



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

**DIABETES MELLITUS COMO MODELO DE
ENFERMEDAD CONFORMACIONAL**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL DIPOMA DE:
ESPECIALISTA EN PEDIATRÍA

PRESENTA:
MAURICIO PÉREZ WINKLER

TUTORES

MYRIAM M. ALTAMIRANO BUSTAMANTE
NELLY F. ALTAMIRANO BUSTAMANTE



MÉXICO, D.F.

XXVIII



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

**DIABETES MELLITUS
COMO MODELO DE ENFERMEDAD CONFORMACIONAL**

Dr. Guillermo Sólon Solomn Santibañez
Profesor Titular del Curso de Pediatría Médica

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
Co-tutor

Índice

	Pág.
1. Resumen	3
2. Introducción	4
3. Aspectos generales de la Diabetes Mellitus	7
4. Costos de la Diabetes Mellitus	8
5. Justificación	10
6. Planteamiento del problema	11
7. Objetivo general	12
8. Hipótesis	12
9. Material y métodos	12
10. Resultados	13
11. Tratamiento futuro	30
12. Discusión	31
13. Conclusiones	34
14. Bibliografía	35

DIABETES MELLITUS COMO MODELO DE ENFERMEDAD CONFORMACIONAL

RESUMEN

La Diabetes Mellitus (DM) constituye uno de los problemas médicos y de salud pública más importantes de nuestro tiempo; para el año 2025 podrían ser 300 millones de personas con diabetes, y se estima un incremento de la prevalencia de 4% al 5.4%. México es un país de baja incidencia para DM1 y de alta incidencia para la diabetes mellitus tipo 2.

La DM es una de las enfermedades metabólicas crónicas degenerativas frecuentes en pediatría con mayor costo en los sistemas de salud, por disminuir la esperanza de vida, por las complicaciones crónicas con alta tasa de morbilidad temprana, la invalidez laboral y el costo para la comunidad en términos económicos y sociales. Combinando los resultados de los estudios de Canadá, Estados Unidos y América Latina y el Caribe, el estimado total del costo de la diabetes en América fue de \$210 mil millones.

Carrell, propone el término “Enfermedades Conformacionales” (EC) para clasificar a las enfermedades cuya base fisiopatológica es una alteración a nivel de las proteínas, ya sea en su tamaño, forma, plegamiento o conformación. La diabetes mellitus como modelo de enfermedad conformacional cambia nuestra comprensión de las bases fisiopatológicas a nivel molecular y abre nuevas perspectivas diagnósticas y terapéuticas por lo que es indispensable que la nueva generación de médicos especialistas se introduzca en la medicina proteómica.

La Diabetes Mellitus se define como *enfermedad conformacional* dado 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.

Los depósitos de amiloide son un hallazgo que se encuentra en la patogénesis de la diabetes mellitus, se ha encontrado en el 90% de las autopsias una asociación de estos depósitos de amiloide con pérdida de la masa de células Betas del páncreas.

El estrés oxidativo y la producción incrementada de insulina contribuyen al estrés del retículo endoplásmico, a las alteraciones en el plegamiento proteico e inducen la respuesta a las proteínas mal plegadas “unfolded protein responses”. Cuando los controles de calidad se sobresaturan ocurren los cambios conformacionales del IAPP generando oligómeros estables de láminas β que de manera eventual se acumulan y depositan en los islotes provocando apoptosis y muerte celular.

INTRODUCCIÓN

La medicina del siglo XXI está dominada por un paradigma, la medicina proteómica. Sus desafíos son realizar medicina personalizada y detección temprana de las enfermedades con el objetivo de descubrir los secretos de la enfermedad y estar en condiciones de desarrollar nuevas terapias. La medicina personalizada permite la selección de esquemas terapéuticos que mejor se ajusten a un paciente y a la forma que responde a la enfermedad en relación a su fenotipo[1;2]

El antecedente de la medicina proteómica, es la ciencia del genoma cuyo objetivo principal fue analizar el genoma de los seres vivos e identificar el conjunto de sus genes, así como la función de éstos. La ciencia del proteoma es el estudio de los productos de expresión de los genes, las proteínas, sus redes macromoleculares y su función en un organismo. La meta es integrar toda la información proveniente de ambas áreas para crear una pintura holística de un organismo completo conocida como el fenotipo. Figura 1 y 2.

El nuevo paradigma cambia nuestra concepción y entendimiento de las enfermedades en general y en particular de las enfermedades endocrinas. Se centra en ver la enfermedad a través de los caballos de batalla de las células vivas, las proteínas. La causa de la mayoría de las enfermedades humanas son las alteraciones en las interacciones de las proteínas intra y extra-moleculares.

Las proteínas son macromoléculas que llevan a cabo la mayoría y más críticas funciones en la célula. se calcula que se sintetizan cada día en el cuerpo humano alrededor de 400 g de proteínas [3]. Las proteínas son responsables de la defensa molecular de la célula contra las infecciones, ellas catalizan todas las reacciones químicas del cuerpo, además de realizar trabajo mecánico y estructural.

Las proteínas se forman con aminoácidos, los aminoácidos se unen a través del enlace peptídico en una secuencia específica codificada en el genoma y se conoce como estructura primaria. La cadena de aminoácidos se pliega de manera rápida y espontánea, en la mayoría de los casos, o a veces necesita ayuda de moléculas llamadas chaperonas moleculares, para alcanzar su estructura tridimensional específica, conocida como “estado nativo (N)” en el cual su conformación es óptima para realizar su función.

Los estudios proteómicos no sólo incluyen la identificación y la cuantificación de proteínas, sino también la determinación de su localización, modificaciones, interacciones, actividades y, en última instancia, la determinación de su función.

Las nuevas tecnologías analíticas hacen posible la identificación de redes de macromoléculas en las células. La espectrometría de masas que permite identificar las proteínas en función de su masa. La bioinformática es el área integradora entre las nuevas tecnologías y el análisis de los resultados, nos permite a través de algoritmos computacionales identificar secuencias de proteínas y reconstruir las redes moleculares de los procesos celulares (Fig. 1 y 2).

La escala de la investigación se modifica, ya que se estudian simultáneamente muchas proteínas y rápidamente se están modificando los análisis proteómicos para escalarlos a nivel de laboratorios de diagnóstico para realizarlos en un tiempo record.

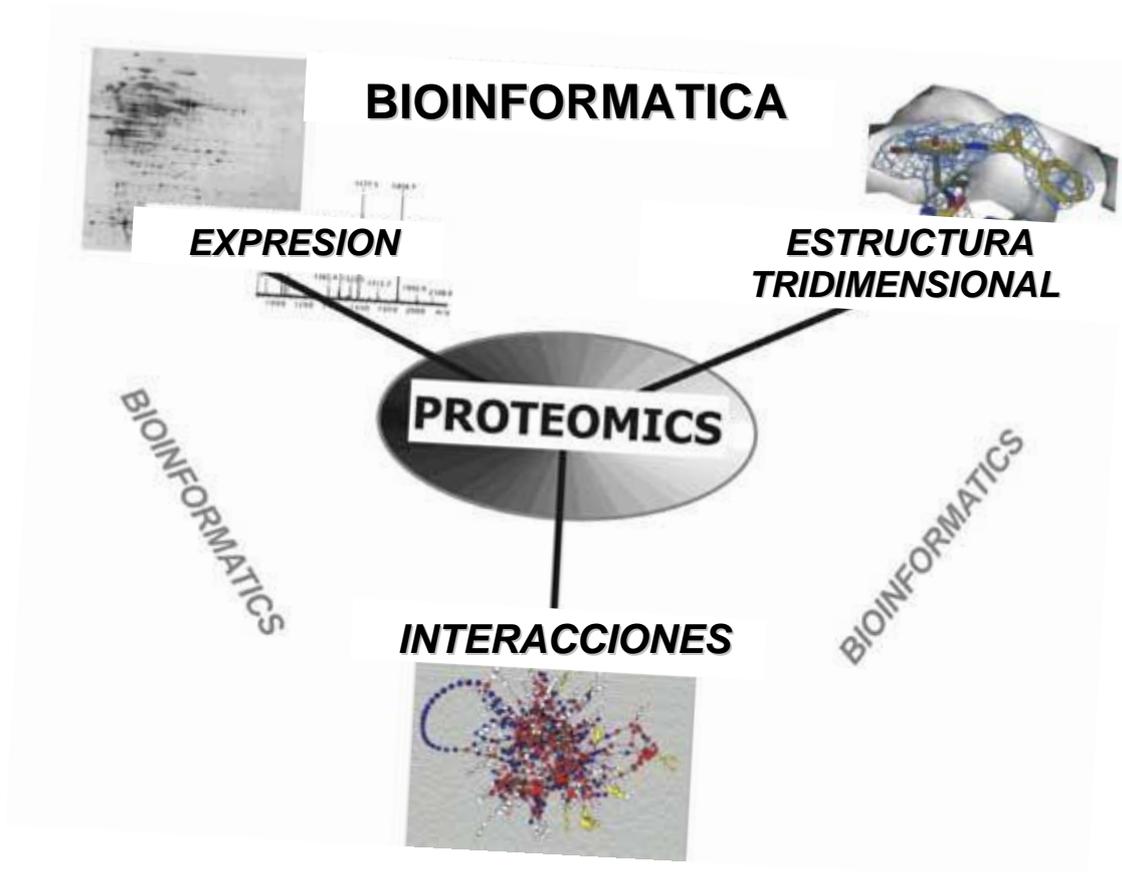


Figura. 1 Modificado de biol.lf1.cuni.cz/ucebnice/images/proteomics.jpg. En este esquema se tiene una panorámica de las posibilidades de la proteómica.

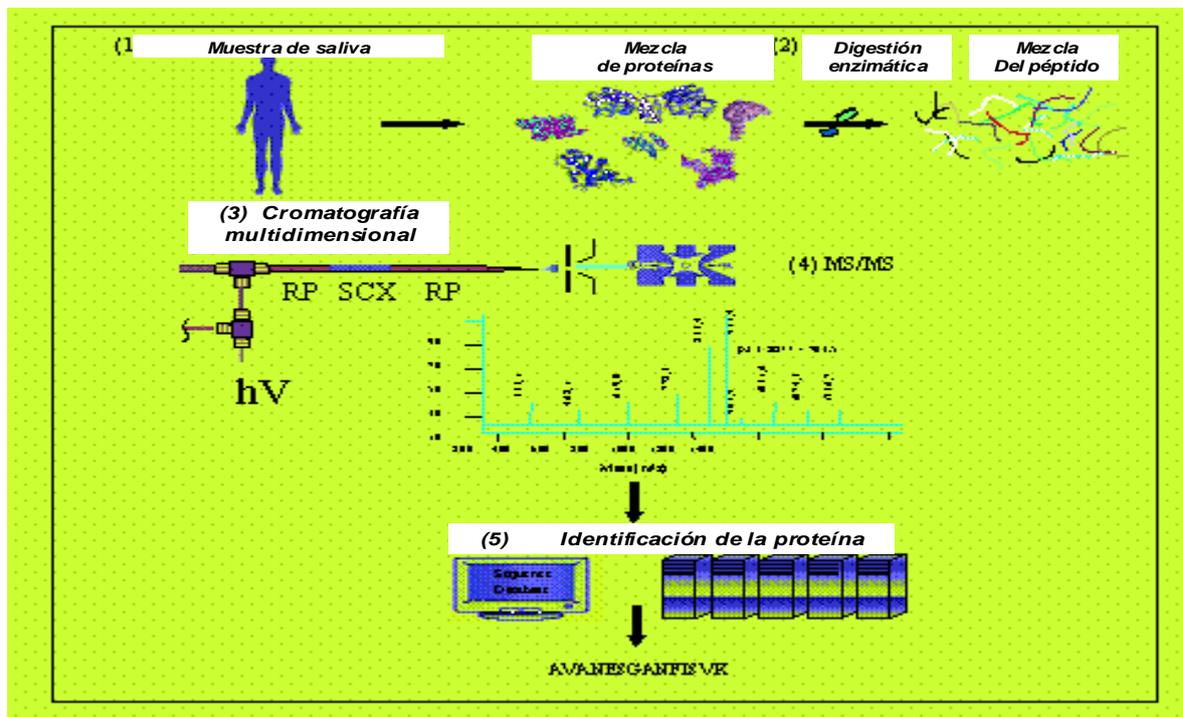


Figura 2. (modificado de fields.scripps.edu/public/project/saliva/). Diagrama que ejemplifica el proceso de las técnicas proteómicas.

La medicina proteómica incide de manera directa en el descubrimiento de biomarcadores inéditos para generar nuevas clasificaciones de las enfermedades, para realizar diagnósticos temprano, para monitorear la enfermedad, para desarrollar terapias novedosas y lo más importante para prevenir las enfermedades. (Figura 2).

