalentes se adopta una configuración espacial denominada estructura  $\beta$ , que suele representarse como una flecha. En esta estructura las cadenas laterales de los aminoácidos se sitúan de forma alternante a la derecha y a la izquierda del esqueleto de la cadena polipeptídica. Las estructuras  $\beta$  de distintas cadenas polipeptídicas o bien las estructuras  $\beta$  de distintas zonas de una misma cadena polipeptídica pueden interaccionar entre sí mediante puentes de hidrógeno, dando lugar a estructuras laminares llamadas por su forma hojas plegadas u hojas  $\beta$ .

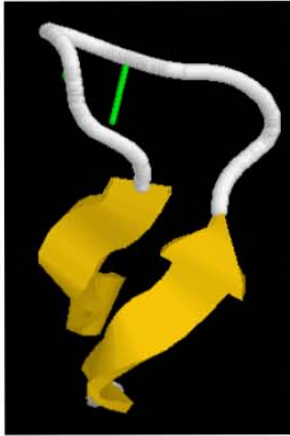


Cuando las estructuras  $\beta$  tienen el mismo sentido  $N-C$ , la hoja  $\beta$  resultante es **paralela** (Figura izquierda), y si las estructuras  $\beta$  tienen sentidos opuestos, la hoja plegada resultante es **antiparalela** (Figura derecha) **Figura 10 [24]**.



El cambio de dirección, de la cadena polipeptídica se produce con la formación de un **doblece  $\beta$** . Esta configuración implica la formación de una asa, en la cual un residuo de grupo carbonilo forma un puente de hidrógeno con el grupo amida  $NH$  del residuo que se encuentra tres posiciones después ( $n + 3$ ) en la cadena polipeptídica. Cerca de un cuarto a un tercio de la estructura de las proteínas esta formada por vueltas y dobleces. Aminoácidos como Asn, Gly y Pro

(que se acomodan mal en estructuras de tipo  $\alpha$  o  $\beta$ ) aparecen con frecuencia en este tipo de estructura. La conformación de los giros  $\beta$  está estabilizada generalmente por medio de un puente de hidrógeno entre los residuos 1 y 4 del giro  $\beta$  (En color verde en las Figuras derecha e izquierda).



Secuencias de la cadena polipeptídica con estructura  $\alpha$  o  $\beta$  a menudo están conectadas entre sí por medio de los llamados giros  $\beta$  (Figura de la derecha, en color blanco). Son secuencias cortas, con una conformación característica que impone un brusco giro de  $180^\circ$  a la cadena principal de un polipéptido. **Figura 11 [24].**



## ESTRUCTURA TERCIARIA

Se llama estructura terciaria a la disposición tridimensional de todos los átomos que componen la proteína, concepto equiparable al de conformación absoluta en otras moléculas. La estructura terciaria de una proteína es la responsable directa de sus propiedades biológicas, ya que la disposición espacial de los distintos grupos funcionales determina su interacción con los diversos ligandos [20]. Para las proteínas que constan de una sola cadena polipeptídica (carecen de estructura cuaternaria), la estructura terciaria es la máxima información estructural que se puede obtener. La estructura terciaria es una disposición precisa y única en el espacio, y surge a medida que se sintetiza la proteína. En otras palabras, la estructura terciaria está determinada por la secuencia de aminoácidos (estructura primaria).

Se distinguen dos tipos de estructura terciaria:

- Proteínas con estructura terciaria de tipo fibroso en las que una de las dimensiones es mucho mayor que las otras dos. Son ejemplos el **colágeno**, la **queratina** del cabello o la **fibróina** de la seda. En este caso, los elementos de estructura secundaria (hélices  $\alpha$  u hojas  $\beta$ ) pueden mantener su ordenamiento sin recurrir a grandes modificaciones, tan sólo introduciendo ligeras torsiones longitudinales, como en las hebras de una cuerda.
- Proteínas con estructura terciaria de **tipo globular**, más frecuentes, en las que no existe una dimensión que predomine sobre las demás, y su forma es aproximadamente esférica. En este tipo de estructuras se suceden regiones con estructuras al azar, hélice  $\alpha$  hoja  $\beta$ , acodamientos y estructuras super secundarias.

Las fuerzas que estabilizan la estructura terciaria de una proteína se establecen entre las distintas cadenas laterales de los aminoácidos que la componen. Los enlaces propios de la estructura terciaria pueden ser de dos tipos: covalentes y no covalentes [16].

- Los enlaces **covalentes** pueden deberse a (1) la formación de un **punto de disulfuro** entre dos cadenas laterales de Cys, o a (2) la formación de un **enlace amida** (-CO-NH-) entre las cadenas laterales de la Lys y un aminoácido dicarboxílico (Glu o Asp).

Los enlaces **no covalentes** pueden ser de cuatro tipos: (1) **fuerzas electrostáticas** entre cadenas laterales ionizadas, con cargas de signo opuesto, (2) **puentes de hidrógeno**, entre las cadenas laterales de aminoácidos polares (3) **interacciones hidrofóbicas** entre cadenas laterales apolares y (4) **fuerzas de polaridad** debidas a interacciones dipolo-dipolo.

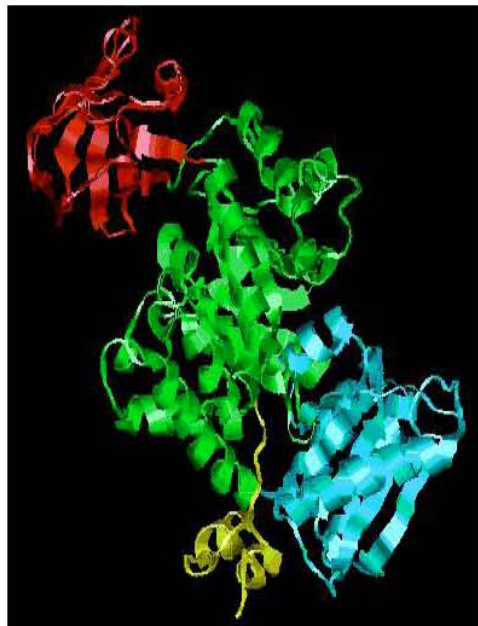
Como resultado de estas interacciones, en las proteínas con **estructura terciaria globular**:

- las **cadenas laterales con carácter apolar** se orientan hacia el **interior de la molécula** evitando las interacciones con el disolvente, y forman un núcleo compacto con carácter hidrofóbico.
- las **cadenas laterales de los aminoácidos polares se localizan en la superficie** de la molécula, interaccionando con el agua y permitiendo que la proteína permanezca en disolución.

No todas estas interacciones contribuyen por igual al mantenimiento de la estructura terciaria. El enlace que aporta más estabilidad es el de tipo covalente, y entre los no covalentes, las interacciones más importantes son las de tipo hidrofóbico, ya que exigen una gran proximidad entre los grupo apolares de los aminoácidos.

Existen regiones diferenciadas dentro de la estructura terciaria de las proteínas que actúan como unidades autónomas de plegamiento y/o desnaturalización de las proteínas. Estas regiones constituyen un nivel estructural intermedio entre las estructuras secundaria y terciaria reciben el nombre de **dominios**. Los dominios se pliegan por separado a medida que se sintetiza la cadena polipeptídica. Es la asociación de los distintos dominios la que origina la estructura terciaria.

La Figura corresponde a la proteína **piruvato quinasa**, que consta de 4 dominios, cada uno representado de un color. La pérdida total o parcial de los niveles de

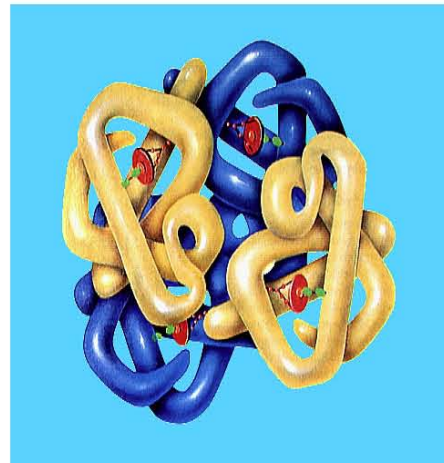


estructuración superiores al primario recibe el nombre de **desnaturalización**, que pueden ser reversible o irreversible. **Figura 12 [24]**.

## ESTRUCTURA CUATERNARIA

La estructura cuaternaria se refiere a la manera en que interactúan las subunidades de una proteína multimérica. Por ejemplo durante la oxigenación de la hemoglobina, que es una proteína tetramérica, las subunidades se mueven una con respecto a la otra. Estos aspectos de la estructura son los correspondientes a la estructura cuaternaria. Las secuencias de aminoácidos de las subunidades de una proteína pueden ser iguales, similares, o por completo diferentes. Las interacciones entre las subunidades son similares a las del interior de una proteína e incluyen uniones hidrofóbicas, interacciones iónicas y puentes de hidrógeno entre las cadenas laterales y el esqueleto. También hay puentes de hidrógeno de las hojas  $\beta$  entre las hebras opuestas de subunidades.

Cuando una proteína consta de más de una cadena polipeptídica, es decir, cuando se trata de una proteína oligomérica, decimos que tiene estructura cuaternaria. La estructura cuaternaria debe considerar: (1) **el número y la naturaleza de las distintas subunidades** o monómeros que integran el oligómero y (2) **la forma en que se asocian** en el espacio para dar lugar al oligómero. La figura de la derecha corresponde a la **hemoglobina**. **Figura 13 [24]**.



En proteínas con estructura terciaria de tipo fibroso, la estructura cuaternaria resulta de la asociación de varias hebras para formar una fibra o soga. La miosina o la tropomiosina constan de dos hebras con estructura de hélice  $\alpha$  enrolladas en una fibra levógira. La  $\alpha$ -queratina del cabello y el fibrinógeno de la sangre presentan tres hebras en cada fibra levógira. El colágeno consta de tres hebras helicoidales levógiras que forman una fibra dextrógira. La fibroína de la seda presenta varias hebras con estructura de hoja  $\beta$  orientadas de forma antiparalela.



Cuando varias proteínas con estructura terciaria de tipo globular se asocian para formar una estructura de tipo cuaternario, los monómeros pueden ser:

- Exactamente iguales, como en el caso de la fosfoglucoisomerasa o de la hexoquinasa.
- Muy parecidos, como en el caso de la lactato deshidrogenasa.
- Con estructura distinta pero con una misma función, como en el caso de la hemoglobina.

Estructural y funcionalmente distintos, que una vez asociados forman una unidad funcional, como en el caso de la aspartato transcarbamilasa, un enzima alostérico con seis subunidades con actividad catalítica y seis con actividad reguladora.

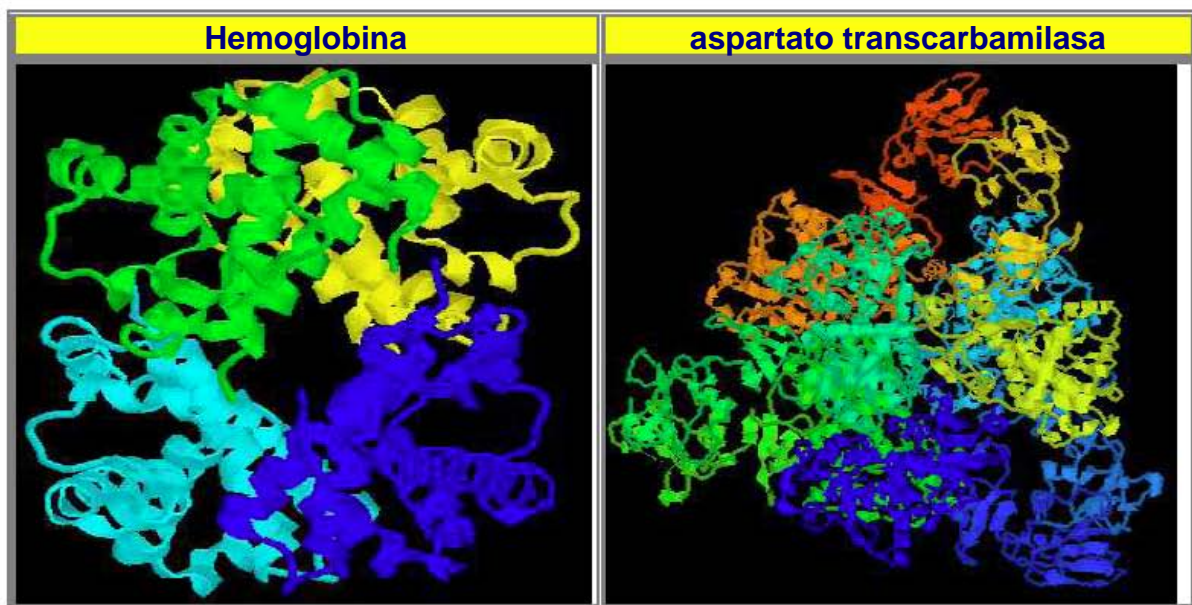


Figura 13: Estructura cuaternaria. [24]

La estructura cuaternaria modula la actividad biológica de la proteína y la separación de las subunidades a menudo conduce a la pérdida de funcionalidad. Las fuerzas que mantienen unidas las distintas cadenas polipeptídicas son, en líneas generales, las mismas que estabilizan la estructura terciaria. Las más abundantes son las interacciones débiles (hidrofóbicas, polares, electrostáticas y puentes de hidrógeno), aunque en algunos casos, como en las inmunoglobulinas, la estructura cuaternaria se mantiene mediante puentes disulfuro. El ensamblaje de los monómeros se realiza de forma espontánea, lo que indica que el oligómero presenta un mínimo de energía libre con respecto a los monómeros.

## ESTRUCTURA NATIVA Y NO NATIVAS DELAS PROTEÍNAS

NATIVA: La conformación fisiológicamente activa de una proteína se denomina estructura nativa. Las fuerzas encargadas de mantener la conformación activa incluyen enlaces covalentes, puentes salinos, enlaces de hidrógeno, hidrofóbicos y de Van der Waals [16].

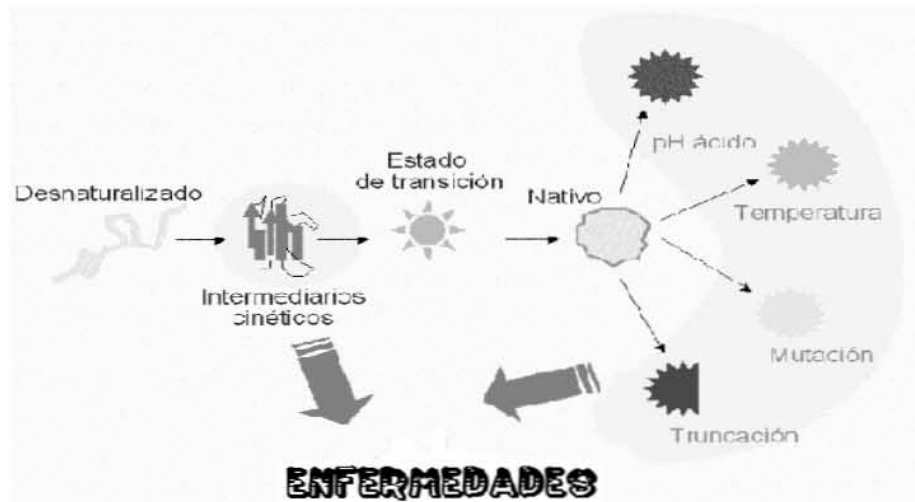


Figura 14: Estado nativo y no nativo de las proteínas. Modificado de [25].

Cuando las proteínas se exponen a Ph extremos, como el Ph ácido del estomago o altas temperaturas o a tratamientos con detergentes cargados los cuales destruyen la conformación nativa y resulta una estructura no nativa.

## DESNATURALIZACION Y PLEGAMIENTO DE PROTEINAS

Todas las proteínas empiezan su existencia en un ribosoma como una secuencia lineal de residuos de aminoácidos. Para alcanzar su conformación nativa, este polipéptido debe plegarse durante y a continuación de la síntesis. Se ha visto que la conformación nativa es solo marginalmente estable, y estos cambios pequeños en el entorno de la proteína pueden generar cambios estructurales con ello afectar su función [16].

