



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

MECANISMOS DE TRANSDUCCIÓN Y ACCIÓN DE LOS
PRIONES EN EL DESARROLLO DEL CÁNCER

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

KARLA KARÍNA DÍAZ HUERTA

TUTOR: Esp. LILA ARELI DOMÍNGUEZ SANDOVAL

ASESORES: Dra. SILVIA MALDONADO FRÍAS

MÉXICO, D.F.

2013



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.



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.



ÍNDICE

■ OBJETIVO	Pág.3
■ INTRODUCCIÓN	Pág.3

CAPÍTULO 1 PRIONES.

■ 1.1 Antecedentes	Pág.5
■ 1.2 Incidencia	Pág.8
■ 1.3 Definición de priones	Pág.11
■ 1.4 Morfología estructural de la PrP	Pág.17
■ 1.5 Alteraciones de la proteína PrP	Pág.19
■ 1.5.1 formas patologías del prión	Pág.23
■ 1.6 Estructura y expresión del gen PRNP	Pág.26
■ 1.6.1 localización y expresión de la PrP	Pág.26
■ 1.7 Replicación de los priones y la propagación	Pág.30

CAPÍTULO 2 MECANISMOS DE TRANSDUCCIÓN ACTIVADOS POR PRIONES.

■ 2.1 Migración celular	Pág.33
-------------------------------	--------

CAPÍTULO 3 PRIONES Y CÁNCER.

■ 3.1 Carcinoma de células escamosas	Pág.49
--	--------

CAPÍTULO 4 PROPUESTA.

■ 4.1 Probables usos (diana terapéutica)	Pág.53
--	--------

CONCLUSIÓN	Pág.54
-------------------------	--------

GLOSARIO	Pág.56
-----------------------	--------

KKDH.



OBJETIVOS.

El objetivo de este trabajo es explicar la conformación de los priones y el mecanismo que lleva a cabo en la carcinogénesis.

INTRODUCCIÓN.

Los priones son proteínas que existen en más de un estado conformacional, es decir, pueden adoptar distintas formas por lo cual, son excepciones a la teoría clásica del plegamiento de las proteínas que afirma que la secuencia de aminoácidos determina un único plegamiento, es decir, su conformación o estructura. Además, los priones llevan información en dicha conformación, de manera análoga a los genes. Cada estructura tiene una información distinta que es heredable. Se comportan no solo como agentes infecciosos sino también como genes. Pueden transmitir, replicar y expresar alguna información que se expresa como fenotipo.

La proteína priónica humana (PrP) se sabe que causa enfermedades neurodegenerativas como encefalopatía espongiforme bovina (EEB) o enfermedad de las vacas locas, la caquexia crónica, la encefalopatía transmisible de visón y algunas de las enfermedades neurodegenerativas humanas como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ), el síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS), el insomnio letal familiar (FI), el Kuru y no solamente esas enfermedades, los agregados protéicos en forma de placas amiloides causan enfermedades neurodegenerativas de evolución lenta en humanos como la enfermedad de Huntington, Parkinson y Alzheimer.

Todas estas enfermedades se caracterizan por largos períodos de incubación, cambios espongiformes característicos en el tejido cerebral asociada con la pérdida neuronal y la incapacidad para inducir respuestas inflamatorias.

KKDH.



Recientemente se ha reportado que esta proteína priónica está implicada en múltiples tipos de cáncer, estos hallazgos demuestran su relación con esta enfermedad.

La expresión de PrP en las células cancerosas contribuye a la progresión del cáncer y la resistencia a diversas terapias.

En el presente trabajo se hará una revisión sobre diversos aspectos de la biología de priones, haciendo hincapié en lo que actualmente se conoce acerca del prion y su íntima relación con el cáncer.

La mayoría de los estudios se han centrado en el papel de la proteína priónica celular (PrP), en las enfermedades neurodegenerativas, mientras que la función de esta proteína ubicua fuera del sistema nervioso sigue siendo poco clara. Por lo tanto, el papel que desempeña PrP en el proceso de apoptosis ha sido de reciente interés en el estudio del carcinoma bucal de células escamosas.

Las proteínas PrP confiere resistencia contra el estrés oxidativo, apoptosis, esto indican que la inhibición de la glicosilación en cáncer de células que sobre expresan la PrP podría representar una diana terapéutica potencial.

Este trabajo permite destacar el papel del prion en la carcinogénesis y cómo podrían en el futuro ser considerados como marcadores diagnósticos además de sus posibles tratamientos.

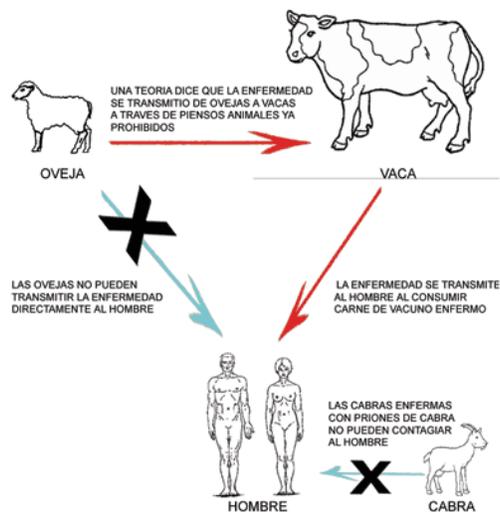
KKDH.

CAPÍTULO I. PRIONES.

1.1 ANTECEDENTES.

A mediados del siglo XVIII, se manifestaron las primeras referencias de enfermedades espongiiformes transmisibles, cuando ganaderos europeos describieron una enfermedad neurodegenerativa letal que afectaba a ovejas y cabras, la cual fue denominada “tembladera” (en inglés scrapie).

El cerebro de estos animales presentaba un aspecto de "esponja", del cual deriva el término "espongiiforme". A principios del siglo XX, se detallaron los primeros casos de encefalopatía espongiiforme en humanos, padecimiento que fue bautizado como enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Posteriormente, se demostró que estas enfermedades eran transmisibles (Fig. 1).



(Fig. 1) **MANERA DE CONTAGIO.**EUROPA VUELVE A PERMITIR LAS HARINAS ANIMALES QUE ORIGINARON LA ENFERMEDAD DE LAS VACAS LOCAS ROSARIO, Provincia de Santa Fe, Argentina MARTES, 19 DE FEBRERO DE 2013.

KKDH.

El descubrimiento del agente patógeno fue atribuido a Stanley Prusiner en 1982, quien demostró que se trataba de partículas puramente proteicas, libres de ácidos nucleicos y designó al agente infeccioso con el nombre de príon. Gracias a este descubrimiento le fue otorgado el Premio Nobel de Fisiología y Medicina, en 1997 (Fig. 2).



(Fig. 2) **STANLEY B. PRUSINER**. Researchers Homing In On Mechanisms Of Encephalopathic Diseases. By Karen Young Kreeger | June 10, 1996, <http://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/17950/title/Researchers-Homing-In-On-Mechanisms-Of-Encephalopathic-Diseases>.

Aunque la naturaleza del agente infeccioso aún era una incógnita, Prusiner sometió los priones a distintos tratamientos con el fin de alterar las proteínas, de modo tal de perturbar su capacidad infecciosa. Observó que perdían infectividad una vez tratados con fenol (agente desnaturizante de proteínas), aunque eran resistentes a algunos de los procesos de degradación proteica, en particular, al tratamiento con proteasas. Sin embargo, si los sometía a la acción de enzimas que atacaban a los ácidos nucleicos (ADN y ARN nucleasas), radiación UV o a la modificación con hidroxilamina, las partículas no perdían infectar.

KKDH.



Estos estudios llevaron a concluir que los priones eran partículas patógenas de naturaleza proteica y sin asociación a ácidos nucleicos (Prusiner, 1982)¹.

¹La Proteína Prión Humana: Del Paradigma Conformacional Al Desarrollo De Patologías Neurodegenerativas, Cátedra de Bioquímica de Macromoléculas, Licenciatura en Biotecnología, Departamento de Ciencia y Tecnología Profesor titular: Dr. Mario R. Ermácora. Profesor instructor: Dr. Javier Santos. Julio del 2008. Autores: María Belén Sabaini y Lucas Andrés Dettorre.

KKDH.



1.2 INCIDENCIA.

El **Kuru**, la primera infección lenta del SNC fue descrita en 1957, en lenguaje nativo significa temblor. Se han descrito unos 2,600 casos desde 1957. La enfermedad se ha asociado a prácticas rituales relacionadas con la muerte de la cabeza de la familia (el papá), en las cuales la esposa y los hijos ingerían el cerebro del difunto. Por lo tanto, las mujeres y los niños han sido los más afectados. La enfermedad se caracterizaba por incoordinación, ataxia que progresaba a demencia. La muerte ocurría en el lapso de 3 meses a 1 año. Hace más de 30 años que no se han reportado nuevos casos.

La enfermedad de **Gerstmann-Straussler-Scheinken (GSS)**, fue descrita en los años 20 en la familia Backer. Es una enfermedad hereditaria de forma autosómica dominante y depende de una mutación genética del gen de la proteína priónica (PrP). Desde entonces se ha reportado alrededor de 50 familias afectadas. La incidencia estimada de la enfermedad es de 5 x 10⁸. La edad media de presentación es de 45 años de edad (rango de 24 a 66 años). El cuadro clínico se caracteriza fundamentalmente por incoordinación que a menudo se desarrolla en franca ataxia. La muerte ocurre de 2 a 6 años luego de manifestada la enfermedad.

El **Insomnio Fatal Familiar (IFF)**, es la más reciente, ha sido descrita en Italia por Lugaresi en 1986. Se le conoce también como demencia talámica por las características clínicas que presenta. La enfermedad se transmite con un patrón autosómico dominante. Los rangos van de los 35 a los 61 años.

La enfermedad se caracteriza por insomnio, disautonomía, y por alteraciones motoras, del estado mental y hormonales. Como se desprende de lo anterior el IFF ataca preferentemente a los núcleos anteriores y KKDH.



mediodorsal del tálamo. La muerte suele ocurrir al 1 año (rango de 5 a 25 meses).

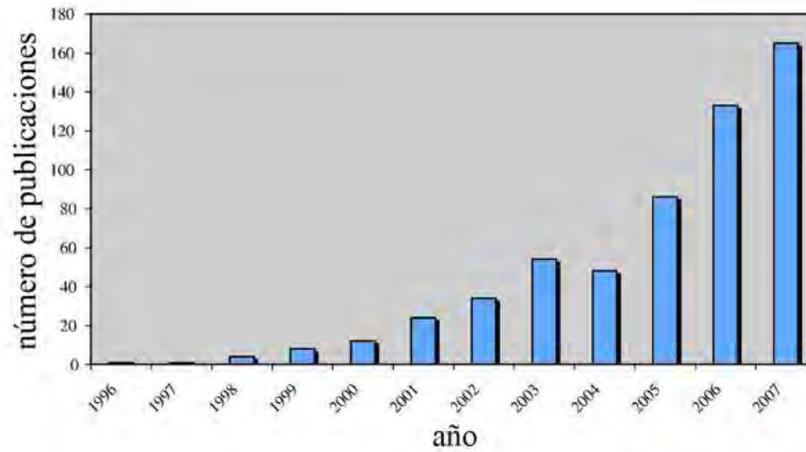
La Enfermedad de **Creutzfeldt-Jakob (CJD)**, tiene una distribución cosmopolita e incluye alrededor del 80 - 85 % de todos los casos de CJD. La edad media de los pacientes afectados está entre los 60 a 69 años de edad. La enfermedad de CJD tiene tres variedades que ejemplifican uno de los rasgos sobresalientes de la enfermedad: el hecho de que la enfermedad se pueda transmitir como cualquier otro agentes infeccioso, y por otro lado como una enfermedad genética: (I) la forma esporádica, con una incidencia de 1 / 1 000 000; (II) la forma hereditaria, que involucra alrededor del 10 al 15 % de todos los casos de CJD, se transmite de forma autosómica dominante, y de la que se han descrito cerca de 100 familias afectadas; y (III) la forma yatrogénica, con cerca de 80 casos identificados. Además, la enfermedad es más prevalente en algunas etnias particulares como en judíos de Libia, Eslovaquia y de otros lugares.

La enfermedad se presenta principalmente como demencia que progresa a incoordinación y mioclonus. La muerte suele presentarse un 1 año después del diagnóstico (rango de 1 mes a más de 10 años)².

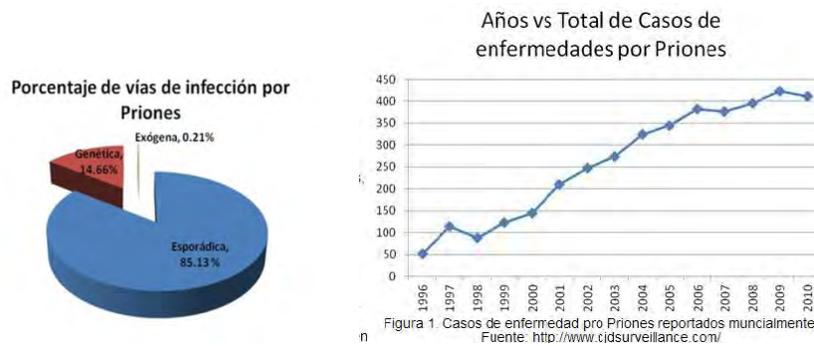
Las enfermedades prionicas con forme a sus diversas manifestaciones he tenido una incidencia mundial (Fig. 3 y 4).

(2) Enfermedades Inducidas por Priones, Mario P. Cornejo Giraldo, Médico Infectólogo, Hospital Nacional del Sur del Arequipa (HNSA) - IPSS. Facultad de Medicina / Universidad Católica Santa María, 10 de junio 1997, <http://www.ucsm.edu.pe/ciemucsm/pages/prion.htm>.

KKDH.



