



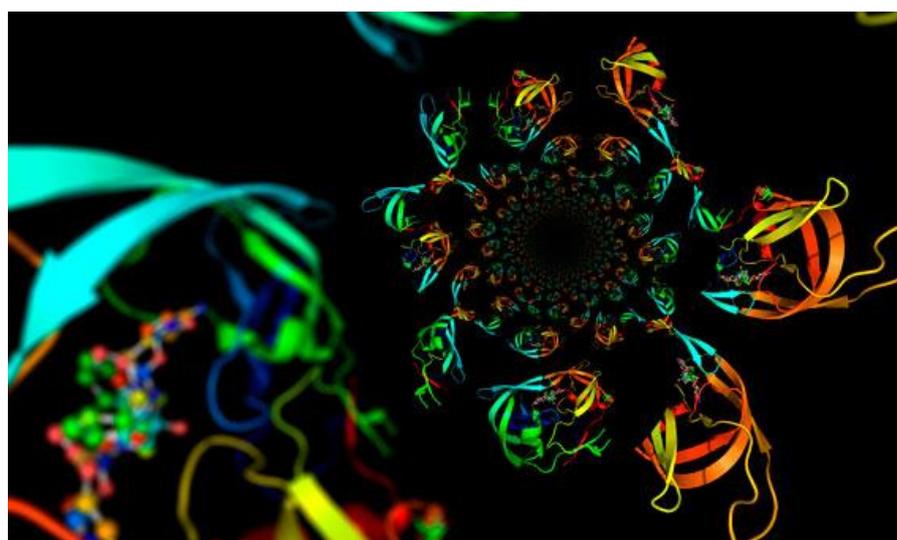
UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

CARACTERÍSTICAS Y FUNCIONES DE LAS

PROTEÍNAS INTRINSECAMENTE

DESESTRUCTURADAS



Cristina Rodríguez Saucedo



Trabajo de fin de grado

FACULTAD DE FARMACIA

GRADO EN FARMACIA

CARACTERÍSTICAS Y FUNCIONES DE LAS PROTEINAS

DESESTRUCTURADAS

Cristina Rodríguez Saucedo

Sevilla, Septiembre 2016

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

Tutora: Elisa Revilla Torres

Revisión Bibliográfica

RESUMEN

Las proteínas son macromoléculas que están presentes en casi todos los procesos que tienen lugar en el organismo. Siempre se ha creído que la desestructuración de una proteína conllevaba a la pérdida de su función, pero se ha podido comprobar que esto no es así. Existen proteínas intrínsecamente desestructuradas (PDIs), que van a tener una elevada flexibilidad, la cual les va a permitir adoptar estructuras desordenadas, esto no implica que no tengan una función.

Aunque durante mucho tiempo la falta de plegamiento se consideraba una patología, se sabe ahora que ese rasgo no impide necesariamente la operatividad de la proteína. De hecho, a menudo resulta crucial para su funcionamiento.

Las proteínas intrínsecamente desestructuradas son abundantes en organismos superiores, juegan un papel importante en la regulación de los organismos pluricelulares y su función depende de su flexibilidad. Esta plasticidad permite la integración de de señales complejas y la capacidad de evolucionar hacia nuevas funciones.

En los últimos años se ha hallado una clara relación tanto en la prevención como en el desarrollo de diversas enfermedades y proteínas intrínsecamente desestructuradas. En humanos, se han relacionado con IDPs enfermedades tan comunes como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas, el sida, la obesidad, la diabetes y la amiloidosis. Pero no todas las proteínas desestructuradas tienen efectos negativos para el organismo, así, la p53 (proteína parcialmente desestructurada) y p27 (proteína totalmente desestructurada) que intervienen en el control y regulación del ciclo celular.

Palabras claves: **estructura, proteínas, desestructuradas, relación estructura - función.**

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. OBJETIVOS.....	6
3. METODOLOGÍA.....	6
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	7
4.1. PROTEÍNAS INTRINSECAMENTE DESESTRUCTURADAS.....	7
4.2. MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN.....	7
4.3. CARACTERÍSTICAS GENERALES.....	8
4.4. EVOLUCIÓN.....	9
4.5. FUNCIONES DE LAS PDIS.....	10
4.5.1. PDIs: Regulación del ciclo celular, cáncer y apoptosis.....	11
4.5.2. PDIs y enfermedades neurodegenerativas.....	21
4.5.3. Otras PDIS.....	26
5. CONCLUSIONES.....	28
6. BIBLIOGRAFÍA.....	29

1. INTRODUCCIÓN

Las proteínas son las macromoléculas más abundantes del organismo, participan prácticamente en todos los procesos que tienen lugar en el mismo. Hay una gran diversidad de proteínas; el conjunto de ellas, que se encuentran en una célula en unas condiciones determinadas se denomina proteoma. Esta gran diversidad funcional debe a su diversidad estructural. Cada proteína va a tener una disposición de todos sus átomos que viene determinada por su secuencia de aminoácidos, en la cual es funcional. En el plegamiento específico de cada proteína intervienen las características físicas del entorno así como la presencia de compuestos simples o complejos que las estabilizan en dicha conformación estructural, la más estable y la de menor energía. A esta estructura se le denomina conformación nativa. Para alcanzar su conformación la proteína nativa debe plegarse durante y/o después de su síntesis. Cambios pequeños en el entorno de la proteína pueden acarrear cambios estructurales capaces de afectar a la función. Las estructuras proteicas han evolucionado para funcionar en entornos celulares concretos. Condiciones diferentes a las de la célula pueden provocar cambios grandes y pequeños en la estructura de la proteína. La pérdida de estructura tridimensional suficiente para originar la pérdida de la función se denomina desnaturalización. En la mayoría de condiciones las proteínas desnaturalizadas existen como un conjunto de estados parcialmente plegados de los que se sabe muy poco. Algunas proteínas experimentan un plegamiento asistido por la acción de las chaperonas moleculares (proteínas que interaccionan con polipéptidos parcial o incorrectamente plegados, facilitando rutas de plegamiento correctas o aportando microentornos en los que tenga lugar el plegamiento). (Nelson y Cox, 2006) A partir del descubrimiento de las primeras estructuras cristalográficas comenzó a establecerse la idea de que la función de cada proteína depende en gran medida de su estructura tridimensional, a tal grado que se postuló que: *para que una proteína sea funcional, debe poseer una estructura tridimensional bien definida*, idea que por muchos años ha prevalecido en muchas áreas de la ciencia. El paradigma de estructura-función fue totalmente aceptado por la comunidad científica durante muchos años. Los conceptos de estructuras secundarias como hélices alfa y láminas beta fueron ampliamente utilizados y se aceptaron como las unidades estructurales fundamentales de las