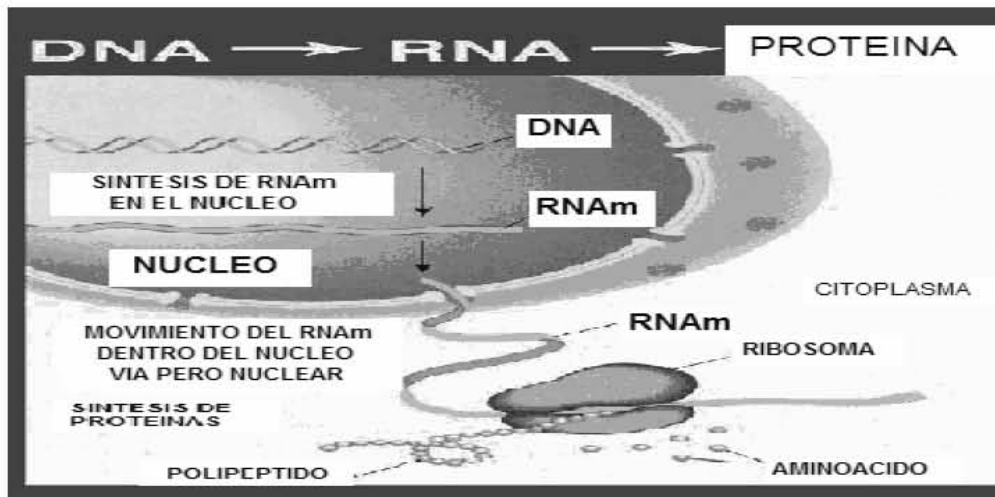


Figura 15: Formación de una proteína. Modificado de [25].

**La pérdida de la estructura conduce a pérdida de la función:** las estructuras proteicas han evolucionado para funcionar en entornos celulares concretos. Cuando hay condiciones diferentes a las de la célula se pueden generar cambios de diferente magnitud lo cual puede llevar a pérdida de la estructura tridimensional de la proteína por ende desnaturalización de la proteína que conlleva a mal funcionamiento [17]. Esta desnaturalización de las proteínas puede llevarse a cabo no solamente por acción del calor, si no también por la acción de extremos de Ph de ciertos disolventes orgánicos miscibles de agua, como por ejemplo el alcohol o la acetona.

## PLEGAMIENTO DE LAS PROTEINAS

El plegamiento de una proteína, es un proceso de auto-ensamblaje que puede describirse como una reacción química, en la que se sigue la información contenida en la secuencia de aminoácidos. Cada proteína, en condiciones fisiológicas de temperatura y el microambiente fisicoquímico (disolvente, iones, Ph, etc), consigue alcanzar una estructura tridimensional específica, conocida como “estado nativo”, óptima para desarrollar su función [26, 27].

En la visión clásica del plegamiento de las proteínas se considera que todas las moléculas siguen el mismo camino, esto significa que pasan por los mismos intermediarios y por el mismo estado de transición [28].

Los dos modelos clásicos secuenciales son el modelo de tipo armazón y el modelo del colapso hidrofóbico. En el primero se supone que en los procesos iniciales se forman algunos elementos de la estructura secundaria de la proteína.

Estas estructuras entran en contacto entre sí, chocan y dan lugar a los intermediarios del plegamiento.

En el modelo de colapso hidrofóbico, se propone que hay un colapso al azar de la cadena polipeptídica para ocultar los residuos hidrofóbicos. Con lo anterior se promueve la organización del polipéptido y aparece la estructura secundaria de los intermediarios y, finalmente el estado nativo.

En la actualidad se considera que el proceso consiste en una multiplicidad de rutas que se despliegan en forma de un “embudo” en la cual las moléculas se mueven por un paisaje de energía en forma de embudo en donde las interacciones nativas que aparecen se conservan y la proteína se pliega cuesta abajo.

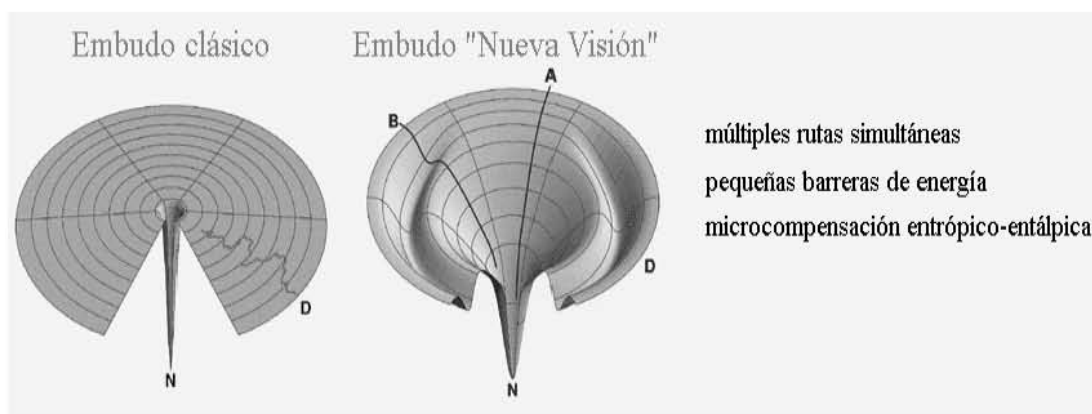


Figura 16 . [29].

El plegamiento de las proteínas es rápido y espontáneo debido a que el plegamiento se produce siempre de la manera que la proteína resultante sea más estable y funcional [29].



Figura 17: Escala de tiempo [30].

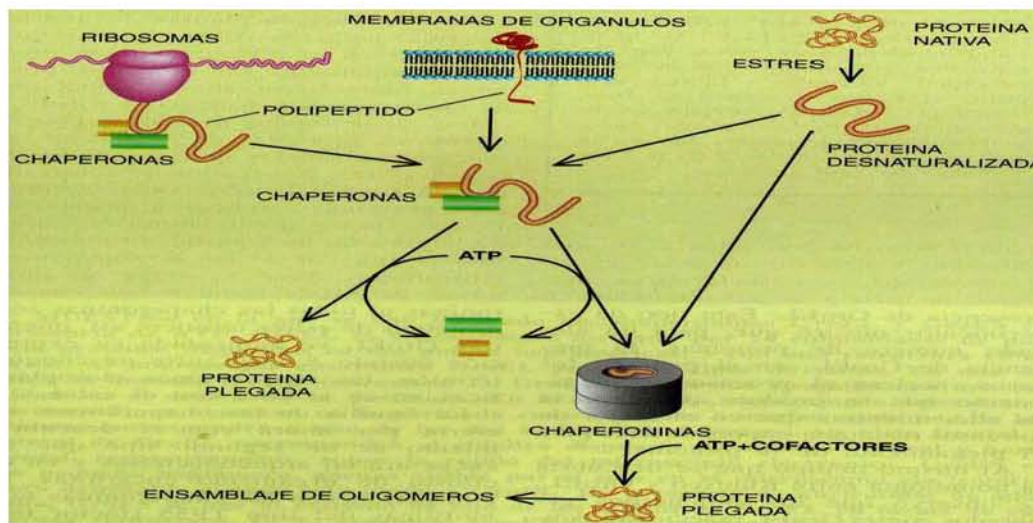
El hecho de que las proteínas se pliegan solas es una paradoja no resuelta y formulada por primera vez por Levinthal. En una cadena polipeptídica de 100 aminoácidos, hay  $10^{30}$  conforméromos distintos asumiendo que cada aminoácido sólo tiene dos regiones de nivel de energía en la gráfica de Ramachandra. Si consideramos que cada  $10^{11} \text{ s}^{-1}$  se cambia de uno a otro conforméromo tendremos que para explorar el espacio conformacional de la proteína de 100 residuos se requiere  $10^{11}$  años para plegarse. En realidad el tiempo de plegamiento de una proteína oscila entre el microsegundo al minuto, tiempo mucho menor de lo que implicaría la búsqueda sistemática de todas las conformaciones[30].

Las interacciones que dan la estabilidad de la estructura tridimensional de las proteínas y se adquieren en el proceso de plegamiento son [29]:

- Interacciones hidrófobas: Los grupos R hidrófobos se acercan, liberando moléculas de agua al interior y aumentando la entropía favoreciéndose con esto la fuerza impulsora del plegamiento proteico
- Interacciones electrostáticas: (puentes salinos) formados entre grupos iónicos de cargas opuestas
- Enlaces de hidrogeno
- Enlaces covalentes

Muchas proteínas no pueden por sí solas alcanzar su conformación nativa. El plegamiento no es en muchas ocasiones espontáneo [31], sino que requiere de la interacción entre proteínas ya existentes y de consumo de energía, de ATP. A esas acompañantes moleculares se las llamó “chaperonas moleculares”

Las chaperonas moleculares son proteínas que unen y estabilizan conformaciones inestables de otras proteínas [32]. Mediante uniones y liberaciones controladas, facilitan la conformación nativa de las proteínas o el ensamblaje entre éstas para crear oligómeros [33]. De la familia de las chaperonas forman parte numerosas proteínas de distinta secuencia y diverso peso molecular. Las chaperoninas, en particular, desempeñan un papel muy activo en el plegamiento de proteínas.



**Figura 18: Funciones de las chaperoninas.**

Las funciones principales de las chaperoninas: impedir la agregación de los polipéptidos parcialmente plegados y liberados de los ribosomas, unirse a péptidos parcialmente plegados aunque atrapados en una conformación tal que no pueden plegarse de manera espontánea y, por fin, proteger a las proteínas de la desnaturalización debida a estrés térmico o facilitar el plegamiento si se ha producido la desnaturalización. Compete, pues, a las chaperoninas generar las condiciones adecuadas para un plegamiento correcto de las proteínas desnaturalizadas [33].

## IX. ENFERMEDADES CONFORMACIONALES

Conforme se avanza en los métodos de investigación cada día se intenta profundizar en el “por que?” de las enfermedades, a través del tiempo y dependiendo de su fisiopatología se han agrupado en distintas categorías: enfermedades inflamatorias, degenerativas, infecciosas o neoplásicas[34], propone una nueva categoría “Enfermedades Conformacionales” (EC) tomando como base fisiopatológica una alteración a nivel de las proteínas, ya sea en su tamaño, forma, plegamiento o conformación [26]. El plegamiento proteico juega un papel importante en la biología celular por lo que es inevitable que al ocurrir un plegamiento anómalo no se condicione un proceso biológico disfuncional y por lo tanto condicione una enfermedad, ya sea por una citotoxicidad aumentada o por deficiencia de proteínas funcionales [26, 35, 36].

La  $\beta$ -lamina es la estructura que predomina en aquellas proteínas que sufren una alteración en su plegamiento, esta estructura se mantiene estable por agregación y oligomerización proteica, lo que explica el acumulo y [37]deposito de agregados proteicos en diversos órganos provocando daño tisular y por ende disfunción orgánica [38].

Las enfermedades descritas en un inicio como prototipo de EC resultan de una alteración proteica que produce una alteración en los depósitos de proteínas en los tejidos, al depósito de fibras de proteínas insolubles se le denomina amiloide, termino acuñado a R. Virchow, patólogo alemán quien lo usó para referirse a ciertos depósitos hallados en muestras *post-mortem* de órganos y tejidos, observando que estos depósitos reaccionaban con el yodo por lo que supuso se debían a una acumulación de sustancias del tipo almidón [39, 40].

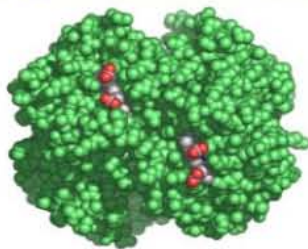
Después de un siglo se sigue utilizando este término, aunque actualmente se sabe que el constituyente fundamental de estos agregados es de naturaleza proteica y no glucosídica

Al conjunto de enfermedades que comparten este amiloide se les denomina amiloidosis. Se ha visto que el deposito de fibras amiloideas no solo se precipita con la alteración proteica, también se describe cuando existe una concertación alta persistente de proteínas normales en sangre como seria en los casos de inflamación crónica o de retención de B2-microglobulina en pacientes sometidos a hemodiálisis cronica [34].

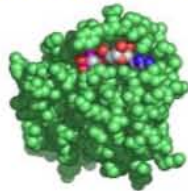
Se ha atribuido esta base fisiopatológica de depósitos de fibrilla amiloidea a diversos trastornos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer, Encefalopatias Espongiformes, Serpinopatias, Anemia Hemolítica, Enfermedad de Huntington, Fibrosis Quística, Diabetes Mellitus Tipo 2, Esclerosis Lateral Amiotrófica, Amiloidosis relacionada a hemodiálisis, amiloidosis sistémicas y otras mas de 15 entidades menos conocidas [35, 41-43]. Ver Cuadro 1.

CUADRO 1. ENFERMEDADES CONFORMACIONALES. Modificado[44-46]

Hemoglobina: anemia falciforme



H-Ras p21: cáncer



Prión humano: enf. de Creutzfeld-Jacob

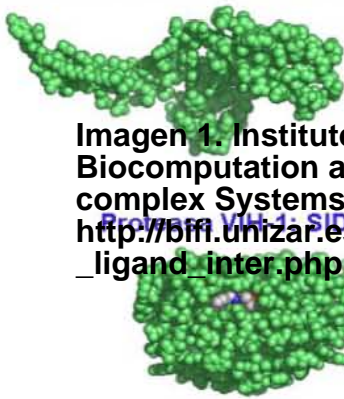


Imagen 1. Institute for Biocomputation and physics of complex Systems.  
[http://bifl.unizar.es/research\\_devel\\_ligand\\_inter.php](http://bifl.unizar.es/research_devel_ligand_inter.php)

ALTERACION PROTEICA	ENFERMEDAD
<b>Proteínas Amiloidogénicas</b>	
<b>Serpinas</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\alpha</math>1-antitripsina</li> </ul>	Deficiencia Alpha1-antitripsina /Cirrosis Enfisema por def. de $\alpha$ 1-antitripsina
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Antitrombina III</li> <li>• Inhibidor C1</li> <li>• Antiquimiotripsina</li> </ul>	Enf tromboembolica Angioedema Enfermedad Hepatica
<b>Priones</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prp Cj</li> <li>• Prp Sc</li> </ul>	Kuru Enfermedad de Creutzfeld-Jakob Encefalopatías Espongiformes Enfermedad e Gerstmann-Strauss-Schinker Insomnio Fatal Familiar
<b>Secuencias de Glutamina</b>	Enfermedad de Huntington Ataxia Espinocerebelar Atrofia de Machado-Joseph
<b>Hemoglobina Tau</b>	Demencia Frontoparietal (Enf. de Picks's)
<b>Alfa-sinucleína</b>	Anemia de células falciformes Hemolisis Enfermedad e Parkinson
<b>AMILOIDOSIS SISTEMICA</b>	
<b>Cadena ligera de inmunoglobulinas</b>	Amiloidosis sistémica AL Amiloidosis nodular AL Amiloidosis sistémica AA
<b>Proteína Serica Amiloide A</b>	Amiloide Prostático
<b>Microglobulina <math>\beta</math>-2</b>	Amiloidosis por Hemodiálisis Angiopatía cerebral hereditaria (Icelandica)
<b>Cistatina C</b>	Enfermedad de Huntignton
<b>Huntingtina</b>	Amiloidosis Familiar Visceral
<b>Apolipoproteína A1</b>	Polineuropatía amiloide familiar
<b>Lizosima</b>	Amiloidosis Familiar Visceral
<b>Transtiretina</b>	Amiloidosis Sistémica Senil Neuropatía amiloide Familiar Amiloidosis Cardíaca Familiar
<b>P53</b>	Cancer
<b>AMILOIDOSIS LOCALIZADAS</b>	
<b>Abeta</b>	Enfermedad de Alzheimer
<b>Peptido <math>\beta</math>-amiloide</b>	Síndrome de Down
<b>Procalcitonina</b>	Carcinoma medular de tiorides
<b>Polipéptido amiloide del islote (IAPP)</b>	DMT2
<b><math>\beta</math>-hexosaminidasa</b>	Enf. Tay-Sachs
<b>Rodopsina</b>	Retinitis Pigmentosa
<b>Cristalinas</b>	Cataratas
<b>Receptor de las LDL</b>	Hipercolesterolemia
<b>Regulador transmembranal del la fibrosis quística</b>	Fibrosis Quística
<b>Hidroxilasa de Fenilalanina</b>	Fenilcetonuria
<b>Procolagena</b>	Osteogenesis Imperfecta



Todas las enfermedades conformacionales tienen como común denominador desencadenante de patología, un cambio en la estructura secundaria o terciaria de una proteína normal sin que se vea afectada su estructura primaria[47, 48]

Las enfermedades conformacionales se diferencian de las enfermedades genéticamente determinadas en que en estas últimas la falla radica a nivel inicial de la producción proteica por una alteración del código genético, a diferencia de las EC en donde la estructura primaria no se ve afectada y la alteración proteica puede establecerse de manera tardía dando lugar a la agregación y depósito proteico. [26, 45]

Sin embargo existen enfermedades que presentan depósitos de proteínas agregadas que se han asociado a factores genéticos [49]. Es decir, mutaciones puntuales en la proteína que precipitan su agregación, en términos fisicoquímicos estas mutaciones pueden alterar la estabilidad o la velocidad de inter conversión entre la forma nativa y la forma fibrilar[46, 50]

El inicio temprano o tardío de las EC está determinado por la velocidad o la magnitud del depósito proteico. Las formas familiares o hereditarias son de presentación temprana y tienen un curso más severo[47]. La agregación proteica puede acelerarse por factores externos como hipertermia o procesos inflamatorios.