(Fig. 3). **INCIDENCIA DE PROTEÍNAS DESORDENADAS EN SU ESTRUCTURA Aumento del interés en proteínas desordenadas desde 1996 reflejado en el número de publicaciones científicas.**, Agentes en Biotecnología y salud Proteínas Desordenadas y su incidencia en la salud: una contribución clave de la bioinformática, Eva de Alba, Centro de Investigaciones Biológicas. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid.



(Fig. 4) **PRIONES: ORIGEN DE ENFERMEDADES Y PARADIGMA DE LA VIDAMEDISAN**, Versión ISSN 1029-3019 MEDISAN v.13 n.4 Santiago de Cuba jul.-ago. 2009 Enfermedades priónicas Prion diseases Tamara Rubio González y Manuel Verdecia Jarque.

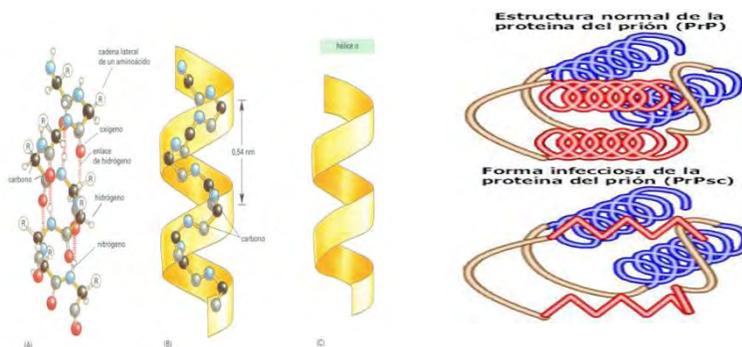
KKDH.

Se han descrito diversos cambios genéticos en la PrP de la sustancia amiloide fibrilar (SAF) que condicionarían este cambio conformacional³.

1.3 DEFINICIÓN DE PRIÓN.

Un prión es una proteína patógena que tiene alterada su estructura terciaria, teniendo un incorrecto plegamiento. A diferencia del resto de los agentes infecciosos (virus, bacterias, hongos, etc.) que contienen ácidos nucleicos (ADN, ARN o ambos), esta sólo se constituye por aminoácidos.

La definición científica dice que un prión es la forma alterada de una proteína celular funcional (PrP en mamíferos), que ha perdido su función normal, pero que ha adquirido la capacidad de transformar la forma normal en patológica⁴ (Fig. 5).



(Fig. 5) **DIFERENCIA ENTRE PROTEÍNA NO PATÓGENA Y PATÓGENA.** (Interaction of metals with prion protein: Possible role of divalent cations in the pathogenesis of prion diseases Christopher J. Choi, Arthi Kanthasamy, Vellareddy Anantharam, Anumantha G. Kanthasamy Corresponding author contact information, E-mail the corresponding author Parkinson's Disorder Research Laboratory, Iowa Center for Advanced Neurotoxicology, Department of Biomedical Sciences, Iowa State University, 2062 Veterinary Medicine Building, Ames, IA 50011-1250, USA

(3) Enfermedades Inducidas por Priones Mario P. Cornejo Giraldo Médico Infectólogo Hospital Nacional del Sur del Arequipa (HNSA) - IPSS. Facultad de Medicina / Universidad Católica Santa María 10 de junio 1997. <http://www.ucsm.edu.pe/ciemucsm/pages/prion.htm>.

(4) Revista QuímicaViva, Volumen 1, Número 1, diciembre 2002 quimicaviva@qb.fcen.uba.ar ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar. Luis Scolaro Jefe de Trabajos Prácticos - Laboratorio de Virología - Departamento de Química Biológica FCEyN - UBA.

KKDH.



Propiedades Físicas y Químicas

- Filtrable con poros 25 nm o 100 nm.
- Es invisibles al microscopio óptico y electrónico.

Resistente:

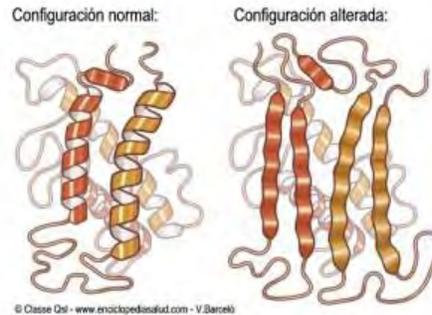
- Formaldehido.
- EDTA.
- Proteasas (Tripsina, pepsina), aunque reducen la infectividad.
- Nucleasas (ribonucleasas A y III, desoxiribonucleasa I).
- Calor (80°C).
- Radiación ultravioleta (2540 Å).
- Radiación ionizante.

Propiedades biológicas

- No inducen respuesta inmune en el hospedador infectad.
- Largo periodo de incubación (meses, años, décadas).
- Patología crónica progresiva.
- Fatal en todos los casos.
- Carecen de cuerpos de inclusión.
- Pueden existir en múltiples formas moleculares.
- Periodo de adaptación a nuevos hospedadores.
- Control genético de la susceptibilidad de algunas especies.
- Existencia de distintas cepas⁵.

(5)Las enfermedades Prion o Encefalopatías Espongiformes Transmisible Autor/es: Carlos Sánchez Huertas. <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-leche/sanidad/articulos/las-enfermedades-prion-encefalopatias-t57/165-p0.htm>.

KKDH.



(Fig. 6) **ISOFORMAS DE LA PROTEÍNA PRP**. <http://www.encyclopediasalud.com/categorias/ecologia-biologia-y-biomedicina/articulos/que-es-un-prion>.

La configuración normal está formada por hélices alfa, mientras que la configuración alterada presenta láminas beta en su estructura.

Recuerda que el dogma central de la biología se constituye en los siguientes pasos; Replicación, Transcripción y Traducción.

La replicación consiste en la copia del ADN de una célula, antes de la división celular, para que la célula hija tenga el mismo ADN que la madre.

La transcripción consiste en convertir la información contenida en el ADN en un formato “legible” para la maquinaria celular de síntesis de proteínas, el ARN.

La traducción es el mecanismo por el que el mensaje que lleva el ARN se utiliza para sintetizar proteínas (Fig. 7).



(Fig.7) **DOGMA CENTRAL DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR**. El dogma original está marcado en azul, y las modificaciones posteriores están en rojo, incluidos los priones., ¿Puede una proteína provocar una enfermedad infecciosa? José García Soriano. Biotecnología Roja, Divulgación 17 abril, 2013.

KKDH.



La proteína prión celular humana (hPrPC o simplemente PrPC) consta de 253 aminoácidos y, mediante secuenciación proteica y espectrofotometría de masas, se ha establecido que la PrPSc también contiene la misma cantidad de aminoácidos idénticos a los que se deduce de la secuencia del gen que codifica para la proteína prión normal⁵.

Ambas isoformas son codificadas por un único gen llamado PRNP, que en el ser humano se localiza en el brazo corto del cromosoma 20. Este gen está presente en mamíferos, aves e incluso en los reptiles. El PrPC y PrPSc poseen un peso molecular aparente de 33-35 kDa en geles de SDS poliacrilamida. Después del tratamiento con proteínasa K (serin hidrolasa de amplio espectro para la digestión general de proteínas en muestras biológicas). PrPSc se acorta a un tamaño de 27-30 kDa, en tanto que PrPC desaparece como consecuencia de la digestión¹.

(5) <http://biotecnoblogos.febiotec.es/>.

(1) La Proteína Prión Humana: Del Paradigma Conformacional Al Desarrollo De Patologías Neurodegenerativas, Cátedra de Bioquímica de Macromoléculas, Licenciatura en Biotecnología, Departamento de Ciencia y Tecnología Profesor titular: Dr. Mario R. Ermácora. Profesor instructor: Dr. Javier Santos. Julio del 2008. Autores: María Belén Sabaini y Lucas Andrés Dettorre.

KKDH.

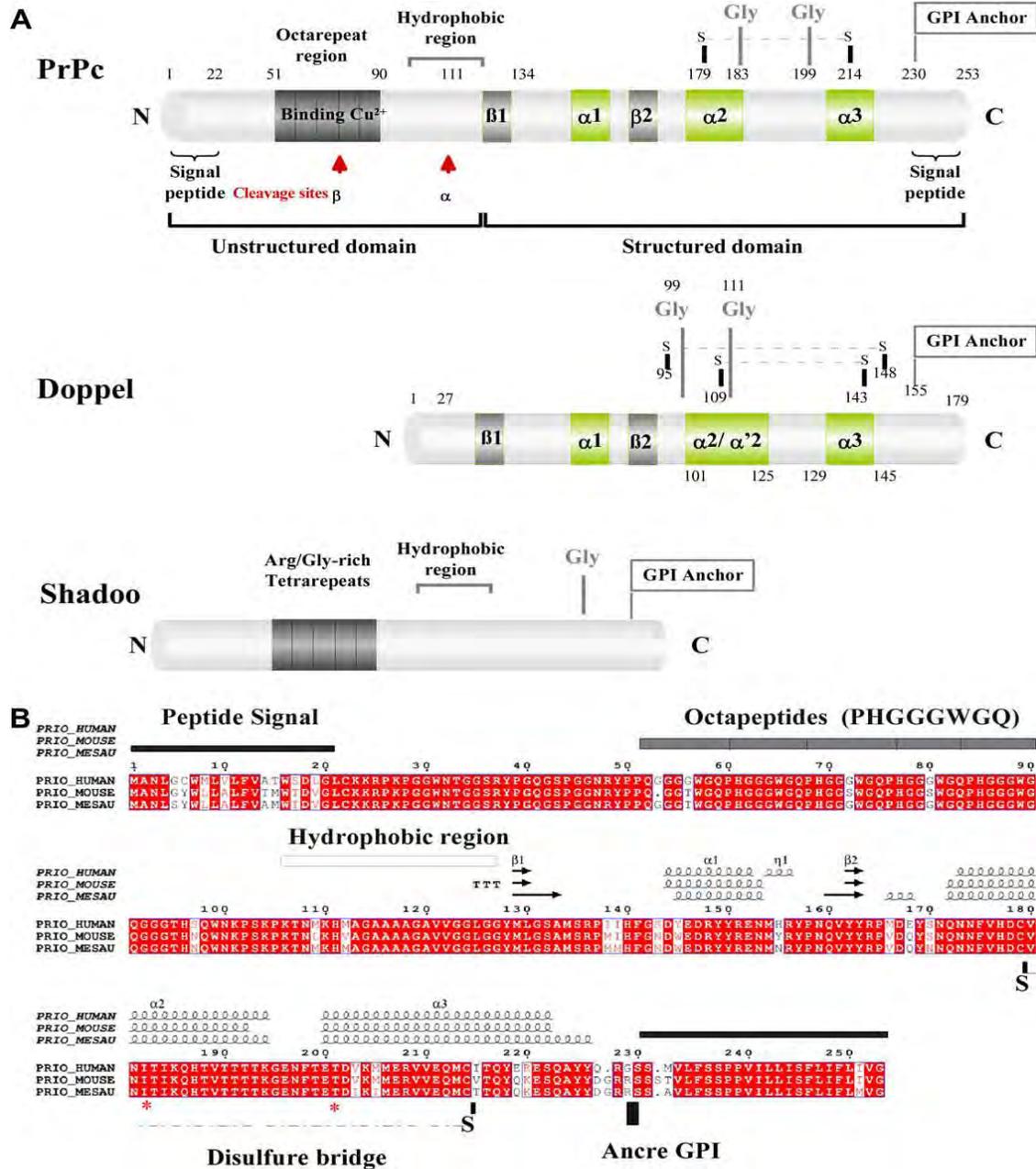


Luego del procesamiento de los fragmentos N- y C- terminales, tanto PrPC como PrPSc poseen un total de 209 aminoácidos.

El dominio C-terminal, un segmento altamente hidrofóbico, contiene una señal para la incorporación de una o dos cadenas de oligosacáridos conocidas como glicosilfosfatidilinositol (GPI), probablemente en la serina número 231 (Prusiner, 1982). El GPI se une covalentemente a los lípidos de la membrana plasmática de las células, de manera que la proteína queda expuesta al medio extracelular. Cerca del extremo N-terminal, se localiza una región que contiene de 5 a 6 repeticiones (entre los aminoácidos 60 y 93), rico en aminoácidos prolina y glicina. Además, posee una secuencia homóloga que ha perdido un aminoácido de histidina (PQGGGGWGQ, entre los aminoácidos 52 y 60). Este dominio, junto con dos aminoácidos de histidina en las posiciones 96 y 111, constituye un sitio de unión de Cu^{2+} . Por otra parte, el dominio N-terminal posee además una secuencia palindrómicas, AGAAAAGA, que podría estar involucrada en la fibrinogenesis (Jobling et al, 1999). Continuando con el análisis de la secuencia aminoacídica, luego de las repeticiones octapeptídicas, la PrP posee un segmento central, altamente conservado, rico en aminoácidos hidrofóbicos (aminoácidos 110/113 a 128). Esta secuencia constituye un dominio transmembrana⁶ (Fig. 8).

(6) proyecto apoyado por CONACYTMO-334;FUNSLUD Y PAPIIT-UNAM.

KKDH.

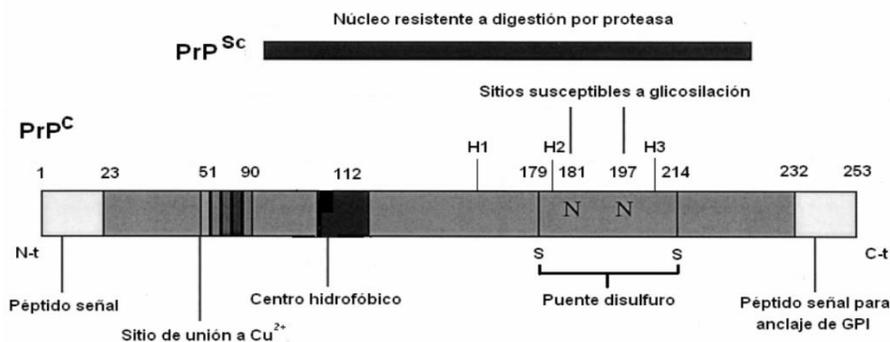


(Fig. 8) **ESTRUCTURA DE LA PROTEINA.** PrPc Mini-review Prion protein: From physiology to cancer biology Maryam Mehrpour *, Patrice Codogno INSERM, U 756, Université Paris Sud 11, Faculté de Pharmacie, 92290 Châtenay Malabry, France.