proteínas. Sin embargo a lo largo del tiempo se han encontrado proteínas a las cuales no se les ha podido asignar, con las metodologías especializadas, alguna estructura secundaria conocida, lo que generó la noción de que existen proteínas que carecen de una estructura estable; es decir, que poseen una “estructura o plegamiento azaroso”. A medida que ha aumentado el número de estructuras cristalográficas descritas, también han aumentado el número de proteínas con regiones con plegamientos azarosos, que varían en longitud y en número en una misma proteína. Esto ha sido un reto para el concepto clásico de estructura-función, ya que de acuerdo a este concepto, estas proteínas no tendrían función alguna; sin embargo ya se demostró que proteínas en las que abunda este tipo de plegamiento están involucradas en diferentes vías de señalización, algunas otras funcionan como factores transcripcionales, o bien son proteínas abundantes en algunos tejidos de diferentes organismos. Este cúmulo de evidencias, junto con el hecho de que son proteínas comunes en todas las especies ha llevado a abrir una nueva sección en el capítulo estructura-función de las proteínas, en el que se incluyen a este nuevo grupo de proteínas como “proteínas intrínsecamente desestructuradas”(PIDS o IDPS, DEL INGLÉS Intrinsically Disordered Proteins) o “proteínas no estructuradas” (PINEs o IUPs del inglés Intrinsically Unstructured Proteins). Estas proteínas pueden contener regiones desordenadas y ser así parcialmente desordenadas, o carecer de un plegamiento estructurado en su conjunto. (Cuevas y Covarrubias, 2011). Las PDI / IDPRs son estructuralmente heterogénea, sus funciones pueden surgir a partir de una forma desordenada específica, de interconversión entre las formas desordenadas, y de transiciones entre desordenado a ordenada u ordenado a los estados desordenados. Además, un plegamiento dependiente de molde de algunas PDI define su capacidad para unirse a múltiples parejas, ganando estructuras muy diferentes en el estado de enlace, y no por ser capaz de poseer funciones no relacionadas, incluso opuestas. (Uversky, 2015). Sorprendentemente, algunos ejemplos de proteínas que en condiciones fisiológicas carecen de aparente estructura pero que realizan conocidas funciones, han ido apareciendo en la literatura científica en las últimas décadas. Estos ejemplos fueron en principio ignorados principalmente por desviarse del dogma estructura-función y sólo hace aproximadamente 10 años se ha empezado a aceptar la posibilidad de que proteínas sin estructura (desordenadas) puedan ser funcionales. (De Alba, 2012) (Figura 1)

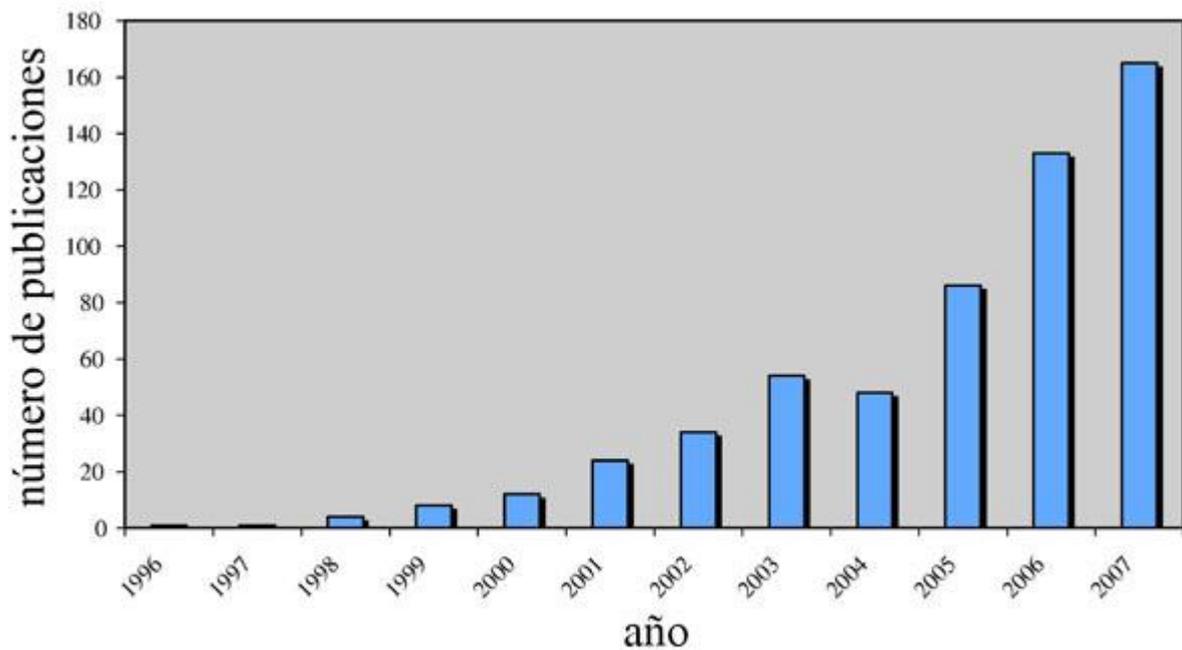


Figura 1. Aumento del interés en proteínas desordenadas desde 1996 reflejado en el número de publicaciones científicas. (De Alba, 2012).