En el caso de la anemia de células falciformes la presentación de la enfermedad puede ser en episodios cuando la alteración conformacional es súbita como es con la hemoglobina S y su cambio de estado oxigenado a desoxigenado presentándose una crisis hemolítica por estasis sanguínea y desoxigenación desencadenada por algún proceso infeccioso o deshidratación[45, 51]

## **MECANISMOS DE REGULACIÓN**

Durante el proceso normal de la biosíntesis y plegamiento proteico, se presentan de manera habitual alteraciones conformacionales, existen mecanismos intracelulares encargados de degradar estas proteínas y polipéptidos aberrantes. Para que exista un balance debe regularse la actividad proteolítica y sus inhibidores [52, 53] .

El control de calidad del plegamiento de las proteínas, está constituido de manera paralela por chaperonas y proteasas. Las chaperonas tienen la función de plegar o replegar correctamente a las proteínas recién sintetizadas, y las proteasas la función de degradar a aquellas proteínas que aun con la acción de las chaperonas no se pliegan correctamente [54, 55].

Cuando los mecanismos de control fallan, las proteínas dañadas se acumulan causando enfermedades amiloidogénicas [56].

No se sabe si este control falla por mutaciones en las chaperonas y/o proteasas, porque los precursores de las proteínas priógenas y amiloidogénicas tienen estructuras que no son reconocidas por estas enzimas, o bien porque la agregación es mucho más rápida que el reconocimiento chaperonas y proteasas [57].

Cuando existe una susceptibilidad proteica para la agregación, factores genéticos concomitantes o influencias del medio ambiente que predispongan a la enfermedad los mecanismos de control se pueden sobresaturar y ser insuficientes para el control de calidad [1].

Existen unas veinte familias distintas de inhibidores de las serino proteasas, cada una de ellas tiene en sus moléculas un centro reactivo situado en un anillo peptídico y actúan todas en forma similar bloqueando el sitio activo de la proteasa [58, 59].

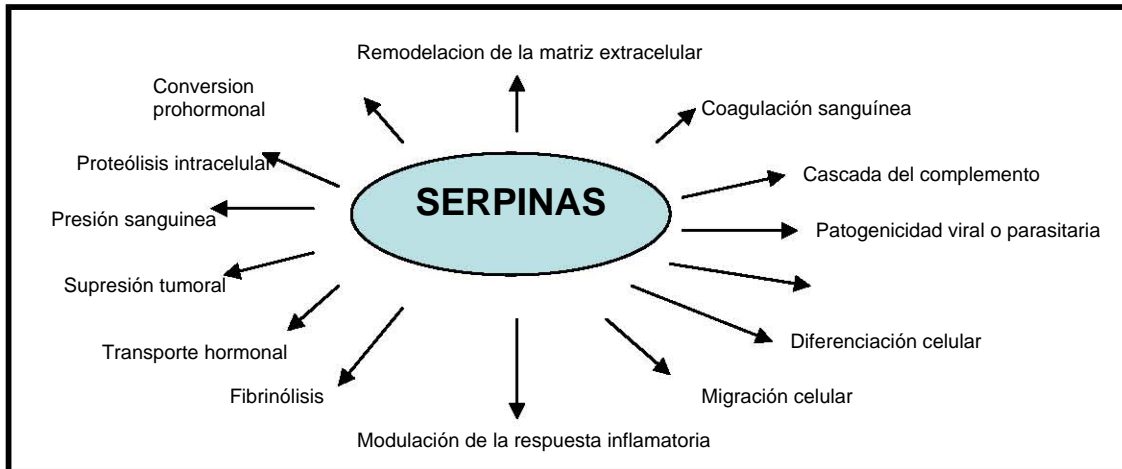
Diecinueve de estas familias de los inhibidores de las proteasas están ampliamente distribuidas entre las plantas y las especies de vida simple como los virus y hongos pero sólo una de estas familias, las llamadas serpinas se ha convertido en las proteasas inhibidoras predominantes en los organismos evolucionados y especialmente en el hombre [60, 61].

## **Familia de las Serpinas**

Las serpinas conforman el 10% del total de las proteínas plasmáticas [62]. El término serpina nace a partir de un acrónimo formado con las palabras serina - proteasa – inhibidor [63].

Lo que diferencia a las serpinas de las otras familias de inhibidores de proteasas es que además de que sus moléculas son mucho más grandes tienen una extraordinaria habilidad para sobrellevar un cambio completo en su forma molecular durante su acción [64]. Este cambio drástico en su estructura conformacional necesario para su actividad inhibitoria las vuelve vulnerables a un plegamiento anómalo [65]. Este cambio conformacional en las serpinas no solo inhibe a las proteasas si no también las prepara para su destrucción dando como resultado una inhibición irreversible de la actividad de estas, necesaria para el control efectivo de la cascada proteolítica [66].

Entre estas la **alpha 1 antitrypsina, la antitrombina, el inhibidor C1 del complemento, los inhibidores de plasmina y sus activadores**, protegen de la elastasa liberada por leucocitos, de la destrucción secundaria a la liberación de proteasas en la cascada de la coagulación, de la activación del complemento y de la fibrinólisis respectivamente [67].



**Figura 19: Función Reguladora de las Serpinas [62].**

Las serpinas comparten una estructura proteica similar sobre todo en las regiones móviles, cuando existen mutaciones que afectan la estructura de estas regiones, se produce como resultado una disfunción de la actividad inhibitoria manifestándose clínicamente dependiendo de la función de cada serpina[53, 68]. Las anomalías en la alpha1-antitripsina el inhibidor de la proteasa leucocitaria se manifiesta con la predisposición al enfisema, alteraciones en la antitrombina con trombosis y alteraciones en el inhibidor C1 con angioedema [69, 70].

Las enfermedades que tienen como común denominador una alteración a nivel de las serpinas se denominan como serpinopatías.

**TABLA 2. Afecciones conformacionales por aposición de serpinas. Modificada de [71].**

<b>SERPINA</b>	<b>PROTEASA</b>	<b>AFECCION</b>
<b>Alfa 1- antitripsina</b>	Elastasa	Enfisema o Cirrosis
<b>Antiquimotripsina</b>	Quimotripsina	Enfisema, Enfermedad Hepática,  Enfermedad Cerebral oclusiva
<b>Antitrombina</b>	Trombina	Trombosis
<b>Inhibidores de la plasmina PAI-1</b>	Plasminógeno	Hemorragia
<b>Alfa<sup>2</sup> antiplasmina</b>	Plasmita	Fibrinólisis
<b>Inhibidor C1</b>	C1 Complemento	Angioedema
<b>Neuroserpina</b>	Diastasa	Demencia familiar por cuerpos de Collins (FENIB)

## **CITOTOXICIDAD**

Hallazgos recientes exponen como la citotoxicidad puede resultar de cambios mínimos en la conformación proteica sin llegar a la formación de amiloide [60, 72].

Existen estudios en Alzheimer y otras demencias que indican que el daño ocurre en una etapa inicial de interacción molecular que precede a la formación de amiloide [73, 74]. Sin embargo aun no están bien determinados los mecanismos detallados de la citotoxicidad [9, 75].

## ENFERMEDADES CONFORMACIONALES EN LA EDAD PEDIATRICA

- **DEFICIENCIA DE Alfa1 ANTITRIPSINA**

La deficiencia genéticamente determinada de la  $\alpha$ 1-antitripsina es el prototipo de las enfermedades relacionadas a la alteración de las serpinas cuya característica predominante es la deficiencia a nivel plasmático de estas serpinas pero que tienen como base subyacente también la inestabilidad en su estructura conformacional [76, 77].

Se describen dos mutaciones genéticas que provocan la disminución de la concentración plasmática de  $\alpha$ 1-antitripsina. **La mutación S** (Glu264Val) y la **mutación Z** (Glu342Lys).

Una de cada 10 personas con descendencia europea es portadora de la **mutación S** (Glu264Val) que en homocigotos se manifiesta con una disminución parcial de hasta 40% de las concentraciones plasmáticas de alfa1 antitripsina, el 4 por ciento de la población europea (el 3 por ciento en la estadounidense) son portadores de la mutación mas severa: la **mutación Z(Glu342Lys)** ; en homocigotos esta mutación resulta en una disminución de hasta el 85% de las concentraciones plasmáticas. En ZZ homocigotos y en SZ heterocigotos las concentraciones de  $\alpha$ 1-antitripsina son insuficientes para mantener sano el tejido pulmonar del daño proteolítico sobretodo en los fumadores.

Las concentraciones disminuidas en el plasma no se deben a una falta de síntesis si no mas bien a un bloqueo a nivel del procesamiento y de la secreción [76], el acumulo secundario de  $\alpha$ 1 antitripsina forma agregados en el retículo endoplásmico de los hepatocitos formando inclusiones visibles con tinción ácida de-Schiff [78].

### **Afección Hepática**

La deficiencia de  $\alpha$ 1-antitripsina no solo resulta en la predisposición para el enfisema si no también para el desarrollo de cirrosis, se ha establecido que el daño hepático no tiene relación con la disminución plasmática de la enzima si no por la polimerización patológica de las variantes de alfa1 antitripsina antes de ser secretada por los hepatocitos que la vuelven resistente a los procesos usuales de degradación, sobre todo en ZZ homocigotos, provocando una acumulación progresiva de  $\alpha$ 1-antitripsina aberrante [76, 79, 80].

Existe riesgo alto para el desarrollo de cirrosis hepática por a acumulación de polímeros de  $\alpha$ 1-antitripsina en pacientes con dos variantes conformacionales inestables de  $\alpha$ 1-antitripsina. El daño hepático en ocasiones se limita a hasta la fibrosis de la porta sin embargo de manera frecuente progresa a cirrosis hepática en la edad adulta [81-83].

La presentación de daño hepático en recién nacidos homocigotos ZZ es variable. En un estudio poblacional sobre recién nacidos se estudiaron 127 casos portadores de la anomalía homocigota ZZ, se demostró que todos mostraron incremento de las enzimas hepáticas, el 10 % curso con ictericia prolongada la mayoría recuperándose pero un 10% desarrollo cirrosis hepática. Esta predisposición de daño de instalación temprana esta dada por la susceptibilidad de los hepatocitos en los recién nacidos incapaces de degradar proteínas polimerizadas, sin embargo esto no explica el porque algunos niños cursan con hepatitis crónica y cirrosis cuando otros no [84].

Los niños que son afectados por formas severas pueden tener otros trastornos como enfermedades infecciosas concomitantes que suelen aumentar la producción de  $\alpha$ 1-antitripsina en el hígado y además la inestabilidad de la conformación de esta mutación ZZ es altamente sensible a los cambios de temperatura de manera tal que procesos febriles pueden aumentar en forma dramática la polimerización de la serpina en el hepatocito [85].

Mantener la eutermia y minimizar la pirexia en procesos infecciosos o inflamatorios en niños ZZ homocigotos puede considerarse como una medida preventiva[68, 86]

### **Afección Pulmonar**

La deficiencia de  $\alpha$  1-antitripsina se manifiesta a nivel pulmonar con la presentación temprana de enfisema basal panlobular, se ha relacionado también con asma, bronquiectasias y vasculitis [76].

La relación del desarrollo temprano de enfisema con la exposición a humo de tabaco esta bien descrita. Después de los 30 años el Volumen Espirado en un segundo disminuye 35ml por año en personas sanas no fumadoras, en pacientes homocigotos ZZ el promedio de disminución es de 45ml por año en no fumadores y de 70ml por año en fumadores.

## DIABETES MELLITUS TIPO 2

El término de Diabetes Mellitas hace referencia a diversos trastornos relacionados con una alteración de la tolerancia a la glucosa junto con una deficiencia en la secreción de insulina o bien anomalías en sus efectos metabólicos. Aunque el dato más característico y destacable de este trastorno es la homeostasis anómala de la glucosa, el trastorno cursa también con muchas otras alteraciones metabólicas que modifican el metabolismo de los aminoácidos, proteínas y lípidos [87].

Se puede definir como EC ya que una de las proteínas estructurales de los islotes de Langerhans el **Polipéptido amiloide del islote (IAPP)** sufre una alteración en su estructura terciaria dando lugar a su depósito tisular [1].

Los depósitos de amiloide es un hallazgo que se encuentra en la patogénesis de la diabetes mellitas tipo 2, se ha encontrado en autopsias una asociación de estos depósitos de amiloide con pérdida de la masa de células B del páncreas [88, 89].

El estrés oxidativo y la producción incrementada de insulina contribuyen al estrés del retículo endoplásmico, alteraciones en el plegamiento proteico e inducen la “unfolding protein response”. Cuando los controles de calidad se sobresaturan ocurren los cambios conformacionales del IAPP generando oligómeros estables de láminas B que de manera eventual se acumulan y depositan en los islotes [1, 90].

- **ENFERMEDAD DE HUNTINGTON**

La enfermedad de Huntington es un trastorno degenerativo progresivo del SNC de etiología desconocida que afecta aproximadamente a 1:10000 habitantes, se hereda con carácter autosómico dominante. Dicha enfermedad fue descrita por George Huntington en 1872. en el que la causa es una expansión del trinucleótido inestable [91, 92]. El gen responsable se encuentra en extremo del cromosoma 4p16.3. El inicio de los síntomas es progresivo, con corea progresiva y demencia presenil, que suele ocurrir entre los 35 y 55 años de edad. La enfermedad es poco frecuente en la edad pediátrica, ya que solo el 1% de los pacientes tienen inicio antes de los 10 años. El paciente pediátrico afectado, presenta manifestación neurológicas caracterizadas por rigidez, distonias retraso mental trastornos de la conducta, además pueden presentar crisis convulsivas tónico-clónicas generalizadas, que generalmente no responden a los anticonvulsivos. Aproximadamente un 50% tienen signos cerebelosos y el 20% tienen apraxia motora [93, 94]. La corea suele afectar a músculos proximales, y los movimientos anormales suelen incorporarse a los actos motores semintencionados en un intento por enmascarar el problema. En los pacientes pediátricos, el curso de la enfermedad es más rápido, con una supervivencia a 8 años, comparado con 14 años para los adultos. La tomografía computarizada, aunque no es diagnóstica

permite comprobar que el índice bicraneal-bicaudado esta disminuido, indicando una atrofia del núcleo caudado y del putamen [95, 96].

No existe tratamiento específico para la enfermedad de Huntington, sin embargo una vez diagnosticado se debe proporcionar apoyo genético, para que los padres conozcan el riesgo de tener futuros hijos afectados.

- **ANEMIA DREPANOCÍTICA O DE CÉLULAS FALCIFORMES**

Anemia hemolítica producida por la hemoglobinopatía S y sus variedades clínicas. Se relacionan con fenómenos trombóticos isquémicos en diferentes órganos y sistemas titulares, como consecuencia de obstrucción de la microvasculatura de eritrocitos deformados y rígidos por cristalización de la hemoglobina S. Se considera no solo una anemia hemolítica sino un padecimiento multiorgánico, al precipitarse la hemoglobina dentro del eritrocito este se deforma y causa drepanocitos, la membrana sufre cambios que originan mayor adhesividad al endotelio vascular, rigidez, disminución de su plasticidad indispensable para fluir por los vasos capilares obstruyéndolos y originando fenómenos isquémicos [97, 98].

Los tipos de hemoglobinopatía S están determinados por variaciones alomorfas de los genes y de la interacción de otros genes hemoglobínicos anormales se conocen; los portadores de hemoglobina S, los homocigotos SS y los dobles heterocigotos SC, SD, SE y S talasemia beta [99-101].

- **FIBROSIS QUISTICA**

Enfermedad genética con patrón de herencia autosómico recesivo mas frecuente en población caucásica. Con una incidencia de 1 en 2,000-5,000 nacimientos, dependiendo de la región y/o etnia de origen.

El gen de la fibrosis quística (FQ) fue localizado en el gen 7q31 en 1985 y se identifico en 1989, se denomina CFTR (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) es un canal de iones cloruro regulado por AMP cíclico y actúa a su vez como proteína reguladora de otros canales iónicos [102].

La mutación (F508del) es una deleción de tres pares de bases que codifican para el aminoácido fenilalanina en el codon 508 y se encuentra en más del 70% de los cromosomas FQ. Se han identificado cerca de 1000 mutaciones que causan FQ[103, 104]

Estudios recientes demuestran que muchos de los síntomas inexplicables de la fibrosis quística derivan en la deficiencia de una proteína reguladora del transporte del cloro a través de la membrana celular.