KKDH.

La PrPC muestra dos sitios susceptibles de glicosilación. Como se analizará posteriormente, este evento postraducciona se produce particularmente en forma de N-glicosilación, en las asparaginas 181 y 197. Por último, cabe destacar la formación de un único puente de disulfuro entre los aminoácidos de cisteína 179 y 214.

La Fig. 9 muestra un esquema lineal de la estructura primaria de la PrPC y algunos elementos de secuencia anteriormente descritos.



(Fig. 9). **ESTRUCTURA PRIMARIA DE LA PROTEÍNA PRION PrPc.** Estructura primaria de la proteína prion (PrPc). N-t: extremo amino terminal; C-t: extremo carboxilo terminal; N: Asparagina; S: azufres de residuos de cisteína, involucrados en el puente disulfuro; GPI: glicosilfosfatidilinositol; H1, H2, y H3: regiones de estructura secundaria alfa helicoidales características. Además se muestra una comparación con el núcleo resistente a proteinasas de PrPSc. Los números de la figura indican la posición en la cadena polipeptídica. Tomado de Brown, 2001. CELLULAR & MOLECULAR BIOLOGY LETTERS, Received: 23 October 2012 Volume 18 (2013) pp 209-230, Final form accepted: 18 February 2013 DOI: 10.2478/s11658-013-0085-0, Published online: March 2013 © 2013 by the University of Wrocław, Poland.

1.4 MORFOLOGÍA ESTRUCTURAL DE LA PRP.

En condiciones normales, la molécula de PrPC adopta una forma, plegada en múltiples hélices (espirales o cilíndricas) denominadas hélices- α . Dado que no ha sido posible reproducir formas de la proteína priónica, la estructura tridimensional de la PrPC se ha estudiado principalmente por resonancia magnética nuclear (RMN). Estos estudios señalan que la hPrPC posee un dominio desestructurado N-terminal, que involucra por los aminoácidos 23-119, y un dominio globular C-terminal, que se extiende desde el aminoácido 125 hasta el 231. Este último dominio presenta tres estructuras α -hélice en los KKD.



aminoácidos 143-153, 171-192 y 199-226 (H1, H2 y H3, respectivamente), y dos láminas β -plegada antiparalelas localizadas en los residuos 128-131 y 160-163 (S1 y S2, respectivamente). Además, puede ser dividido en dos subdominios: (I) un subdominio largo en forma de hebilla (hairpin), constituido por la H1 y las láminas antiparalelas, y (II) un subdominio puramente alfa helicoidal, que contiene las estructuras H2 y H3.

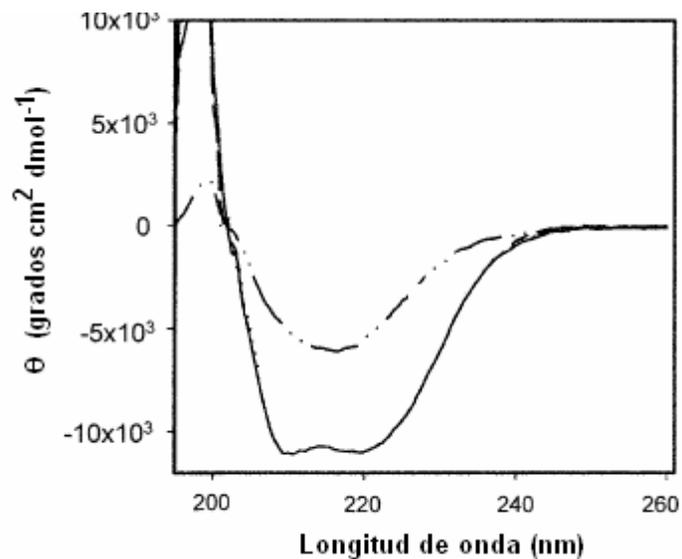
Así mismo, dentro de este dominio C-terminal, se han localizado tres regiones de irregularidad estructural: la primera consta de un asa compuesta por los aminoácidos 167-171, la segunda comprende a los aminoácidos 187-194 y la tercera, a los aminoácidos 219-228.

Por otra parte, estudios de un PrP sintético han demostrado la existencia de una región adicional que no se dispone en hélice- α , la cual está comprendida por los residuos 90-145. Dentro de esta secuencia, los aminoácidos 113-128 están muy conservados, y como ya se ha mencionado, corresponden a una región transmembrana.

La proteína PrPC y PrPSc han podido ser diferenciadas experimentalmente gracias a que ambas isoformas difieren notablemente en sus propiedades fisiológicas y conformacionales.

Estudios de dicroísmo circular (CD) con rayo ultravioleta (UV), han permitido determinar la composición en cuanto al contenido de estructura secundaria presente en cada una de las variantes, permitiendo su fácil diferenciación: PrPC está compuesta por un 42% de estructuras α -hélices y un 3% de láminas β -plegada, mientras que PrPSc está formada por un 43% de hojas β -plegada y 30% de hélices α (Fig. 10).

KKDH.



(Fig. 10) **ESPECTROS CARACTERÍSTICOS DE CD EN EL UV** muestra los espectros característicos de CD en el UV lejano para las isoformas evaluadas. Espectros de CD en el UV lejano característicos de PrPC y PrPSc. La Proteína Prión Humana: Del Paradigma Conformacional Al Desarrollo De Patologías Neurodegenerativas. Cátedra de Bioquímica de Macromoléculas, Licenciatura en Biotecnología, departamento de Ciencia y Tecnología. Profesor titular: Dr. Mario R. Ermácora, Profesor instructor: Dr. Javier Santos. Julio del 2008.

El espectro de línea llena corresponde a la isoforma normal caracterizada por un alto contenido de α -hélices. Se observan las bandas típicas de este tipo de estructura secundaria: bandas negativas a 208 y 222 nm y banda positiva a 190 nm. El espectro de línea punteada corresponde a la isoforma scrapie caracterizada por un alto contenido de hojas- β . Se observan las bandas típicas de láminas beta: banda negativa a 215-218 nm y banda positiva en torno a los 195 nm.

1.5 ALTERACIONES DE LA PROTEÍNA PRP.

A pesar de que no se han encontrado pruebas concluyentes de la existencia de ácidos nucleicos asociados con el prion, algunos investigadores creen que los priones se forman cuando la proteína prion se asocia con un ácido nucleico patógeno extraño.

KKDH.



Hay diversos autores que tienen una hipótesis sobre la estructura de la proteína PrP.

Gajdusek y cols. apuestan por la teoría vírica, ya que los viroides han demostrado resistencia a la radiación ultravioleta de 254 nm, al igual que la partícula PrP, que pese a mantener su carácter infeccioso a temperaturas superiores que lo agentes infecciosos convencionales, observó que eran rápidamente inactivados al sobrepasar los 85°C.

Weissmann por su parte, propone que el agente está formado por dos componentes:

- El PrPSc (apoprión), que puede causar enfermedades transmisibles incluso libre de ácidos nucleicos.
- Un ácido nucleico (coprión), del cual pueden existir muchas variantes. Es el que determina las propiedades fenotípicas que definen el linaje del agente infeccioso, ambas partes constituyen lo que él denominó holoprión.
- Laura Manuelidis, de la Universidad de Yale (EEUU) afirma que existen virus que disponen de un sistema de reparación del material genético que les permite resistir radiaciones similares a las que resiste el PrPSc; así como virus lentos convencionales, que escapan al sistema inmunitario instalándose en el interior de las células.

Laura Manuelidis hace especial hincapié en varias características de los agentes infecciosos, a saber:

- La existencia de distintas cepas de priones que causan diferentes patrones de enfermedad. Solo pueden aparecer representados en diferentes tipos, aquellos patógenos que poseen ácidos nucleicos.
- Su multiplicación exponencial.

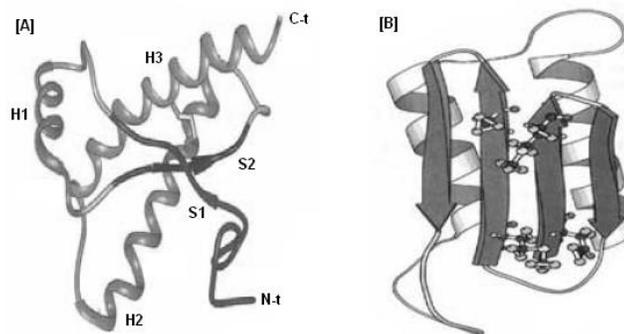
KKDH.

- Su tiempo de latencia prolongado.
- Infección del sistema retículo-endotelial (bazo, glóbulos blancos).

La evidencia de que la enfermedad de CJD procedía de la epidemia de las vacas locas (BSE) constituyó otro argumento a favor, ya que la transmisión por vía oral pone muy difícil la resistencia de un agente puramente proteico a la acidez y las enzimas del aparato digestivo. En cambio, muchos virus sí son capaces de sobrevivir a estas condiciones.

Las mutaciones y polimorfismos del gen PRNP podrían inducir mayor susceptibilidad del huésped frente a ciertas cepas del agente infeccioso⁷.

Se muestra las estructuras tridimensionales propuestas para las isoformas (Fig. 11).



(Fig. 11) **ESTRUCTURAS TRIDIMENSIONALES** CELLULAR & MOLECULAR BIOLOGY LETTERS, Received: 23 October 2012 Volume 18 (2013) pp 209-230, Final form accepted: 18 February 2013 DOI: 10.2478/s11658-013-0085-0, Published online: March 2013 © 2013 by the University of Wrocław, Poland.

(7) Las enfermedades Prion o Encefalopatías Espongiformes Transmisibles Autor/es: Carlos Sánchez Huertas. <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-leche/sanidad/articulos/las-enfermedades-prion-encefalopatias-t57/165-p0.htm>.

En la Tabla se apuntan las diferencias más significativas existentes entre ambas.

KKDH.

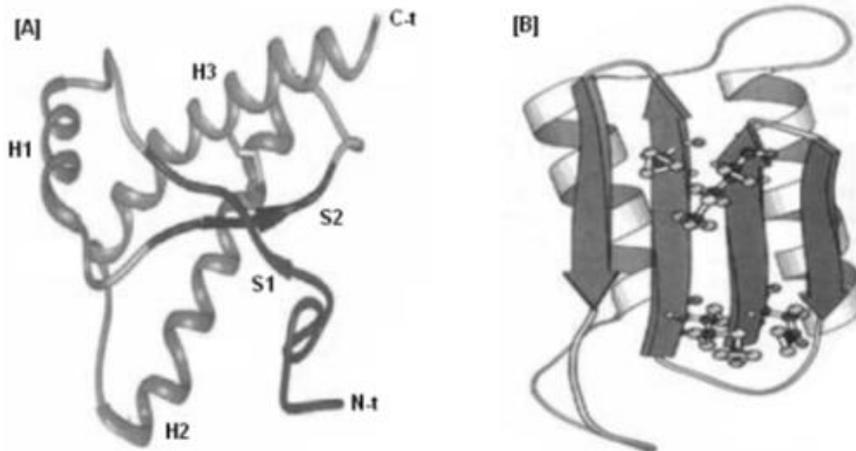


Proteína priónica celular (PrPC)	Proteínas priónica Scrapie (PrPSc)
Forma normal o fisiológica no transmisible.	Forma anormal patógena transmisible.
Anclada a membrana por un grupo GPI.	Libre y agregable extracelularmente.
Rica en hélices-alfa.	Rica en hojas-beta.
Sensibles a proteasas.	Parcialmente resistentes a proteasas.
Sensible a agentes físicos y químicos y a tratamientos estándar de desinfección.	Resistente a la radiación ionizante, ultravioleta y a tratamientos estándar de esterilización.

Modelos postulados para la estructura terciaria de PrPC y PrPSc. [A]: Estructura tridimensional de la PrPC. N-t: extremo amino terminal; C-t: extremo carboxilo terminal; H1, H2 y H3: regiones de estructura secundaria en α - hélice; S1 y S2: hojas β antiparalelas 1 y 2. Propuesto por Huang et al, 1994. [B]: Modelo tridimensional de la PrPSc, propuesto por Huang et al, 1996.

Adaptado de Prusiner, 1996 (Fig. 12).

KKDH.



(Fig. 12) **MODELO TRIDIMENSIONAL DE LA PRPSC.** CELLULAR & MOLECULAR BIOLOGY LETTERS, Received: 23 October 2012 Volume 18 (2013) pp 209-230, Final form accepted: 18 February 2013 DOI: 10.2478/s11658-013-0085-0, Published online: March 2013 © 2013 by the University of Wrocław, Poland.

1.5.1 FORMAS PATOLÓGICAS DEL PRIÓN.

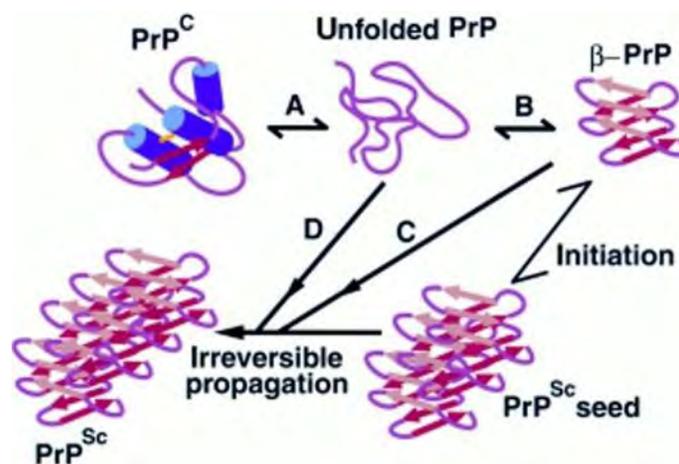
Según la teoría de Prusiner, hay una interacción directa entre una molécula PrPc y una PrPsc. Esta última induce la conversión de la primera en una segunda molécula PrPsc, sin embargo, aún no se han detectado agregados PrPc-PrPsc (Fig.13).