Trabajos experimentales de finales del siglo XX han demostrado desordenes estructurales en proteínas y dominios de proteínas. En 1950, la espectroscopia de Raman mostró que la caseína de la leche no estaba plegada. Muchas proteínas no se podían cristalizar, pero estos problemas no tuvieron mucho peso porque muchas proteínas de las que se sabe la estructura, no se pudieron cristalizar. Dispersiones de proteína con rayos X de ángulo pequeño indicaron un inesperado gran tamaño, lo que ahora se sabe que era consecuencia de regiones sin estructura. También, un gran número de proteínas desarrollaron un comportamiento extraño, ya que a diferencia de las proteínas estructuradas, eran resistentes al calor.

2. OBJETIVOS

Los objetivos de la revisión bibliográfica realizada en el presente TFG han sido obtener conocimientos sobre el paradigma de las proteínas estructura-función. También se analizará la información necesaria sobre la desestructuración de una proteína, que puede llevar a diferentes funciones, algunas relacionadas con diferentes patologías. Como último objetivo, se pretende aprender a manejar fuentes bibliográficas, ser capaz de elaborar un trabajo y tener la capacidad de exponerlo con la ayuda de la realización de una presentación con diapositivas.

3. METODOLOGÍA

Anteriormente a la búsqueda de la bibliografía sobre el tema asignado para el TFG, comenzamos consultando libros sobre Bioquímica general y haciendo una lectura comprensiva de los conceptos generales y básicos de las proteínas. Para esto hemos usado diferentes libros. Cuando ya teníamos las ideas generales del tema, se unió la búsqueda a través de internet, usando el buscador Pubmed que nos proporciona la base de datos MEDLINE elaborada por la Biblioteca Nacional de Medicina de Estados Unidos. Usamos artículos disponibles que fueran completos y gratuitos y también buscamos a través de páginas de internet. Para nuestra búsqueda usamos palabras claves como por ejemplo: las siglas PDIs, proteína, regla estructura función, proteínas intrínsecamente desestructuradas, proteína. Y optamos por artículos que según nuestro punto de vista tenían más información y más valor para este tema y los que fueran más recientes.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 .PROTEÍNAS INTRÍNSECAMENTE DESESTRUCTURADAS

4.2. MÉTODO DE IDENTIFICACIÓN DE LAS PDIS.

La razón por la que las PDI's no se habían descubierto antes es porque para determinar la estructura tridimensional de una proteína se usaban métodos bioquímicos clásicos en los que había que homogeneizar la muestra donde se encontraba la proteína de interés. Al homogeneizar se dejan expuestas todas las proteínas a proteasas, y las que tengan dominios desordenados serán mucho más sensibles a estas condiciones y por lo tanto más difícil de estudiar.

Las proteínas plegadas se pueden “ver” por difracción de Rayos X, así se han obtenido la mayor parte de las estructuras de proteínas. Para ello las proteínas deben formar cristales. Un cristal está formado por millones de moléculas idénticas ordenadas y empaquetadas de forma compacta .Podemos comparar un cristal con una formación de soldados uniformados o un panal de abejas formado por numerosas celdas idénticas. El éxito de la difracción de rayos X llevó a imaginar que todas las proteínas existentes adoptan una estructura tridimensional bien definida en su forma nativa. Ocasionalmente, se encontraban proteínas con comportamientos “anómalos” en el sentido que parecían no estar plegadas, pero eran consideradas casos patológicos o posibles artefactos experimentales. La investigación de casos aparentemente excepcionales, llevo a desarrollar herramientas informáticas capaces de predecir a partir de su secuencia, si una proteína adoptaría o no, una estructura tridimensional bien definida. Las proteínas desestructuradas, no forman cristales y por tanto son invisibles para la difracción de Rayos X.

Otro método especializado para las PDI's sería la espectroscopia RMN de donde obtenemos una información más completa sobre la frecuencia de dominios desordenados, con este método no necesitamos cristalizar.

Otro método utilizado es la espectroscopia de dicroísmo circular, donde tampoco hace falta cristalizar pero este método tiene la desventaja que no sirve para aquellas proteínas que contengan tanto regiones ordenadas como desordenadas.

También podemos llevar a cabo la identificación mediante la digestión con proteasas, se sabía que la digestión por proteasas daba información sobre la estructura de las proteínas y de su flexibilidad, una hipersensibilidad a las proteasas es una gran evidencia que se trata de una proteína intrínsecamente desordenada, este método es útil combinado con los anteriores ; otra manera de identificación en la determinación de radios de Stokes, donde radios anormalmente largos para un peso molecular determinado , dan evidencia de que se trata de una estructura desordenada. A través de estas técnicas, a veces a la combinación de varias de ellas, es en la actualidad donde está bien establecida la existencia de proteínas totalmente desestructuradas, es decir sin tener estructura terciaria definida y de otras proteínas parcialmente desestructuradas, es decir parte de la proteína tiene estructura bien definida y otra desplegada.

4.3. CARACTERÍSTICAS GENERALES

Las PDIs, en general, se caracterizan por una baja complejidad en su secuencia de aminoácidos. Tienen un bajo contenido en aminoácidos de tipo hidrofóbico (Val, Leu, Ile, Met, Phe, Trp), que suelen formar parte del esqueleto de proteínas globulares compactas, y tienen una alta proporción de aminoácidos cargados y polares (Gln, Ser, Pro, Gln, Lys y ocasionalmente aminoácidos no polares como son Gly y Ala). La desestructuración intrínseca de las PDIs se debe a peculiaridades aminoacídicas de su secuencia así pues, a menor contenido de aminoácidos hidrofóbicos y a mayor carga neta de la cadena peptídica, menor será la `probabilidad de plegarse de forma compacta. Cabe mencionar también que el grado de compactación de las PDI se ve afectado por otros factores como el contenido de prolina, la presencia de colas de histidinas y la propensión a formar estructura secundaria o complejos estables junto a otras moléculas. Estudios adicionales señalan que el tamaño de la proteína debe tenerse en cuenta como factor que afecta al grado de compactación. Este hecho se debe a la ampliación inespecífica de las interacciones débiles intramoleculares con un aumento del tamaño proteico. Sin embargo, aunque la longitud mayor comporte de

alguna forma a una mayor compactación, dicho efecto se aprecia mejor cuanto menor es el peso molecular de la proteína. (Yruela, 2014).