El período asintomático de las enfermedades crónicas como la diabetes mellitus es largo, por lo cual ofrece una buena oportunidad para desarrollar nuevos biomarcadores que permitan un diagnóstico oportuno e incluso la prevención de la enfermedad. La prevención primaria se puede desarrollar a través de trabajar con los factores de riesgo que desencadenan la enfermedad, mientras que la prevención secundaria se puede realizar a través de tratamientos oportunos que modulen el proceso fisiopatológicos antes del debut de la enfermedad.

En esta tesis se analiza la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) como modelo de enfermedad conformacional que corresponde a una nueva clasificación de las enfermedades en función de las protagonistas de la acción que son las proteínas. En la sección de resultados haremos un viaje a través de la bioquímica general de las proteínas, su función y el plegamiento de las mismas para llegar a comprender lo que son las enfermedades conformacionales al analizar la DM2.

ASPECTOS GENERALES DE LA DIABETES MELLITUS

La Diabetes Mellitus (DM), es un síndrome metabólico frecuente y crónico cuya característica bioquímica esencial es la hiperglucemia. Las formas más importantes de Diabetes son las causadas por déficit de secreción de insulina debido a la lesión de las células β pancreáticas (DM1) y las que son consecuencia de la resistencia a la insulina en el músculo esquelético, hígado y tejido adiposo, con diferentes grados de disfunción del islote (DM2)[4]. La DM no es una entidad única sino más bien un grupo heterogéneo de trastornos en los que existen distintos patrones genéticos así como otros mecanismo etiológicos y fisiopatológicos que producen una alteración en la tolerancia a la glucosa.

La Diabetes Mellitus tipo 1A (DM1A) es una enfermedad autoinmune, que se hace clínicamente evidente cuando se ha destruido más del 80% de células beta (β) y queda menos del 10% de la masa de los islotes pancreáticos. Se reconoce que ambos tipos de inmunidad, la celular y la humoral han estado previamente operado meses y/o años, de cinco hasta doce años; antes de presentarse la deficiencia clínica de insulina incluso en algunos casos probablemente desde la gestación[5], [5;6]. México es un país de baja incidencia para DM1 ya que presenta una tasa de 0.58 por 100,000 niños de 0 - 14 años[7-9]

La DM2 es la forma más prevalente de diabetes mellitus en adultos, la cual se caracteriza por la resistencia a la insulina asociada con disfunción del islote con disminución progresiva de la cantidad de células β y aumento en la cantidad de células α . La DM2 se considera una enfermedad poligénica agravada por factores ambientales, como la inactividad física o la dieta hipercalórica rica en grasas y carbohidratos simples. Los pacientes con DM2 obesos muestran resistencia a la insulina en el músculo esquelético, aumento de la producción hepática de glucosa y disminución de la secreción de insulina inducida por la glucosa.[10] Figura 3.

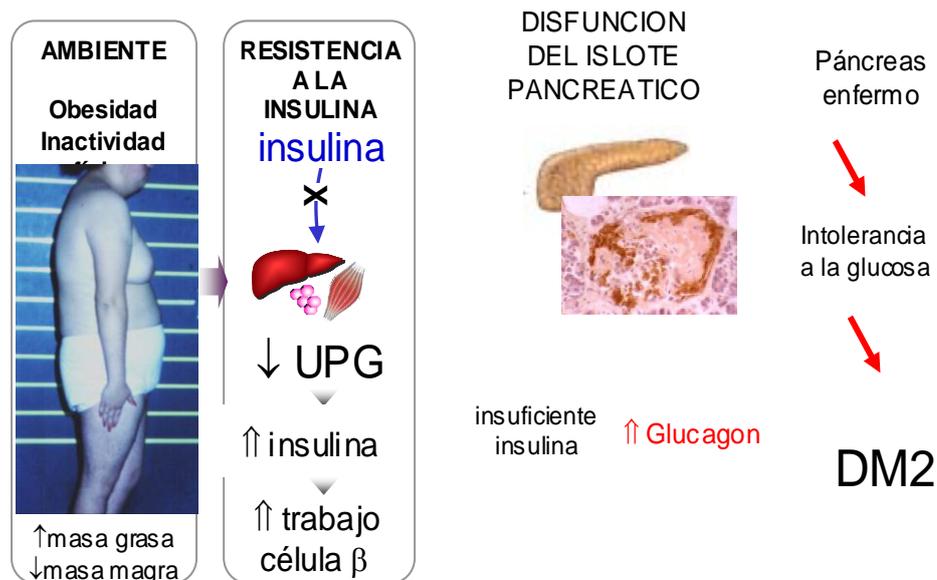


Figura 3. Resistencia a la insulina y disfunción del islote en DM2

El aumento en la incidencia de DM2 en los niños y adolescentes es paralela a la epidemia emergente de obesidad, que se asocia con resistencia a la insulina. Más del 50% de la población en adultos y casi un tercio de los niños en México tienen sobrepeso y obesidad. Según estudios realizados por Martorell México ocupa el segundo lugar en prevalencia de obesidad en países de América Latina después de República Dominicana.[11]

La DM2 no se desarrolla hasta que hay cierto grado de insuficiencia de la secreción de insulina. Aunque generalmente se cree que la destrucción autoinmune de las células β pancreáticas no se produce en la DM2, los marcadores autoinmunes de la DM tipo 1, principalmente GAD65, ICA512 E IAA pueden encontrarse positivos hasta en un tercio de los casos de DM 2 en adolescentes.

En la Diabetes Mellitus tipo 2, el déficit de insulina es raramente absoluto, por lo que los pacientes no necesitan insulina para sobrevivir, aunque puede mejorarse el control glucémico con insulina exógena. La mayoría de los pacientes con DM2 permanece asintomática durante meses o años porque la hiperglucemia es tan moderada que los síntomas no son tan acentuados como la poliuria y la pérdida de peso que acompaña a la DM tipo 1.[12]

La DM2 tiene un componente genético más importante que la DM 1, las tasas de concordancia entre gemelos idénticos son prácticamente del 100% para la DM tipo 2 y solo del 30-50% en la DM tipo 1. La base genética de la DM 2 es compleja y no se encuentra completamente definida; no se ha identificado un único defecto predominante, como la asociación a HLA en la DM tipo 1.

COSTOS DE LA DIABETES MELLITUS

La Diabetes Mellitus representa un problema de salud pública por La alta prevalencia[13] con una importante repercusión desde el punto de vista sanitario, social y económico[9]. el número y gravedad de complicaciones por disfunción y/o insuficiencia a largo plazo de diversos órganos, en especial ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos[1;2;4;5;8;9;14;15].En Estados Unidos los costos en1997 ascendieron a 98 millones de dólares que representan cerca del 15% del gasto en salud en ese país. En el caso de México, el gasto de la atención del paciente diabético se encuentra entre el 5% y el 14% de los gastos dedicados a la asistencia médica y se estima que ascendería a los 2,618 millones de dólares anualmente[16].

Combinando los resultados de los estudios de Canadá[17], Estados Unidos y América Latina y el Caribe, el estimado total del costo de la diabetes en América fue de \$210 mil millones. Un total de \$95 mil millones fueron atribuidos a costos directos mientras que \$106 mil millones fueron costos indirectos. La mayoría de los estudios sobre los costos se han enfocado a la diabetes tipo 2 y en población adulta. La demanda financiera para la atención ambulatoria y hospitalaria de DM2 e hipertensión arterial representó el 9,5% del presupuesto total asignado a la población sin cobertura de seguro de salud y el 13,5% del destinado a la población asegurada. El INSP también indica que el gasto anual por diabetes equivale a 4.7% del gasto público para la Secretaría de Salud (38 millones de dólares) y 6.5% del gasto para IMSS e ISSSTE (103 millones de dólares). Arredondo publicó una estimación de los costos directos para adultos con DM2 de \$14'518,975.12 de las tres principales instituciones de Salud de México: Secretaría de Salud (SS), Instituto

de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE), y el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS); se distribuye 17% en consultas médicas, el 38% en tratamiento farmacológico, el 11.6% en hospitalizaciones, el 32.1 % en complicaciones crónicas. El costo total de las complicaciones crónicas en México es de 635 400 000 US\$ (73.7 % para neuropatía, 10.7% para retinopatía, 9.6% para enfermedad cardiovascular, 3.1% para neuropatía y 2.5% para enfermedad vascular periférica)

La mortalidad por Diabetes Mellitus global de todos los tipos en México se ha incrementado en los últimos 80 años y de no estar entre las principales causas de muerte hasta los años 50's, para la década de los 90's y en este siglo XXI se encuentra como primera causa de muerte. No existen datos estadísticos en menores de 18 años o en edades pediátricas.

JUSTIFICACION

La Diabetes Mellitus constituye uno de los problemas médicos y de salud pública más importantes de nuestro tiempo; para el año 2025 podrían ser 300 millones de personas con diabetes, y se estima un incremento de la prevalencia de 4% al 5.4%.

Su importancia radica en la menor esperanza de vida que causa, su elevada morbilidad, la mortalidad temprana, la invalidez laboral y el costo para la comunidad en términos económicos y sociales.

Los retos de la medicina del siglo XXI, es conocer el proteoma humano y la importancia que el conocimiento de la estructura de las proteínas está adquiriendo para la resolución de muchos problemas médicos entre ellos la DM resulta evidente y se ve reflejada en los retos a nivel biomédico que plantean las enfermedades conformacionales.

La diabetes mellitus como modelo de enfermedad conformacional cambia nuestra comprensión de las bases fisiopatológicas a nivel molecular y abre nuevas perspectivas diagnósticas y terapéuticas por lo que es indispensable que la nueva generación de médicos especialistas se introduzca en la medicina proteómica.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

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.

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 de este milenio. 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[18]

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 proteicos. 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.

La diabetes mellitus como enfermedad conformacional significa que la agregación de formas parcialmente plegadas del polipéptido del islote, o polipéptido 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 y producir daño tisular, es el mecanismo molecular evidente de la fisiopatología de la progresión de la DM, por lo que la ruta crítica del tratamiento oportuno se centrará 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

El rápido progreso de 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.

OBJETIVO GENERAL

Conocer el estado del arte de la Diabetes Mellitus como modelo de enfermedad conformacional mediante un análisis sistemático de la literatura científica.

HIPOTESIS

La Diabetes Mellitus es una enfermedad conformacional desde la edad pediátrica por lo que es necesario realizar un estudio descriptivo de la misma.

MATERIAL Y METODOS

La base metodológica se integra de dos pivotes principales, la revisión de material bibliográfico con una visión transfuncional 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 1990-2008. Se cruzaron los siguientes términos: diabetes as conformational disease, diabetes, amyloid, fibrils, islet amyloid polypeptide, islet, pathophysiology, conformational diseases, folding and disease, unfolding and disease, amyloidosis.

Los criterios de inclusión la diabetes como modelo de enfermedad conformacional, amilina (polipéptido de los islotes) y diabetes, amiloide y diabetes, fibras amiloides y diabetes. El criterio de exclusión fueron otras enfermedades conformacionales de la edad adulta y del anciano.

RESULTADOS

I. Enfermedades conformacionales

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE PROTEÍNAS

Las proteínas contienen 20 aminoácidos diferentes en su estructura primaria, pueden adquirir conformaciones tridimensionales variables, existen más de 40000 diferentes tipos de proteínas, las cuales despliegan diversas funciones biológicas a saber: enzimas, receptores, hormonas, anticuerpos, entre otras.[19;19]

Una cadena polipeptídica recién sintetizada para transformarse en una proteína bien plegada y activa depende de su secuencia de aminoácidos y del microambiente celular. 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 (mal de Parkinson, Enfermedad de Alzheimer, Diabetes Mellitus, amiloidosis).[20]

Cualquier proteína natural tiene la posibilidad de presentar errores en su plegamiento y por ende en la adquisición de su conformación activa, esto implica que la mayoría de las proteínas potencialmente pueden formar fibras amiloideas.

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.