Una de las características de los priones es su multiplicidad, es decir, la existencia de múltiples cepas, (también denominadas inóculos o strains) similar a lo que ocurre con los virus y bacterias. Las cepas se diferencian en el tiempo de incubación y en los patrones de lesión en el sistema nervioso.

Todas las cepas de prpsc tienen la misma secuencia de aminoácidos pero se diferencian en el patrón de glicosilación y en el tamaño de los fragmentos que se originan cuando son incubadas con proteasas, esto se debe a que presentan variaciones en su conformación que hacen que ciertas regiones de

KKDH.

la proteína y que estén expuestos a la acción de las proteasas. Las características propias de cada cepa de prpsc son transferibles a prpc durante la reacción de cambio conformacional, pues prpc adquiere la conformación exacta de prpsc. Además, para que la conversión ocurra, la secuencia aminoacídica de prpc no solo debe ser lo más similar posible a la de prpsc según el postulado de la barrera de especie sino que el patrón de glicosilación también debe coincidir⁸ (Fig. 13).



(Fig. 13) *CONVERSIÓN DE PRPC EN PRPSC SEGÚN LA TEORÍA DE PRUSINER*. Prión: una proteína asesina, julio 27, 2012 por maestroviejo

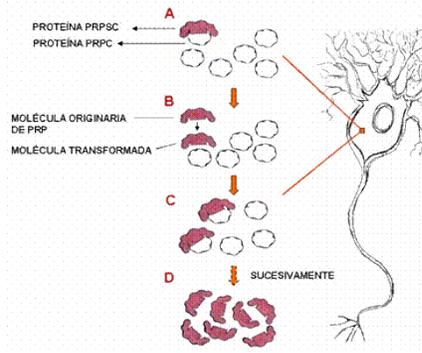
El hecho de que las distintas cepas de priones produzcan distintos patrones de lesiones cerebrales permite distinguirlas y tiene valor diagnóstico (Fig. 14).

Mediante análisis computarizado de imágenes de cortes de tejido se puede distinguir cada cepa, pues el patrón de lesiones funciona como un sello de identidad útil en el diagnóstico⁹.

(8) V. Martins, R Brentani. The biology of the cellular prion protein. (2002).

(9) Artículo de revisión, Hospital Infantil Sur, Enfermedades priónicas, Prion diseases, Tamara Rubio González y Manuel Verdecia Jarque, 10 de junio del 2008.

KKDH.



(Fig. 14) CELLULAR & MOLECULAR BIOLOGY LETTERS, Received: 23 October 2012 Volume 18 (2013) pp 209-230, Final form accepted: 18 February 2013 DOI: 10.2478/s11658-013-0085-0, Published online: March 2013 © 2013 by the University of Wroclaw, Poland.

En la tabla siguiente (Fig. 15) se enumeran las enfermedades prion conocidas hasta ahora y alguna información nomenclatural referente a ellas¹⁰.

LA EXISTENCIA DE DISTINTAS CEPAS DE PRIONES

Enfermedad	Huésped natural	Prion	Forma PrP anormal	Forma PrP celular
Scrapie	Ovejas y cabras	Scrapie	ShePrPSc ^ø	ShePrPSc ^o
Prionencefalopatía transmisible del visón (TME)	Visón	prion TME	MkPrPSc	MkPrPTME
Chronic wasting disease (CWD)	Mulos, ciervos y Alces	prion CWD	MdePrPSc	MDePrPCWD
Encefalopatía espongiforme de los bovinos (BSE)	Vacas	prion BSE	BovPrPSc	BovPrPBSE
Encefalopatía espongiforme de los felinos (FSE)	Gatos	prion FSE	FePrPSc	FePrPFSE
Encefalopatía de los ungulados Exóticos (EUE)	Nyala y el gran Kudu	prion EUE	NyaPrPSc	NyaPrPEUE
Kuru	Humanos	prion kuru	HuPrPSc	HuPrPKu
Creutzfeldt-Jakob disease (CJD)	Humanos	prion CJD	HuPrPSc	HuPrPCJD
Síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS)	Humanos	prion GSS	HuPrPSc	HuPrPGSS
Fatal familiar insomnia (FFI)	Humanos	prion FFI	HuPrPSc	HuPrPFFI

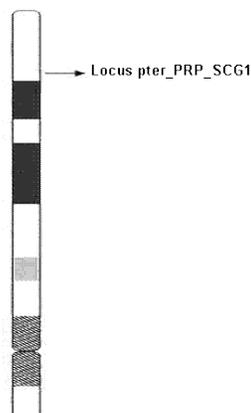
(10) (figura 15) Las enfermedades Prion o Encefalopatías Espongiformes Transmisibles Autor/es: Carlos Sánchez Huertas <http://www.engormix.com/MAGanaderia-leche/sanidad/articulos/las-enfermedades-prion-encefalopatias-t57/165-p0.htm>.



1.6 ESTRUCTURA Y EXPRESIÓN DEL GEN PRNP.

La proteína priónica está codificada por un gen denominado PRNP y se localiza en 20 p12. Contiene 15 000 pares de bases. Ha sido identificado en más de trece especies de mamíferos. Está compuesto por dos exones y un intrón. El extremo 5' del sitio de inicio de la transcripción presenta alta repetición de pares GC (Fig. 16).

Brazo corto del cromosoma 20



(Figura 16) ARTÍCULOS DE REVISIÓN, Hospital Infantil Sur, Enfermedades priónicas, Dra. Tamara Rubio González y Dr. Manuel Verdecia Jarque.

En el hombre se han registrado más de 20 mutaciones, resultado de de lesiones o inserciones de una o más bases nucleotídicas, en la región codificadora del gen PRNP en todas las formas familiares de prionopatías; sin embargo, en las formas esporádicas de estas enfermedades no se han demostrado mutaciones en el gen¹¹.

(11) Hospital Infantil Sur Enfermedades priónicas Prion diseases Tamara Rubio Gonzáles y Manuel Verdecia Jarque.

KKDH.



1.6.1 LOCALIZACIÓN Y EXPRESIÓN DE LA PRP.

La PrPC puede hallarse anclada a las membranas plasmáticas celulares, habiéndose reportado la mayor concentración en las neuronas, particularmente en las membranas pre y post-sinápticas, lo que sugiere que posee importancia en el funcionamiento de éstas. También se ha encontrado en las células dendríticas, en las uniones neuromusculares, en varios tejidos periféricos y en los leucocitos.

Por su parte, la PrPSc, puede localizar dentro de la célula, en estructuras del sistema endocítico, y extracelularmente, formando placas amiloide.

Además, puede presentarse en tejido nervioso, muscular y en células del sistema inmunitario. Por otra parte, mediante estudios de inmunofluorescencia efectuados sobre cultivos de células infectadas, se ha verificado cierta acumulación de la isoforma en el aparato de Golgi. También se ha localizado PrPSc a nivel endosómico y lisosómico. Otra técnica aplicada al estudio del prión scrapie (tanto de origen infeccioso como mutante), es la tinción inmune con oro en la superficie celular.

La PrP posee un puente disulfuro nativo formado por los aminoácidos de cisteína 179 y 214. En la proteína PrPC plegada, este enlace covalente se encuentra inmerso en un ambiente hidrofóbico y no es accesible a los agentes reductores como el DTT. Sin embargo, el puente disulfuro es fácilmente reducible si la proteína es tratada con dicho agente en presencia de 8 M urea o cloruro de guanidinio (GuHCl) 6 M. Numerosos trabajos han estudiado en forma rigurosa, el efecto del puente disulfuro sobre la conversión PrPC PrPSc. Para ello, se analizó el plegado y estabilidad de la PrP humana

KKDH.



recombinante portando su puente disulfuro nativo, forma oxidada (PrPox), su forma reducida, con sus Cys libres (PrPred) y una mutante a la cual se le sustituyeron ambos residuos de Cys por dos aminoácidos de a la (C179A /C214A). A pH neutro, los intentos de replegamiento mediante diálisis (10 mM fosfato de sodio, pH 7.0) de las variantes PrPred y la doble mutante, resultaron en una precipitación de las proteínas, sin dejar material en forma soluble. Además, ambas generaron agregados amorfos, caracterizados por una transición a conformaciones ricas en estructuras beta, la cual mostró estar invariablemente asociada a procesos de oligomerización. En contraste con los resultados obtenidos a pH neutro, la diálisis llevada a cabo en condiciones ácidas (10 mM de acetato de sodio, pH 4,0) no dio lugar a una precipitación visible de las proteínas. Es decir, ambas fueron capaces de replegarse en condiciones ácidas suaves. Sin embargo, luego de la remoción completa de la urea, las muestras se observaron ligeramente turbias, lo que indica que al menos una fracción de la proteína se ha agregado. Ensayos de SEC-FPLC revelaron la presencia de una proteína monomérica con un radio de Stokes aparente de 28 Å. Comparando este valor con el correspondiente a la proteína oxidada de tipo salvaje (24 Å), se verifica que la pérdida del puente disulfuro en la proteína prión estaría asociada a una transición hacia una conformación menos compacta¹²

(12) La proteína prión humana: del paradigma conformacional al desarrollo de patologías neurodegenerativas, cátedra de bioquímica de macromoléculas, licenciatura en biotecnología de ciencia y tecnología. Dr Mario R. Ermácora.

Dianas para la infección por priones:

KKDH.



Según el grado de infectividad de la Organización Mundial de la Salud serían:

-De alto riesgo: cerebro, hipófisis, médula espinal, bazo, duramadre, timo, amígdalas, placenta, ojos, ganglios linfáticos e intestinos.

-De riesgo moderado o bajo: nervios periféricos, líquido cefalorraquídeo, páncreas, hígado, glándula suprarrenal, pulmón, médula ósea y músculo esquelético.

- No relacionado con infectividad en ninguna especie: leche, saliva, piel, semen, orina, sangre, heces, riñón y huesos¹⁴ (Fig.17).

Tipo	Síntomas	Edad	Duración
Kuru	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ataxia ▪ Demencia 	40 años (29 – 60)	3 meses – 1 año
Enfermedad de Creutzfeldt – Jacob	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Demencia ▪ Ataxia mioclónicas (esta secuencia puede invertirse) 	< 60 años	1 mes a 10 años (media 1 año)
Enfermedad de Gerstmann – Sträuler - Scheinker	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ataxia ▪ Demencia tardía 	< 60 (20-60)	2 a 10 años
Insomnio familiar letal	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Insomnio ▪ Disautonomía ▪ Ataxia ▪ Demencia 	45 ± 10	1 año

(Fig. 17) **MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LAS ENFERMEDADES CRÓNICAS**. ARTÍCULOS DE REVISIÓN, Hospital Infantil Sur Enfermedades priónicas Prion Dra. Tamara Rubio González y Dr. Manuel Verdecia Jarque . http://www.bvs.sld.cu/revistas/san/vol13_1_09/san08109.htm.

(13) Las proteínas priónicas: Despliegue Potencial Por Olivia mayo, Ph.D. 25 a 28 septiembre, 2013 cayman chemical <https://www.caymanchem.com/app/template/Article.vm/article/2117>.

(14) ARTÍCULOS DE REVISIÓN, Hospital Infantil Sur Enfermedades priónicas Prion Dra. Tamara Rubio González y Dr. Manuel Verdecia Jarque . http://www.bvs.sld.cu/revistas/san/vol13_1_09/san08109.htm.

1.7 REPLICACIÓN DE LOS PRIONES Y LA PROPAGACIÓN.

KKDH.



El mecanismo mediante el cual se propagan los priones no se conoce con precisión. Aunque algunos investigadores siguen postulando la necesidad de un ácido nucleico específico de priones, no existen evidencias físicas ni químicas de su existencia. En el caso de existir, cabe esperar que dicha molécula dirija la replicación de priones empleando una estrategia similar a la de los virus.

La multiplicación de la infectividad de priones es un proceso exponencial que implica obligatoriamente la conversión post-traducciona l de PrPC o de un precursor en un confórmero distinto al PrPSc. El nivel de expresión de PrPC es directamente proporcional a la velocidad de formación de PrPSc y, por tanto, inversamente proporcional a la longitud del tiempo de incubación. El proceso de propagación de un prion se inicia con la interacción de la PrPSc exógena con PrPC o con una forma parcialmente desnaturalizada de ésta, PrP (Scott y cols., 1994). El reconocimiento de PrPSc ocurre a través de la región 96-167, siendo necesaria pero insuficiente la identidad de secuencia. Por otra parte, mutaciones puntuales y variaciones en la longitud de la cadena polipeptídica de PrPC así como alteraciones metabólicas pueden desembocar en situaciones patológicas.