Las PDIs tienen unas características generales como que están ampliamente distribuidas, que abundan en eucariotas y procariotas, su estructura nativa no está organizada completamente, que presentan capacidad funcional. Son proteínas que se caracterizan por su falta de estructura terciaria estable. Su descubrimiento desafió el paradigma clásico de la estructura de las proteínas, que consideraba que una estructura bien definida era imprescindible para que la proteína pudiese desempeñar su función, así como que es la estructura lo que define esta función. A todas luces éste no es el caso de las proteínas intrínsecamente desestructuradas, que mantienen su funcionalidad a pesar de la falta de una estructura bien definida. Tales proteínas, en algunos casos pueden adoptar una estructura tridimensional definida tras su unión a otras macromoléculas. Existen diferentes factores que determinan su nivel de compactación. Las proteínas desplegadas participan en la regulación de los organismos superiores pueden adoptar un gran número de formas e interactuar con distintas moléculas para integrar respuestas complejas, mientras que las proteínas plegadas suele estar optimizadas para una tarea concreta. Las proteínas desordenadas pueden adquirir nuevas funciones más fácilmente que las proteínas plegadas, atrapadas en su diseño para una función determinada. Estas proteínas son sensibles a proteasas como ya hemos señalado anteriormente (Cuevas y Covarrubias, 2011).

4.4 EVOLUCIÓN

La presencia de proteínas total o parcialmente desestructuradas, la encontramos tanto en procariotas, como en eucariotas así suponen el 2% en arqueas, 4,2 % en bacterias y 33% en eucariotas. Cuanto más complejo sea el organismo mayor presencia de ellas habrá. La presencia de PDI está relacionada directamente con funciones específicas de las células. Con el aumento sustancial en eucariotas, se infiere el incremento de la proporción de genoma codificante para PDI según el organismo vaya ganando en complejidad. Además las células eucariotas pueden proteger las PDI contra la degradación mediante la compartimentalización de éstas en orgánulos. Una de las

hipótesis más favorecidas es la que considera que las PDIs son proteínas más flexibles, de tal forma que pueden adoptar diferentes estructuras funcionales que les permitirían reconocer ligandos diversos. Es posible incluso pensar que éste tipo de proteínas puede presentar un número mayor de interfases intermoleculares en un momento determinado que, en el caso de las proteínas ordenadas o globulares, implicaría que éstas fuesen mucho más grandes. Esto probablemente representó una restricción evolutiva pues el aumentar la capacidad funcional de las proteínas ordenadas o globulares por un aumento en su tamaño llevaría a un amontonamiento molecular en la célula, probablemente desventajoso para algunas funciones pues disminuiría el agua disponible, entre otros efectos.

De este modo, vemos como las PDI tienen preferencias estructurales dentro de su plegamiento, pues se ve un comportamiento diferenciado entre su estado nativo y el de desnaturalización. (Cuevas y Covarrubias, 2011)

4.5 FUNCIONES DE LAS PDIS

Aunque a primera vista parezca paradójico que las proteínas intrínsecamente desestructuradas tengan una función específica, está demostrado que si la tienen. Más de 30 tipos diferentes de funciones han sido atribuidas a las PDI, principalmente conectadas con el control del ciclo celular, la apoptosis y la regulación transcripcional y transduccional. Otras funciones relevantes serían el ensamblaje de complejos proteicos, la endocitosis y la regulación por fosforilación. En general, su función involucra la unión a un ligando, tales como otras proteínas, ácidos nucleicos o membranas. (Yruela, 2014).

Hay distintas hipótesis sobre las ventajas de las PDIs sobre las proteínas plegadas. Una hipótesis es la de que las PDIs son más flexibles, lo cual implicaría una mayor facilidad para su regulación y en cuanto a la unión de varios ligandos diferentes. Otra explicación, más sencilla propone que las proteínas desordenadas tienen grandes superficies de contacto intermoleculares, el tamaño de las cuales vienen dictadas por la función de la proteína. Las PDI no poseen un orden estructural genérico, pero a

menudo presentan signos de estructura local y limitada, los cuales podrían funcionar como puntos de contacto inicial con su molécula asociada. Generalmente, ese tipo de interacciones inducen el plegamiento ordenado de la zona previamente desestructurada, donde el ligando haría las veces de molde. Este mecanismo de unión al ligando presenta un coste entrópico a compensar, ya que supone un paso de desorden a orden de la PDI, una vez se une su molécula diana; el principal factor termodinámico estabilizador y conductor del proceso del plegamiento inducido, son las contribuciones entalpías favorables. Este modelo de plegamiento acoplado y unión frecuentemente da lugar a complejos de alta especificidad y baja afinidad, apropiados para la transducción de señales celulares, dado que este tipo de complejos no solo deben asociarse con especificidad, sino que deben aprender a disociarse una vez la señal haya sido transmitida.

4.5.1. REGULACIÓN DEL CICLO CELULAR, APOPTOSIS Y CÁNCER

Existen una serie de proteínas que intervienen en la **regulación del ciclo celular**, y tienen la función de impedir la proliferación celular. La mutación de los genes que las codifican y/o la pérdida de función de estas proteínas, resulta en la pérdida de control del ciclo celular y la incapacidad para detenerlo, (proliferación celular con errores). Por su acción normal, a los genes que codifican estas proteínas se les denominaron “genes supresores de tumores”. Las proteínas codificadas por estos genes actúan permitiendo o inhibiendo el progreso adecuado del ciclo celular. (Nelson y Cox, 2010).

Algunas PDIs tienen la capacidad de funcionar como interruptores; es decir, la interacción de una PDI en un estado conformacional dado, con una molécula diana determinada promueve que una vía de señalización se encuentre activa; sin embargo si el estado conformacional de la PDI cambia la vía se inactiva. Éste es el caso de las p21 y p27, las cuales pueden tener tanto efecto inhibitorio, como activador. (Cuevas y Covarrubias, 2011).