El término de proteína deriva de la palabra griega protos, que significa “primero o primario”, el 90% del peso corporal se debe a las proteínas siendo las proteínas más abundante en el cuerpo humano la colágena. Los aminoácidos son las unidades elementales de las proteínas y se caracterizan por poseer un grupo carboxilo (-COOH) y un grupo amino (-NH₂). De los 20 aminoácidos, ocho son indispensables (o esenciales) para la vida humana y dos resultan “semiindispensables”. Dentro de los diferentes tipos de aminoácidos encontramos:

- a) Aminoácidos comunes con cadenas laterales de hidrocarburo: Alanina, Valina, Leucina, Isoleucina
- b) Aminoácidos aromáticos: Fenilalanina, Tirosina, Triptófano
- c) Aminoácidos que contienen azufre: Cisteína, Metionina
- d) Aminoácidos con ácidos dicarboxílicos: Aspartato, Glutamato
- e) Aminoácidos con cadenas laterales polares básicas con nitrógeno: Lisina, Arginina, Histidina
- f) Aminoácidos con grupos hidroxilo alifáticos: Serina, Treonina, Prolina

Los péptidos se encuentran formados por la unión de aminoácidos mediante un enlace peptídico. Para poderse formar los 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:

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 a 10

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

Las proteínas se pueden clasificar con base en su solubilidad, en su forma, su función biológica o en su estructura tridimensional. Con base en su solubilidad se pueden clasificar en albúminas, globulinas e histonas, en base a su forma se pueden clasificar en proteínas globulares y fibrosas, en base a sus funciones biológicas se pueden clasificar en enzimas (deshidrogenadas, cinasas), proteínas de almacenamiento (ferritina, mioglobina), proteínas reguladoras, proteínas estructurales (colágena, peptidoglicanos), proteínas protectoras (factores de coagulación sanguínea, inmunoglobulinas), proteínas de transporte (hemoglobina, lipoproteínas plasmáticas) y proteínas contráctiles y móviles (actina, tubulina). [21]

Las proteínas desempeñan una gran cantidad de funciones entre las que podemos destacar:

a) Catálisis: Las enzimas son proteínas que dirigen y aceleran miles de reacciones bioquímicas en procesos como digestión, captura de energía y la biosíntesis.

b) Estructura: Algunas proteínas proporcionan protección y sostén. Las proteínas estructurales suelen tener propiedades muy especializadas. Por ejemplo el colágeno y la fibroína poseen una fuerza mecánica significativa

c) Movimiento: Las proteínas participan en todos los movimientos celulares, por ejemplo la actina, tubulina y otras proteínas que forman parte del citoesqueleto son activas en la división celular, la endocitosis, la exocitosis y el movimiento ameboides de los leucocitos.

d) Defensa: Una extensa variedad de proteínas son protectoras dentro de las cuales podemos encontrar a la queratina la cual se encuentra en la piel y ayuda a proteger al organismo contra daños mecánicos y químicos.

e) Regulación: Se lleva a cabo cuando una proteína con función hormonal o factor de crecimiento se unen a receptores en sus células diana y modifica su función celular, por ejemplo las diferentes hormonas como la insulina y el glucagón, ambos regulan la glucosa en la sangre.

f) Transporte: Muchas proteínas actúan como transportadores o iones a través de membranas o entre las células.

g) Almacenamiento: Algunas proteínas actúan como reserva de nutrientes esenciales por ejemplo la caseína de los mamíferos son fuentes abundantes de nitrógeno no orgánico.

h) Respuesta a las agresiones: Esta función es representada por el citocromo P450 el cual es un grupo diverso de enzimas los cuales convierten a un gran número de contaminantes orgánicos tóxicos en derivados menos tóxicos.

Las proteínas contienen cuatro tipos de estructuras: la estructura primaria que se encuentra determinada por la secuencia de aminoácidos esta 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 tienen estructura cuaternaria.

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 se encuentran enlazados. 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. Debido a que 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[22].

La estructura secundaria de los polipéptidos consta de varios patrones repetitivos, los tipos de estructura secundaria que se observan con mayor frecuencia son la hélice Alfa y la lámina B plegada, tanto la hélice alfa como la lámina B plegada se encuentran estabilizadas por enlaces de hidrógeno entre los grupos carbonilo y N-H del esqueleto polipeptídico.

La estructura terciaria de las proteínas 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. 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, la estructura terciaria está determinada por la secuencia de aminoácidos

Existen dos tipos de estructura terciaria:

- Las proteínas con estructura terciaria de tipo fibroso en las que una de las dimensiones es mucho mayor que las otras dos. Dentro de este tipo encontramos el colágeno, la queratina, etc.

- Las proteínas con estructura terciaria de tipo globular las cuales son las más frecuentes y en ellas no existe una dimensión que predomine sobre las demás y su forma es aproximadamente esférica.

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 2 tipos:

- Enlaces covalentes: Se pueden deber a la formación de un puente disulfuro entre dos cadenas laterales de Cys o a la formación de un enlace amida (-CO-NH-) entre las cadenas laterales de la Lys y un aminoácido dicarboxílico.

- Enlaces no covalentes: Pueden ser de cuatro tipos:
 - a) Fuerzas electrostáticas: entre cadenas laterales ionizadas con cargas de signo opuesto
 - b) Puentes de hidrógeno: entre las cadenas laterales de aminoácidos polares
 - c) Interacciones hidrofóbicas: entre cadenas laterales apolares
 - d) Fuerzas de polaridad: Debidas a interacciones dipolo-dipolo

En enlace que aporta más estabilidad es el de tipo covalente y entre los no covalente, las interacciones más importantes son las de tipo hidrofóbico ya que exigen una gran proximidad entre los grupos apolares de los aminoácidos.

Existen regiones que constituyen un nivel estructural intermedio entre las estructuras secundaria y terciaria, las cuales reciben el nombre de dominios. Los dominios se pliegan por separado a medida que se sintetiza la cadena polipeptídica, la asociación de los distintos dominios origina la estructura terciaria.

La estructura cuaternaria se refiere a la manera en que interactúan las subunidades de una proteína multimérica. Cuando una proteína consta de más de una cadena polipeptídica (proteína oligomérica) se dice que tiene una estructura cuaternaria. La estructura cuaternaria debe considerar: el número y la naturaleza de las distintas subunidades o monómeros que integran el oligómero y la forma en que se asocian en el espacio para dar lugar al oligómero.

La estructura cuaternaria modula la actividad biológica de la proteína y la separación de las subunidades a menudo conduce a la pérdida de la funcionalidad. Las fuerzas que mantienen unidas las distintas cadenas polipeptídicas son 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.

La estructura de las proteínas en base a su conformación fisiológicamente activa se dividen en:

- Estructura Nativa: Se denomina así a la conformación fisiológicamente activa de una proteína. Las fuerzas encargadas de mantener la conformación activa incluye los enlaces covalentes, puentes salinos, enlaces de hidrógeno, enlaces hidrofóbicos y de Van der Waals.

- Estructura no nativa: Esta resulta cuando las proteínas se exponen a pH extremos, como el pH ácido del estomago o a altas temperaturas, los cuales destruyen la conformación nativa y dando como resultado una estructura no nativa.

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. La conformación nativa es solo marginalmente estable y estos pequeños cambios en el entorno de la proteína pueden generar cambios estructurales y con ello afectar su función.

PLEGAMIENTO DE PROTEÍNAS

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. Los dos modelos clásicos secuenciales son el modelo de tipo armazón y el modelo de 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 existe 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.

El plegamiento de las proteínas es un proceso rápido y espontáneo debido a que el plegamiento se produce siempre de la manera que la proteína resultante sea más estable y funcional, es decir que adquiera su estado nativo (N) (Fig. 4)

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

- 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 hidrógeno

- Enlaces covalentes

El plegamiento no es en muchas ocasiones espontáneo y la posibilidad de agregación aumenta considerablemente, es por ello que las proteínas recién sintetizadas requieren de la interacción con otras proteínas ya existentes y de consumo de energía. A esos acompañantes moleculares se les denomina chaperonas moleculares.

Las chaperonas moleculares son proteínas que unen y estabilizan conformaciones inestables de otras proteínas. Mediante uniones y liberaciones controladas, se facilitan la conformación nativa de las proteínas o el ensamblaje entre éstas para crear oligómeros. De la familia de las chaperonas se forman numerosas proteínas de distinta secuencia y diverso peso molecular siendo denominadas chaperoninas.

Las chaperonas moleculares son las orquestadoras celulares de cuándo y dónde las proteínas se pliegan o se despliegan y se agregan en respuesta a los cambios del microambiente producidos por la temperatura, el estrés o la enfermedad. Funcionan como sensores del proceso de apoptosis. El plegamiento anómalo es deletorio no sólo porque se pierde la función proteica, sino además porque los agregados de estructuras no nativas que se forman son citotóxicos[23](Fig 3).

Las chaperonas interactúan con las especies de estructuras no nativas para prevenir la agregación y promover el plegamiento correcto[24;25]. Las chaperonas abundan en el citosol, el retículo endoplásmico y las mitocondrias. Las chaperonas Hsp60 por ejemplo son proteínas multiméricas que forman un barril cilíndrico con anillos complejos que crean cavidades para alternativamente promover el pegue de los sustratos y el encapsulamiento de las proteínas que se van a plegar[26]. Los polipéptidos no nativos que tienen sitios hidrofóbicos expuestos se unen a la chaperona y son capturados al ocurrir un gran cambio conformacional inducido por el pegue de ATP y la co-chaperonina GroES, los péptidos secuestrados se pliegan en una gran cámara hidrofílica[27].

El conocimiento de los mecanismos de plegamiento y de los errores en el plegamiento de las proteínas es crucial para entender la fisiopatología de las enfermedades conformacionales y así poder plantear rutas críticas de diagnóstico y tratamiento oportuno. La agregación de las proteínas y su debut dependiente de la edad son los factores predominantes de las enfermedades neurodegenerativas y de

la DM2. Se propone que el factor de crecimiento insulínico tipo 1 para regular la longevidad involucra la acción de chaperonas para prevenir ya sea la agregación proteica o la formación directa de grandes agregados no tóxicos en lugar de los pequeños agregados que son prototóxicos [28].

La lámina β plegada es la estructura que predomina en aquellas proteínas que sufren una alteración en su plegamiento, esta estructura se mantiene estable en la agregación y oligomerización proteica, lo que explica el atrincheramiento y depósito de agregados proteicos en diversos órganos provocando daño tisular y por ende disfunción orgánica (Fig. 4).

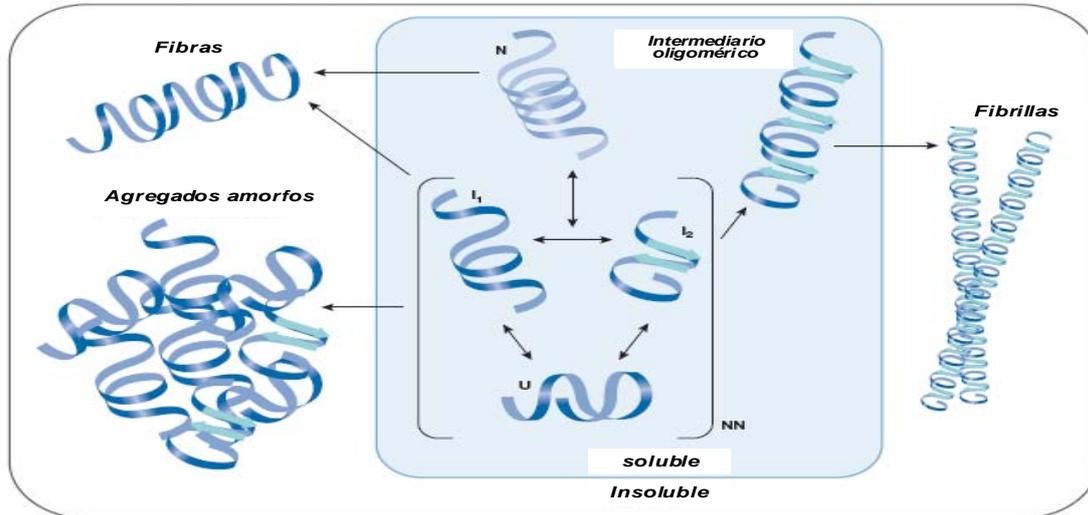


Fig.4 (modificado de Yerburi y col. [29])Esquema del proceso de agregación. N es la estructura nativa, NN es la estructura no nativa, I₁ e I₂ son intermediarios y especies parcialmente plegadas. D es la forma desplegada de la proteína. Las estructuras no nativas tienden a asociarse entre ellas y formar agregados. Las formas solubles se muestran en el recuadro azul.

Los dos mecanismos para eliminar los agregados a nivel intracelular son el de proteólisis y el mecanismo de desagregación a través de las chaperonas Hsp70-Hsp100 seguido de un proceso de replegamiento[30] Fig. 5. Las chaperonas pequeñas (Hsp s) influyen directamente en el proceso de agregación. Las Hsp pequeñas tienen una estructura oligomérica y se disocian con la temperatura en dímeros que son la forma activa de la proteína con un incremento en la afinidad por el sustrato. Las Hsp activadas tienen la habilidad de unirse a sus sustratos proteicos cuando están formando oligómeros o cuando se liberan de las estructuras oligoméricas.