Con estas premisas experimentales se han elaborado dos modelos en los cuales se traduce la infectividad en términos de un proceso de autopropagación de la conformación de PrPSc que incluye una etapa controlada cinéticamente. El "modelo de desnaturalización-renaturalización catalizada" (Prusiner y cols., 1996) asume que el cambio conformacional es la etapa limitante del proceso ya que supone que se realiza una

desnaturalización y renaturalización de la cadena polipeptídica y lo asemeja a una reacción catalizada enzimáticamente: 1) PrPC es el sustrato y PrPSc el KKDH.



producto de la reacción; 2) la velocidad de la reacción, manifestación inversa del tiempo de incubación, depende de la concentración de sustrato; 3) PrPSc es un efector alostérico que regula la conversión de PrPC en PrPSc un análogo de sustrato, como una molécula de PrPC de distinta especie, puede retrasar la conversión actuando como inhibidor competitivo. El "modelo de polimerización nucleada por condensación no covalente" (Kocisko y cols., 1995) supone que el cambio conformacional está ligado a un equilibrio de asociación, de manera que ambas conformaciones existen en equilibrio pero la estabilización de la isoforma patológica ocurre a través de la formación de un núcleo que constituye la etapa lenta del proceso. Una vez constituido el núcleo, éste crece por adiciones sucesivas y rápidas de nuevas moléculas disparándose el proceso. Ambos modelos justifican las tres variantes patológicas. Las patologías infecciosas serían el resultado de la presencia exógena de PrPSc, es decir del catalizador o efector o del núcleo. Las patologías hereditarias ocurrirían por una desestabilización de la estructura de PrPC o una estabilización de la estructura de PrPSc favoreciendo la población del estado patológico. Por último, las enfermedades esporádicas, aunque de etiología desconocida, podrían surgir por alteraciones metabólicas o bien mutaciones espontáneas que conlleven la formación de PrPSc. Ambos fenómenos aun ocurriendo en una única célula podrían desencadenar la formación de PrPSc y su autopropagación, que se extendería por el sistema nervioso central¹⁵.

(15) LOS PRIONES Y SU BIOLOGÍA María Gasset* y Dave Westaway** *IQFR-CSIC, Serrano 119, 28006 Madrid, Spain**CRND-Univ. Toronto, 6 Queens's Park Cr, Ontario, Canada M5S 3H.

CAPÍTULO 2

KKDH.



MECANISMOS DE TRANSDUCCIÓN ACTIVADOS POR PRIONES.

A través de su localización en la membrana, prpc podría participar en vías de transducción de señal. Según algunos autores, la infección por priones afecta la función de canales de calcio. Por ejemplo, se vio que en células infectadas estimuladas con bradiquinina (un estimulante de la función de los canales de calcio) presentaron una menor respuesta de los mismos en comparación a células control no infectado¹⁶.

Se ha reportado que un fragmento de prpsc de 21 kD (el prp 106-126) es tóxico para cultivos primarios de células del hipocampo. Este péptido es capaz de formar canales permeables a iones Ca y Na en membranas plasmáticas¹⁷.

(16) Developmental Regulation of Prion Expression in Cattle and Mouse Embryonic Stem Cells Oscar Alejandro Peralta Troncoso Dissertation submitted to the faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Biomedical and Veterinary Sciences Willard H. Eyestone, Chairman William R. Huckle Ludeman A. Eng Xiang-Jin Meng Jill C. Sible Mary Lynn Johnson July 25th, 2008 Blacksburg, Virginia.

(17) Fischer M. B., Roeckl C., Parizek P., Schwarz H. P., and Aguzzi A Binding of disease-associated prion protein to plasminogen. (2000). Nature 23: 479-483.

KKDH.



Prpc dispara la cascada de señalización mediante el aumento del nivel de fosforilación de la tirosinquinasa fyn y la caveolina-1 es el factor intermediario entre prpc que está del lado extracelular de la membrana y Fyn que es Citoplasmático. Por otra parte, la unión de prpc a la alaminina aparentemente dispara la cascada de cAMP y la liberación de calcio¹⁸.

2.1 MIGRACIÓN CELULAR.

Prpc en células endoteliales que forman parte de la barrera hematoencefálica se acumula en las uniones célula-célula y participa de la transmigración de monocitos de los tejidos periféricos hacia el cerebro posiblemente mediante reconocimiento específico de ciertas moléculas de la superficie de los monocitos.

Como resultado se obtiene la proteína madura prpc que es transportada a la membrana plasmática donde queda anclada por medio del GPI.

La cadena de oligosacaridos que se agrega inicialmente en el retículo es del tipo alta manosa y es sensible a la digestión con endoglicosidasa H. Esta cadena de oligosacarido es modificada en el aparato de golgi y queda como un oligosacarido complejo que contiene ácido siálico y resulta resistente a la endoglicosidasa H.

El ancla de GPI se agrega en el retículo luego del clivaje del segmento hidrofóbico C- terminal y posee una porción central que es común a otros GPIs, presentes en otras glicoproteínas, este está compuesto de un aminoácido de etanolamina unido al aa C-terminal por una unión amida, tres aminoácidos de manosa, un residuo de glucosamina no acetilado y una molécula de fosfatidilinositol, que se encuentra insertada en la membrana plasmática.

(18) Developmental Regulation of Prion Expression in Cattle and Mouse Embryonic Stem Cells Oscar Alejandro Peralta Troncoso Dissertation submitted to the faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Biomedical and Veterinary Sciences Willard H. Eyestone, Chairman William R. Huckle Ludeman A. Eng Xiang-Jin Meng Jill C. Sible Mary Lynn Johnson July 25th, 2008 Blacksburg, Virginia.

KKDH.



El GPI de prpc y de prpsc es poco común porque posee ácido siálico en la porción central. La cadena de oligosacarido y el ancla de GPI de prpc es totalmente idéntica a la de prpsc, ambas isoformas son sintetizadas de la misma manera y sufren las mismas modificaciones pos-transduccionales, existen diferencias en el oligosacarido entre las distintas cepas de prion¹⁹.

La modificación experimental de la glicosilación de prpc altera el transporte de la misma. La mutación de los dos sitios consenso de glicosilación existentes en el gen de la proteína PRP o en la region N-terminal producen plegamiento anómalo de la proteína y su acumulación en un compartimiento proximal al aparato de Golgi medio, pero la glicosilación correcta no es totalmente necesaria para el transporte ya que la mutación del sitio consenso C-terminal o la síntesis de prpc en presencia de tunicamicina (un inhibidor de la glicosilacion) no impide que algunas moléculas lleguen a la superficie celular. Además, en ausencia de inhibidores es posible encontrar pequeñas cantidades de prpc no glicosilada en la membrana²⁰.

Por otra parte, las moléculas de prpc con alguno de los sitios de glicosilación mutados presentan características que las asemejan a prpsc, al igual que las que son sintetizadas en presencia de inhibidores de la glicosilación²¹.

Puede decirse que prpc tiene tendencia a adoptar la conformación de prpsc en condiciones fisiológicas durante su biosíntesis y transporte, pero las cadenas de glicano que posee ayudan a impedir este cambio conformacional.

(19) Stahl, N., M. A. Baldwin, R. Hecker, K.-M. Pan, A. L. Burlingame, and S. B. Prusiner. 1992. Glycosylinositol phospholipid anchors of the scrapie and cellular prion proteins contain sialic acid. *Biochemistry* 31:5043–5053.

(20) Caughey B, Race R, Ernst D, Buchmeier B & Chesebro B. Prion protein biosynthesis in scrapie-infected and uninfected neuroblastoma cells. (1989) *J. Virol.* 63:175–181.

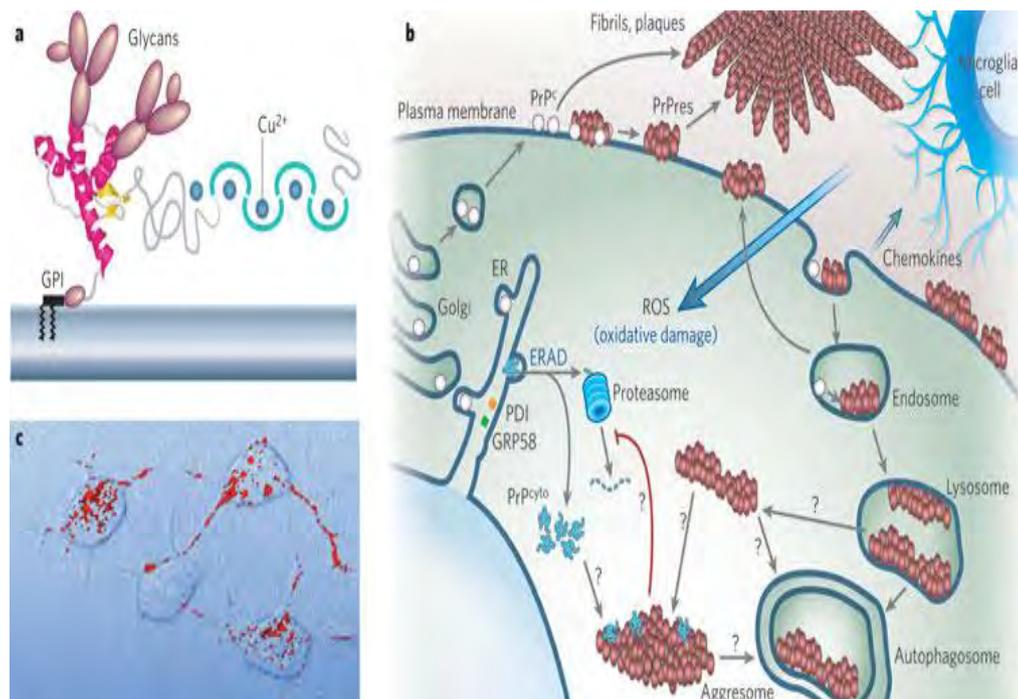
(21) Lehmann, S., and D. A. Harris. Blockade of glycosylation promotes acquisition of scrapie-like properties by the prion protein in cultured cells. (1997) *J. Biol. Chem.* 272:21479–21487.

KKDH.

Además, esto es coherente con el hecho de que existen distintas cepas de priones y estas presentan diferentes patrones de glicosilación, que las distinguen entre ellas²².

Parece que en la mayoría de los casos, lo que diferencia una cepa de otra es precisamente el patrón de glicosilación.

La proteína PrP^c, como cualquier otra proteína mundana, se sintetiza en el retículo endoplasmático (RE), se procesa en el aparato de Golgi y a continuación se lleva a la superficie de la membrana celular. Normalmente, esta proteína se localiza en zonas de la membrana ricas en colesterol y esfingolípidos, lo que se conoce como balsas lipídicas o lipid rafts²³ (Fig.18).



(Fig. 18) CELLULAR & MOLECULAR BIOLOGY LETTERS, <http://www.cml.org.pl> Received: 23 October 2012 Volume 18 (2013) pp 209-230. Final form accepted: 18 February 2013 DOI: 10.2478/s11658-013-0085-0. Published online: March 2013 © 2013 by the University of Wroclaw, Poland.

(22) Harris. Cellular biology of prion diseases. (1999). Clinical microbiological reviews. 429-444. (23) Gaceta Médica de Caracas versión impresa ISSN 0367-4762 Gac Méd Caracas v.113 n.3 Caracas jul. 2005 Aspectos inmunopatológicos de la infección por priones. Consideraciones en dermatología Dr. Alberto Paniz-Mondolfi* *Médico Investigador Laboratorio de Estudio de Antígenos. Sección de Genómica y Proteómica. Instituto de Biomedicina Apartado 4043, Caracas, 1010 A, Venezuela.

KKDH.



En cultivos celulares infectados, la generación de PrPsc a partir de PrPc ocurre después de la llegada de PrPc a la superficie membranosa. Esta conversión está inducida directamente por la PrPsc resistente y por cofactores a través de un mecanismo que hoy en día no han quedado claros.

Éste es el posible mecanismo:

En primer lugar, se piensa que el sitio de conversión puede ser tanto en la superficie celular o en el citosol; en este caso, la PrPsc entraría mediante endocitosis, formando endosomas.

El endosoma (o fagosoma) se fusiona con lisosomas, dando lugar a lo que se conoce como fagolisosomas. Como se observa en el esquema, las flechas con signos indican los posibles caminos que este fagolisosoma.

El pH ácido del fagolisosoma no afecta al agregado de PrPsc, sale al citosol e induce la conversión de la PrPc que se sigue generando en el RE.

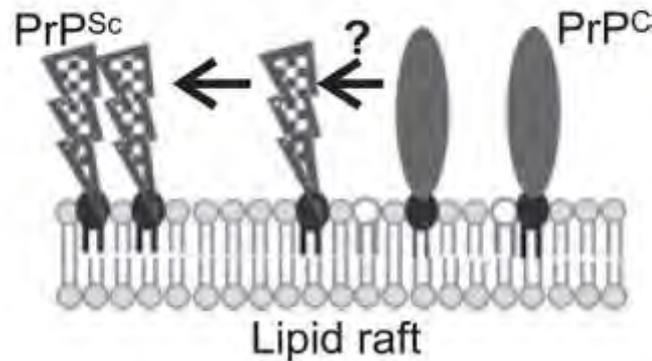
El fagolisosoma puede derivar en un autofagosoma. A su vez, el acúmulo que se libera por la primera vía puede ser también autofagocitado.

Esto podría explicar la gran acumulación que se produce en el interior celular., también se cree que este acúmulo podría inactivar la actuación de la maquinaria encargada de degradar proteínas defectuosas (el proteosoma).

La otra vía es dependiente de cofactores: básicamente, consiste en la unión de una molécula a la PrPc; esa molécula actuará como un factor de conversión el cual, junto con la agregación de PrPsc, dará como resultado la conversión de PrPc.

Las balsas lipídicas, que son zonas de la membrana celular especialmente abundantes en colesterol y esfingolípidos, son clave en la conversión de PrPc a PrPsc. Los cofactores que promueven la conversión son proteoglicanos sulfatados, concretamente las moléculas de glucosaminoglucanos (GAGs) situados en sus cadenas laterales (Fig. 19).

KKDH.



(Fig. 19) CELLULAR & MOLECULAR BIOLOGY LETTERS, <http://www.cmbi.org.pl> Received: 23 October 2012 Volume 18 (2013) pp 209-230.Final form accepted: 18 February 2013 DOI: 10.2478/s11658-013-0085-0.Published online: March 2013 © 2013 by the University of Wrocław, Poland.