La **p27**, es una proteína totalmente desplegada, tiene un papel central en el control de la división celular en mamíferos. Carece de estructura definida, se enrolla alrededor de

varias enzimas protein quinasas dependientes de ciclinas que facilitan la división celular, inhibiéndolas (Nelson y Cox, 2010).

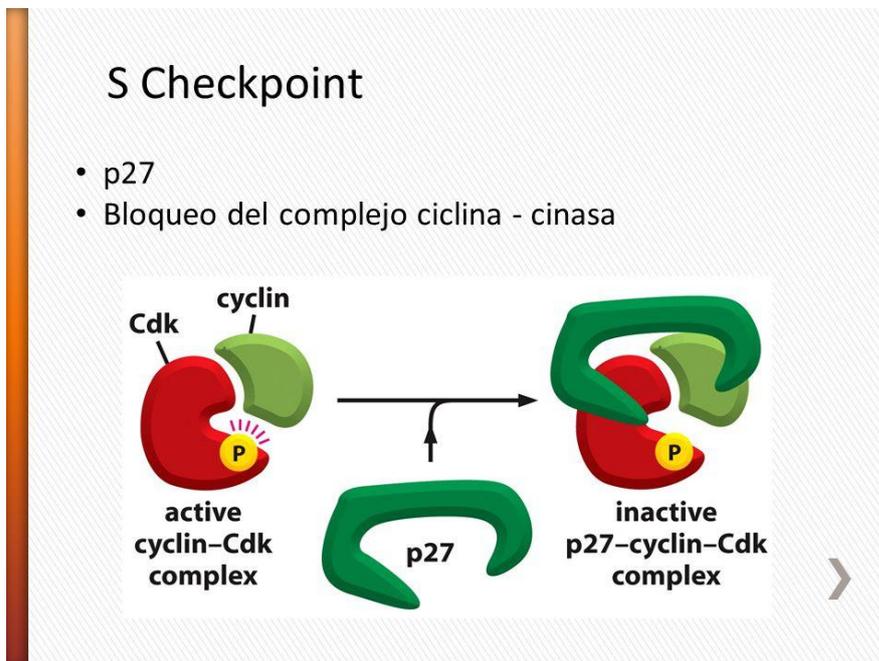


Figura 2 (Nelson y Cox, 2010)

La proteína p27Kip1 (p27) es un miembro de la familia Cip/Kip de inhibidores de los complejos ciclinas-cdks y está considerado un inhibidor general de estos complejos. Esta capacidad inhibidora está regulada por fosforilación de los residuos Y74, Y88 y Y89 de p27. Cuando estas tirosinas están fosforiladas, la capacidad inhibidora de p27 disminuye y el complejo ciclina-cdk unido a p27 pasa a ser parcialmente activo. Hay bastantes evidencias de que p27 está implicada en el desarrollo de tumores. Se ha observado que los tumores humanos con niveles bajos de p27 presentan un peor pronóstico. Los ratones p27 “Knock out” presentan adenomas espontáneos de pituitaria y son más susceptibles a la carcinogénesis química que los ratones normales. Además, los ratones “Knock in” p27CK- (portadores de un mutante de p27 que no interacciona con los complejos ciclinas-cdks y por lo tanto no los inhibe) manifiestan un fenotipo mucho menos maligno que los p27 “Knock out”, presentando múltiples tumores en diferentes lugares del organismo. Este hecho indica que el papel de p27 en la oncogénesis es independiente de su función reguladora de la actividad de las ciclinas-cdks.

Se han estudiado nuevas funciones de p27 independientes de cdks y que estén

implicadas en el desarrollo de tumores. Durante los últimos años se ha descrito que p27 es un regulador transcripcional que se encuentra asociado a unos 430 promotores de genes implicados en funciones como el procesamiento y “splicing” de los pre-mRNAs, la traducción, y la división celular. Estos genes diana de p27 se pueden dividir en dos grupos según estén regulados también por factores de transcripción de la familia ETS o por los complejos p130/E2F4. (Figura 3).

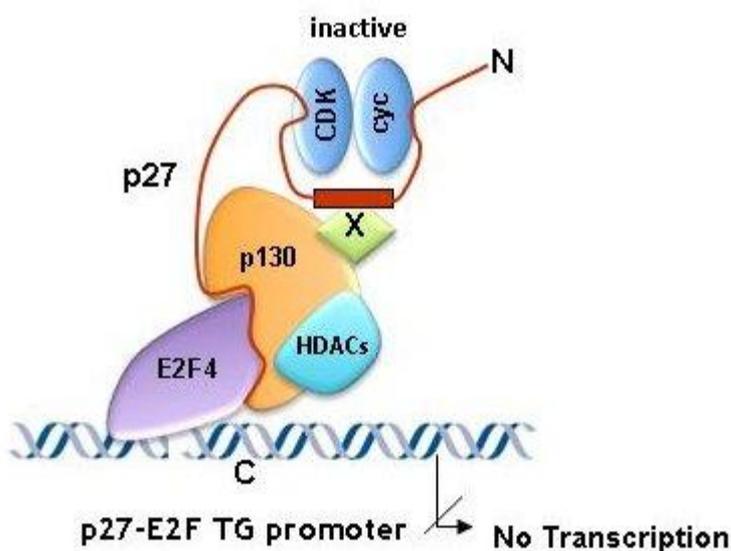


Figura 3 (Universidad de Barcelona departamento de Biología celular, Inmunología y Neurociencias 2011)

A diferencia de la p27 que está totalmente desplegada existen otras proteínas que presentan tanto segmentos estructurados como desestructurados, una de estas proteínas es la p53 que también tiene un papel crucial en la división celular. En su forma activa p53 es una proteína tetramérica compuesta por 4 monómeros idénticos de 393 residuos de aa cada uno. Es una proteína capaz de unirse a ADN actuando como factor de transcripción. El nombre de p53 hace referencia a la masa molecular observada de esta proteína cuando migra en un gel SD-PAGE (53Kda). La migración más lenta de los monómeros de p53 es debida a la presencia de regiones ricas en prolina que atrasan la migración.