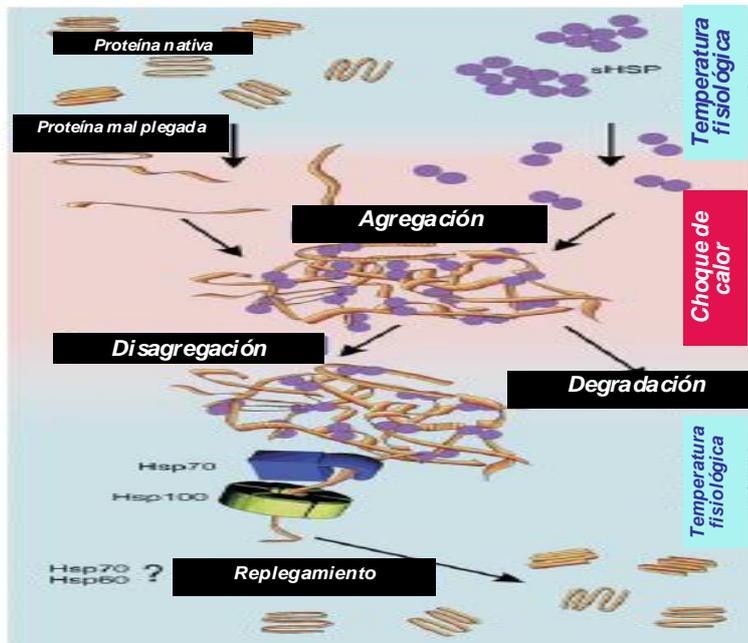


Fig. 5. (modificado de [30]). Las chaperonas Hsp 100, Hsp70 and Hsp(pequeñas), controlan el destino de las proteínas con tendencia a agregarse bajo condiciones de estrés.

La mayoría de los procesos celulares requieren que las proteínas se encuentren en su estado nativo, el cual es flexible y dinámico, ideal para realizar su función. Cambios menores en las condiciones fisicoquímicas del microambiente celular pueden desencadenar la agregación. La acción concertada de las chaperonas contrarresta el proceso de agregación, al igual que la proteólisis que remueve el exceso de proteínas dañadas, mal plegadas, son parte del mecanismo celular para responder al estrés y la enfermedad.

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 un adecuado control de calidad intra-celular.

CLASIFICACIÓN DE ENFERMEDADES CONFORMACIONALES

Algunas veces las proteínas no se pliegan de manera correcta y presentan errores en el plegamiento (plegamiento anómalo de estructuras no nativas (NN)). Las estructuras no nativas interactúan entre sí y forman agregados intra o extra celulares que eventualmente pueden formar fibras amiloides (Fig. 4), dando lugar a un amplio grupo de enfermedades[31;32] (Tabla I), como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, las enfermedades neurodegenerativas como el Mal de Parkinson[33], la enfermedad de Alzheimer[34]; las enfermedades crónicas (Diabetes mellitus tipo 2[35;36] amiloidosis[37] relacionadas con las hemodiálisis y la amiloidosis prostática.[38] Carrell[39] agrupó a estas enfermedades y las llamó enfermedades conformacionales (EC). Las EC tienen una base fisiopatológica común que es una alteración a nivel de las proteínas, ya sea en su tamaño, forma, plegamiento o conformación. El plegamiento proteico juega un papel importante en la biología celular por lo que es inevitable que al ocurrir un plegamiento anómalo se produzca un proceso biológico disfuncional y por lo tanto condicione una

enfermedad ya sea por citotoxicidad aumentada o por deficiencia de proteínas funcionales

EL término amiloide se sigue utilizando en la actualidad, aunque 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.[20]

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

Las enfermedades conformacionales se diferencia de las enfermedades genéticamente determinadas en que estas últimas la falla radica a nivel inicial de la producción proteica por una alteración del código genético, a diferencia de las enfermedades conformacionales 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.

El inicio temprano o tardío de las enfermedades conformacionales esta 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. La agregación proteica puede acelerarse por factores externos como los procesos inflamatorios.

Tabla I. Enfermedades conformacionales y sus alteraciones proteicas.

Alteración proteica	Enfermedad	Alteración proteica	Enfermedad	Alteración proteica	Enfermedad
Serpinas	Serpinopatías	Cadena ligera de Inmunoglobulinas	Amiloidosis sistémica AL Amiloidosis nodular AL	Abeta	Enf. Alzheimer
α 1-antitripsina	Deficiencia α 1 antitripsina Cirrosis Enfisema	Proteína sérica amiloide A	Amiloidosis sistémica AA	Péptido beta amiloide	Sd. Down
Antitrombina III		Microglobulina β 2	Amiloidosis por hemodiálisis Amiloide prostático	Procalcitonina	Carcinoma Medular de Tiroides
Inhibidor C1	Enfermedad Tromboembólica	Cistatina C	Angiopatía cerebral hereditaria	Polipéptido amiloide del islote	DM tipo2
Antiquimiotripsina	Angioedema Enf. Hepática	Huntingtina	Enf. Huntington	Secuencia de Glutamina	Enf. Huntington Ataxia Espinocerebelar Atrofia Machado-Joseph
Priones		Apolipoproteína A1	Polineuropatía amiloidea familiar Amiloidosis Familiar Visceral	P53	Cáncer
Prp Cj		Lisozima	Amiloidosis Familiar Visceral	Hemoglobina Tau	Demencia Frontotemporal Anemia de Células falciformes Hemólisis Inducida por fármacos
Prp Sc	Kuru Enf de Creutzfeld-Jacob Encefalopatía Espongiforme Enf. Gerstmann-Strauss Insomnio Fatal familiar	Transtirretina	Amiloidosis Sistémica Senil Neuropatía Amiloidea Familiar Amiloidosis Cardiaca Familiar	α Sinucleína	Enf. Parkinson

II. La diabetes mellitus como modelo de enfermedad conformacional.

Introducción

La DM es una *enfermedad conformacional* en la cual el Polipéptido amiloide del islote (IAPP) también conocido como amilina, sufre una alteración en su estructura terciaria dando lugar a su depósito tisular (Fig 3 y 4). El hecho es que más del 90% de los pacientes y animales (monos y gatos) con DM2 tienen depósitos amiloides localizados en áreas atróficas de las células β del páncreas[40-43] Estudios recientes indican que la agregación del péptido amiloide del islote, especialmente los agregados pre-fibrilares[44;45], son factores diabetogénicos que producen citotoxicidad y falla de la célula β [46-50]

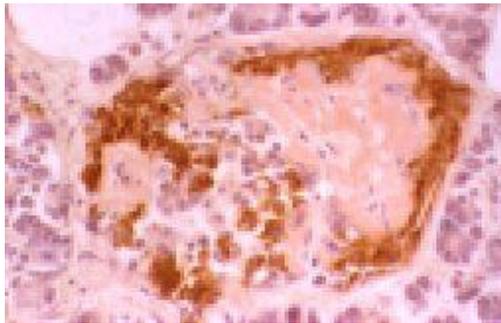


Figura 6. Depósito de amiloide en páncreas. Tinción rojo congo

Los depósitos del islote amiloide fueron descritos en la Diabetes desde hace más de un siglo. Esta patología fue descrita por primera vez en estudios de páncreas de pacientes Diabéticos en 1900, posteriormente patólogos determinaron que las placas de islotes hialinos son una característica en sujetos ancianos con diabetes y que este material de proteína amorfa (originalmente fue descrito como hialino por Eugene Opie) tienen propiedades de amiloide, tiñéndose con rojo Congo o thioflavin S.[51] [52]

El islote amiloide contiene además proteínas como la Apolipoproteína E y el heparán sulfato.

Polipéptido amiloide del islote humano (IAPP_h).

El polipéptido amiloide del islote humano es un polipéptido de 37 residuos:

IAPP_h: KCNTATCATQRLANFLVHSSNFGAIL**S**STNVGSNTY

El gen en humanos se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 12, contiene 3 exones y 2 intrones. Se expresa como una proteína de 89 aminoácidos[53]. La secuencia primaria del IAPP está conservada en todas las especies (Fig. 6), lo que habla de su importancia evolutiva.

El péptido se produce por los gránulos secretorios de la célula β del páncreas y se co-secreta con la insulina[54] por ejemplo después de una ingesta de alimentos. La concentración en sangre del IAPP es del orden 5-20 pM. Si bien no se conoce su función fisiológica, se han descrito algunas propiedades como su acción parácrina directa sobre las células β para inhibir la secreción de insulina[55]. Se sugiere que el IAPP disminuye el vaciado gástrico y disminuye el apetito[56].

El polipéptido amiloide del islote humano (IAPP_h) se agrega en el espacio extracelular del islote y forma fibrillas amiloides. El IAPP_h es el componente mayoritario de los depósitos de amiloides pancreáticos que se asocian a la DM2. Estos depósitos se encuentran en el 95% de las autopsias de pacientes con DM2. Si bien la diabetes es una enfermedad multifactorial, la agregación de formas no nativas del IAPP juega un papel crítico.[57-59].

Los seres humanos, los primates y los gatos son susceptibles a la formación amiloide [60]

Los estudios biofísicos in Vitro correlacionan la patogenicidad del IAPP con su capacidad de formar fibras[61;62].

La estructura tridimensional del IAPP ha sido difícil de determinar debido a que se agrega en soluciones acuosas. Los estudios de dicroísmo circular (CD) en ausencia de solventes orgánicos muestra una estructura no repetitiva (sin estructura secundaria aparente), posteriormente empieza a precipitar y muestra una estructura en lámina β -cruzada[63;64].

Los estudios de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) en estado sólido de las estructuras de las fibras amiloides formadas por IAPP_h revelaron que las regiones comprendidas entre los residuos 8-17 y 28-37 forman láminas beta (Fig. 8). Por otra parte cabe resaltar que las regiones 20-25, 24-29, 22-27 y 22-28 son importantes ya que modulan el proceso de agregación[65].

El IAPP tienen una tendencia elevada a la agregación como lo demuestran los valores del perfil de agregación intrínseca. Las cys de la posición 2 y 7 forman un puente disulfuro, el cual juega un papel fundamental ya que disminuye y limita la agregación[65].

El IAPP_h rápidamente se agrega en agua y forma láminas β -cruzadas que forman fibras amiloides, mientras que el IAPP de rata (IAPP_r) es soluble en soluciones acuosas, la diferencia esta en 6 aminoácidos:

IAPP_r: KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY

Estas diferencias se deben a la variación en la secuencia de aminoácidos en la posición 20-29 y específicamente en la región 24-28. Cuando los aminoácidos en la región GAILS (región 24-28) son remplazados por prolinas, como ocurre en los roedores, las fibras amiloides no se forman y estas especies no desarrollan islotes amiloides cuando presentan diabetes.[66] [67;68]

Figura 7 alineamiento de secuencias de IAPP en diferentes especies y sus parálogos



Un mecanismo propuesto para explicar la toxicidad del IAPP es que rompe las membranas lipídicas. Esta interacción anormal entre el IAPP y la membrana frecuentemente se acompaña de un aumento en la cinética de la fibrilogénesis y depende de las propiedades electrostáticas de la membrana, el pH y la concentración de IAPP. El microambiente y la dis-homeostasis de algunos iones favorecen este proceso. En especial el calcio, ya que es conocido que el calcio

induce la segregación de la fase lipídica al modificar las propiedades electrostáticas de la superficie de las membranas, por otra parte participa en diferentes procesos de transferencia intra y extracelulares y cabe resaltar que los pacientes con diabetes tienen aumentado el calcio intracelular y muchos de los síntomas asociados a la DM2 pueden ser desencadenados por alteraciones en la homeostasis del calcio celular.[69]

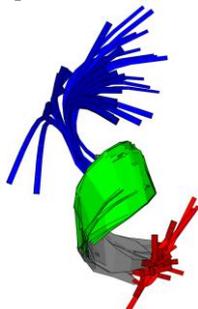


Fig. 8. Estructura del IAPP por RMN.

La cantidad de depósitos presentes de islote amiloide en la Diabetes Mellitus tipo 2 es muy variable; dependiendo no solo del número de islotes afectados (pudiendo ser de 1-80%) y de el tipo de afectación si es uniforme o no[70]., [71]

Relación del IAPP con Diabetes Mellitus tipo 2.

Los estudios en modelos transgénicos de roedores han iluminado el papel del IAPP y su relación con la DM2. En primer lugar, se han descrito el fenotipo y la patología del islote en roedores transgénicos del IAPP, se ha visto que en algunos modelos se desarrolla DM2, pero no en todos[72;73]. La predisposición a la diabetes es mayor para los machos que para las hembras y es también dependiente de las condiciones metabólicas de base (por ejemplo obesidad, FVB, manipulación farmacológica, etc.). Los ratones transgénicos obesos, o tratados con hormona de crecimiento o dexametasona desarrollan diabetes[74]. El incremento en la dosis del gen IAPP por cruza para producir homocigotos también produce diabetes[75]. La disminución de la masa efectiva de la célula β como consecuencia del incremento en la apoptosis de la célula β , es el mecanismo fisiopatológico común en los roedores transgénicos[76] y además conservan las características metabólicas como: hiperglucemia, alteraciones en la secreción de insulina, resistencia a la insulina, etc.[73]. Durante el proceso de replicación de las células β éstas son más vulnerables a la apoptosis inducida por el IAPP[77]. Es importante destacar que los animales transgénicos que expresan IAPP no desarrollan diabetes, no tienen falla de la célula β y tampoco disminuyen la masa celular.