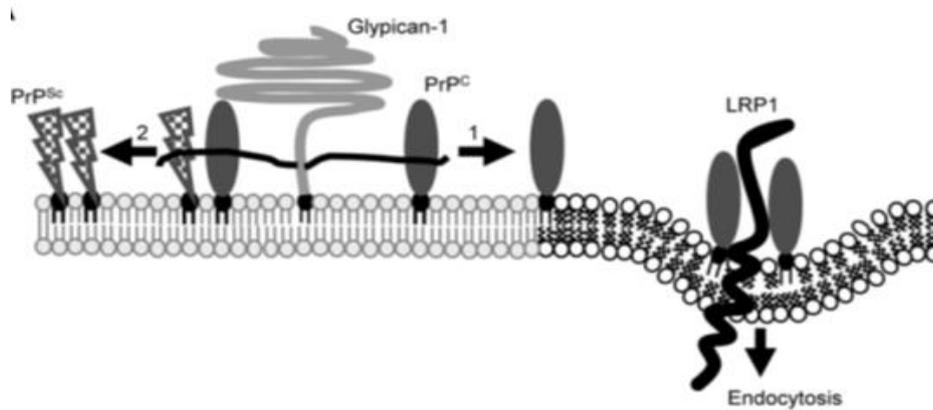
Los proteoglicanos son glicoproteínas propias de la matriz extracelular, formadas por una proteína central. Se encuentran ampliamente distribuidas en todas las células, y lo que nos interesa saber es que también se expresan en células nerviosas.

Básicamente el proteoglicano es proteína + GAG, pero frecuentemente se encuentran anclados, mediante proteínas de unión y se asemeja a una molécula de ácido hialurónico, obteniendo una forma muy curiosa que recuerda a una escobilla.

El glypican-1 es un tipo de proteoglicano de heparán sulfato anclado al GPI, que facilita la endocitosis al reducir la asociación a la balsa lipídica, y el desplazamiento de PrPc. Bajo condiciones normales, el glypican-1, con sus cadenas laterales de heparán sulfato, constituye un elemento clave dentro de las balsas lipídicas.

En la (Fig.20) se puede ver la “doble moral” que tiene el heparán sulfato (HS). Cuando PrPc no se encuentra interactuando con HS, se induce la “salida” de PrPc de la balsa lipídica, y después se endocita. Este último proceso lo realiza otra proteína denominada “proteína asociada a receptores de lipoproteínas de baja densidad” (LRP1) a través de la interacción con la proteína priónica.

KKDH.



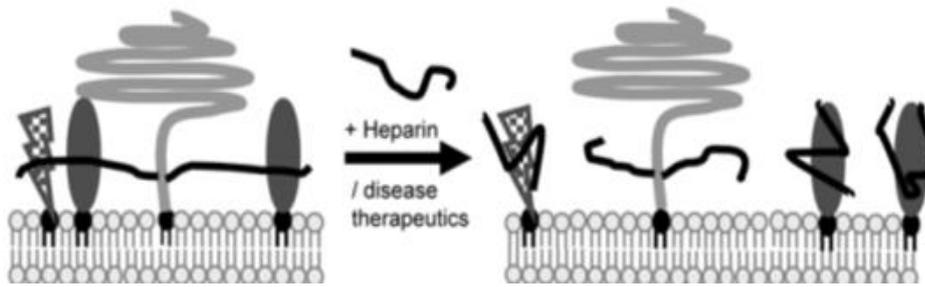
(Fig. 20) CELLULAR & MOLECULAR BIOLOGY LETTERS, <http://www.cmbi.org.pl> Received: 23 October 2012 Volume 18 (2013) pp 209-230. Final form accepted: 18 February 2013 DOI: 10.2478/s11658-013-0085-0. Published online: March 2013 © 2013 by the University of Wrocław, Poland.

Se ha pensado que, cuando hay enfermedad, el glypican-1 actúa como una especie de apoyo a la hora de la interacción entre PrPc y PrPsc lo que permite el cambio de conformación de la isoforma no infectiva, ya que los deja muy próximos a las balsas lipídicas, para facilitar así la conversión.

Mediante la ruptura y digestión de las cadenas de HS y también por la adición de heparina exógena (proteoglicano muy similar al glypican-1), la cual compete con glypican-1 en la unión a PrPc. Esto nos dice que la interacción príon-glypican-1 depende de las cadenas laterales de HS.

Se ha demostrado también con este experimento que la heparina desplaza a la PrPc de las balsas lipídicas, promoviendo su endocitosis (se reducen sus niveles). Esto puede ser de gran utilidad en tratamientos terapéuticos, que pueden actuar, en parte, en la interrupción de la interacción PrPc-PrPsc, que como se ha dicho antes, se facilita por la interacción de las cadenas de HS de glypican-1 (Fig.21).

KKDH.



(Fig. 21)CELLULAR & MOLECULAR BIOLOGY LETTERS, <http://www.cmbi.org.pl> Received: 23 October 2012 Volume 18 (2013) pp 209-230.Final form accepted: 18 February 2013 DOI: 10.2478/s11658-013-0085-0.Published online: March 2013 © 2013 by the University of Wrocław, Poland.

Proteína priónica y el paradigma receptor-ligando-interactores.

La localización preferencial de PrPC es en las regiones lipídicas sugirió su posible implicación en transducción de señales, al igual que con otras regiones asociadas a proteínas que son ancladas a proteínas GPI. Se ha descrito que las regiones lipídicas son como puntos claves para los mecanismos de transducción²⁴.

El primer evento en la transducción de señal implica la interacción entre un ligando y un receptor específico. Por lo general, los receptores son proteínas transmembrana con un dominio citosólico que puede transferir las señales, desde el exterior al interior de la célula. En términos de PrPC como un receptor, la anomalía principal es la falta de un dominio intracelular para la activación de la cascada de eventos moleculares en respuesta a estímulos externos. Por lo tanto, se han hecho muchos intentos para identificar ligandos fisiológicos de PrPC que podrían servir como co-receptores y superar la ausencia transmembranal y porciones citoplasmáticas. Un número considerable interacciones proteicas se han asociado con PrPC.

(24) The cell biology of transmissible spongiform encephalopathies From the following article: Prions and their partners in crime Byron Caughey & Gerald S. Baron Nature 443, 803-810(19 October 2006) doi:10.1038/nature05294

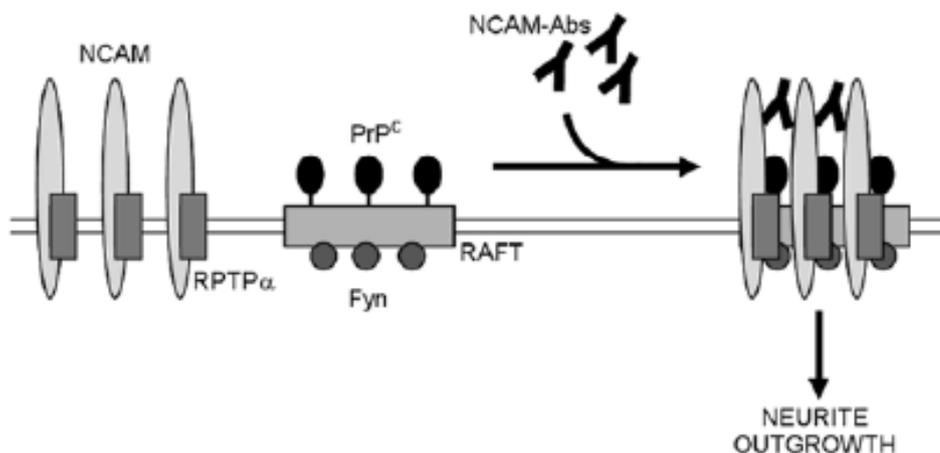
KKDH.

Proteína priónica y la familia SRC.

La primera evidencia de una participación directa de PrPC en la transducción de la señal era proporcionado por Mouillet-Richard, que utiliza anticuerpos (Acs) contra proteína priónica para imitar un ligando putativo fisiológico de PrPC. Ellos fueron capaces de para describir la activación de Fyn en Ab-mediada por el entrecruzamiento de PrPC en la membrana de las células.

Dado que interactúa con PrPC, NCAM en la superficie de las células neuronales, Santuccione investigó si PrPC juega un papel en la señalización mediada por NCAM. El uso del hipocampo primaria neuronas como un modelo, los autores demostraron que interactúa directamente con PrPC NCAM y recluta a sus isoformas transmembrana en las balsas de lípidos para activar Fyn a través del receptor de la proteína tirosina fosfatasa alfa (RPTP alfa) y para promover crecimiento de las neuritas (Fig.22).

Estos primeros hallazgos representan un indicador de la participación de PrPC como una molécula de señalización en el sistema nervioso desarrollo.



(Fig. 22)CELLULAR & MOLECULAR BIOLOGY LETTERS, <http://www.cml.org.pl> Received: 23 October 2012 Volume 18 (2013) pp 209-230.Final form accepted: 18 February 2013 DOI: 10.2478/s11658-013-0085-0.Published online: March 2013 © 2013 by the University of Wrocław, Poland.

KKDH.



El papel de la proteína priónica celular en el crecimiento de neuritas mediada por NCAM. Conforme en el modelo propuesto, en condiciones de reposo NCAM y la Fyn activador RPTP alfa interactuar fuera de las balsas que se enriquecen en PrPC. Con estímulos específicos, tales como Ab-mediada por la reticulación, NCAM se activa mediante palmitoilación, que promueve su reclutamiento en las regiones lipídicas.

Se ha demostrado recientemente que los efectos dañinos sobre la función sináptica debido a PrPC e interacciones A beta-oligómeros también dependen de la activación de Fyn, lo que conduce a fosforilación de la subunidad NR2B de los receptores NMDA y para su la subsiguiente pérdida de la membrana post-sináptica.

Las vías de señalización que están fuertemente conservados en eucariotas. Estas se encargan de una amplia gama de procesos celulares, de la proliferación celular y la diferenciación a la apoptosis y la inflamación.

Proteína priónica y el MAP quinasas.

Después de descubrir las conexiones funcionales entre PrPc y Fyn, el mismo grupo identificó la señal extracelular-quinasa relacionada con 1/2 (ERK1 / 2) abajo de la activación de Fyn PrPC-Ab-mediada por ERK1 / 2 participa en la cascada de proteína quinasas activadas por mitógenos (MAPK), un grupo de (MAPK), un grupo de vías de señalización que están fuertemente conservados en eucariotas. Ellos manipulan una amplia gama de procesos celulares, de la proliferación celular y la diferenciación a la apoptosis y la inflamación. Los diferentes factores que interactúan se ha demostrado que activar la vía de ERK tras la unión PrPC en la superficie celular. El tratamiento afecta tanto neuritogénesis y la supervivencia neuronal. Sin embargo, la neuroprotección dio como resultado independientemente de la activación de la cascada de ERK, que sólo regula la elongación axonal. Sorprendentemente, las neuritas PrPC-

KKDH.



dependiente en consecuencia de las neuronas del hipocampo no son bloqueadas por inhibidores de ERK, lo que sugiere que PrPC podría modular el mismo efecto biológico a través de diferentes vías en diferentes especies y citotipos, de acuerdo con el subconjunto específico de interactores expresados por la célula. Por ejemplo, Schneider destacó cómo la presencia o la ausencia de un complejo funcional ternario PrPC-caveolina-Fyn en diferentes tipos de células puede resultar en PrPC-dependiente alternativa de vías que convergen en el módulo de MEK-ERK1 / 2.

En cuanto a la quinasa Fyn, se han hecho muchos intentos para conectar la señalización de MAPK al prion patógeno. El descubrimiento de que ERK1 / 2 activado es controlada por especies reactivas del oxígeno y oxidasa dependiente de NADPH (ROS) de producción ofrecen un enlace interesante entre los dos campos, se exploró más la hipótesis de una posible alteración del equilibrio redox después del prion patógeno. Ellos encontraron que el tratamiento de células 1C11 y GT1 con la PrP106-126 péptido neurotóxico y amiloidogénica conduce a la sobreproducción de ROS y la activación sostenida de las cascadas de MAPK, que están asociados con apoptosis de señalización.

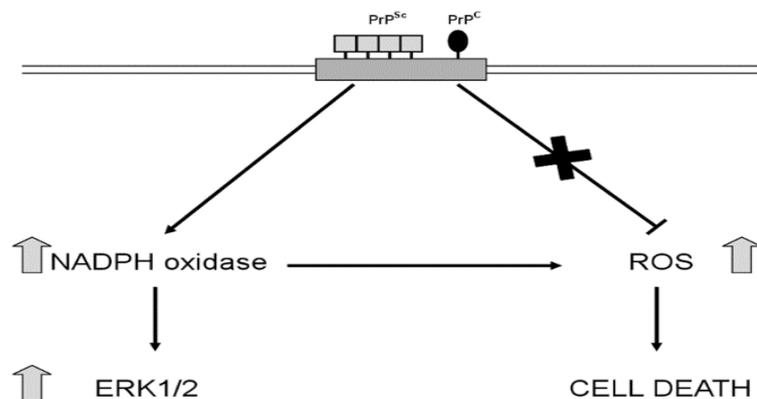
Los estudios realizados por otros grupos apoyaron esta hipótesis. En efecto, las células neuronales expuestas a PrPSc dieron como resultado aberrante activación de la vía de ERK.

Estos resultados revelan un posible escenario en el que la conversión del prion promueve la hiper-activación de MAPK en vías específicas que conducen a la muerte neuronal a través de Producción de ROS. Además, teniendo en cuenta la actividad protectora de PrPC contra el estrés oxidativo, la replicación de priones también podría restar un importante ROS que demuestra la susceptibilidad aumentada de PrPC-deficientes (Fig. 23).

KKDH.

En particular, los inhibidores farmacológicos de la fosforilación de ERK se demostró que los PrP^{Sc} en las células claras infectadas por priones, lo que sugiere un papel directo para la vía ERK en la formación de priones. Por el

contrario, Uppington han demostrado que la inhibición de la vía de ERK en células infectadas con priones da como resultados el aumento de la muerte celular y sugirió que el aumento de la actividad de la vía ERK tiene un papel protector contra la neurotoxicidad inducida por priones²⁵.