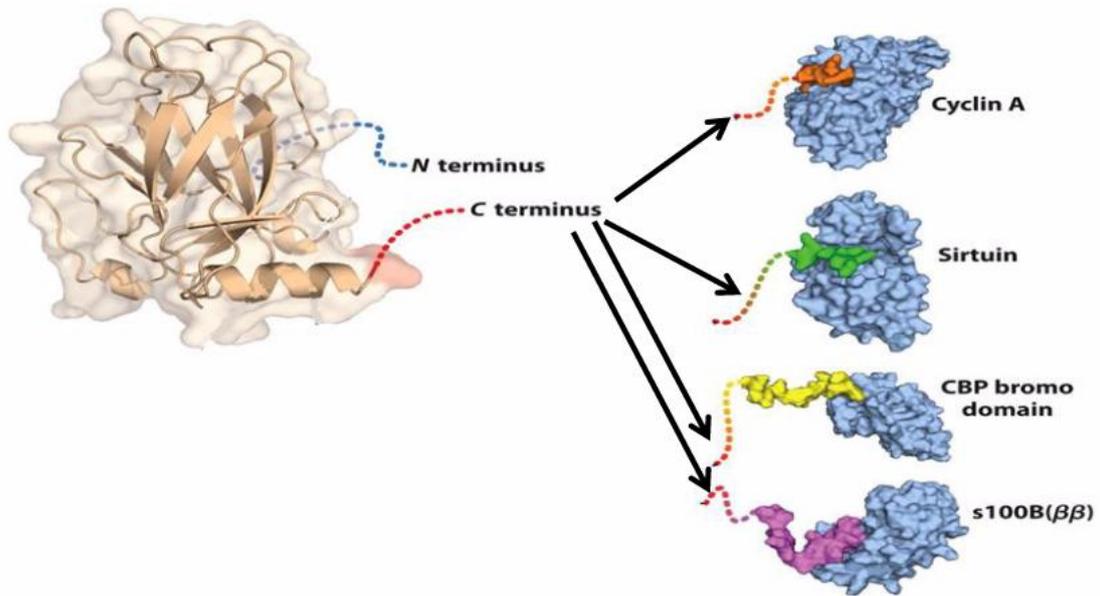


Figura 4 (Nelson y Cox, 2006).

La p53 se une por su carbono terminal a diferentes tipos de proteínas como por ejemplo la ciclina A (proteína de puntos de control del ciclo celular. Se une a su correspondiente quinasa dependiente de ciclina Cdk2, participando en la progresión de la fase S o de síntesis del ciclo celular), según a la proteína a la que se una tendrá una estructura y una función característica (Figura 4). La información actual de la estructura tanto del tetrámero como del monómero de p53 proviene de datos obtenidos de estructuras resueltas de dominios individuales o de dominios interaccionando con proteínas y ADN (figura 5). No ha sido posible aun obtener una estructura completa de la proteína. Esto se debe a la presencia de zonas con estructura muy flexible y poco definida en alguno de los dominios que dificultan la determinación de la misma. (Segovia y cols, 2014)