Los depósitos amiloide del islote se observan en la vasta mayoría de individuos con DM2 (Fig. 4). En algunos individuos se afecta un número mínimo de islotes mientras que en otros se pueden afectar una gran cantidad de islotes. Este grado de afectación del islote puede ser determinante en la severidad de la Diabetes ya que seguramente requerirán de tratamiento con insulina. La prevalencia de depósitos del islote amiloide se incrementa con la edad, esto no es algo de sorprender pues a mayor edad existe un deterioro en la tolerancia a la glucosa y se incrementa la prevalencia de DM2. Aunque la formación amiloide del islote es característica de la DM2 también puede observarse en los insulinomas los cuales son tumores en las células β caracterizados por anomalías en el procesamiento y en la secreción.

Existen 2 hipótesis en el mecanismo de formación amiloide del islote en la patogénesis de la Diabetes tipo 2: la primera menciona que existe una alteración en el gen amiloide del islote y la segunda trata acerca de la sobreproducción del amiloide del islote dando como resultado una acumulación del mismo.

La relación amiloide del islote, la hiperglucemia, la resistencia a la insulina y la disfunción de la célula β se dificulta en forma clínica sin embargo es posible demostrarlo por medio de biopsias pancreáticas.

El papel amiloide del islote en el inicio y progresión de la diabetes en los seres humanos es muy complejo. En pacientes con Diabetes de larga duración el grado de presencia de islote amiloide puede variar desde una prevalencia pequeña (menos de 1% del islote afectado) o puede verse afectado de manera importante (más del 80% del islote afectado). Esto indica que el islote amiloide y el reemplazamiento celular no es el único factor precipitante de la disfunción del islote y la diabetes. El requerimiento del tratamiento de insulina se ve incrementado con la severidad del islote amiloide, ocurriendo posterior al diagnóstico.

No existe relación en la duración de la Diabetes y el grado de afección del islote amiloide lo cual refleja lo heterogéneo de la enfermedad. El diagnóstico clínico de Diabetes puede ocurrir meses o años posteriores a la llegada de la enfermedad.

En animales transgénicos homocigotos para IAPP se ha demostrado que desarrollan diabetes debido a un incremento en la velocidad del proceso apoptótico, y sin embargo no desarrollaron amiloide extracelular, lo que implica que no hay relación entre la extensión de los islotes amiloides y la apoptosis de la célula β [77;78].

Estos resultados demuestran que no es plausible la hipótesis de que el IAPP amiloide extracelular cause apoptosis de la célula β . Sino que es consistente con la hipótesis de que los oligómeros (agregados) solubles de IAPP (Fig. 4) son responsables del incremento de la apoptosis en las células β . [78]

Fisiopatología de la formación de fibras

Las fibras formadas por el islote polipéptido amiloide sintético y otras proteínas amiloidogénicas muestran rápidamente propiedades tóxicas a los islotes y otras células in Vitro por un mecanismo no conocido. Se ha propuesto La inserción en la bicapa lipídica y cambios en la membrana celular y actividad de canales iónicos conduce a la apoptosis. Se ha identificado la apoptosis en Los islotes en pacientes con Diabetes tipo 2, pero otros estudios han demostrado que las células apoptóticas son infrecuentes en células de islotes adultos. Las células adyacentes a las fibras muestran poca evidencia de citotoxicidad y apoptosis, sugiriendo que el tiempo de la toxicidad inducida por las fibras sintéticas es más rápida que la inducida por el islote polipéptido amiloide in Vitro o in vivo.

Clínicamente se encuentra claro que agregados del polipéptido amiloide del islote es una característica patológica en el desarrollo de la Diabetes Mellitus tipo 2. Las proteínas deben de estar adecuadamente plegadas en su estructura tridimensional para realizar sus funciones en la célula y en el organismo. Un modelo de proteínas no funcional incluye los siguientes eventos intracelulares (Fig. 4 y 9).

- 1) En el caso de la Diabetes Mellitus tipo 2 las fibras amiloides son formadas con estabilización subsecuente por moléculas accesorias como el amiloide del suero P, el perlecán y la Apolipoproteína E.

- 2) El desplegamiento de las proteínas producen una exposición a regiones hidrofóbicas.
- 3) Cambios conformacionales resultan en intermediarios inestables que tienen una propensión para formar oligómeros.
- 4) Los oligómeros forman subunidades patogénicas de plegamiento cruzado

La formación de fibras es una característica de la Diabetes Mellitus tipo 2, por lo tanto la manipulación de la estructura de la proteína puede ser una base para el desarrollo de nuevos tratamientos.

Los oligómeros solubles del polipéptido amiloide del islote han demostrado ser citotóxico y posiblemente responsables para la apoptosis de la célula Beta en la Diabetes Mellitus tipo 2 [78]. Las células Beta con un mayor grado de replicación son más susceptibles a la apoptosis por los oligómeros del polipéptido del islote amiloide.

Una idea que las proteínas asociadas a amiloide como son la Apolipoproteína E, los glucosaminoglucanos, etc., pueden actuar como factores protectores en sistemas biológicos reduciendo el impacto de oligómeros o fibras en la viabilidad celular así como reduciendo el reconocimiento para la degradación de proteínas mal plegadas. Sin embargo además de causar una muerte celular inmediata la acumulación de fibras pequeñas puede afectar la función. Las membranas de las células Beta adyacente a los depósitos biosintéticos in vivo e in Vitro son interrumpidos visiblemente las cuales pueden interferir con el ciclo de las proteínas de membrana. Todavía no se encuentra clara la asociación de fibras con membranas para la disfunción celular como causa de Diabetes. Estos datos sugieren que la amiloidosis y el desarrollo de hiperglicemia son similares pero no idénticos en hombres y en modelos animales por las siguientes características:

- a) En ambos el depósito de amiloide en los islotes comienza como un depósito perivascular pequeño que progresivamente incrementa hasta que todos los islotes sean afectados. Esto se da en muchos pacientes con Diabetes de larga evolución.
- b) La amiloidosis más extensa se desarrolla cuando muchos islotes son afectados y esta asociado con pérdida celular y en requerimientos aumentados de tratamiento con insulina
- c) El acumulo del islote amiloide aparentemente es irreversible y no se encuentra relacionada con la duración de la hiperglucemia
- d) Un ambiente con glucosa elevada en si no produce una formación de fibras amiloides.
- e) Las concentraciones elevadas del islote polipéptido amiloide no son un factor causante para amiloidosis.

La formación de fibras puede comenzar intracelularmente por la agregación del islote polipéptido amiloide en el lisosoma. Una vez formadas estas fibras que se originan tanto dentro o fuera de la célula Beta dan el estímulo requerido para facilitar la acumulación rápida de fibra amiloide en una segunda etapa. Esta segunda etapa se ha documentado correctamente in Vitro y puede en el proceso de formación de fibras inducir citotoxicidad del exterior de la célula Beta por la destrucción de la membrana plasmática y resulta eventualmente en la formación de amiloides visibles in vivo.

En una célula β normal polipéptido amiloide del islote es sintetizada, procesada y secretada por la célula β junto con la insulina y no se acumula como fibras amiloides. Sin embargo, cuando la disfunción de la célula Beta se encuentra

presente como ocurre en la Diabetes tipo 2. El polipéptido amiloide del islote desplegado o no procesado presente en los gránulos secretores sufren liberación junto con la insulina y ya fuera de la célula sufre una exposición a un ambiente químico con (pH aumentado y calcio disminuido), así como otras moléculas (los proteoglicanos, heparán sulfato) que puede producir un cambio estructural en el péptido e iniciar la formación de fibras.

La presencia del polipéptido amiloide del islote desplegada en gránulos secretores puede causar que los contenidos de estos gránulos se dirijan a la degradación en el lisosoma ya que este sistema es responsable para eliminar el exceso de péptidos desplegados como el polipéptido amiloide del islote e insulina (Figura 8).

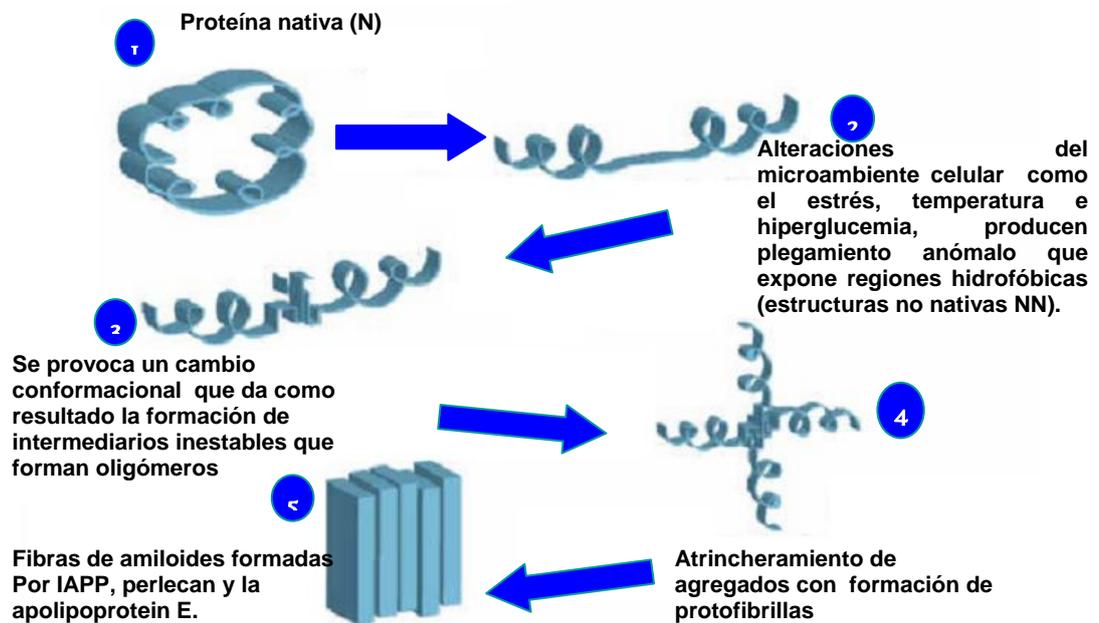


Figura 9 (modificada de Hayden y col. ⁸⁹). Propuesta del mecanismo fisiopatológico de la formación de amiloide en el páncreas.

La respuesta a las proteínas mal plegadas y el IAPP

Las células eucarióticas tienen un sistema de control de los mecanismos de plegamiento de las proteínas y para modular la capacidad del retículo endoplásmico (RE) en el proceso. Cuando las proteínas mal plegadas se acumulan se activa la respuesta celular conocida como respuesta a las proteínas mal plegadas (UPR unfolding protein response). La UPR aumenta la transcripción de un grupo de genes, reduce la cantidad de nuevas proteínas que son translocadas dentro del RE,

incrementa la degradación de las proteínas mal plegadas y optimiza el plegamiento correcto de las proteínas (Fig. 9).[22]

La UPR activa a la proteína kinasa Ser/Thr (IRE1 α) que es el sensor inicial, que a su vez induce la activación de un factor de transcripción llamado ATF6. La UPR también altera los patrones celulares de translación e induce la activación de la kinasa pancreática ER llamada PERK. Fig. 9.

La activación prolongada de la UPR desencadena apoptosis como se observa en la Fig. 9.[79]. En modelos animales cuando se sobre-expresa IAPP β y en condiciones de resistencia a la insulina, se satura el RE y se acumulan las proteínas lo cual incrementa la posibilidad de agregación y plegamiento anómalo especialmente de IAPP β . Los agregados moleculares desencadenan el estrés del RE a través de CHOP que induce al receptor DR5. La disminución de calcio disminuye la eficiencia de la maquinaria del plegamiento de las proteínas lo que da como resultado proteínas mal plegadas.