Recientemente se ha demostrado que en la mutación más frecuente de la FQ se encuentra como causa subyacente una disociación de la proteína transportadora-reguladora de una de sus chaperonas. Sin lograr el paso final de un plegamiento proteico normal, impidiendo la producción de cantidades normales de proteínas funcionales.[105, 106]

La alteración del transporte de electrolitos, particularmente del transporte de iones cloruro, es la anomalía principal en la FQ. Las secreciones de diversos órganos son anormalmente espesas y deshidratadas, lo que provoca obstrucción de los conductos pancreáticos y biliares, del intestino, del epidídimo y los conductos deferentes, de los bronquios y bronquiolos [107].

La alteración del CFTR lleva a una anomalía en el transporte iónico de las secreciones de las glándulas serosas, a una hiperviscosidad del moco asociada a obstrucción y fallo secundario de las glándulas mucosas y a una respuesta anormal con susceptibilidad a la infección endobronquial por bacterias específicas.

Las manifestaciones más frecuentes son insuficiencia pancreática exocrina en el 85-90% de los casos, enfermedad pulmonar obstructiva crónica severa que se desarrolla con el tiempo en casi todos los casos, azoospermia obstructiva por anomalías anatómicas en tracto urogenital en casi la totalidad de los varones y altas concentraciones de cloro y sodio en el sudor[103]

- **FENILCETONURIA**

Se presenta en 1 de 12,000 nacimientos, con mayor incidencia en caucásicos y con descendencia asiática. Uno de los errores innatos del metabolismo más frecuentes y estudiados. Resulta de una deficiencia en la actividad de hidroxilasa de la fenilalanina [95].

Asintomáticos al nacimiento pero sin tratamiento de manera gradual inician con retraso psicomotor severo, microcefalia, hiperreflexia, convulsiones, comportamiento autista, rash eccematoso e hipopigmentación en los primeros años de vida. De un coeficiente intelectual normal al momento del nacimiento, cae a un promedio de 60 para el año de edad y a 40 a los 4 años [108].

El diagnóstico se sospecha en pacientes con retraso en el desarrollo psicomotor. Los pacientes sin tratamiento presentan niveles elevados en sangre y orina de fenilalanina y sus metabolitos como el ácido fenilacético y el ácido fenilpiruvico denominados también como fenilcetonas

Se cree que los niveles elevados de fenilalanina interfieren con crecimiento y mielinización del sistema nervioso central. El acumulo de ácido fenilacético produce un olor característico conocido como ratón. El pronóstico de los pacientes dependerá del momento de diagnóstico y del control de los niveles de fenilalanina, los síntomas de la enfermedad pueden ser controlados si los niveles de

fenilalanina se mantiene en los rangos recomendados sin embargo la pérdida del potencial intelectual es irreversible cuando se ha instalado el daño.

- **OSTEOGENESIS IMPERFECTA**

La osteogénesis imperfecta (OI) es la causa más frecuente de osteoporosis hereditaria caracterizado por la fragilidad del sistema esquelético y predisposición para las fracturas de los huesos largos y las compresiones vertebrales causadas por traumatismos leves o insignificantes, trastorno generalizado del tejido conjuntivo debido a defectos de colágena de tipo I. Padecimiento autonómico dominante aparece en todos los grupos raciales y étnicos en una incidencia de 1: 200,000[95].

Los tipos de osteogénesis imperfecta se deben a defectos cualitativos o cuantitativos de colágena tipo I que es el principal componente de la matriz extracelular del hueso y la piel

Las mutaciones estructurales del colágeno producen en la OI un hueso totalmente anormal. La matriz ósea contiene fibrillas anormales de colágeno tipo I y niveles relativamente altos de colágeno de los tipos III y V.

El colágeno tipo I es un heterodímero formado por dos cadenas alfa 1 y una cadena alfa2. Estas cadenas se sintetizan en forma de moléculas de pro colágeno y muestran expansiones globulosas cortas en los extremos de la región helicoidal central. Este dominio helicoidal está formado por repeticiones ininterrumpidas de la secuencia Gli-X-Y donde gli es glicina, X suele ser prolina y es habitualmente hidroxiprolina. La presencia de glicina en cada tercer residuo es esencial para que se forme la espiral, porque su pequeña cadena lateral se puede acomodar en las restricciones espaciales del interior del trímero helicoidal. Las cadenas se ensamblan en los espirales utilizando sitios cruciales de alineamiento situados en la expansión del carboxilo terminal. Después, siguen formándose espirales en dirección lineal desde un grupo carboxilo a un grupo amino. Al mismo tiempo que se forman y ensamblan las espirales, se produce la glucosilación de sus residuos de lisina.

Los defectos estructurales del colágeno son de dos clases: el 85% son mutaciones puntuales que producen sustitución de los residuos de glicina por otros aminoácidos; el 12% son defectos aislados de separación de los exones. La OI clínicamente leve de tipo I tiene un defecto cuantitativo además de mutaciones que producen un alelo alfa 1 funcionalmente nulo. Los pacientes que presentan este defecto producen una cantidad escasa de colágena normal.

La relación en las mutaciones estructurales entre el genotipo y el fenotipo sigue estando oscura. La frecuencia de mutaciones letales y no letales es igual en ambas cadenas. EN las mutaciones alfa 2 aparecen mutaciones letales y no letales en regiones alternas a lo largo de la cadena. En el caso de las mutaciones de cadena  $\alpha 1$  ningún modelo sirve para pronosticar suficiente el fenotipo. Las

manifestaciones clínicas se caracterizan por la triada de fragilidad ósea, escleróticas azules y sordera prematura.

Actualmente se clasifica en cuatro tipos basados en criterios clínicos y radiológicos.

- OI Tipo I (Leve)
- OI Tipo II (Perinatal mortal)
- OI Tipo III (Deformante progresiva)
- OI Tipo IV (Moderadamente grave)

#### • **MUERTE SUBITA DEL LACTANTE**

Las proteínas estudiadas en las EC que se muestran en la tabla1; son proteínas no esenciales para la vida, un tercio de las enfermedades mencionadas son desencadenadas por mutaciones espontáneas. Sin embargo se ha descrito la posibilidad de mutaciones proteicas espontáneas en proteínas esenciales para la vida llegando a ser letales y causa de óbitos, así como otras mutaciones compatibles con la vida hasta que exista un estímulo desencadenante como hipertermia o fiebre que de cómo resultado una crisis conformacional [109].

La presencia fiebre y periodos cortos de temperatura mayor de 41oC y la asociación descrita con muerte súbita del infante puede resultar de una crisis conformacional masiva en proteínas esenciales para la vida [110].

#### **VISION TERAPEUTICA**

##### **Existen diversas estrategias para combatir la enfermedad:**

- 1) Introducción en el organismo de una versión correcta de la proteína (terapia génica) [111].
- 2) Inactivación de la proteína que presenta una función alterada o no regulada mediante fármacos (bloqueo o inhibición) [112].
- 3) Rescate de la conformación estructural y la función correcta mediante fármacos.

## CONCLUSION

La diversidad en presentación clínica de las enfermedades conformacionales tomando en consideración el momento de instalación ya sea temprana o tardía, el depósito proteico lento o la presencia mutaciones súbitas o en episodios, así como su relación estrecha con alteraciones genéticas o con factores ambientales pueden crear controversia en el querer agruparlas de forma única en esta categoría de EC designarlas como tal denota el mecanismo o alteración subyacente en presentaciones atípicas o de inicio tardío de estas enfermedades, así mismo nos encamina a la búsqueda de una terapéutica común con miras la manipulación de la estructura o agregación proteica [113].

## X. AMILOIDOSIS

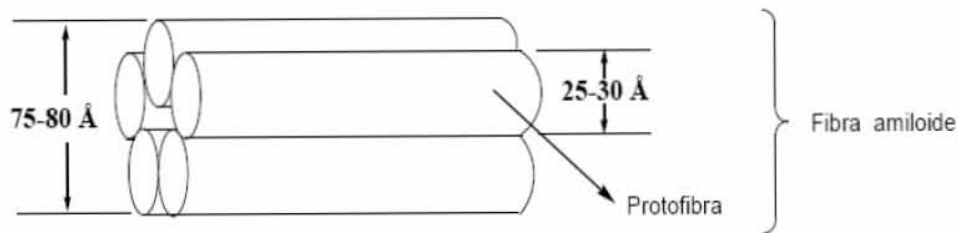
### HISTORIA.

El término amiloide fue citado por primera vez por el médico alemán Rudolf Virchow en un escrito titulado “degeneración amiloide” en cual fue escrito por primera vez 17 de Abril de 1854. Fue descrito en un tejido cerebral de *corpora amyloacea* el cual presentaba un aspecto macroscópico anormal y observo que al teñirlo con yodo adquiría un color azul pálido, el cual se transformaba en violeta al teñirlo con ácido sulfúrico. Con ello llego a la conclusión de que la sustancia que producía la anormalidad macroscópica esa celulosa, por lo que la denomino “amiloide” ( del latín *amylum* y del griego *amylon*) [114, 115]

Después, en 1859, Friedreich y Kekule demostraron que el componente mayoritario de la sustancia amiloide no era un carbohidrato, como había afirmado Virchow, si no que estaba constituido por una proteína [114].

Las investigaciones sobre la naturaleza de los depósitos amiloides han evolucionado con la aparición de nuevas técnicas. Así, con la mejora de la microscopia óptica y el uso de agentes de tinción histopatológicos permitieron establecer el primer criterio para determinar la naturaleza amiloide de un depósito de proteína: la birrefringencia verde manzana. Los depósitos amiloides presentan un elevado grado de estructuración molecular, lo cual se manifiesta al observarlos con luz polarizada: la anisotropía de los depósitos amiloides produce birrefringencia, que se acentúa si la muestra se tiñe con rojo congo [116].

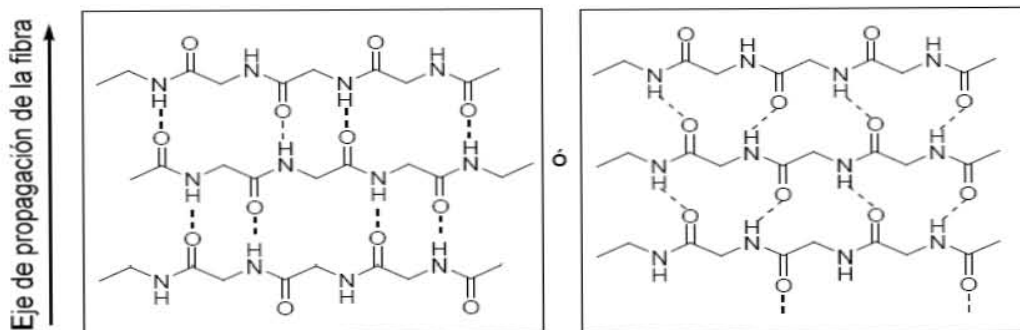
En 1959 se describió por primera vez las fibras amiloides gracias al uso de la microscopía electrónica. El empleo de la microscopia electrónica permitió a Shiraham y Cohen postular un primer modelo sobre la estructura de las fibras amiloides en 1967 [117]. Este modelo, aún se encuentra vigente, y se basa en la observación de fibras de transtiretina, y sostiene que cada fibra presenta un diámetro de 75-80 Å y se encuentran formadas por protofibras de 25-35 Å. Como se muestra en la siguiente figura [118]:



**Figura 20: Fibra amiloide [118].**

Además del componente fibrilar de amiloide, se encontraron componentes no fibrilares, que incluían a la proteína sérica amiloide, proteoglicanos heparan sulfato y apolipoproteína E.

La utilización de difracción de rayos X en diversas estructuras amiloides permite ver un patrón de comportamiento común correspondiente a la ordenación de la proteína en forma de lámina B-cruzada., según el modelo de Pauling y Corey. Esta estructura presenta la cadena peptídico formando láminas  $\beta$  (ya sean paralelas y antiparalelas), las cuales se disponen en forma perpendicular al eje fibrilar, y este a su vez es paralelo a la dirección de los puentes de hidrógeno del esqueleto como se esquematiza en la siguiente figura:



**Figura 21 [118]**

En esta imagen se observa un modelo de proteínas de laminas  $\beta$ -cruzada: Ordenación antiparalela (izquierda) y ordenación paralela (derecha).

El proceso de formación de las fibras de amiloides, se ha denominado envejecimiento (*aging*) de la proteína o proceso de fibrillogénesis, tiene lugar siguiendo un mecanismo que aún no ha sido esclarecido por completo. Actualmente se acepta que dicho mecanismo es dependiente de nucleación, ya que diversos estudios han puesto de manifiesto que presenta una cinética de agregación sigmoide como se presenta en la siguiente figura:

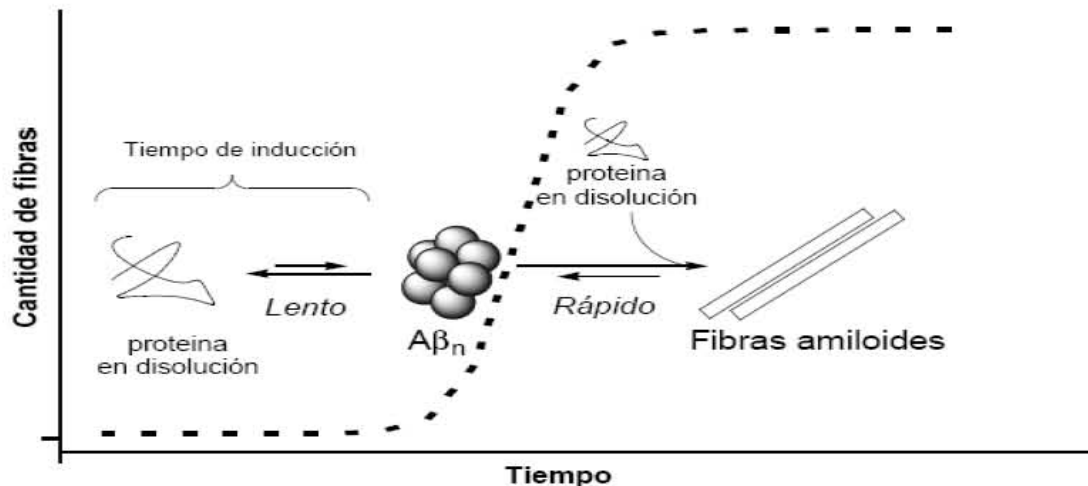


Figura 22 [118]

El mecanismo de agregación dependiente de nucleación implica que la proteína en estado monomérico establece un equilibrio lento en estructuras oligoméricas, las cuales, una vez formadas, dan lugar rápidamente a las fibras amiloides, ya sea mediante asociación de unidades de monedero o bien por fusión de oligómeros [119].

La clasificación más general de las proteínas la divide en dos grupos: fibrosas y globulares. Las proteínas fibrosas muestran en su estructura de repetición de elementos de estructura secundaria, como hélices o hebras  $\beta$ , para formar fibras cilíndricas alargadas que son utilizadas como sostén estructural de células y tejidos. Por otro lado las proteínas globulares contienen, además de las hélices y hebras, estructuras no repetitivas como asas o giros, gracias a las cuales adoptan estructuras compactas y globulares para realizar funciones específicas en el organismo [20, 120].

Como se menciona en el capítulo anterior de introducción a las proteínas, estas adquieren su estructura tridimensional en un proceso llamado plegamiento, en el cual, cada secuencia particular adopta la formación nativa o de mínima energía. El plegamiento a la conformación nativa es un proceso central para que las proteínas puedan llevar a cabo su función correctamente [121, 122]. Por ello se ha observado que las células tienen mecanismos para evitar y revertir el plegamiento incorrecto de las proteínas, sin embargo en los últimos años se ha descubierto que un gran número de patologías están relacionadas con conformaciones anómalas de estas moléculas [123]. De esta forma algunas proteínas cuya conformación nativa es globular, adoptan una estructura fibrosa, y estas alteraciones pueden tener un origen genético, esporádica o infeccioso [124].

Varias enfermedades que presentan depósitos de proteínas agregadas, se asocian a factores genéticos, es decir mutaciones puntuales en la proteína que producen un mal funcionamiento y en ocasiones su mal funcionamiento o su agregación en algún órgano específico. En términos fisicoquímicos, las mutaciones pueden alterar la estabilidad o la velocidad de interconversión entre una forma nativa y forma fibrilar [125, 126].

Actualmente no se conocen con exactitud los mecanismos moleculares que le permiten a una proteína, a lo largo de la evolución, permanecer solubles en las condiciones particulares del organismo, o formar agregados insolubles que se depositan en órganos y tejidos causando patología. Sin embargo, en el fondo de estas patologías todas se derivan de una aberración conformacional.