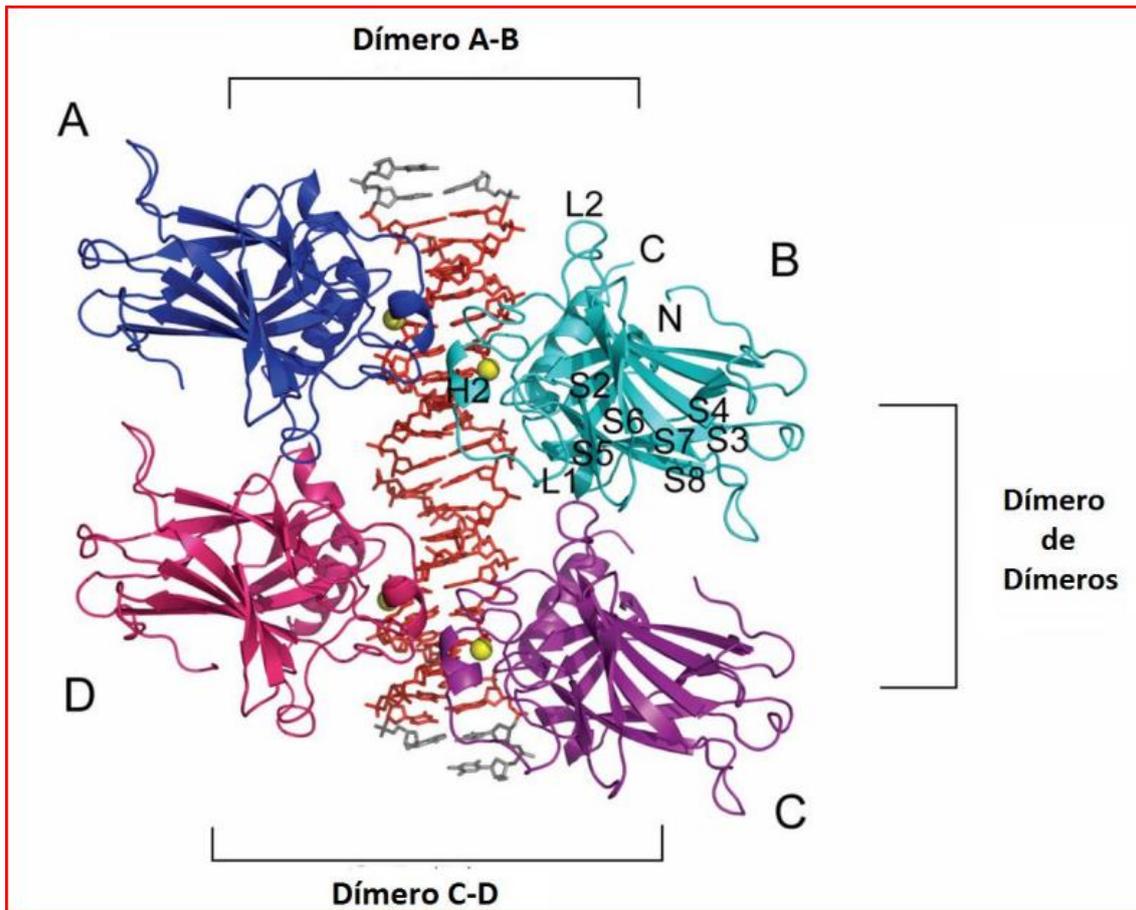


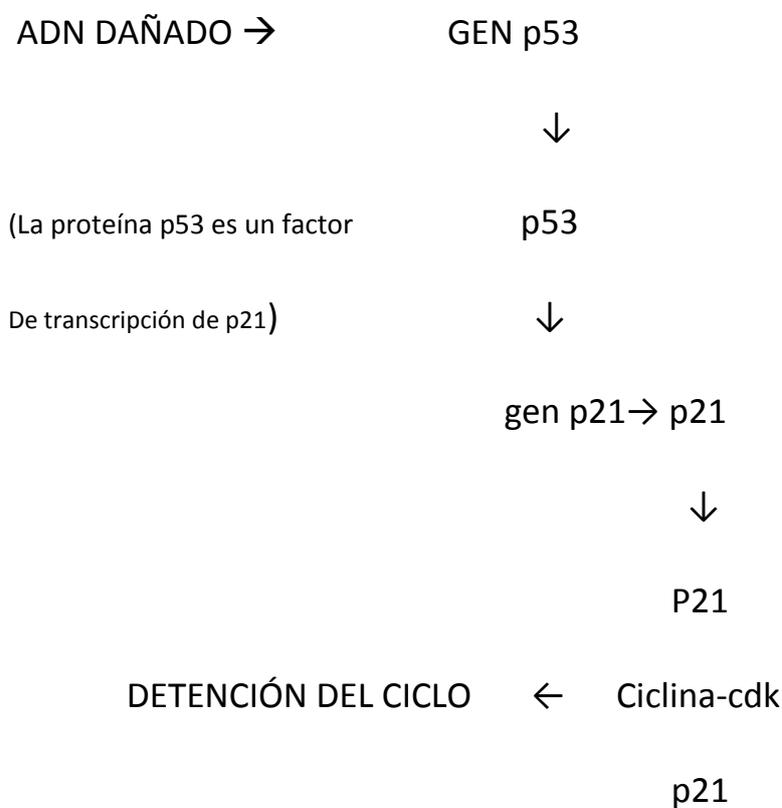
Figura 5. Estructura de los dominios de unión al ADN del tetrámero de p53 unido a su secuencia consenso. Representación de la estructura cristalográfica de los 4 dominios de unión al ADN del tetrámero de p53. A B C y D corresponden a los distintos monómeros. Los átomos de Zinc se ven en amarillo.

En rojo se resalan las bases del ADN correspondiente a la secuencia consenso del elemento de respuesta a p53. En el monómero B (cian) se señalan distintas estructuras secundarias del DBD (L: bucle, S: hebra, H: hélice α) y los extremos carboxilos (C) y amino (N) terminales. (Segovia y cols, 2014).

Durante el ciclo celular, si el ADN es dañado se genera una señal que retrasa la entrada en la fase M y se genera un mecanismo que depende de la proteína p53, que se acumula en la célula en respuesta a las alteraciones del ADN, deteniendo el sistema de control en G1 y por tanto impidiendo la posterior entrada en mitosis. El gen p53 es uno de los genes supresores de tumores más conocido, que no solo detiene el ciclo celular, sino también participa en la apoptosis forzando a las células al suicidio cuando el daño

en el ADN es irreparable. Las mutaciones del gen p53 presentan una alta incidencia en la mayoría de los cánceres humanos.

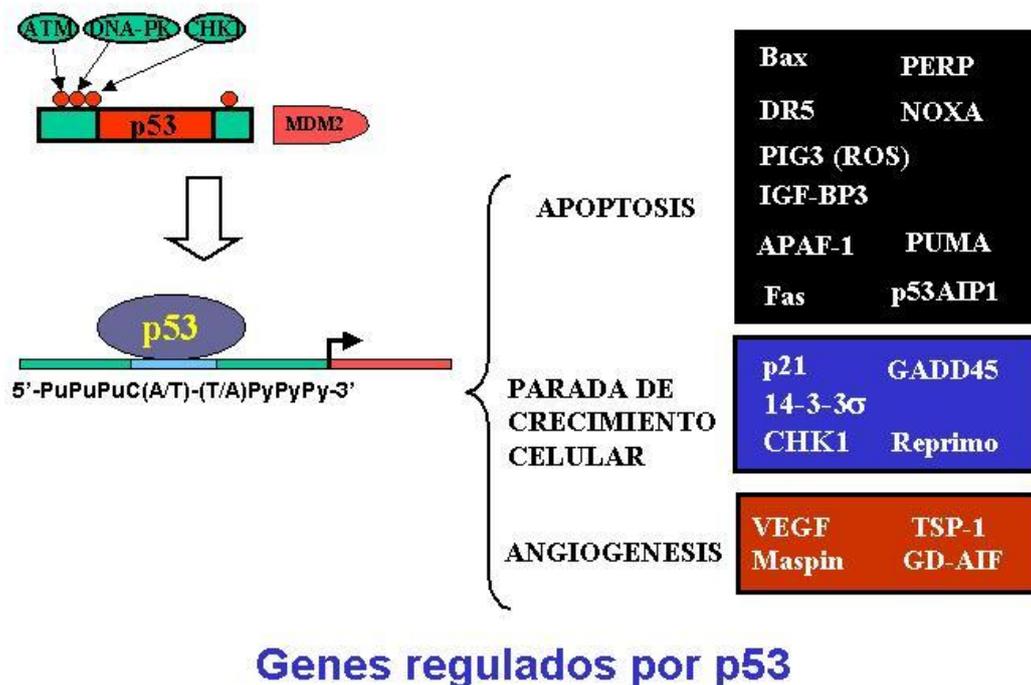
Cuando el ADN presenta un daño "limitado", aumentan los niveles de proteína p53. Dicha proteína activa la transcripción del gen p21, que codifica a la proteína p21. Esta última proteína ejerce su efecto inhibitor uniéndose al complejo ciclina-cdk2 y deteniendo el ciclo. Cuando el ADN es reparado, la proteína p53 se libera del promotor del gen p21, provocando el descenso en los niveles de p21.