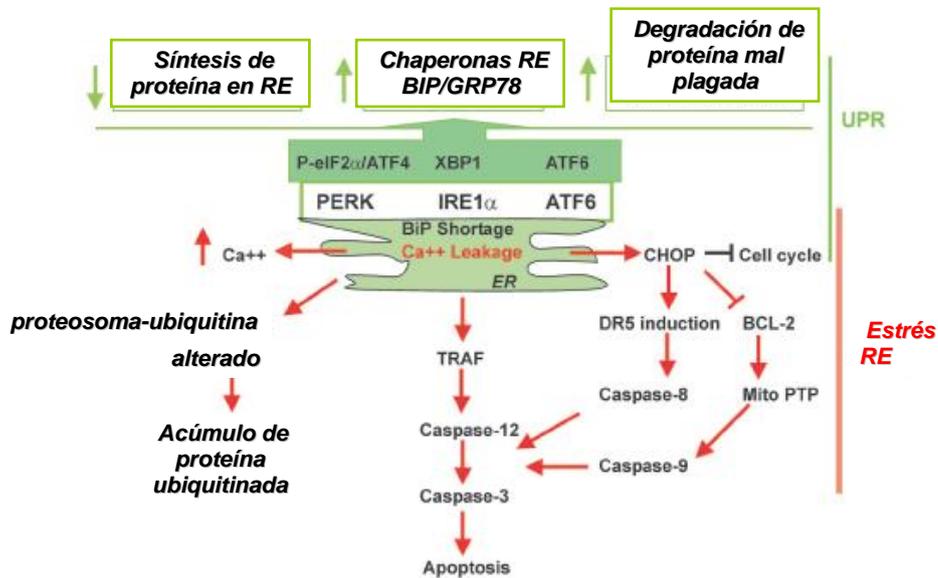


Fig. 10. Mecanismo molecular del efecto del IAPP β al inducir estrés del RE y apoptosis de la célula β propuesto por Haataja y col[79].

TRATAMIENTO FUTURO

Actualmente a pesar de los avances en el manejo de la Diabetes Mellitus sigue siendo una enfermedad incurable. La función de la célula Beta en pacientes con Diabetes mellitus tipo 2, continua deteriorándose independientemente del tratamiento por lo que es necesario nuevos tratamientos a futuro.

Desde el descubrimiento del islote polipéptido amiloide se sabe que existe una relación con la producción de insulina. Cualquier terapia antidiabética que reduce la demanda de insulina también reduce la producción del Polipéptido amiloide del islote (IAPP). Los fármacos que estimulan la producción de insulina de las células Beta se dice que estimulan la secreción del islote polipéptido amiloide promoviendo.

Además del tratamiento para reducir la producción y secreción del IAPP y así reduciendo el abastecimiento de la proteína específica formadora de amiloide, la terapia antiamiloidogénica puede involucrar tratamientos para deteriorar el proceso de formación de fibra. Muchas sustancias que están presentes en todas las formas de amiloide, los componentes comunes del amiloide como son los glucosaminoglucanos y la Apolipoproteína E han demostrado que promueven la fibrinogénesis y protegen a las fibras amiloides contra la degradación proteolítica. Por lo tanto al inhibir el abastecimiento o el acoplamiento para desarrollar fibras amiloides de esas sustancias pueden inhibir la amiloidogénesis. Similarmente la formación de fibras puede ser inhibida por péptidos sintéticos que corresponden a una región B-plegada de una proteína amiloidogénica, la cual contiene modificaciones previniendo una agregación y crecimiento de fibras. La eficacia de estos tratamientos para el péptido AB ha sido demostrada en modelos de ratas para amiloidosis. Actualmente se encuentra en estudio una vacuna que actúa sobre el péptido AB, la cual demuestra una probable reducción de amiloidosis en modelos de ratones con Alzheimer. Recientemente esta vacuna ha demostrado que no solamente reduce la amiloidosis sino también mejora la memoria y la función cognitiva. Estos mismos resultados se esperan en pacientes con Diabetes Mellitus para prevenir la amiloidosis en los islotes pancreáticos

DISCUSIÓN

La fisiopatología de la DM2 se transformó notablemente en las dos últimas décadas por el reconocimiento de la centralidad de la falla de la célula β y la disminución de la masa efectiva de células [80-82]. Existen evidencias de la susceptibilidad genética para desarrollar la enfermedad[83]. La célula β responde a la resistencia de insulina incrementando compensatoriamente la secreción de insulina para mantener la homeostasis de la glucosa. La falla de la célula β , para adaptarse a las necesidades de insulina de la célula, causa hiperglicemia que junto con el estrés metabólico producen el desplegamiento anómalo de las proteínas y la formación de fibras amiloides (Fig. 9 y 10). Hay evidencias en las que se demuestra que la falla celular en forma constitutiva o adquirida esta presente antes del debut de la enfermedad[84]

Los depósitos de amiloide es un hallazgo que se encuentra en la patogénesis de la diabetes mellitus tipo 2. En el 90% de las autopsias hay una asociación de estos depósitos de amiloide con pérdida de la masa de células B del páncreas [85]. El estrés oxidativo y la producción incrementada de insulina contribuyen al estrés del retículo endoplásmico, esto produce alteraciones en el plegamiento proteico e inducen la “unfolded protein responses”. Cuando los controles de calidad se sobresaturan ocurren los cambios conformacionales del IAPP generando oligómeros estables de laminas B que de manera eventual se acumulan y depositan en los islotes [86] (Figuras 4 y 9).

La lámina β plegada es la estructura que predomina en aquellas proteínas que sufren una alteración en su plegamiento, esta estructura se mantiene estable en la agregación y oligomerización proteica, lo que explica el atrincheramiento y depósito de agregados proteicos en diversos órganos provocando daño tisular y por ende disfunción orgánica. como es el caso de la enfermedad de Alzheimer y la de los islotes pancreáticos en la DMT2. En esta última el depósito de amiloide ocurre por décadas y está asociada a la disminución progresiva de la secreción de insulina y la destrucción de las células beta del páncreas. Se calcula que menos del 30% de las células se mantienen intactas.

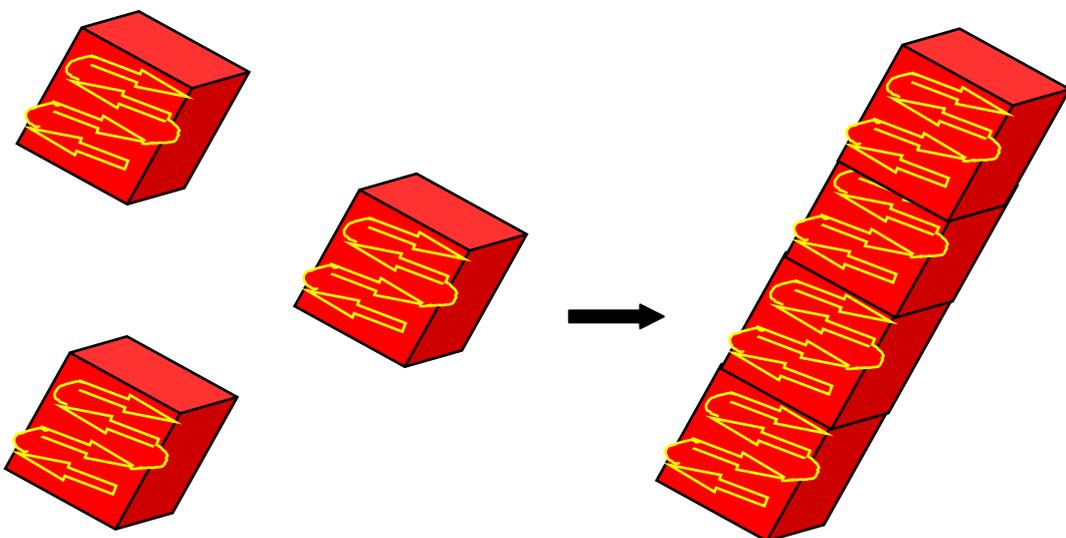


Figura 10. Mecanismo de la formación de fibras a través de las estructuras β -cruzadas

El modelo animal que más se aproxima a lo que sucede en el humano es el Modelo de los primates. Los macacos producen una forma amiloidogénica de IAPP que espontáneamente desarrolla amiloidosis de los islotes con subsecuente aparición de diabetes con la edad. Howard[87] en un elegante estudio longitudinal evaluó la formación de la amiloidosis en el islote por 4 a 10 años en monos *Macaca nigra* a través de biopsias seriadas. Los animales con hiperglucemia y diabéticos desarrollaron amiloidosis en forma más extensa y asociada a pérdida de las células B de los islotes. En estudios en gatos se obtuvieron resultados similares[88]. Estos resultados en perspectiva representan una fuerte evidencia de que los depósitos de amiloide en los islotes es una lesión que ocurre de manera temprana en la patogénesis de la diabetes mellitus tipo II, antes de que aparezca la hiperglicemia como signo clínico. Esta lesión amiloide es progresiva y correlaciona con la disfunción de la célula beta y las alteraciones en la homeostasis de la glucosa y la pérdida de la masa de las células beta.

Un modelo fisiopatológico de la disfunción de las células beta fue propuesto por Kahn[80]. El propone que el deterioro de la célula beta es multifactorial y logarítmico. En su modelo que se muestra en la figura 10, el supone individuos que son genéticamente determinados y en riesgo de desarrollar DM2 y que consumen grasas en abundancia lo cual lleva a la disfunción de la célula beta. La reducción en la función genera disminución de la secreción de insulina e hiperglucemia. Esto también produce la formación de amiloides en el islote y disminución de la masa de células beta que agrava la hiperglucemia.

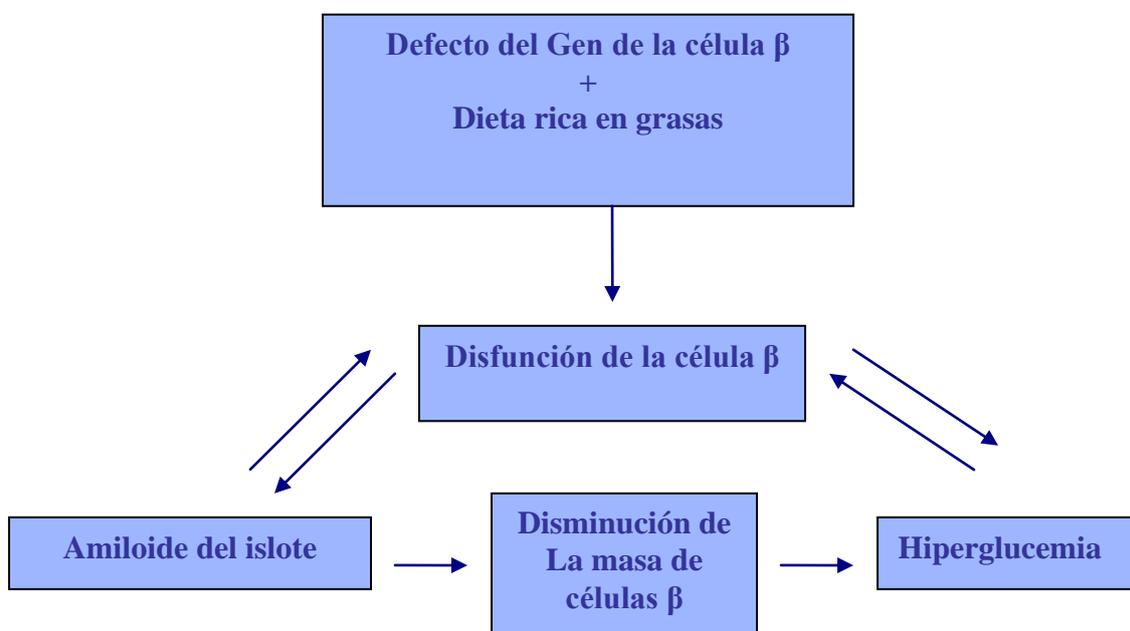


Figura 11. (modificada de Kahn y col.,⁸⁸). Disfunción de la célula β y los factores fisiopatológicos.

Las evidencias experimentales de la relación entre agregación del IAPP y citotoxicidad y apoptosis de las células beta son el punto central para el desarrollo de terapéuticas que impidan o prevengan la formación de amiloide en los islotes. Una posible estrategia es la reducción de la secreción de IAPP por parte de la célula beta para reducir la presencia del precursor de la formación de fibras y su posterior depósito.

El desarrollo de inhibidores de la formación de fibras amiloideas en el islote está en sus primeras fases. Inhibidores tales como moléculas pequeñas tipo rojo congo que se unen a las fibras amiloides han tenido resultados prometedores al inhibir el efecto citotóxico del IAPP.

Un blanco interesante para el desarrollo de inhibidores es la región 20-29 de la secuencia del IAPP humano que es amiloidogénico. Péptidos sintéticos han sido efectivos en disminuir la formación de fibrillas y la citotoxicidad. Los progresos en la investigación proteómica de las enfermedades conformacionales son evidentes y los modelos experimentales diseñados abren grandes expectativas en las estrategias diagnósticas y terapéuticas que permitirán una identificación de los estadios iniciales de la enfermedad antes de que la célula beta empiece a disfuncionar y aparezcan los signos y síntomas de la DM.