Cuando se produce un plegamiento anormal de las proteínas se pueden afectar las funciones celulares a diferentes niveles, ya que la proteína afectada no se va secretar en cantidad adecuada, o bien, no se lleva a cabo su función correctamente [115].

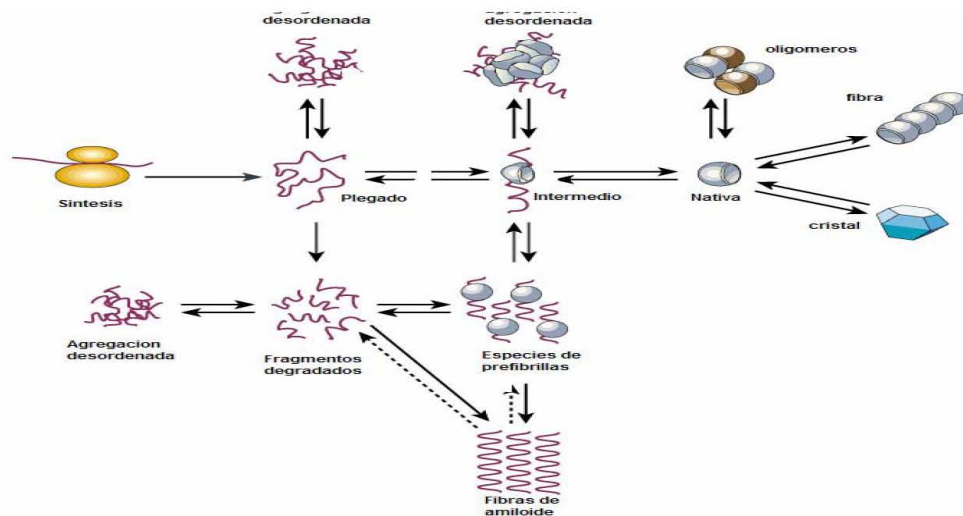
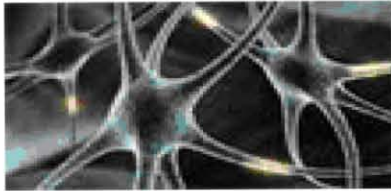


Figura 23: Formación de la fibra de amiloide [127].

De esta forma, se sabe que existen un gran número de patologías, reunidas bajo el nombre de general de amiloidosis, en la cual el sustrato etiopatogénico está ocasionado por errores en el plegamiento los cuales llevan a la formación irreversible de agregados fibrilares insolubles llamados **amiloides**.

Y ya en la actualidad se sabe que existen más de 20 proteínas amiloides, y cada una asociada a una patología concreta. Estas proteínas anormales, algunas de ellas se depositan únicamente en un órgano específico, como cerebro, bazo e hígado, de proteínas precursoras particulares, o sus fragmentos, mientras que otras se depositan en varios órganos y tejidos dando lugar a amiloidosis sistémica [116, 128].



**Peptido B amiloide**



**Deposito de amiloides**

**Fifuras 24: Fibras de amiloide.**

Varias proteínas han sido identificadas definitivamente como precursoras de amiloides asociadas a patologías específicas. Cabe mencionar, que no se conoce con certeza si la presencia de fibras amiloides en estas patologías es acusa o efecto de la disfunción celular.



**Tabla 3: Ejemplos de enfermedades cuasadas por plegamiento amormal. [114, 117]:**

<b>PATOLOGIA</b>	<b>PRECURSOR</b>	<b>DISTRIBUCION</b>
Enf. De Alzheimer: familiar o esporádica. Síndrome de Down.	Proteína precursora A $\beta$	Localizada
Deficiencia de alfa1 antitripsina	Serpinas	Localizada
Encefalopatías espongiiformes: Kurú, Sx de Creutzfeld-Jakob.	Proteína Prion	Localizada
Amiloidosis AL primaria y asociada a mieloma.	Cadena ligera de Igs	Sistémica y localizada.
Amiloidosis AH primaria o asociada a mieloma	Cadena pesada de Igs	Sistémica y localizada
Amiloidosis familiar senil sistémica	Transtiretina	Sistémica o localizada.
Amiloidosis AA	Apoproteína AA sérica	Sistémica.
Amiloidosis AH debida a hemodiálisis crónica.	Microglobulina $\beta_2$	Sistémica o localizada.
Polineuropatía familiar amiloidótica, tipo IV y amiloidosis hereditaria renal.	Apolipoproteína AI	Sistémica o localizada.
Amiloidosis familiar	Gelsolina	Sistémica
Amiloidosis sistémica familiar	Variantes de lisozima	Sistémica
Amiloidosis familiar	Cadena $\alpha$ del fibrinógeno	Sistémica
Amiloidosis sistémica hereditaria	Cistatina C	Sistémica
Tumor de células C de la tiroides	(pro) calcitonina	Localizada
Insulinomas de los islotes de Langerhans	Polipéptido insular amiloide	Localizada
Amiloidosis en aurículas	Factor natriurético atrial	Localizada
Prolactinomas de las glándula pituitaria	Prolactina	Localizada

Independientemente de la proteína involucrada o las manifestaciones clínicas de la enfermedad producida, los agregados amiloides poseen en común las siguientes características fundamentales [116, 127]:

- Aspecto blanquecino y homogéneo, que se tiñen con eosina.
- Se tiñen con Rojo Congo en medio alcalino, y muestran birrefringencia verde manzana al ser observados en el microscopio de luz polarizada.
- Poseen estructura fibrilar cuando se observan en microscopio electrónico.
- Muestran un patrón de difracción de rayos X de tipo hebra  $\beta$  cruzado.

- Son afines a los colorantes de Tioflavín T y Tioflavín S, con los que forman complejos fluorescentes.

**AMILOIDE:** Es el depósito tisular proteínico que se deposita en tejidos y órganos que alteran secundariamente su funcionamiento. Su principal componente es la fibrilla amiloidea, que está formada por dos filamentos helicoidales y que tiene de 7 a 10 nm de diámetro [114, 117].

Como se menciona en párrafos anteriores se han descrito aproximadamente 20 diferentes tipos de proteínas fibrilares. La estructura de estas proteínas fibrilares son diferentes y cada una depende de la estructura primaria o de su función que realiza la proteína en el órgano específico; de tal forma que podemos tener ejemplos como [26, 116]:

- PROTEÍNAS FIBRILARES: Son derivadas de las apolipoproteínas (apolipoproteína AI, apolipoproteína AII y amiloide serico A).
- PROTEOHORMONAS: Péptido natriurético atrial, calcitonina, insulina, islotes de polipéptido amiloide y prolactina).
- INMUNOGLOBULINAS: Cadenas  $\lambda$  y  $\kappa$  ligeras y cadenas pesadas.
- PROTEASAS: Lisozima.
- INHIBIDOR DE PROTEASAS: Cistatina.
- PROTEÍNAS TRANSMEMBRANA: Proteína precursor de amiloide.
- PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS: Transtiretina.
- OTRAS PROTEÍNAS:  $\beta$ 2 microglobulina, fibrinógeno, lactoferrina, gelsolina.

En todas estas proteínas la característica patognómica, es la capacidad para formar agregados bajo circunstancias específicas, y con ello la formación y depósito de amiloides en diferentes órganos o a nivel sistémico como ya se mencionó anteriormente. Sin embargo, el patrón de distribución del amiloide depende del origen de la fibra amiloidea [129].

**AMILOIDOSIS:** La amiloidosis constituye un grupo heterogéneo de enfermedades, puesto que las cadenas polipeptídicas del amiloide tienen diversa composición de aminoácidos. Los signos y síntomas dependen del patrón de distribución, de la calidad y cantidad del depósito de amiloide [116, 118]. En ocasiones los síntomas pueden ser altamente sugestivos de amiloidosis, sin embargo los hallazgos físicos pueden ser muy variables.

Durante varios años la amiloidosis fue clasificada de acuerdo a la distribución anatómica. Y se consideraron tres tipos de amiloidosis sistémica.

- La amiloidosis familiar fue basado en modelos del patrón de herencia.
- La amiloidosis secundaria la cual es determinada por procesos inflamatorios crónicos.
- Y otros tipos de amiloidosis son consideradas como primarias, las cuales eran realmente idiopáticas.

En muchos años, los pacientes con amiloidosis, han sido clasificados como amiloidosis con mieloma múltiple y amiloidosis sin mieloma múltiple. Sin embargo, actualmente se sabe que la amiloidosis asociada a mieloma múltiple es poco común. La evolución de mieloma múltiple hacia la amiloidosis muy rara y solo ocurre en uno de 1600 casos.

Actualmente la amiloidosis es clasificada de acuerdo a la subunidad proteica amiloidea alterada. La clasificación se describe en la tabla número 1.

## **EPIDEMIOLOGIA**

La incidencia de amiloidosis es aproximadamente de 8 casos por millón personas por año [116]. Es aproximadamente una quinta parte en comparación con la incidencia de mieloma múltiple. Sin embargo la incidencia es similar a la presentada por la enfermedad de Hodgking.

La incidencia es más alta en el sexo masculino ya que el 60-65% de los casos de amiloidosis son pacientes masculinos. Presenta su incidencia más alta en la tercera década de la vida.

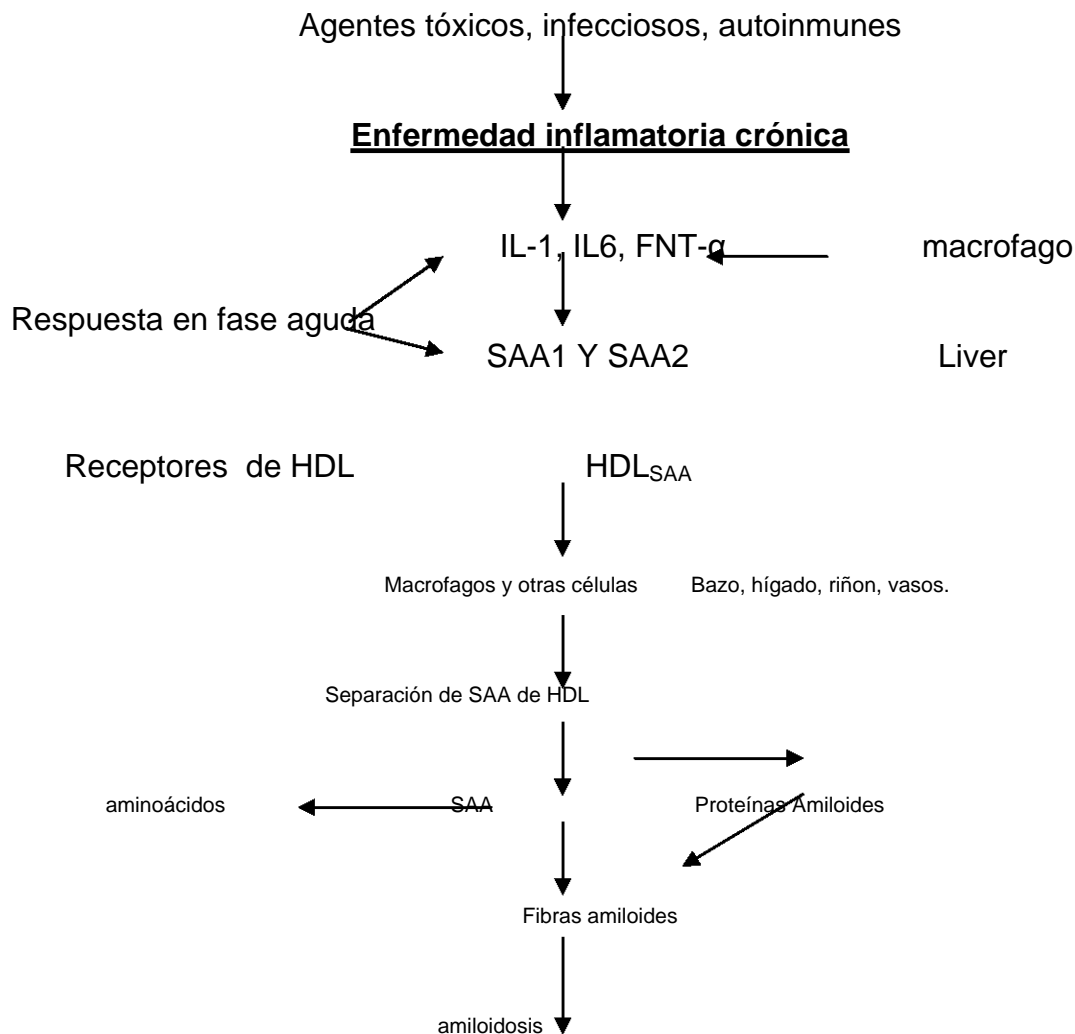
## **PATOGENIA**

Aproximadamente en el 45% de la amiloidosis, se trata de una amiloidosis secundaria. El tiempo de instalación del cuadro es usualmente rápida y entre las causas más frecuentes están las enfermedades reumáticas como la espondilitis anquilosante, la artritis reumatoide juvenil, enfermedades idiopáticas como sarcoidosis, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa o enfermedad de Rosai-Hofman, y diversas enfermedades infecciosas como la tuberculosis o la Lepra, enfermedades neoplásicas como el mesotelioma o la enfermedad de Hodgking [116].

Todas estas patologías tienen como sustrato patogénico a la inflamación crónica, con liberación de gran cantidad de mediadores inflamatorios y liberación de radicales libres que causan lesión celular y con ello alteran su funcionamiento [127].

La proteína sérica amiloide es la precursora de las fibras amiloide, y estas a su vez son las proteínas que se depositan en la amiloidosis. Los genes de la proteína sérica amiloide se encuentra localizada en el cromosoma 11p15.1. Esta proteína pertenece a un grupo de proteínas homologas que se dividen en dos grupos. El primer grupo comprende las tipo I, son proteínas sintetizadas en la fase aguda por el hígado y se denomina SAA1 y SAA2. Durante la respuesta en la fase aguda se incrementan las concentraciones séricas hasta alcanzar concentraciones de 1-2 mg/ml, el 80 % de estas proteínas son lipoproteínas y de estas el 90 % son lipoproteínas de alta densidad. El segundo grupo de proteínas se denominan SAA4 en humanos y SAA3 en ratas y se expresan en el plasma en concentraciones aproximadamente en 55 microgr/dl, en los humanos es sintetizado por diferentes órganos y tejidos, pero no son proteínas de fase aguda, se han revisado la fisiología de estas moléculas, sin embargo hasta la fecha no se sabe como participan en la fisiopatología de la amiloidosis [127].

Se ha observado que la amiloidosis se presenta después de un largo periodo de inflamación crónica, como resultado de enfermedades inflamatorias o enfermedades infecciosas. Por ello la amiloidosis generalmente no se diagnostica en etapas tempranas de la enfermedad, ya que casi siempre es producto de procesos inflamatorios crónicos. Sin embargo en algunos casos pueden aparecer síntomas antes del año. La amiloidosis no aparece sin que haya una respuesta en la fase aguda de la inflamación o sin que se hayan elevado los niveles de SAA. La síntesis y secreción de estas proteínas son mediadas por interleucinas (IL-1, IL-6) y el factor de necrosis tumoral [127]. Estas citocinas que son secretadas por los leucocitos generan una respuesta de fase aguda sistémica produciendo fibras amiloideas las cuales se depositan en órganos y tejidos dando lugar a la amiloidosis [130, 131].



Las fibras amiloides provienen de las HDL, y son a su vez fuente de las proteínas fibrilares amiloides. Estas fibras de amiloides se depositan inicialmente en órganos y tejidos donde existe un mayor metabolismo de lípidos y colesterol como son el bazo y el hígado. Los análisis de inmunohistoquímica demostraron la presencia de otras lipoproteínas de la fracción de HDL, llamadas apolipoproteínas A-I (apo A-I), y apolipoproteínas E (apo E) encontradas en el depósito de fibras amiloides [132]. Se sabe que las apo E y HDL juega un papel importante en el metabolismo del colesterol, el transporte periférico de colesterol de las células al hígado. Las apo A-I y las apo A-II pueden modificar las fibras amiloides de las HDL, y el efecto de la variación en la composición de lípidos y la repercusión con las proteínas amiloides aún no es bien conocida [123, 127].

Las fibras de amiloide inicialmente se depositan en el bazo, seguido del hígado y el riñón y después con depósito intersticial generalizada. La razón por la

que el amiloide se deposita en este orden en los órganos, aún no está bien dilucidada, sin embargo una teoría es que como el precursor de las fibras amiloides derivan de una apolipoproteína y estas apolipoproteínas provienen de fuentes de colesterol, y estos órganos son sitios donde se lleva a cabo el metabolismo del colesterol [133].