(figura 23) CELLULAR & MOLECULAR BIOLOGY LETTERS, <http://www.cmbi.org.pl> Received: 23 October 2012 Volume 18 (2013) pp 209-230.Final form accepted: 18 February 2013 DOI: 10.2478/s11658-013-0085-0.Published online: March 2013 © 2013 by the University of Wrocław, Poland.

Un modelo de prión inducida por la muerte celular a través de la producción de ROS. La replicación de priones estimula la ERK1 / 2 activación compleja por la NADPH oxidasa. La actividad de NADPH oxidasa promueve la acumulación de ROS en células infectadas con priones. La modificación de PrPC debido a la conversión del prión aumenta los efectos citotóxicos de ROS mediante el aumento de la susceptibilidad de la célula al estrés oxidativo. La combinación de los dos efectos eventualmente conduce a la muerte celular.

(25) CELLULAR & MOLECULAR BIOLOGY LETTERS, Received: 23 October 2012 Volume 18 (2013) pp 209-230 Final form accepted: 18 February 2013 DOI: 10.2478/s11658-013-0085-0 Published online: March 2013 © 2013 by the University of Wrocław, Poland, PRION PROTEIN AND ITS ROLE IN SIGNAL TRANSDUCTION ALESSANDRO DIDONNA* Davee Department of Neurology, Feinberg School of Medicine Northwestern University, E 303 Chicago Ave, Chicago, IL 60611, U.S.A.



Proteína priónica y las proteínas quinasas A y C.

La proteína quinasa AMPc dependiente de Una cascada (PKA) es uno de los más estudiados y vías de señalización más conocidos. Es un potente regulador de las células que controla un gran número de diferentes funciones celulares, tales como la dinámica del citoesqueleto, la célula la migración y la adhesión. En la biología de priones, PKA parece mediar señales principalmente de neuroprotectores, como se ha demostrado por primera vez por Chiarini en su trabajo sobre las neuronas retinales. De hecho, mostraron cómo el tratamiento con un péptido de unión a PrPC podría rescatar a la apoptosis inducida en anisomicina.

La exposición al péptido conduce a un aumento intracelular en concentración de AMPc y los inhibidores competitivos de la PKA bloquean consistentemente los efectos neuroprotectores. La Neuroprotección también se obtuvo en hipocampo las neuronas expuestas a St1 ya sea recombinante o el péptido ST1230-245.

Interacciones de ST1-PrPC son responsables de la activación de vías ERK y tanto PKA. Este último interviene en la supervivencia neuronal, que se derogó por inhibidores de PKA, mientras que los inhibidores de ERK tienen ningún efecto. Por el contrario, la PKA y ERK vías se ha demostrado recientemente para actuar de manera sinérgica en la mediación procesamiento de la memoria a través de interacciones PrPc-laminina en la superficie neuronal.

Si bien la participación de señalización de PKA en la biología de PrPC se consolida, no es mucho menos evidencia en la literatura acerca de una posible participación de la fosfolípidos dependiente de serina / treonina proteína quinasa C (PKC).

KC también parece estar implicado en la mediación alargamiento del axón en neuronas de hipocampo de rata primarios expuestos a recombinante PrP,

KKDH.



como inhibidores de la PKC bloquean sus efectos sobre el crecimiento de neuritas. Por otra parte, una supuesta interacción entre PrP^C y la PKC se demostró por inmunoprecipitación en fracciones de proteína prión-enriquecida de las células granulares del cerebelo. Recientemente, un posible papel de PKC en el prion patógeno se describe en un modelo murino de EEB.

Proteína priónica y la vía PI3K/AKT.

Es principalmente involucrado en la regulación de procesos celulares fundamentales y en la progresión del cáncer. La primera evidencia de un efecto biológico mediado por la PrP^C a través de la cascada de PI3K/AKT fue proporcionado por Chen, que mostró que el inhibidor de PI3K, es capaz de bloquear la elongación axonal inducida por la proteína de fusión Fc-PrP.

En los años siguientes, el papel principal adscrito a la vía PI3K/AKT era transmitir señales neuroprotectores PrP^C dependientes en respuesta a diferentes lesiones.

El mismo grupo mostró más tarde que la sobreexpresión PrP^C podría reducir las áreas isquémicas, pero no cambiar después de la fosforilación de AKT.

También se detectó la fosforilación de AKT reducido en respuesta al estrés oxidativo en dos líneas celulares deficientes en PrP^C, HPL del hipocampo y células del neuroblastoma N2a, en comparación con la contraparte PrP^C. Curiosamente, los efectos de los PrP^C en la activación PI3/AKT parecen depender de la unión de cobre a través de la octapeptide repite la actividad neuroprotectora de la vía PI3K/AKT se ha demostrado como son deteriorados al exponerse al péptido neurotóxico PrP106-126 en células neuronales. La replicación de prion parece interferir con la síntesis de la proteína neuronal de factores de supervivencia, que es estimulada positivamente por PI3K.

KKDH.



Todos los datos experimentales describen un papel clave para la vía PI3K/AKT en el fenotipo TSE. De hecho, la interrupción de la señalización de PI3K podría explicar la muerte de la célula que ocurre en las enfermedades priónicas. Podría representar un objetivo terapéutico potencial para tratamientos.

Proteína priónica y señalización de calcio.

La señalización de calcio intracelular es un regulador universal y versátil de muchos procesos celulares. Varios agonistas extracelulares son capaces de activar y aumenta la concentración intracelular de calcio mediante la apertura de canales selectivos que se encuentra en la membrana de la célula y en las membranas de los organelos celulares.

Especialmente para las neuronas, las fluctuaciones locales de calcio son importantes para los sinaptogénesis, la transmisión sináptica, la plasticidad y la supervivencia celular.

Esta hipótesis fue corroborada por varias observaciones experimentales. Sinaptosomas tratados con combinaciones de PrP y un aumento de dosis - dependiente en la concentración intracelular de calcio que se encuentra completamente bloqueado por cloruro de gadolidium, un potente inhibidor sensible al voltaje los canales de calcio. La proteína PrP recombinante también se demostró para modular los canales de calcio sensibles al voltaje en las células granulares del cerebelo primario.

Ambas hipótesis, marcan que el control directo de la homeostasis del calcio a través de la modulación de la actividad de los canales de calcio en la membrana celular o el control indirecto a través regulación de la expresión de proteínas relacionadas con el calcio en el citosol , parece realista . No se excluye que ambos mecanismos pueden concurrir a la final regulación ejercida por PrPC.

KKDH.



Otra prueba de la estrecha relación entre la biología de priones y señalización de calcio es que las enfermedades priónicas se caracterizan por alteraciones en la homeostasis del calcio. No es de extrañar que el dismetabolismo de calcio sea una común característica de diversas enfermedades neurodegenerativas.

Fueron los primeros en demostrar que la infección por priones, disminuye constantemente o totalmente el bloqueo de calcio aumenta tras el tratamiento bradiquinina.

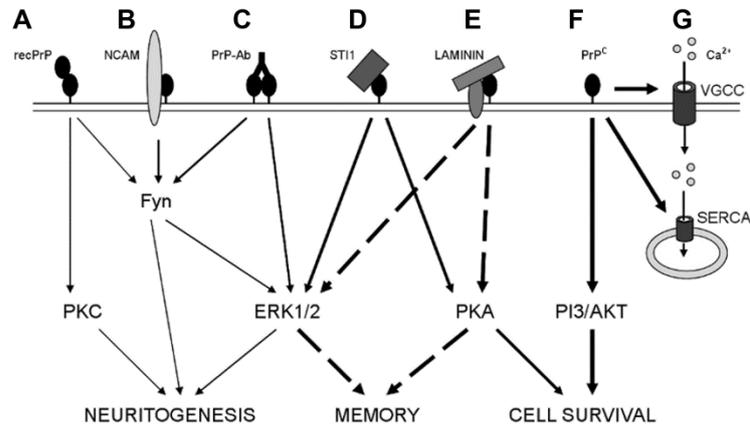
La identificación de las actividades celulares en los que participa PrPC se ayuda también en la definición de los mecanismos moleculares de la neurodegeneración provocada por su contraparte patológica. Sin embargo, la lección que podemos aprender de los estudios de todas las vías controladas por PrPC no es completamente interesante y esto nos ayuda interesarnos más sobre sus mecanismos y que falta mucho por descubrir²⁶.

En efecto, el análisis de todo el cuerpo de evidencia experimental no conduce a una conclusión de un papel inequívoco para PrPC en la señalización celular.

Un considerable número aparentemente de diferentes procesos celulares parecen estar modulada por PrPC a través de diferentes vías. Sin embargo, si centramos nuestra atención en los aspectos comunes compartidos por las diferentes cascadas o vías, se puede explicar razonablemente que la actividad PrPC es de alguna manera beneficiosa para el organismo y su ausencia hace que las células se comporten más vulnerables en diferentes tipos de estrés.

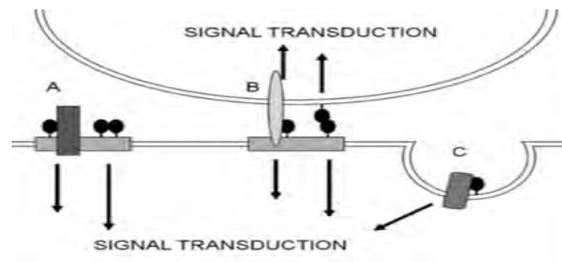
En particular, la PrPC parece promover la diferenciación y supervivencia de las células neuronales y células no neuronales a través de múltiples vías. En este sentido, se puede especular que la pérdida de función de PrPC (debido a la conversión de PrPc-PrPSc) también podría contribuir al fenotipo EET en lugar de la única actividad neurotóxica de PrPSc. (Fig. 24).

KKDH.



(Fig. 24) **DIFERENTES VÍAS DE SEÑALIZACIÓN CELULAR & MOLECULAR BIOLOGY LETTERS**, <http://www.cml.org.pl> Received: 23 October 2012 Volume 18 (2013) pp 209-230.Final form accepted: 18 February 2013 DOI: 10.2478/s11658-013-0085-0.Published online: March 2013 © 2013 by the University of Wrocław, Poland.

La proteína priónica celular funciona como un andamio de proteínas en la membrana celular. Es capaz de interactuar con diferentes parejas de unión en la superficie celular y que participa en diferentes cascadas de señalización puede ser contratado en las interacciones homofílicas y heterofílicas, ya sea en la forma cis (A) o en trans (B). De acuerdo con los estímulos, también puede ser reclutado fuera de lípidos balsas de membrana en diferentes sub-dominios, tales como el compartimiento endocítica (C)²⁷(Fig.25).



(Fig. 25) **TRANSDUCCION DE SEÑALES CELULAR & MOLECULAR BIOLOGY LETTERS**, <http://www.cml.org.pl> Received: 23 October 2012 Volume 18 (2013) pp 209-230.Final form accepted: 18 February 2013 DOI: 10.2478/s11658-013-0085-0.Published online: March 2013 © 2013 by the University of Wrocław, Poland.

(26) CELLULAR & MOLECULAR BIOLOGY LETTERS, Received: 23 October 2012 Volume 18 (2013) pp 209-230 Final form accepted: 18 February 2013 DOI: 10.2478/s11658-013-0085-0 Published online: March 2013 © 2013 by the University of Wrocław, Poland, PRION PROTEIN AND ITS ROLE IN SIGNAL TRANSDUCTION ALESSANDRO DIDONNA* Davee Department of Neurology, Feinberg School of Medicine Northwestern University, E 303 Chicago Ave, Chicago, IL 60611, U.S.A.

KKDH.



CAPÍTULO 3

CÁNCER Y PRIONES.

Se sospecha que una proteína "prion" sería culpable de la difusión del cáncer en el organismo. Según Mike Scott, investigador en priones de la Universidad de California, cree que hay antecedentes experimentales que permiten pensar que en algunos tipos de cáncer, al igual que los priones de las vacas locas o la enfermedad de Creutzfeld-Jacob se malformaría una proteína, adquiriendo las características de prion.

Se sabe que en la enfermedad de las vacas locas, una proteína denominada PrPc, por alguna razón desconocida, cambia su forma (PrP), haciéndose resistente a la temperatura y a la digestión enzimática pasando por la cavidad bucal y viaja por el torrente sanguíneo tomando la ruta hacia el sistema nervioso ya que se aglutina en las células nerviosa, llegando a destruirla.

Un mecanismo semejante parece que se produce también en algunos tipos de cáncer. James Morre y sus colaboradores de la Universidad de Indiana, han descubierto en células cancerosas, una proteína llamada tNOX, que llega a comportarse como un prion. Es decir, cambia en la forma a una proteína diferente, y se hace resistente a la temperatura y a la digestión enzimática, pero manteniendo toda su actividad. También como un prion ésta se aglutina en la célula.

3.1 CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS.

Morre encuentra una alta concentración de esta proteína en células de personas cuyo cáncer se ha extendido a todo el cuerpo (metástasis). Por eso piensa que algo tiene que ver con la capacidad de formar metástasis²⁸.

(28) Los priones también en el cáncer (Publicado en Revista Creces, Agosto 2001). <http://www.creces.cl/new/index.asp?tc=1&nc=5&imat=&art=1127&pr=>

KKDH.



En el cáncer bucal de células escamosas tiene el mismo comportamiento que en el cáncer de cualquier parte de nuestro cuerpo por lo tanto es importante tener conocimiento sobre estas proteínas principalmente en su estado patológico ya que es incontrolable e incurable.

El cáncer es una enfermedad con muchas causas diferentes, incluyendo las mutaciones genéticas y retrovirus infeccioso. En los últimos años, se han encontrado muchos enlaces entre los priones y diversos tipos de cáncer.

En 2009, los investigadores encontraron un biomarcador príon de cáncer de páncreas y en otro informe se demostró que los anticuerpos de la proteína del príon (PrP) se desaceleró el ritmo de crecimiento tumoral en el cáncer de colon²⁹.