Recientemente los esfuerzos para tratar las enfermedades conformacionales se han centrado en la homeostasis proteica celular o proteostasis que involucra el control del plegamiento proteico, la conformación, la concentración, las interacciones intra y extramoleculares de las proteínas individuales del proteoma humano y de la red de macromoléculas[89-91].

La estrategia se basa en considerar que es posible restaurar los errores en el plegamiento (plegamiento anómalo), el tráfico y la función de las proteínas a través de actuar a nivel del sistema natural de la proteostasis celular, usando dos tratamientos, el primero consiste en el empleo de moléculas pequeñas llamadas reguladores de la proteostasis (PRs) y el segundo en emplear chaperonas farmacológicas. Fig. 11 .

El objetivo es manipular las vías de señalización celular entre las que se incluye la respuesta a proteínas mal plegadas (UPR) para que se incremente la transcripción y traslación de chaperonas y foldasas. Al mismo tiempo activar la señalización a través del flujo de Calcio.

Regulador de proteostasis (PR) tratamiento

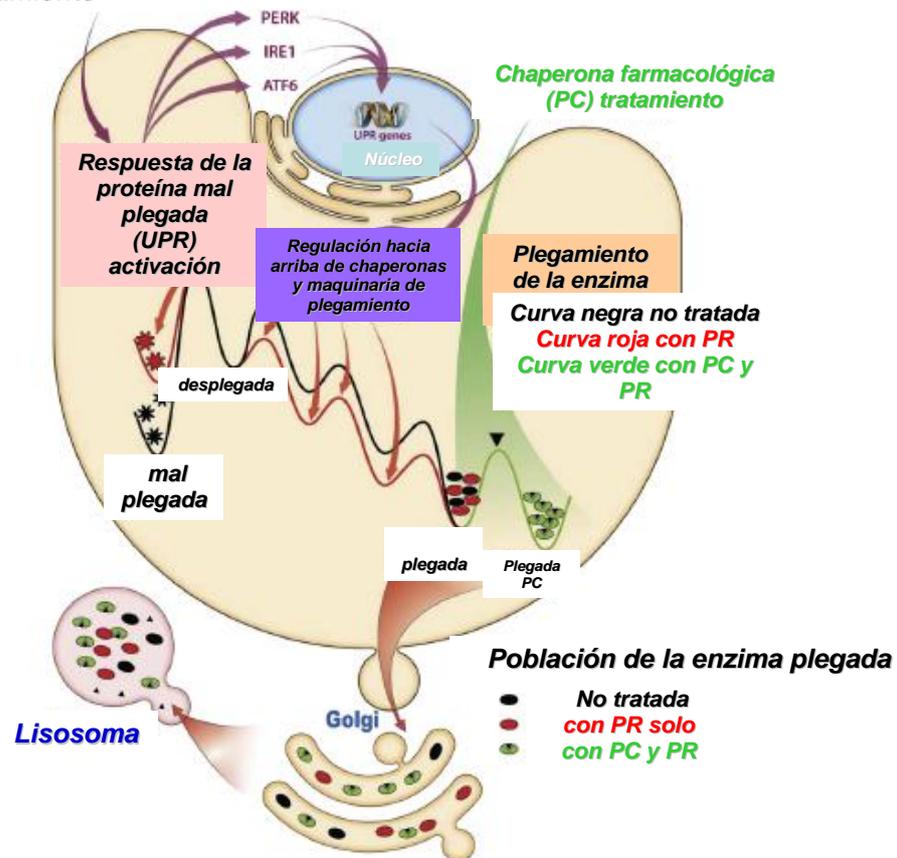


Fig. 12. Modificada de [91] Los reguladores de la proteostasis (PR) activan la respuesta a las proteínas mal plegadas (UPR) para que se active la producción de chaperonas y foldasas, para que promuevan el plegamiento correcto de las proteínas. Las chaperonas farmacológicas (PC) se unen a las proteínas plegadas y las estabilizan. En conjunto los PR y las PC trabajan de manera sinérgica para disminuir la cantidad de proteínas mal plegadas.

En la actualidad existen tratamientos efectivos para disminuir la glucosa en sangre, sin embargo no se ha avanzado en prevenir la pérdida de masa de las células beta. El reto es desarrollar tratamientos que protejan la función de la célula beta, esto significaría estar en condiciones de prevenir, evitar y retrasar al máximo las complicaciones de la diabetes mellitus y generar una nueva era en la endocrinología molecular.

CONCLUSIONES

El polipéptido amiloide del islote (IAPP) al igual que la insulina se produce en las células beta de los islotes pancreáticos. La producción es co-regulada, lo que implica que cuando existe resistencia a la insulina, se eleva la secreción de insulina al igual que la secreción de IAPP. El aumento en la secreción de IAPP produce la formación de amiloide en el islote, a través de agregación y formación de fibrillas, estudios *in Vitro* e *in vivo* demuestran que los agregados solubles son citotóxicos y provocan apoptosis que da como resultado la falla de la célula beta y su posterior pérdida de masa.

IAPP y el amiloide del islote son blancos atractivos para el desarrollo de nuevas terapias anti-diabéticas.

BIBLIOGRAFIA

- [1] S.Fields, Proteomics. Proteomics in genomeland, *Science* 291 (2001) 1221-1224.
- [2] L.Peltonen and V.A.McKusick, Genomics and medicine. Dissecting human disease in the postgenomic era, *Science* 291 (2001) 1224-1229.
- [3] J.J.Yerbury, E.M.Stewart, A.R.Wyatt, and M.R.Wilson, Quality control of protein folding in extracellular space, *EMBO Rep.* 6 (2005) 1131-1136.
- [4] K.M.Gillespie, Type 1 diabetes: pathogenesis and prevention, *CMAJ.* 175 (2006) 165-170.
- [5] E.A.Gale, The rise of childhood type 1 diabetes in the 20th century, *Diabetes* 51 (2002) 3353-3361.
- [6] Diabetes control and complications trial research group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *New England Journal Medicine* 329, 977-986. 1993.
Ref Type: Journal (Full)
- [7] R.O.Aude, I.M.Libman, B.N.Altamirano, V.C.Robles, and R.E.LaPorte, Low incidence of IDDM in children of Veracruz-Boca del Rio, Veracruz. Results of the first validated IDDM registry in Mexico, *Diabetes Care* 21 (1998) 1372-1373.
- [8] M.Karvonen, M.Viik-Kajander, E.Moltchanova, I.Libman, R.LaPorte, and J.Tuomilehto, Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group, *Diabetes Care* 23 (2000) 1516-1526.
- [9] E.Villarreal-Rios, A.M.Salinas-Martinez, A.Medina-Jauregui, M.E.Garza-Elizondo, G.Nunez-Rocha, and E.R.Chuy-Diaz, The cost of diabetes mellitus and its impact on health spending in Mexico, *Arch.Med.Res.* 31 (2000) 511-514.
- [10] L.Carulli, S.Rondinella, S.Lombardini, I.Canedi, P.Loria, and N.Carulli, Review article: diabetes, genetics and ethnicity, *Aliment.Pharmacol.Ther.* 22 Suppl 2 (2005) 16-19.
- [11] A.R.Villa, M.H.Escobedo, and N.Mendez-Sanchez, [Estimates and trends of obesity prevalence through mortality rates associated of chronic diseases in Mexico], *Gac.Med.Mex.* 140 Suppl 2 (2004) S21-S25.
- [12] S.Colagiuri, K.Borch-Johnsen, C.Glumer, and D.Vistisen, There really is an epidemic of type 2 diabetes, *Diabetologia* 48 (2005) 1459-1463.
- [13] M.Phillips and J.Salmeron, Diabetes in Mexico--a serious and growing problem, *World Health Stat.Q.* 45 (1992) 338-346.

- [14] P.Onkamo, S.Vaananen, M.Karvonen, and J.Tuomilehto, Worldwide increase in incidence of Type I diabetes--the analysis of the data on published incidence trends, *Diabetologia* 42 (1999) 1395-1403.
- [15] V.Raman, F.Campbell, P.Holland, T.Chapman, T.Dabbs, H.J.Bodansky, and D.P.O'Neill, Retinopathy screening in children and adolescents with diabetes, *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 958 (2002) 387-389.
- [16] A.Arredondo and A.Zuniga, Economic consequences of epidemiological changes in diabetes in middle-income countries: the Mexican case, *Diabetes Care* 27 (2004) 104-109.
- [17] K.G.Dawson, D.Gomes, H.Gerstein, J.F.Blanchard, and K.H.Kahler, The economic cost of diabetes in Canada, 1998, *Diabetes Care* 25 (2002) 1303-1307.
- [18] D.J.Weatherall, Phenotype-genotype relationships in monogenic disease: lessons from the thalassaemias, *Nat.Rev.Genet.* 2 (2001) 245-255.
- [19] C.M.Dobson, Protein folding and misfolding, *Nature* 426 (2003) 884-890.
- [20] R.W.Carrell and D.A.Lomas, Conformational disease, *Lancet* 350 (1997) 134-138.
- [21] E.Phizicky, P.I.Bastiaens, H.Zhu, M.Snyder, and S.Fields, Protein analysis on a proteomic scale, *Nature* 422 (2003) 208-215.
- [22] R.J.Kaufman, Orchestrating the unfolded protein response in health and disease, *J.Clin.Invest* 110 (2002) 1389-1398.
- [23] H.R.Saibil, Chaperone machines in action, *Curr.Opin.Struct.Biol.* 18 (2008) 35-42.
- [24] B.Bukau, J.Weissman, and A.Horwich, Molecular chaperones and protein quality control, *Cell* 125 (2006) 443-451.
- [25] J.C.Young, V.R.Agashe, K.Siegers, and F.U.Hartl, Pathways of chaperone-mediated protein folding in the cytosol, *Nat.Rev.Mol.Cell Biol.* 5 (2004) 781-791.
- [26] A.L.Horwich, W.A.Fenton, E.Chapman, and G.W.Farr, Two families of chaperonin: physiology and mechanism, *Annu.Rev.Cell Dev.Biol.* 23 (2007) 115-145.
- [27] G.W.Farr, K.Furtak, M.B.Rowland, N.A.Ranson, H.R.Saibil, T.Kirchhausen, and A.L.Horwich, Multivalent binding of nonnative substrate proteins by the chaperonin GroEL, *Cell* 100 (2000) 561-573.
- [28] E.Cohen, J.Bieschke, R.M.Perciavalle, J.W.Kelly, and A.Dillin, Opposing activities protect against age-onset proteotoxicity, *Science* 313 (2006) 1604-1610.
- [29] J.J.Yerbury, E.M.Stewart, A.R.Wyatt, and M.R.Wilson, Quality control of protein folding in extracellular space, *EMBO Rep.* 6 (2005) 1131-1136.

- [30] K.Liberek, A.Lewandowska, and S.Zietkiewicz, Chaperones in control of protein disaggregation, *EMBO J.* 27 (2008) 328-335.
- [31] R.W.Carrell and D.A.Lomas, Alpha1-antitrypsin deficiency--a model for conformational diseases, *N.Engl.J.Med.* 346 (2002) 45-53.
- [32] A.L.Goldberg, Protein degradation and protection against misfolded or damaged proteins, *Nature* 426 (2003) 895-899.
- [33] M.F.Perutz, Glutamine repeats and inherited neurodegenerative diseases: molecular aspects, *Curr.Opin.Struct.Biol.* 6 (1996) 848-858.
- [34] F.Rahimi, A.Shanmugam, and G.Bitau, Structure-function relationships of pre-fibrillar protein assemblies in Alzheimer's disease and related disorders, *Curr.Alzheimer Res.* 5 (2008) 319-341.
- [35] M.R.Hayden, S.C.Tyagi, M.M.Kerklo, and M.R.Nicolls, Type 2 diabetes mellitus as a conformational disease, *JOP.* 6 (2005) 287-302.
- [36] A.Kapurniotu, Amyloidogenicity and cytotoxicity of islet amyloid polypeptide, *Biopolymers* 60 (2001) 438-459.
- [37] M.B.Pepys, Pathogenesis, diagnosis and treatment of systemic amyloidosis, *Philos.Trans.R.Soc.Lond B Biol.Sci.* 356 (2001) 203-210.
- [38] C.Soto, Protein misfolding and disease; protein refolding and therapy, *FEBS Lett.* 498 (2001) 204-207.
- [39] R.W.Carrell and D.A.Lomas, Conformational disease, *Lancet* 350 (1997) 134-138.
- [40] A.Clark, G.J.Cooper, C.E.Lewis, J.F.Morris, A.C.Willis, K.B.Reid, and R.C.Turner, Islet amyloid formed from diabetes-associated peptide may be pathogenic in type-2 diabetes, *Lancet* 2 (1987) 231-234.
- [41] J.W.Hoppener, B.Ahren, and C.J.Lips, Islet amyloid and type 2 diabetes mellitus, *N.Engl.J.Med.* 343 (2000) 411-419.
- [42] S.E.Kahn, S.Andrikopoulos, and C.B.Verchere, Islet amyloid: a long-recognized but underappreciated pathological feature of type 2 diabetes, *Diabetes* 48 (1999) 241-253.
- [43] R.L.Hull, G.T.Westermark, P.Westermark, and S.E.Kahn, Islet amyloid: a critical entity in the pathogenesis of type 2 diabetes, *J.Clin.Endocrinol.Metab* 89 (2004) 3629-3643.
- [44] M.Bucciantini, G.Calloni, F.Chiti, L.Formigli, D.Nosi, C.M.Dobson, and M.Stefani, Prefibrillar amyloid protein aggregates share common features of cytotoxicity, *J.Biol.Chem.* 279 (2004) 31374-31382.
- [45] R.Kayed, E.Head, J.L.Thompson, T.M.McIntire, S.C.Milton, C.W.Cotman, and C.G.Glabe, Common structure of soluble amyloid oligomers implies common mechanism of pathogenesis, *Science* 300 (2003) 486-489.