## **CUADRO CLINICO:**

El cuadro clínico de la amiloidosis está caracterizado por síntomas subjetivos y hallazgos físicos de amiloidosis, que son inespecíficos, que deben ser reconocidos tempranamente para realizar un diagnóstico temprano y con ello iniciar una terapéutica temprana.

Las características clínicas que hacen sospechar un cuadro clínico sugestivo de amiloidosis, se puede englobar en cuatro grandes grupos [116]:

- Proteinuria en rangos nefróticos; con o sin insuficiencia renal.
- Insuficiencia cardíaca congestiva secundaria a cardiomiopatía restrictiva.
- Hepatomegalia no explicable.
- Neuropatía periférica idiopática.

Cuando se presenta uno de estos cuatro síndromes se debe iniciar el abordaje diagnóstico. Sin embargo, como se mencionó anteriormente se pueden presentar síntomas inespecíficos y de estos los más comunes son pérdida de peso y fatiga, de estos la fatiga se relaciona con más frecuencia cuando existe amiloidosis temprana a nivel cardíaco, estos pacientes cursan con datos de bajo gasto secundaria a la hipotensión, ya que se afecta la contractilidad cardíaca [134].

Tomando en cuenta los datos clínicos, que son inespecíficos, solo en el 15% de los pacientes con amiloidosis es posible sospechar el diagnóstico en base a las características clínicas.

Las lesiones purpúricas pueden ser características de la amiloidosis y se presentan en 15% de los pacientes, estas lesiones se pueden formar a nivel de la línea de los pezones, los pliegues del cuello, la cara y párpados [134]. En ocasiones pueden ser lesiones sutiles y se observan solo que el paciente cierre los ojos o en ocasiones se confunden con púrpura senil o púrpura común.

La hepatomegalia se presenta en aproximadamente una cuarta parte de los pacientes, sin embargo solo en uno de cada 10 pacientes se palpa el borde hepático a más de cinco centímetros por debajo del reborde costal.

El hallazgo clínico más específico es la macroglosia, pero solo se presenta en el 9% de los pacientes, también están infiltradas de amiloide las glándulas submandibulares, las cuales se pueden confundir con linfadenopatías.

Es muy raro que se infiltre la arteria temporal, la cual simula un cuadro clínico compatible con arteritis de células gigantes, y ocasionalmente se infiltran también los músculos, que se presenta como hipertrofia y pueden causar dolor, y es raro que se presente como atrofia la cual puede ser secundaria a oclusión vascular crónica.

### **A NIVEL RENAL:**

En la amiloidosis, el riñón es el órgano que con más frecuencia se afecta, causando síntomas en una tercera parte a la mitad de los pacientes. La amiloidosis renal se observa en aproximadamente en 2.5% a 2.8% de todas las biopsias renales. Cuando se revisan las biopsias de pacientes con síndrome nefrótico de pacientes no diabéticos, en el 10% de estos pacientes se reporta amiloidosis. El nivel de creatinina sérica al momento del diagnóstico sirve como indicador pronóstico, así, cuando se reporta una creatinina menor de 1.3 mg/dl tienen una supervivencia de 26 meses. En estos pacientes se encuentran cadenas ligeras  $\lambda$  en el suero y la orina. La proteinuria que se presenta en rangos nefróticos da como resultado hipoalbuminemia sérica. Los pacientes tienen comúnmente niveles de albúmina menor a 1 g/dl. Esta hipoalbuminemia conlleva a pérdida de la presión oncótica intravascular, generando así la salida del líquido intravascular al espacio intersticial, lo cual se refleja en el edema característico que clínicamente podemos observar en estos pacientes con amiloidosis [116]. En estos pacientes, la anasarca puede complicarse con hipotensión por pérdida del líquido intravascular.

La principal complicación a largo plazo de la pérdida continua de proteínas por vía renal, es el daño tubular, seguido por elevación de azoados y eventualmente se llega a etapas finales de daño renal con insuficiencia renal crónica terminal. Los pacientes con amiloidosis, de ellos una tercera parte se le realiza diálisis, en promedio desde el momento del diagnóstico a la diálisis son catorce meses. Y la vida media desde que inician la diálisis es de ocho meses, ya que frecuentemente presentan depósitos de amiloide a nivel de hígado o corazón. No se ha observado diferencias en la supervivencia de pacientes tratados con diálisis peritoneal o con hemodiálisis.

La magnitud de los depósitos de amiloides en el riñón, obtenidos por biopsia tiene una pobre correlación con el grado de proteinuria, y al contrario se ha observado que pequeños depósitos de amiloide puede ser asociado con un síndrome nefrótico severo.

### **A NIVEL DE CORAZON:**

El corazón es el órgano que ocupa el segundo lugar en frecuencia de afección, el cual se presenta con síntomas secundarios a la cardiomiopatía restrictiva [116]. El diagnóstico de amiloidosis con afección cardíaca frecuentemente es omitido, ya que en ocasiones el único síntoma es la fatiga [135]. Además, frecuentemente en la radiografía de tórax se observa una silueta cardíaca como normal. La cardiomiopatía por naturaleza es restrictiva la cual presenta una disfunción diastólica temprana y no está afectada la sistólica en etapas tempranas, por lo que la fracción de eyección es mantenida normal en etapas tempranas. La electrocardiografía frecuentemente muestra voltajes pequeños, el cual puede pasar desapercibido a menos que se tenga la posibilidad diagnóstica presente [136, 137].

Algunos pacientes que cursan con falla cardíaca congestiva causada por amiloidosis, pueden ser diagnosticados como cardiopatía isquémica. El estudio que nos da mayor información es el ecocardiograma en el cual se observa aumento de la pared muscular, y al inicio se observa hipertrofia de ventrículo izquierdo antes de la cardiomiopatía infiltrativa. Típicamente se observa una fracción de eyección conservada o una función hiperdinámica. La clave para hacer el diagnóstico de amiloidosis con esta presentación clínica, es la búsqueda de todos los pacientes de la proteína monoclonal en el suero y la orina, cuando se presente una disfunción cardíaca inexplicable.

En la amiloidosis hay una restricción en el llenado diastólico, mientras la función sistólica se encuentra conservada mientras progresa la enfermedad, mientras la fracción de eyección es normal, la restricción del flujo sanguíneo durante la diástole determina una disminución del volumen diastólico final, y en consecuencia el volumen latido y el gasto cardíaco se encuentran reducidos [138].

Como se menciona en párrafos anteriores el estándar de oro para el diagnóstico es el ecocardiograma. Sin embargo la evidencia ecocardiográfica de amiloidosis cardíaca es encontrada en aproximadamente el 39% de los pacientes con amiloidosis. A nivel del septum se observa un espesor en los pacientes con amiloidosis de 15 mm, comparado con un espesor promedio de 9 a 12 mm. Los hallazgos ecocardiográficos más frecuentes en la amiloidosis cardíaca son el aumento del espesor de la pared ventricular derecha, del septum interventricular y la del ventrículo izquierdo lo que produce disminución del tamaño de la cavidad de los ventrículos.

La clave para reconocer la amiloidosis cardíaca, son los datos clínicos y con ello buscar la proteína monoclonal a nivel de suero o a nivel de orina, en los pacientes con falla cardíaca que no sea explicada por cardiopatía isquémica.

Cuando en el daño cardíaco se encuentra falla sistólica atrial y dilatación del ventrículo derecho, se ha observado que el pronóstico del paciente es muy pobre [139].

Uno de los diagnósticos diferenciales de la cardiomiopatía restrictiva es la enfermedad pericárdica restrictiva; como la pericarditis.



Ocasionalmente se produce estasis sanguínea a nivel de cavidades cardiacas lo cual predispone a formación de trombos con lo que aumenta el riesgo de embolismo, y con ello obstrucción de las coronarias produciendo una sintomatología de cardiopatía isquémica que puede ir desde angina de pecho hasta infarto [140].

## **A NIVEL HEPATICO:**

La hepatomegalia se presenta en aproximadamente una cuarta parte de los pacientes con amiloidosis, pero los síntomas derivados de alteraciones del hígado solo se presentan solo en el 16% de los pacientes con amiloidosis hepática. Los hallazgos mas comunes que se encuentran son por clínica la hepatomegalia y por laboratorio la elevación de la fosfatasa alcalina de manera inexplicable, con lo que frecuentemente se piensa como primera posibilidad en malignidad [116, 134]. Cerca de la mitad de los pacientes tienen proteinuria de mas de 1 gr.

Las cuatro datos sugestivos de amiloidosis hepática son:

- Proteinuria significativa.
- Encontrar proteína monoclonal en suero u orina.
- La presencia de cuerpos de Howell-Jolly como manchas en la sangre periférica, la cual traduce infiltración del bazo.
- Hepatomegalia y pruebas de funcionamiento hepático alteradas.

Ocasionalmente los pacientes con amiloidosis hepática presentan ruptura esplénica o ruptura hepática. La búsqueda del amiloide sérico P, demuestra depósito de amiloide hepáticos en casi todos los pacientes, pero los depósitos es poco común que se encuentren clínicamente. En estos pacientes el síndrome icterico es un hallazgo que se presenta en etapa Terminal, la hipertensión portal solo se observa ocasionalmente, quizás por que los pacientes fallecen antes que la desarrollen, debido a miloidosis extrahepática. También se ha reportado sangrado de esófago por hipertensión portal, pero esta ocurre en menos del 1% de los pacientes con amiloidosis. La ascitis se encuentra frecuentemente, pero es resultado de la hipoalbuminemia secundaria al síndrome nefrótico y no a la hipertensión portal.

La biopsia de hígado reporta depósitos a nivel portal y perisinusoidal. La vida media es de un año aproximadamente después de la biopsia de hígado

El hipoesplenismo es un dato altamente sugestivo de amiloidosis esplénica, pero la ausencia de hipoesplenismo no es un signo predictivo que traduzca ausencia de amiloidosis esplénica. Una forma de demostrar daño a nivel de bazo es buscar los cuerpos de Howell- Jolly , sin embargo no siempre se pueden demostrar, por ello se acepta que los cuerpos de Howell-Jolly aunque es especifica no es una prueba que tenga sensibilidad.

## **A NIVEL DE TRACTO GASTROINTESTINAL:**

La mayoría de pacientes con amiloidosis, tienen depósitos de amiloide demostrados histológicamente en el tracto gastrointestinal. Estos depósitos se presentan a nivel de la submucosa, sin embargo la mayoría de los pacientes se presentan sin síntomas del tracto gastrointestinal. La anorexia y la pérdida de peso correlaciona pobremente con la amiloidosis a este nivel. La malabsorción y la esteatorrea se observa en menos del 5% de los pacientes [141, 142]. Es bien reconocido que la amiloidosis es causa de pseuobstrucción intestinal, sin embargo no se obtiene beneficio con la cirugía, en estos pacientes que no tienen afección cardíaca se le debe dar nutrición parenteral. Los síntomas característicos son la náusea y el vómito de contenido gástrico, además de distensión y dolor abdominal.

Esta disfunción de la motilidad gastrointestinal se debe a la infiltración directa de la mucosa o por la dismotilidad secundaria al daño directo por falla autonómica. Ocasionalmente, la amiloidosis puede presentar colitis isquémica, en estos casos los depósitos de amiloide obstruyen totalmente los vasos sanguíneos de la lámina propia y de la muscular de la mucosa llevando a isquemia crónica con desprendimiento de la mucosa y hemorragia [143].

Los hallazgos radiológicos son la estrechez de la luz del intestino, pérdidas de las aústras, pérdida de los pliegues de la mucosa y ulceraciones. La localización más frecuente es a nivel de colon descendente y a nivel de recto sigmoides. Además se ha reportado perforación duodenal espontánea causada por isquemia.

Histológicamente, se observa infiltración extensa y reemplazo de muscular propia por depósitos de amiloide, especialmente en el intestino delgado.

## **A NIVEL DE SISTEMA NERVIOSO:**

La sintomatología de la neuropatía amiloidea inicia con parestesias simétricas a nivel de extremidades inferiores. El tiempo entre la aparición de los síntomas y los hallazgos de depósitos de amiloide histológicamente es de más de dos años. Los síntomas están relacionados con pérdida de la masa muscular en el 65% y con síntomas autónomos en el 65% [116]. El cuadro clínico es comparable con la neuropatía diabética. Otro dato que frecuentemente se encuentra es el síndrome del túnel del carpo, el cual se encuentra en la mitad de estos pacientes. La neuropatía periférica se presenta en aproximadamente uno de cada seis pacientes con amiloidosis.

Entonces en todos los pacientes que presenten neuropatía periférica sensorial y motora inexplicable, se debe valorar realizar inmunoelectroforesis y inmunofijación de suero y orina como parte de su evaluación inicial. Histológicamente se encuentra perdida de la mielinización de las fibras nerviosas. Sin embargo se debe revisar a nivel de varias muestras ya que los depósitos de amiloide se presentan focalmente.

Los niveles séricos de albúmina pueden ser predictor de supervivencia. Ya que los pacientes que tienen un nivel de albúmina mayor a 3 g/dl al momento del diagnóstico, probablemente refleja la ausencia de amiloidosis multisistémica. La vida media de estos pacientes es de 25 meses cuando el cuadro clínico dominante es la neuropatía.

### **A NIVEL DE TRACTO RESPIRATORIO:**

La afección al tracto respiratorio es prácticamente asintomática, y no causa un síndrome clínico específico. En algunos pacientes con afección pulmonar los síntomas son enmascarados por la afección cardíaca simultánea. Es poco frecuente encontrar por histopatología amiloide alveolo intersticial. En estos pacientes la vida media después del diagnóstico se encuentra en 16 meses [116]. La radiografía de tórax no es específica para el diagnóstico de amiloidosis pulmonar ya que el infiltrado alveolo intersticial no es característico [144]. Una vez sospechado el diagnóstico de amiloidosis, la clave es buscar la proteína monoclonal en suero u orina por inmunofijación.

### **A NIVEL DEL SISTEMA DE COAGULACION:**

El sangrado se puede presentar como una complicación grave de la amiloidosis. Estos sangrados se relacionan con la deficiencia del factor X de la cascada de la coagulación, pero lo más frecuente es que se presente como hemorragia tipo purpúrica la cual está relacionada con la fragilidad capilar debido a la infiltración de los amiloides a este nivel. La deficiencia del factor X se observa en el 5% de los pacientes con amiloidosis. La anomalía más frecuentemente encontrada en las pruebas de coagulación es la prolongación del tiempo de trombina. Los defectos plaquetarios, incluyen agregación plaquetaria anormal, se ha encontrado disminución del inhibidor del plasminógeno  $\alpha$ -2, con incremento de los niveles de plasminógeno [145]. El tratamiento que se ha usado es a base de la esplenectomía combinado con tratamiento inmunosupresor, en estos pacientes con deficiencia de factor X.

## **DIAGNOSTICO**

El estudio inicial que se debe iniciar cuando se tiene un paciente con datos clínicos sugestivos de amiloidosis, que se presentan como proteinuria en rango nefrótico inexplicable, falla cardíaca, hepatomegalia o neuropatía, es con

inmunolectroforesis y inmunofijación en el suero u orina [116]. Casi todos los pacientes con amiloidosis tiene una población clonal de células productoras de cadenas ligeras de inmunoglobulinas. Los estudios de inmunofijación se deben realizar tanto en suero como en la orina, ya que la proteína monoclonal se encuentra ausente en el suero en una tercera parte.

Las cadenas ligeras monoclonales pueden ser encontradas en el suero u orina en etapas tempranas de la enfermedad hasta en el 90% de los casos, este es el método no invasivo más usado que se usa cuando un paciente tiene sintomatología compatible con una enfermedad de amiloidosis [146].

Cuando no se detectan cadenas ligeras monoclonales por este método, otra alternativa es el aspirado de médula ósea donde también se le debe realizar pruebas de inmunohistoquímica o inmunofluorescencia, cerca del 90% de los pacientes con amiloidosis tienen depósito de amiloide en la médula ósea, el otro 10% se detecta a nivel de órgano específico.

Sin embargo, la otra alternativa es la biopsia de tejido u órgano que este involucrado; el cual puede ser el riñón, corazón, hígado o sistema nervioso. La biopsia de piel frecuentemente reporta depósitos de amiloide en los vasos sanguíneos o en el tejido celular subcutáneo. Por muchos años el sitio preferido para realizar la biopsia para confirmar el diagnóstico de amiloidosis era la biopsia de recto, sin embargo ahora en desuso ya que por un lado hay episodios raros de sangrado, y el hecho de que la biopsia endoscópica cuando se obtiene la muestra es insuficiente para el diagnóstico, ya que en ocasiones solo se toma tejido de mucosa rectal.