Los priones, los agentes causales de las vacas locas y otras enfermedades, son partículas infecciosas muy singulares. Son proteínas en la que el complejo de plegamiento tridimensional molecular acaba de ir por mal camino. Por razones que no se entienden, el mal plegamiento de los priones está asociado a su capacidad de secuestrar sus contrapartes normales e inducirlos a adoptar también una conformación del mal plegamiento. La multitud cada vez mayor de proteínas mal plegadas forman agregados, se observan en enfermedades como el Parkinson y el Alzheimer. Una vez plegado incorrectamente, una proteína ya no puede ejercer sus funciones normales en la célula. Ahora, un grupo liderado por el Dr. Jerson Lima Silva de la Universidad Federal de Río de Janeiro, Brasil, se presenta una nueva evidencia de que la p53, una proteína con la difícil tarea de la formación del tumor supresor en el cuerpo, puede mostrar un comportamiento típico de príon como cuando muta.

(29) El Prion Enlace al cáncer De Theresa Phillips ,ex Guía de About.com 24 de septiembre 2010. <http://biotech.about.com/b/2010/09/24/the-prion-link-to-cancer.htm>.

KKDH.



Se ha sabido por algún tiempo que la acumulación del p53 en la célula afecta la proteína en la prevención de crecimiento del tumor. Esto se ha observado en el neuroblastoma, retinoblastoma, cáncer de mama, y cáncer de colon. En un documento titulado "agregados p53 mutante en oligómeros amiloides, y fibrillas: Implicaciones para el cáncer", se muestra que en líneas celulares de cáncer de mama con la mutación p53 más común, la formación amiloide como agregados de proteínas p53 puede explicar la falta de función de la proteína.

Si este comportamiento de prión ha hecho representar un mecanismo relevante relacionado con el cáncer queda por demostrar³⁰.

La Resistencia contra la apoptosis por la proteína priónica celular es dependiente en su estado de glicosilación en células de cáncer 174T orales HSC-2 y el colon LS. Los N-glicanos juegan un papel estructural confiriendo la estabilidad de las proteínas a los que están unidos que la inhibición de glicosilación en N-ligando, la conversión de PrPc a PrPsc se produce más fácilmente.

Se espera PrPc con dos glicanos ligados a N sirve para aumentar la barrera de energía libre en el estado de transición y retrasa la conversión.

Reportaron que las moléculas de PrP con propiedades similares a PrPsc tales como no iónico insoluble como el detergente y parcialmente resistente a digestión por proteinasa K se han generado sobre la mutación de sitios de consenso de glicosilación (AsnXaaThr) o por tratamiento con tunicamicina (TUN) en las células que expresan la combinación de PrPc. Esto sugiere que la ausencia de N-ligada favorece la probabilidad de la secuencia de PrPc adoptando una conformación de hoja-beta.

(30) Back to EurekAlert, Fecha de lanzamiento público: 25-Jun-2012, Contacto: Jerson Lima Silva jerson@bioqmed.ufrj.br, Publicase Comunicação Científica. http://www.eurekalert.org/pub_releases/2012-06/pcc-pac062512.php

KKDH.



El inicio de la apoptosis en PrPc en glicosilación ligada a Na a través de la inhibición por vía TUN se ha descrito extensamente en unos pocos estudios, aunque el enfoque utilizado puede no es similar.

Algunas de las funciones propuestas principales de PrP C incluyen la protección contra la apoptosis y el estrés oxidativo, la supervivencia celular, la proliferación y la diferenciación, así como la captación celular o unión de los iones de cobre, de señalización transmembrana, la formación y el mantenimiento de las sinapsis y la adhesión a la matriz extracelular.

También han surgido Varias líneas de evidencia cautivantes que significa que desempeña un papel esencial en la biología del cáncer.

Por otra parte se demostró que la PrPc es altamente expresado en tejidos de cáncer gástrico metastásico, y la proteína exhibe un efecto de promoción de la invasión que implica la activación de MEK [MAPK] (proteína quinasa activada por mitógenos) / ERK (quinasa extracelular regulada por señal) vía / ERK y transactivación de MMP11 (metaloproteinasas de matriz-11).

Teniendo en cuenta la insinuación de PrPc en la biología del cáncer, hay tres líneas celulares de cáncer, carcinoma de células escamosas orales (HSC-2), el adenocarcinoma de células renales (ACHN) y adenocarcinoma colorrectal (LS174T), fueron elegidos como modelos para estudiar el papel de la PrPc en el cáncer y su la biología, en particular la resistencia contra el estímulo apoptótico, TNF α . Los ensayos de viabilidad celular, la expresión de marcadores de apoptosis y análisis del ciclo celular se llevaron a cabo³².

(31) Contents lists available at ScienceDirect Cancer Letters journal homepage: www.elsevier.com/locate/canlet Resistance against apoptosis by the cellular prion protein is dependent on its glycosylation status in oral HSC-2 and colon LS 174T cancer cells Yeannie Hui-Yeng Yap, Yee-How Say \uparrow Department of Biomedical Science, Faculty of Science, Universiti Tunku Abdul Rahman (UTAR) Perak Campus, 31900 Kampar, Perak, Malaysia.

(32) *Biología Celular Internacional* (2012) 36, 273-277 (Impreso en el Reino Unido) Citando artículos Resistencia contra el factor de necrosis tumoral α la apoptosis por la proteína priónica celular es específico de la célula para la administración oral, colon y líneas celulares de cáncer de riñón Yeannie Hui-Yeng Yap y Yee Departamento de Ciencias Biomédicas de la Facultad de Ciencias, Universiti Tunku Abdul Rahman UTAR Perak Campus, Jalan Universiti, Bandar Barat, 31900 Kampar, Perak, Malasia. <http://www.cellbiolint.org/cbi/036/0273/cbi0360273.htm>.

KKDH.



CAPÍTULO 4

POSIBLES USOS DE (DIANA TERAPÉUTICA).

La comunidad científica dirige sus esfuerzos para encontrar un medicamento que cumpla con el principio farmacológico de traspasar la barrera hematoencefálica y sea capaz de impedir la conversión de la proteína priónica normal en proteína anormal. Con estos fines han sido utilizados ciertos tipos de medicamentos ya conocidos en el tratamiento de enfermedades neurológicas, estos son derivados de la quinacrina y la clorpromazina, utilizados en el tratamiento de la malaria y la esquizofrenia, respectivamente³³.

Estudios recientes in vitro han indicado que los anticuerpos monoclonales anti-PrP, con escasa o nula afinidad por la PrPsc, pueden prevenir la incorporación de PrPc a los priones infectantes. Igualmente estos estudios mostraron un efecto similar in vivo. Estos hallazgos son esperanzadores y señalan a las estrategias inmunoterapéuticas en humanos como una posibilidad de tratamiento para las enfermedades por priones.

En consecuencia, no existe actualmente un tratamiento que cure, mejore o controle las manifestaciones clínicas de estas enfermedades. Además los ensayos con los medicamentos mencionados y con anticuerpos monoclonales en modelos animales, se han probado la amantadina, los esteroides, el interferón, el aciclovir, diversos agentes antivirales y antibióticos; sin embargo, ninguno ha demostrado claramente su eficacia³⁴.

(33) Korth C, May BCH, Cohen FE, Prusiner SB. Aeridine and phenothiazine derivatives as pharmacotherapeutics for prion disease. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98: 9836 –41.

(34) White AR, et al. Monoclonal antibodies inhibit prion replication and delay the development of prion disease. Nature 2006 Hernández FAA, Céspedes CG, González AJE. Enfermedades priónicas en humanos. Gac Med Caracas 2002; 110 (<<http://www.anm.org>>[consulta:16 febrero 2008]3; 422: 80 – 3.

KKDH.



CONCLUSIÓN:

Se sabe que una proteína priónica es una proteína con una mutación o mal formación en su estructura terciaria, los priones son pequeñas partículas proteináceas infecciosas que resisten la inactivación por procedimientos que destruyen a los ácidos nucleicos, inactivan a los virus y son susceptibles a los tratamientos que desnaturalizan proteínas.

Se sabe que las enfermedades por priones son trastornos neurodegenerativos transmisibles que afectan a un amplio rango de animales y al humano.

La patogenia de estas enfermedades se ha asociado a la acumulación de agregados de componentes mal plegados de la proteína priónica celular codificada por el hospedador. Los procesos moleculares que derivan en la conversión de PrP(C) en PrP(Sc) los cuales aún siguen bajo investigación.

Se han encontrado correlaciones entre polimorfismos de la proteína priónica y la enfermedad, pero se desconoce la influencia de dicho cambio o mutación en los procesos de conversión.

Aunque se han reportado algunos casos atípicos, las enfermedades priónicas se adquieren básicamente por ingesta o exposición a ambientes contaminados.

Las encefalopatías espongiformes pueden ser adquiridas, hereditarias o idiopáticas.

Por medio de diversos estudios se ha encontrado que los priones tienen una relación en ciertos tipos de cáncer, lo cual no permite que los tratamientos contra enfermedades cancerosas tengan un efecto positivo, por lo que diversos estudios han encontrado que la sobreexpresión de PrPc confiere resistencia a la apoptosis inducida por TNF α ,

KKDH.



Aunque los mecanismos exactos involucrados no se han explorado ampliamente. La aclaración de las funciones fisiológicas de PrPc ayudará a arrojar luz no sólo sobre los mecanismos de las enfermedades priónicas patogénicas sino también en la biología del cáncer.

Sería relevante mencionar la importancia de la esterilización adecuada en el campo de la odontología para evitar las infecciones cruzadas, causadas no solo por virus y bacterias sino también por estas partículas infecciosas y peligrosas al igual que su propagación en el medio ambiente.

La proteína PrPc puede ser controlada si se combate o ataca antes de la conversión a PrPsc. Aunque en la actualidad no se haya descubierto la cura de esta proteína en su estado patológico es de vital importancia la existencia de esta partícula mortal y que puede ser comparada con virus y bacterias.

KKDH.



GLOSARIO:

Prp: Es un tipo de proteína patógena (es decir, una molécula compleja que induce enfermedades), más específicamente una psialoproteína patógena, la cual tiene alterada su estructura secundaria, teniendo un incorrecto plegamiento de su estructura terciaria.² A diferencia del resto de los agentes infecciosos (virus, bacterias, hongos etc...), que contienen ácidos nucleicos (ya sea ADN, el ARN, o ambos), un prion sólo está compuesto por aminoácidos y no presenta material genético.

Prpc: Proteína priónica celular.

Prpsc: Prión scrapie, responsable de la patogénesis de las EET (encefalopatías espongiformes transmisibles), incluyendo la EEB (encefalopatía espongiforme bovina) en el ganado y la ECJ (enfermedad de Creutzfeldt-Jakob) en los seres humanos.

EET: Enfermedad espongiforme transmitible

Microglia: Microgliales o células de Hortega son células pequeñas con núcleo alargado y con prolongaciones cortas e irregulares que tienen capacidad fagocitaria, que forman parte del conjunto de células neurogliales del tejido nervioso.

Dicroísmo circular: es una técnica espectroscópica de absorción que provee información acerca de la estructura de macromoléculas biológicas.

Lumen del retículo: Túbulos aplanados formados por una membrana que rodea la luz.

Intrón: Es una región del ADN que debe ser eliminada de la transcripción primaria de ARN, a diferencia de los exones que son regiones que codifican para una determinada proteína. Los intrones son comunes en todos los tipos de

KKDH.



ARN eucariota, especialmente en los ARN mensajeros (ARNm), además pueden encontrarse en algunos ARNt y ARNr de procariontes.

Exón: Es la región de un gen que no es separada durante el proceso de corte y empalme y, por tanto, se mantienen en el ARN mensajero maduro. En los genes que codifican una proteína, son los exones los que contienen la información para producir la proteína codificada en el gen.

Endosómico: Ruta para los antígenos exógenos.

Confórmero: Cada una de las estructuras de un mismo compuesto que se obtienen al girar, alrededor de enlaces simples, la parte de la molécula situada a un lado del enlace con respecto a la localizada al otro lado del mismo.

Isoforma: Es una de las distintas formas de la misma proteína. Las distintas formas de una proteína podrían ser generadas por genes relacionados, o podrían generarse por el mismo gen a través del proceso de splicing alternativo, o maduración diferencial. Un número importante de isoformas son debidas a polimorfismos de nucleótido simple o SNP (del inglés Single Nucleotide Polymorphism), pequeñas diferencias entre alelos de un mismo gen que tienen lugar en posiciones específicas (e individuales) de un mismo gen.

GPI: glicosil-fosfatidilinositol.

Glicocilación: o también llamado glucosilación es un proceso bioquímico en el que se adiciona un glúcido a otra molécula.

Esfingolípido: o también llamado esfingofosfolípidos son lípidos complejos que derivan del aminoalcohol insaturado de 18 carbonos esfingosina; la esfingosina se halla unida a un ácido graso de cadena larga mediante un enlace amida formando la ceramida. Son una clase importante de lípidos de las membranas celulares de animales y vegetales y son los más abundantes en los tejidos de los organismos más complejos.

KKDH.



Fagolisosoma: Cuerpo citoplásmico formado por la fusión de un fagosoma o partícula ingerida con un lisosoma que contiene enzimas hidrolíticas. Las enzimas digieren la mayor parte del material incluido en el fagosoma.

Factor de necrosis tumoral (TNF): es una proteína del grupo de las citocinas liberadas por las células del sistema inmunitario que interviene en la inflamación y la destrucción articular secundarias a la artritis reumatoide, así como en otras patologías.

Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α): es miembro de un grupo de otras citocinas que estimulan la fase aguda de la reacción inflamatoria. Es una hormona glucopeptídica formada por 185 aminoácidos, que procede de un propéptido formado por 212 aminoácidos. Algunas células sintetizan isoformas más cortas de la molécula. El gen de TNF está ubicado en el cromosoma 6, región 6p21.

MEK [MAPK]: (proteína quinasa activada por mitógenos).

ERK: (quinasa extracelular regulada por señal)

MMP11: (metaloproteínasa de matriz-11).

KKDH.