- [46] J.W.Hoppener and C.J.Lips, Role of islet amyloid in type 2 diabetes mellitus, *Int.J.Biochem.Cell Biol.* 38 (2006) 726-736.
- [47] J.Janson, R.H.Ashley, D.Harrison, S.McIntyre, and P.C.Butler, The mechanism of islet amyloid polypeptide toxicity is membrane disruption by intermediate-sized toxic amyloid particles, *Diabetes* 48 (1999) 491-498.
- [48] A.Lorenzo, B.Razzaboni, G.C.Weir, and B.A.Yankner, Pancreatic islet cell toxicity of amylin associated with type-2 diabetes mellitus, *Nature* 368 (1994) 756-760.
- [49] C.J.Rhodes, Type 2 diabetes-a matter of beta-cell life and death?, *Science* 307 (2005) 380-384.
- [50] S.E.Kahn, S.Andrikopoulos, and C.B.Verchere, Islet amyloid: a long-recognized but underappreciated pathological feature of type 2 diabetes, *Diabetes* 48 (1999) 241-253.
- [51] A.Clark and M.R.Nilsson, Islet amyloid: a complication of islet dysfunction or an aetiological factor in Type 2 diabetes?, *Diabetologia* 47 (2004) 157-169.
- [52] S.E.Kahn, S.Andrikopoulos, and C.B.Verchere, Islet amyloid: a long-recognized but underappreciated pathological feature of type 2 diabetes, *Diabetes* 48 (1999) 241-253.
- [53] T.Sanke, G.I.Bell, C.Sample, A.H.Rubenstein, and D.F.Steiner, An islet amyloid peptide is derived from an 89-amino acid precursor by proteolytic processing, *J.Biol.Chem.* 263 (1988) 17243-17246.
- [54] J.W.Hoppener, B.Ahren, and C.J.Lips, Islet amyloid and type 2 diabetes mellitus, *N.Engl.J.Med.* 343 (2000) 411-419.
- [55] H.Ohsawa, A.Kanatsuka, T.Yamaguchi, H.Makino, and S.Yoshida, Islet amyloid polypeptide inhibits glucose-stimulated insulin secretion from isolated rat pancreatic islets, *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 160 (1989) 961-967.
- [56] U.Arnello, J.Permert, J.Larsson, R.D.Reidelberger, C.Arnello, and T.E.Adrian, Chronic low dose islet amyloid polypeptide infusion reduces food intake, but does not influence glucose metabolism, in unrestrained conscious rats: studies using a novel aortic catheterization technique, *Endocrinology* 138 (1997) 4081-4085.
- [57] J.W.Hoppener, B.Ahren, and C.J.Lips, Islet amyloid and type 2 diabetes mellitus, *N.Engl.J.Med.* 343 (2000) 411-419.
- [58] E.T.Jaikaran and A.Clark, Islet amyloid and type 2 diabetes: from molecular misfolding to islet pathophysiology, *Biochim.Biophys.Acta* 1537 (2001) 179-203.
- [59] S.E.Kahn, S.Andrikopoulos, and C.B.Verchere, Islet amyloid: a long-recognized but underappreciated pathological feature of type 2 diabetes, *Diabetes* 48 (1999) 241-253.

- [60] M.Hoenig, G.Hall, D.Ferguson, K.Jordan, M.Henson, K.Johnson, and T.O'Brien, A feline model of experimentally induced islet amyloidosis, *Am.J.Pathol.* 157 (2000) 2143-2150.
- [61] C.Goldsbury, K.Goldie, J.Pellaud, J.Seelig, P.Frey, S.A.Muller, J.Kistler, G.J.Cooper, and U.Aebi, Amyloid fibril formation from full-length and fragments of amylin, *J.Struct.Biol.* 130 (2000) 352-362.
- [62] P.Westermark, U.Engstrom, K.H.Johnson, G.T.Westermark, and C.Betsholtz, Islet amyloid polypeptide: pinpointing amino acid residues linked to amyloid fibril formation, *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 87 (1990) 5036-5040.
- [63] E.T.Jaikaran and A.Clark, Islet amyloid and type 2 diabetes: from molecular misfolding to islet pathophysiology, *Biochim.Biophys.Acta* 1537 (2001) 179-203.
- [64] E.T.Jaikaran, C.E.Higham, L.C.Serpell, J.Zurdo, M.Gross, A.Clark, and P.E.Fraser, Identification of a novel human islet amyloid polypeptide beta-sheet domain and factors influencing fibrillogenesis, *J.Mol.Biol.* 308 (2001) 515-525.
- [65] G.G.Tartaglia, A.P.Pawar, S.Campioni, C.M.Dobson, F.Chiti, and M.Vendruscolo, Prediction of aggregation-prone regions in structured proteins, *J.Mol.Biol.* 380 (2008) 425-436.
- [66] M.Hoenig, G.Hall, D.Ferguson, K.Jordan, M.Henson, K.Johnson, and T.O'Brien, A feline model of experimentally induced islet amyloidosis, *Am.J.Pathol.* 157 (2000) 2143-2150.
- [67] C.Goldsbury, K.Goldie, J.Pellaud, J.Seelig, P.Frey, S.A.Muller, J.Kistler, G.J.Cooper, and U.Aebi, Amyloid fibril formation from full-length and fragments of amylin, *J.Struct.Biol.* 130 (2000) 352-362.
- [68] P.Westermark, U.Engstrom, K.H.Johnson, G.T.Westermark, and C.Betsholtz, Islet amyloid polypeptide: pinpointing amino acid residues linked to amyloid fibril formation, *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 87 (1990) 5036-5040.
- [69] M.F.Sciacca, M.Pappalardo, D.Milardi, D.M.Grasso, and R.C.La, Calcium-activated membrane interaction of the islet amyloid polypeptide: implications in the pathogenesis of type II diabetes mellitus, *Arch.Biochem.Biophys.* 477 (2008) 291-298.
- [70] S.Gebre-Medhin, C.Olofsson, and H.Mulder, Islet amyloid polypeptide in the islets of Langerhans: friend or foe?, *Diabetologia* 43 (2000) 687-695.
- [71] J.W.Hoppener, J.S.Verbeek, E.J.de Koning, C.Oosterwijk, K.L.van Hulst, H.J.Visser-Vernooy, F.M.Hofhuis, G.S.van, M.J.Berends, W.H.Hackeng, and ., Chronic overproduction of islet amyloid polypeptide/amylin in transgenic mice: lysosomal localization of human islet amyloid polypeptide and lack of marked hyperglycaemia or hyperinsulinaemia, *Diabetologia* 36 (1993) 1258-1265.

- [72] A.V.Matveyenko and P.C.Butler, Islet amyloid polypeptide (IAPP) transgenic rodents as models for type 2 diabetes, *ILAR.J.* 47 (2006) 225-233.
- [73] A.V.Matveyenko and P.C.Butler, Beta-cell deficit due to increased apoptosis in the human islet amyloid polypeptide transgenic (HIP) rat recapitulates the metabolic defects present in type 2 diabetes, *Diabetes* 55 (2006) 2106-2114.
- [74] M.Couce, L.A.Kane, T.D.O'Brien, J.Charlesworth, W.Soeller, J.McNeish, D.Kreutter, P.Roche, and P.C.Butler, Treatment with growth hormone and dexamethasone in mice transgenic for human islet amyloid polypeptide causes islet amyloidosis and beta-cell dysfunction, *Diabetes* 45 (1996) 1094-1101.
- [75] J.Janson, W.C.Soeller, P.C.Roche, R.T.Nelson, A.J.Torchia, D.K.Kreutter, and P.C.Butler, Spontaneous diabetes mellitus in transgenic mice expressing human islet amyloid polypeptide, *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 93 (1996) 7283-7288.
- [76] A.E.Butler, J.Jang, T.Gurlo, M.D.Carty, W.C.Soeller, and P.C.Butler, Diabetes due to a progressive defect in beta-cell mass in rats transgenic for human islet amyloid polypeptide (HIP Rat): a new model for type 2 diabetes, *Diabetes* 53 (2004) 1509-1516.
- [77] R.A.Ritzel and P.C.Butler, Replication increases beta-cell vulnerability to human islet amyloid polypeptide-induced apoptosis, *Diabetes* 52 (2003) 1701-1708.
- [78] A.E.Butler, J.Janson, W.C.Soeller, and P.C.Butler, Increased beta-cell apoptosis prevents adaptive increase in beta-cell mass in mouse model of type 2 diabetes: evidence for role of islet amyloid formation rather than direct action of amyloid, *Diabetes* 52 (2003) 2304-2314.
- [79] L.Haataja, T.Gurlo, C.J.Huang, and P.C.Butler, Islet amyloid in type 2 diabetes, and the toxic oligomer hypothesis, *Endocr.Rev.* 29 (2008) 303-316.
- [80] S.E.Kahn, Clinical review 135: The importance of beta-cell failure in the development and progression of type 2 diabetes, *J.Clin.Endocrinol.Metab* 86 (2001) 4047-4058.
- [81] D.Porter, Jr., Banting lecture 1990. Beta-cells in type II diabetes mellitus, *Diabetes* 40 (1991) 166-180.
- [82] M.Salehi, B.A.Aulinger, and D.A.D'Alessio, Targeting beta-cell mass in type 2 diabetes: promise and limitations of new drugs based on incretins, *Endocr.Rev.* 29 (2008) 367-379.
- [83] R.Sladek, G.Rochelleau, J.Rung, C.Dina, L.Shen, D.Serre, P.Boutin, D.Vincent, A.Belisle, S.Hadjadj, B.Balkau, B.Heude, G.Charpentier, T.J.Hudson, A.Montpetit, A.V.Pshezhetsky, M.Prentki, B.I.Posner, D.J.Balding, D.Meyre, C.Polychronakos, and P.Froguel, A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes, *Nature* 445 (2007) 881-885.

- [84] E.Ferrannini, A.Gastaldelli, Y.Miyazaki, M.Matsuda, A.Mari, and R.A.Defronzo, beta-Cell function in subjects spanning the range from normal glucose tolerance to overt diabetes: a new analysis, *J.Clin.Endocrinol.Metab* 90 (2005) 493-500.
- [85] K.E.Wellen and G.S.Hotamisligil, Inflammation, stress, and diabetes, *J.Clin.Invest* 115 (2005) 1111-1119.
- [86] P.J.Muchowski, Protein misfolding, amyloid formation, and neurodegeneration: a critical role for molecular chaperones?, *Neuron* 35 (2002) 9-12.
- [87] C.F.Howard, Jr., Longitudinal studies on the development of diabetes in individual *Macaca nigra*, *Diabetologia* 29 (1986) 301-306.
- [88] Z.Ma, G.T.Westermark, K.H.Johnson, T.D.O'Brien, and P.Westermark, Quantitative immunohistochemical analysis of islet amyloid polypeptide (IAPP) in normal, impaired glucose tolerant, and diabetic cats, *Amyloid*. 5 (1998) 255-261.
- [89] V.Albanese, A.Y.Yam, J.Baughman, C.Parnot, and J.Frydman, Systems analyses reveal two chaperone networks with distinct functions in eukaryotic cells, *Cell* 124 (2006) 75-88.
- [90] W.E.Balch, R.I.Morimoto, A.Dillin, and J.W.Kelly, Adapting proteostasis for disease intervention, *Science* 319 (2008) 916-919.
- [91] T.W.Mu, D.S.Ong, Y.J.Wang, W.E.Balch, J.R.Yates, III, L.Segatori, and J.W.Kelly, Chemical and biological approaches synergize to ameliorate protein-folding diseases, *Cell* 134 (2008) 769-781.