## **TRATAMIENTO:**

Cuando los pacientes con amiloidosis son tratados con agentes alquilantes como el melfalan y la prednisona, se ha observado una respuesta temprana, lo cual ha mejorado su vida media [134]. La vida media de los pacientes que se consideran que tienen una respuesta temprana a la terapia farmacológica se ha considerado aproximadamente 90 meses, comparado con un año de los pacientes que no tienen respuesta. Una vez iniciado el tratamiento el tiempo para esperar respuesta es variable, ya que el organismo tiene que remover los depósitos de amiloide de los órganos afectados, en promedio el tiempo esperado de respuesta es de un año. La falta de respuesta al tratamiento de estos pacientes, indica que se necesitan tratamientos más efectivos para esta patología [116, 147].

La respuesta al tratamiento de la amiloidosis depende del órgano afectado, ya que son diferentes los parámetros usados en cada órgano para considerar respuesta. Generalmente, en pacientes con daño renal, cuando hay respuesta se espera una reducción de la proteinuria del 50%, en estos pacientes que tienen proteinuria en rangos nefróticos. En los pacientes con daño hepático, para considerar respuesta al tratamiento debe haber una reducción de la fosfatasa

alcalina sérica. A nivel de corazón se espera una reducción de 3 mm de la pared del músculo cardíaco [148].

La respuesta incluye una disminución serina o urinaria del componente M, o erradicación completa de las cadenas ligeras de inmunoglobulinas, sin embargo no se ha observado una correlación.

Se ha demostrado en 2 estudios aleatorizados ventajas con tratamiento a base de melfalan y prednisona en comparación con colchicina.

Sin embargo, el tratamiento no es inocuo ya que se ha reportado efectos adversos con los agentes alquilantes usados, de los efectos secundarios reportados se encuentra la mielodisplasia o la leucemia aguda, complicando la evolución natural de esta patología, con lo que disminuye la vida media de los pacientes a ocho meses. Se ha calculado una frecuencia de 6.5% de efectos adversos en los pacientes que reciben alquilantes.

En algunos pacientes se ha reportado buena respuesta con tratamiento a base de interferon y altas dosis de dexametasona, sin embargo solo en pacientes en quienes no tienen infiltrado a nivel de corazón.

Además se deben tener en cuenta los efectos secundarios de los esteroides a altas dosis. Y por otro lado también se ha observado una disminución hasta del 15% en la respuesta al tratamiento cuando se han utilizado esteroides antes de haber iniciado el tratamiento formal.

Se han comparado esquemas a base de 5 drogas que incluían vincristina, melfalan, ciclofosfamida y prednisona, sin embargo no se ha observado ventajas en comparación con el tratamiento con prednisona y melfalan.

## **PRONOSTICO:**

Cuando se encuentra un paciente con un síndrome compatible con amiloidosis, y se encuentra la proteína monoclonal, y el diagnóstico se ha confirmado histológicamente por biopsia o por aspirado de médula ósea, el siguiente paso es dilucidar el pronóstico de estos pacientes. La causa de muerte de la mayoría de estos pacientes con amiloidosis está relacionada con afección cardíaca, como insuficiencia cardíaca congestiva causada por la miocardiopatía progresiva, o presentan muerte súbita por fibrilación ventricular o asistolia. Entonces el pronóstico se encuentra en relación directamente con la afección del corazón, lo cual se puede determinar con ecocardiograma. En estudios multivariados la presencia de falla cardíaca congestiva, es un predictor negativo de supervivencia, otro dato clínico que se ha observado como predictor negativo de muerte súbita es la presencia de síncope.

A estos pacientes se les debe realizar un ecocardiograma doppler con la finalidad de establecer la función miocárdica, se debe medir la fracción de

eyección, el tiempo de desaceleración mitral, que traduce la capacidad del ventrículo para relajarse y con ello establecer un pronóstico.

El valor pronóstico derivado del resultado del ecocardiograma depende del llenado diastólico. Además, los pacientes con un tiempo de desaceleración de 150 milisegundos o menos con ecocardiografía traduce una fisiología restrictiva y tiene una posibilidad de sobrevivir a un año de 49%, contra un 92% de los pacientes que tienen un tiempo de desaceleración mayor de 150 milisegundos. En general la vida media de los pacientes con amiloidosis es de dos años.

## **XI. DISCUSIÓN**

El genoma del organismo vivo más simple codifica para más de mil diferentes secuencias de proteínas y el genoma humano codifica para cien veces más proteínas [149], número que aún es pequeño en relación al número teórico de las proteínas que pueden existir, si consideramos que hay 20 aminoácidos diferentes y que en promedio el tamaño de una proteína es de 300 aminoácidos esto significa que tendríamos  $20^{300}$  posibilidades lo que implica más que la masa de todo el universo para hacerlas [150]. Por lo tanto las proteínas naturales representan un selecto grupo de macromoléculas.

Una vez descifrado el genoma humano, la investigación en Medicina del siglo XXI, se irá centrando en el análisis del proteoma humano, es decir, de la expresión, la estructura, el plegamiento, las interacciones y las funciones de las proteínas.

La comprensión de la composición, el funcionamiento y la regulación del proteoma de un organismo representa un reto de incalculable magnitud, que requerirá el esfuerzo sincronizado y sinérgico de un gran número de centros de investigación de todo el mundo. La formación de grupos transfuncionales en acción es una urgencia del nuevo milenio, equipos de investigadores de diferentes áreas que trabajen en un proyecto común. El rápido progreso que en los próximos años vivirán la biología estructural y la medicina proteómica hace necesaria la existencia de una nueva generación de médicos especialistas que conozcan las bases moleculares sobre las que se asienta la estructura de una proteína así como los fundamentos del mecanismo de su plegamiento. La importancia que el conocimiento de la estructura de las proteínas está adquiriendo para la resolución de muchos problemas médicos resulta evidente y se ve reflejada en los retos a nivel biomédico que plantean las enfermedades conformacionales.

El riesgo de auto ensamblaje o agregación que pueden sufrir las proteínas, sean o no asociadas a defectos genéticos es un desafío para la medicina del siglo XXI. Por muchas décadas los clínicos han observado la formación de agregados insolubles de proteínas y su relación con enfermedades. Un ejemplo común es la anemia de células falciformes, en la cual las cadenas de hemoglobina se polimerizan y forman fibras que deforman los eritrocitos y producen oclusión.[151]

Las enfermedades conformacionales se caracterizan porque al menos una parte de las moléculas de proteínas se producen y se pliegan de manera normal y posteriormente sufren cambios en su conformación que generan agregados proteícos. Aún cuando las fibras por sí mismas no son tóxicas, el autoensamblaje cooperativo de las mismas produce daño tisular en los órganos. Una forma de presentación extrema es la amiloidosis en la cual predominan agregados macromoleculares histológicamente aparentes.

El número de enfermedades conformacionales es cada vez mayor y cada día aumenta más, a pesar de los estrictos mecanismos de control que existen a nivel de Retículo endoplásmico. Las proteínas plegadas correctamente pueden disminuir como es el caso de la fibrosis quística en la cual las proteínas que forman los canales iónicos disminuyen como resultado de una mutación. Otras mutaciones pueden dar lugar a que aumente la posibilidad de que las proteínas no se plieguen correctamente y por lo tanto no se transporten adecuadamente como es el caso de la deficiencia de alfa1-antitripsina.

Recientemente se demostró la asociación de problemas de plegamiento y cáncer. Un escuadrón de proteínas lideradas por la proteína p53 defienden el cuerpo del cáncer, sin embargo estas proteínas pueden ser fácilmente inactivadas por mutaciones producidas por el ambiente o heredadas. El 50% de los cánceres en humanos tienen inactivada la p53. Los tratamientos anticancerígenos como la radioterapia o la quimioterapia requieren que p53 esté activa. La mayoría de las mutaciones producen alteraciones en el plegamiento de p53 y disminuyen su estabilidad[149].

Si bien las diferentes enfermedades presentan alteraciones variadas, su origen a nivel molecular tiene mucho en común: la agregación de formas parcialmente plegadas, o con errores en el plegamiento o parcialmente degradadas que desencadenan un proceso cooperativo de autoasociación o autoensamblaje que forma protofilamentos antes de formar fibras bien definidas. Fig. X

Las consecuencias socioeconómicas de las enfermedades conformacionales es enorme y se está invirtiendo mucho en la prevención y tratamiento de estas enfermedades.

La ruta crítica del diseño de fármacos se centra en cuatro estrategias, a saber:

- 1). Estabilización del estado nativo de la proteína
- 2). Reducción de las especies que tienen tendencia a agregarse
- 3). Bloqueo del proceso de agregación
- 4). Activación y mejoramiento de los procesos de control natural

Por ejemplo en la posibilidad de estabilizar el estado nativo de la proteína, hay que recordar que la forma mal plegada de una proteína globular expone regiones de la proteína que normalmente están ocultas, la exposición de estas áreas en el medio provoca interacciones anómalas de las mismas que producen agregados. Por lo que la estabilización del estado nativo es fundamental para evitar el

desplegamiento de las moléculas. Esta estrategia funcionó muy bien con la enfermedad asociada a la transtiretina que se caracteriza por alteraciones neurológicas y sistémicas. La transtiretina es una proteína tetramérica que se une a la hormona tiroxina. Los monómeros de la proteína tienden a agregarse por lo tanto compuestos análogos a la hormona que se unen al tetrámero evitan la disociación del tetrámero. La estabilización de p53 es otro ejemplo de este tipo de terapia. Este tipo de compuestos están en diferentes fases de experimentación.



## XII. BIBLIOGRAFIA

1. Hayden M, C., *Type 2 diabetes mellitus as a conformational disease*. Journal of the Pancreas, 2005. **6**(4): p. 287-302.
2. Carrell Robin W, C., *Alpha1-antitrypsin deficiency a model for conformational diseases*. N. Engl J Med, 2002. **346**: p. 45-52.
3. Karadimitris A, C., *Human CD1d, A glycolipid tetramers generated by in vitro oxidative refolding chromatography*. Proc Natl Acad Sci USA, 2001. **98**: p. 3294-3298.
4. Kaporniotu A, C., *Amyloidogenicity and cytotoxicity of islet amyloid polypeptide*. Biopolymers, 2001. **160**: p. 438-459.
5. Fersht A, C., *PCT/GB99/EP116144. Refolding of CD1. Method for refolding molecules of polypeptides containing IG domains*. Publication Data, 2001-12-12.
6. Altamirano, M., cols, *Ligand-independent assembly of recombinant human CD1 by oxidative refolding chromatography*. Proc Natl Acad Sci USA, 2001. **98**: p. 3288-3293.
7. Altamirano, M., cols, *Oxidative Refolding chromatography: Folding of the scorpion toxin Cn5*. Nature Biotechnology, 1999. **17**: p. 187-191.
8. Altamirano, M., cols, *Refolding chromatography with immobilized mini-chaperones*. Proc Natl Acad Sci USA, 1997. **94** p. 3576-3578.
9. Dobson CM, C., *Protein folding, evolution and disease*. Trends Biochem Sci, 2003. **24**: p. 329-332.
10. Fersht A, C., *PCT/GB96/02980. WO9813496. Chaperone fragments: Invertors*. Publication Data, 1998 -04-02.
11. Fersht A, C., *PCT/GB98/02218. EP0998485. Refolding method using a foldase and a chaperone*. Publication Data, 1999.
12. Stein P E, C., *What do dysfunctional serpins tell us about molecular mobility and disease?* Nat Struct Biol, 1996. **2**: p. 96-113.
13. Dobson Christopher M, C., *Protein folding, evolution and disease*. Trends Biochem Sci, 2003. **24**: p. 329-332.
14. Carrell Robin W, C., *Conformational disease*. The Lancet, 1997. **350**: p. 134-138.
15. Golberg A L, C., *Protein degradation and protection against misfolding or damaged proteins*. Nature, 2003. **426**: p. 895-899.
16. Nelson, L.D.L., *Principios de Bioquímica*. 3ra ed. 2000, España.
17. Berk, L., *Biología celular y molecular*. 5ta ed. Vol. 1. 2005, México: Panamericana.
18. Roskosky, R., *Bioquímica*. Vol. 1. 1998, México: Mc GrawHill. 45-54.
19. Voet, V.a., *Bioquímica*. 1ra ed. 2000, España.
20. Mckef, T., *Bioquímica: La base molecular de la vida* 3ra ed. 2003, Mexico: Mc Graw Hill.
21. <http://www.aula21.net/nutriweb/proteinas.html>.
22. <http://www.arrakis.es/lluengo/proteinas.html>.
23. <http://www.ehu.es/biomoleculas/prot/pret42.html>.
24. <http://www.monografias.com/trabajo10/compos.html>.

25. <http://www.es/jsancho/estructuramacromoleculas/speptidicoyES/REGIONE SRACHANDRAN>.
26. Dobson M Christopher, C., *Amyloid fibrils from muscle myoglobin*. Nature, 2001. **410**: p. 165.
27. Brown C Randell, c., *Correcting temperature-sensitive protein folding defects*. The journal of clinical investigation, 1997. **99**(6): p. 1432-1444.
28. *Plegamiento de proteínas*. E Macromoleculas Rev, 2003.
29. Fenton W.A, C., *Groel-Mediated protein folding*. Protein Science, 1997. **6**: p. 743-760.
30. Dinner A, C., *Understanding protein folding via free-energy surface from theory and experiment*. Trends Biochem Sc., 2000. **25**: p. 331-339.
31. Gething M.J, C., *Protein folding in the cell*. Nature, 1992. **355**: p. 33-45.
32. Hartl F.U, C., *Protein folding in the cell: The role of molecular chaperones HSP60*. Annual Review of biophysics and biomolecular Structure, 1991. **21**: p. 293-322.
33. Ellis R.J, C., *The chaperones*. Academic press, 1996.
34. Carrell R.W, C., *Conformational disease*. The Lancet, 1997. **350**: p. 134-138.
35. Stein, P.E., *What do dysfunctional serpins tell us about molecular mobility and disease?* Nat Struct Biol, 1995. **347**(2): p. 96-113.
36. Wilcke T R Jon, C., *Late onset genetic disease: Where ignorance is bliss, is it folly to inform relatives?* BMJ, 1998. **317**(17): p. 744-747.
37. Boatright, K.M., *A unified model for apical caspase activation*. Mol Cell, 2003. **11**: p. 529-541.
38. Linding Rune, C., *Protein disorder prediction: Implications for structural proteomics*. The Journal of biological chemistry, 2002. **269**: p. 24290-24297.
39. M.F, P., *Glutamine repeats and inherited neurodegenerative diseases: molecular aspects*. Curr Opin Struct Biol, 1996. **6**: p. 848-858.
40. Muchowski, P.J., *Protein misfolding amyloid formation, and neurodegeneration: a critical role for molecular chaperones?* Neuron, 2002. **35**: p. 9-12.
41. Perutz M F, C., *Glutamine repeats and inherited neurodegenerative diseases: molecular aspects*. Curr Opin Struct Biol, 1996. **6**: p. 848-858.
42. Dickson W Dennis, C., *Misfolded, protease-resistant proteins in animal models and human neurodegenerative disease*. J. Clin Invest, 2002. **110**: p. 1403-1405.
43. Corral, *Thrombosis as a conformational disease*. J Hematologica, 2005. **2**(90): p. 238-246.
44. Melvin R Hayden, c., *Type 2 diabetes mellitus as a conformational disease*. Journal of the Pancreas, 2005. **6**(4): p. 287-302.
45. Robin W Carrell, D.A.L., *Conformational disease*. The Lancet, 1997. **350**: p. 134-38.
46. Chanez-Cardenas Maria Elena, C., *Enfermedades Relacionadas al Plegamiento Anomalo de las Proteinas*. Mensaje Bioquimico, 2002. **XXVI**: p. 73-90.
47. Soto Claudio, C., *Protein misfolding and disease; protein refolding and therapy*. FEBS Letters, 2001. **498**: p. 204-207.
48. Marchal S, C., *The powerful high pressure tool for protein conformational studies*. Brazilian journal of medical and biological research, 2005. **38**: p. 1175-1183.
49. Phizicky Eric, C., *Protein analysis on a proteomic scale*. Nature, 2003. **422**(13): p. 208-214.

50. Fuentes-Prior, c., *The protein structure that shape caspase activity, specificity, activation and inhibition*. Journal of biochemistry, 2004. **384**: p. 201-232.
51. Thornberry, C., *Caspasas: anemias within*. Science, 1998. **281**: p. 1312-1316.
52. Schweizer A, c., *Crystal structure of caspasa-2, apical initiator of the intrinsic apoptotic pathway*. Journal of biochemistry, 2003. **278**: p. 42441-42447.
53. Lindberg L Mikael, C., *Sytematical perturbed folding patterns of amyotrophic lateral sclerosis (ALS)-associated SOD1 mutans*. PNAS, 2005. **102**(28): p. 9754-9759.
54. Kaufman J Randal, C., *Orchestrating the unfolded protein response in health disease*. The journal of clinical investigacion, 2002. **110**(10): p. 1389-1398.
55. Horwich, A., *protein aggregation in disease: a role for folding intermediates forming especific multimeric interactions*. The journal of clinical investigacion, 2002. **110**(9): p. 1221-1232.
56. Thomasson, W.A., *Unraveling the mystery of protein Folding*. Biosciencie, 2005. **4**: p. 125-129.
57. Kezhong Zhang, C., *The unfolded protein response*. Neurology, 2006. **66**(1): p. 102-109.
58. Goldberg, A.L., *Proetein degradation and protection against misfolding or damaged proteins*. Nature, 2003. **426**: p. 895-899.
59. Chiti Fabrizio, C., *Rationalizacion of the effects of mutations on peptide and protein agregation rates*. Nature, 2003. **424**(14): p. 805-808.
60. Kapurniotu A, C., *Amyloidogenicity and cytotoxicity of islet amyloid polypeptide*. Biopolymers, 2001. **60**: p. 438-459.
61. Lavrik N Inna, C., *Caspasas: pharmacological manipulation of cell death*. The journal of clinical investigacion, 2005. **115**(10): p. 2665-2672.
62. Protempa Jan., c., *The serpin superfamily of proteinase inhibitors: Structure, funcion, and regulacion*. The journal of biological chemistry, 1994. **262**(23): p. 15957-15960.
63. Cerrel, R.W., *How sepines change their fold for better and for worse*. Biochem Soc Symp, 2003. **70**: p. 163-178.
64. Davis R L, C., *Association between conformational mutations in neuroserpin and onset and severity demencia*. The lancet, 2002. **359**: p. 2242-2247.
65. Carrel Robin W., c., *How Serpins are Shaping Up*. Science, 1999. **285**(17): p. 1861-1863.
66. Weston D Andrea, C., *Systems biology, proteomics, and the future of Health care: Toward predictive, and persinalized medicine*. Journal of proteome Research, 2004. **3**: p. 179-196.
67. Carrell R.W, c., *Mobile Reactive centre of serpins and the control of thrombosis*. Nature, 1991. **353**(10): p. 576-578.
68. Robin W Carrell, D.A.L., *Alpha1-Antitrypsin Deficiency a Model for Conformational Diseases*. New England Journal Medicine, 2002. **346**(1): p. 45-52.
69. Carrell R.W, C., *How sepines change their fold for better and for worse*. Biochem Soc Symp, 2003. **70**: p. 163-178.
70. Davis, R.L., cols, *Alfa1-antitrypsin polymerization and the serpinopathies pathobiology and prospects for therapy*. The journal of clinical investigacion, 2002. **110**(11): p. 1585-1590.

71. Rodolfo, M. *El enfisema, la cirrosis, trombosis, la demencia y las enfermedades conformacionales*. [cited accedido 3 septiembre del 2006]; [http://www.smiba.org.ar/med\\_interna/vol\\_03/03\\_02.htm](http://www.smiba.org.ar/med_interna/vol_03/03_02.htm): [Available from: [http://www.smiba.org.ar/med\\_interna/vol\\_03/03\\_02.htm](http://www.smiba.org.ar/med_interna/vol_03/03_02.htm)].
72. Carrel Robin W, C., *cell toxicity and conformational disease*. Trends in cell biology, 2005. **15**(11): p. 574-580.
73. Wrigth, J.D., *Alzheimer's disease: An insidious protein conformational disorder*. Neuroscience, 2003. **118**: p. 1175-1179.
74. Pepys, M.B., *Pathogenesis, diagnosis and treatment of systemic amyloidosis*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2001. **356**: p. 203-210.
75. Perlmutter H David, C., *The cellular response to aggregated proteins associated with human disease*. The journal of clinical investigation, 2002. **11**: p. 1219-1220.
76. Carrell Robin. W, *Alpha1-antitrypsin deficiency: A model for conformational disease*. N Engl J Med, 2002. **346**(3): p. 45-52.
77. Lin Lin, C., *A naturally occurring nonpolymerogenic mutant of alfa1-antitrypsin characterized by prolonged retention in the endoplasmic reticulum*. The Journal of biologic chemistry, 2001. **7**: p. 33893-33898.
78. Lawless W Metthew , c., *Activation of endoplasmic reticulum-specific stress responses associated with the conformational disease Z alfa1-antitrypsin deficiency*. The Journal of immunology, 2004. **172**: p. 5722-5726.
79. Perlmutter H David, C., *The cellular basis for liver injury in alfa1-antritrypsin deficiency*. Hepatology, 1991. **13**(1): p. 172-185.
80. Hans-Peter Fischer, C., *Chronic liver disease in heterozygous alfa 1-antitrypsin deficiency piZ*. Journal of hepatology, 2000. **33**: p. 883-892.
81. Berg O Nils, c., *Liver disease in adults with alpha1-antitrypsin deficiency*. The new england journal of medicine, 1972. **21**: p. 1264-1276.
82. Lomas R Davis, C., *The mechanism of Z alfa1-antitrypsin accumulation in the liver*. Nature, 1992. **357**: p. 605-607.
83. Propst Theresa, C., *Prevalence of hepatocellular carcinoma in alpha-1-antitrypsin deficiency*. Journal of hepatology, 1994. **21**: p. 1006-1011.
84. Graziedei W Ivo, C., *Increased risk of chronic liver failure in adults with heterozygous alfa1-antitrypsin deficiency*. Hepatology, 1998. **28**(4): p. 1058-1063.
85. Perlmutter H David, C., *Clinical manifestations of alpha1-antitrypsin deficiency*. Pediatric clinics of north america, 1995. **24**(1): p. 27-43.
86. Permuter H David, C., *Alpha-1-antitrypsin deficiency: Diagnosis and treatment*. Clin Liver Dis, 2004. **8**: p. 839-859.
87. Henry A . Adam, C., *Atención priamria en pediatria*. Vol. II. 2002, España: Mosby.
88. Mirko Traikaski, C., *Genes of type 2 diabetes in B cells*. Endocrinal Metab Clin N Am., 2006. **35**: p. 357-369.
89. Wellen E Kathryn, C., *Inflammation, stress and diabetes*. The journal of clinical investigation, 2005. **115**(5): p. 1111-1119.
90. Hull L Rebeca, C., *Islet Amyloid: A critical entity in the patogenesis of type 2 diabetes*. Journal of clinical endrocrinology and metabolism, 2004. **89**(8): p. 3629-3639.
91. Tabasco, S.d.s.d.e.e., *Intento de suicidio en la enfermedad de Huntington*. Revista@saludtab.gob.mx, 2002.

92. Dahlgren R Paul, C., *Atomic force microscopy analysis of the Huntington protein nanofibril formation*. Dis Mon, 2005. **51**: p. 374-385.
93. Nutan Sharma, C., *Inherited movement disorders*. Neurol Clin N Am, 2002. **20**: p. 759-778.
94. Davies S, C., *Huntington's disease* J Clin Pathol: Mol Pathol, 2001. **54**: p. 409-413.
95. Berham, K.J., *Nelson. Tratado de pediatria*. 2000: p. 2314-2316.
96. Hague S M, C., *Neurodegenerative disorders: Parkinson's disease and Huntington's disease*. J Neurol Neurosurg, 2005. **76**: p. 1058-1063.
97. Switzer A Jeffrey, C., *Pathophysiology and treatment of stroke in sickle-cell disease: present and future*. Lancet Neurol, 2006. **5**: p. 501-512.
98. Quinn T Charles, C., *Risk factors and prediction of outcomes in children and adolescents who have sickle cell anemia*. Hematol Oncol Clin Am, 2004. **18**: p. 1339-1354.
99. Charles T.Quinn, c., *Risk factors and prediction of outcomes in children and adolescents who have sickle cell anemia*. Hematol Oncol Clin Am, 2004. **18**: p. 1339-1354.
100. Lebowtz A Richard, C., *Plasma cell dyscrasias and amyloidosis*. 2003, 2003. **36**: p. 747-764.
101. Fenella J Kirkham, C., *Trials in sickle cell disease*. Neurol, 2006. **34**: p. 450-458.
102. Rowe M Steven, C., *Cystic Fibrosis*. N Engl J Med, 2005. **352**(9): p. 1992-2001.
103. Cobos Barroso, P.-Y., *Tratado de Neumologia Infantil*. 2003, España: ergon. 658-727.
104. Richards S Carolyn , C., *Prenatal Screenig for cystic fibrosis*. Clin Lab Med, 2003. **23**: p. 503-530.
105. Sezen, T., *Folding@home distributed computing*. 2000-2002, Vijay Pande and Stanford University
106. Whitsett A Jeffrey, C., *Genetic basis of familial interstitial lung disease: Misfolding or function of surfactant pretein C*. Am J Crit Care Med, 2002. **165**: p. 1201-1204.
107. Gelman S Marina, C., *Rescuing protein conformation: Prospects for pharmacological therapy in cystic fibrosis*. The journal of clinical investigacion, 2002. **110**(11): p. 1591-1597.
108. Marsden Devorah, C., *Newborn Screening for metabolic disorders*. J Pediatrics, 2006. **148**: p. 577-584.
109. Hunt E Carl, C., *Sudden infant death Syndrome*. Canadian Medical Association journal, 2006. **174**(13).
110. Robin W Carrel, c., *conformational disease*. The lancet, 1997. **350**: p. 134-138.
111. Canick A Jacob, C., *Prenatal screening for down syndrome current and future methods*. Clin Lab Med, 2003. **23**: p. 395-411.
112. Wrigth J D, C., *A fast method for predicting amino acid mutans that lead to unfolding*. Proteing Engineering, 2001. **14**(7): p. 101-108.
113. Collins, F.S., Cols, *A vision for the future of genomics research*. Nature, 2003. **422**: p. 835-847.
114. Sipe Jean, C., *Review: History of the Amyloid Fibirl*. Journal of Structural Biology, 2000. **130**: p. 88-98.
115. Cohen Alan, C., *History of amyloidosis*. Journal of Internal Medicine, 1992. **232**: p. 509-510.

116. Gertz Morie, C., *Amyloidosis*. Hematology/Oncology Clinics of North America, 1999. **13**(6): p. 1211-1226.
117. Zerovnik Eva, C., *Amyloid-Fibril Formation. Review Article*. Eur J. Biochem, 2002. **269**: p. 3362-3371.
118. Gatell Cruz Montse, C., *Tesis: Diseño, síntesis y evaluación de inhibidores de la proteína B-amiloide*. . 2003.
119. Ghetti Bernardino, C., *Hereditary prion protein amyloidosis*. Clin Lab Med, 2003. **23**: p. 65-85.
120. Cirrito R Jhon, C., *Amyloid B and alzheimer disease therapeutics the devil may be in the details*. J Clin Invest, 2003. **112**: p. 321-323.
121. Ferrera Segio, C., *Protein dynamics, folding and misfolding: from basic physical chemistry to human conformational diseases*. FEBS letters, 2001. **498**: p. 129-134.
122. Torgny Jon, C., *Late onset genetic disease: where ignorance is bliss, is it folly to inform relatives*. BMJ, 1998. **317**: p. 744-7.
123. Glabe G Charles, C., *Common structure and toxic function of amyloid oligomers implies a common mechanism of pathogenesis*. Neurology, 2006. **66**(1): p. 74-78.
124. Lee Cheolju, c., *Protein Folding and Disease*. Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2005. **38**(3): p. 275-280
  
125. Zerovnik Eva, C., *Amyloid-fibril formation. Proposed mechanism and relevance to conformational disease*. Eur J. Biochem, 2002. **269**: p. 3362-3371.
126. Pertmutter H David, C., *The cellular response to aggregated proteins associate with human disease*. The Journal of Clinical Investigation, 2002. **110**(0): p. 1219-1220.
127. Röcken Chistopher, C., *Pathology, diagnosis and pathogenesis fo AA amyloidosis*. Virchows Arch, 2002. **440**: p. 111-112.
128. Kyle Robert, C., *Long-Term Survival (10 year or more) in 30 patients with primary amyloidosis*. Blood, 1999. **93**(3): p. 1062-1066.
129. Johansson Jan, C., *Molecular determinats for amyloid fibril formation: lessons from lung surfactant protein C*. Departament of Veterinay Medical Chemistry, 2004.
130. McCarron Mark O, C., *Cerebral amyloid angiopathy and thombolysis related intracerebral haemorrhage*. The Lancet, 2004. **3**: p. 484-482.
131. Vega Gutierrez Jesus, c., *Manifestaciones cutaneas de la amiloidosis asociada a mieloma*. Medicina Cutánea Ibero-Latino-Americana, 2004. **5**: p. 1-5.
132. Botelho Michelle, C., *Folding and Stability of the Extracellular Domain of Human Amyloid Precursor Protein*. The Journal of Biological Chemistry, 2003. **278**(36): p. 34259-34267.
133. Pardanani Animesh, C., *Circulating peripheral blood plasma cells as a prognostic indicator in patients with primary systemic amyloidosis*. Blood, 2003. **101**(3): p. 827-830.
134. Brunt Elizabeth, C., *Metabolic storage diseases: amyloidosis*. Clin Liver Dis, 2004. **8**: p. 915-930.
135. Dispenzieri, A. and M. Gertz, *Serum Cardiac Troponins and N-Terminal Pro Brain Natriuretic Peptide: A Staging System for Primary Amyloidosis*. Journal of Clinical Oncology, 2004. **22**(18): p. 3751.
136. Oki Takash, C., *Diagnosis of cardiac amyloidosis based on the myocardial velocity profile in the hipertrophied left ventricular wall*. Am J Cardial, 2004. **93**: p. 864-869.

137. Neben-Wttinc A Michel , C., *Obtructive intramural coronary amyloidosis and myocardial ischemia are common in primary amyloidosis*. The American Journal of medicine, 2005. **118**: p. 1287 e1-1287 e7.
138. Dispenzieri Angela, C., *Survival in patients with primary sistemic amyloidosis and raised serum cardiac troponis*. The Lancet, 2003. **361**: p. 1787-89.
139. Dispenzieri Angela, C., *Porgnostication of survival using cardiac troponins and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with primary systemic amyloidosis undegoing peripheral blood stem cell transplantation*. Blood, 2004. **104**(6): p. 1881-1887.
140. Dispenzieri Angela, C., *Superior survival in primary systemic amyloidosis patients undegoing peripheral blood stem cell transplantation: a case report*. Blood, 2004. **103**(10): p. 3960-3963.
141. Hayman Suzanne, C., *Primary Systemic Amyloidosis: A cause of Malabsorption Syndrome*. The American Journal of Medicine, 2001. **111**: p. 535-540.
142. Markowitz Kahn, C., *Amyloidosis in Children with Inflammatory Bowel Disease*. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 1989. **8**: p. 447-453.
143. Sucker Christoph, C., *Amyloidosis and Bleeding:Pathophysiology, Diagnosis and Therapy*. American Journal of Kidney Diseases, 2006. **47**(6): p. 947-955.
144. Whistsett Jeffrey, C., *Genetic Basis of Familial Intestinal Lung Disease. Misfolding or Function of Surfactant Protein C?* Am J Respir Crit Care Med, 2002. **165**: p. 1201-1204.
145. Wagner Denisa, C., *New Links Between Inflammation and Thrombosis*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005. **25**: p. 1321-1324.
146. Gómez, J.M., *Diagnostico y seguimiento de la amiloidosis*. Rev Esp Reumatol, 1996. **23**: p. 21-25.
147. Gertz Morie, C., *Stem Cell Transplantation for Management of Primary Systemic Amyloidosis*. The American Journal of Medicine, 2002. **113**: p. 549-555.
148. Barnaby May, C., *Developing therapeutics for the diseases of protein misfolding*. Neurology, 2006. **66**(1): p. S118-122.
149. R.R, C., *Keeping Cancer in cheack with p 53*. Chemical and Engineering News., 1997. **75**: p. 39-41.
150. Weatherall D J, C., *The Hemoglobinopatrics*. In metabolic and molecular bases of inherited diseases. Vol. 1. 2001, New York: Mc Griw-Hill.
151. Weatherall D J., C.J.B., Higgs DR., and Wood W.G. , *The hemoglobinopathies*. In Metabolic and molecular bases of inherited disease., ed. S.C.B.A.V.D.a.S. W. 2001, New York: McGraw-Hill. 4571-4636.