(Marquez y cols ,2016)

Por otro lado para crecer y producir metástasis, las células tumorales estimulan la angiogénesis, es decir, la formación de nuevos vasos sanguíneos. Se descubrió en cultivos de fibroblastos humanos que el gen supresor p53 evita ese proceso, mediante el estímulo de la producción de un inhibidor de la angiogénesis llamado trombospodina-1. Por ello la pérdida o deterioro del gen p53 estimula el progreso de la malignización. (Lozano, 2002)

Por otra parte, la mayoría de los tumores adquieren mutaciones en el gen supresor p53 a lo largo de la progresión. La pérdida de función de p53 provoca la caída de los niveles de trombospondina-1, liberando así a las células endoteliales del efecto inhibitorio de esta molécula. Los inhibidores naturales de angiogénesis juegan un papel fundamental en el mantenimiento del estado quiescente de la vasculatura. (Jiménez y cols, 2001). (Figura 6)



13

Figura 6 (Silva y cols, 2002)

Existe una batería de genes que son directamente regulados por p53 como factor de transcripción y cuya función está directamente implicada en la apoptosis. El más conocido es **Bax**, un miembro de la familia Bcl-2 que promueve la apoptosis celular. Este gen está inducido por p53 aunque no en todos los tipos celulares. Proteínas miembros de la familia de Bcl-2 se han visto que funcionan, al menos en parte, regulando la liberación de citocromo C de la mitocondria, un evento observable en la apoptosis dependiente e independiente de p53. Hay dos grupos de genes o proteínas reguladoras, los anti-apoptóticos como Bcl-2 y los pro-apoptóticos como Bax.

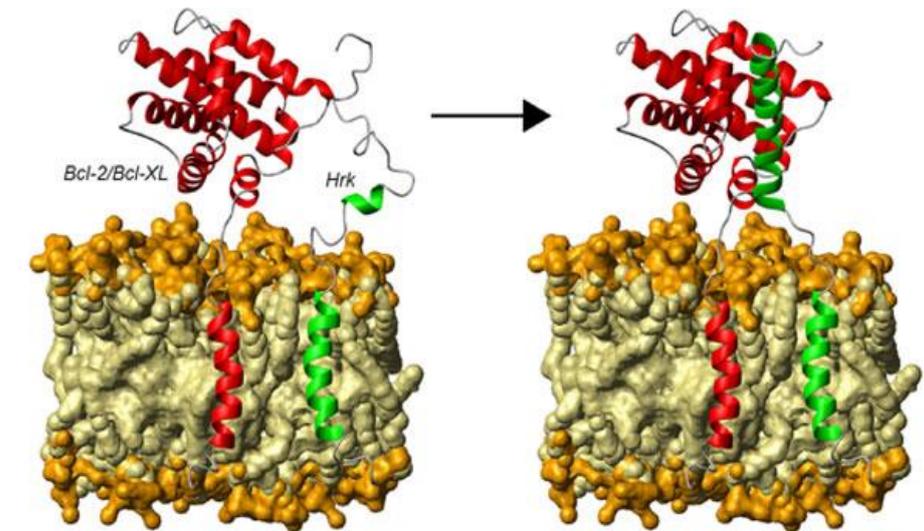
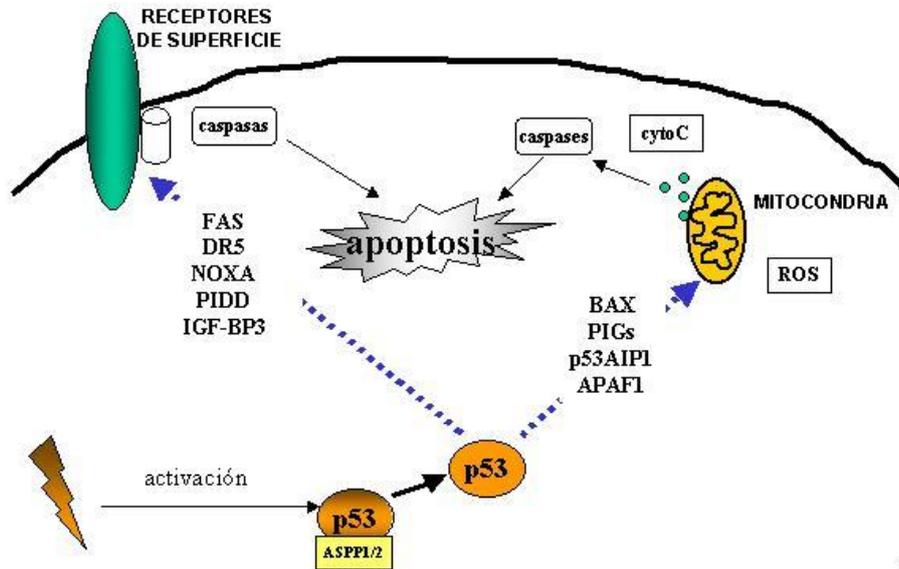


Figura 7 Proteína desordenada de la familia Bcl-2(en verde), anclada a una membrana celular, que adquiere una estructura al unirse a su diana molecular, en este caso una proteína con estructura (en rojo) de la misma familia. Los nombres de las proteínas se indican en la figura.

Ambas clases están localizadas en las membranas intracelulares, especialmente de la mitocondria, y se ha visto que interaccionan entre ellas. El gen Bax tiene sitios de unión a p53 en su promotor y se regula positivamente en respuesta a daño en el DNA y p53 en varios sistemas. La introducción de Bax en células resulta en una muerte celular rápida que se puede inhibir por coexpresión de Bcl-2 y Bcl-X. De manera similar, la muerte mediada por p53 puede ser inhibida por Bcl-2/Bcl-X, lo que es consistente con un papel para Bax en la vía de muerte de p53. Sin embargo, Bax no está implicada siempre en la apoptosis mediada por p53 y no representa el único mecanismo de muerte celular dependiente de p53. (Kluck y cols, 1997) (Figura 7 y 8).

Inducción de genes de apoptosis transcripcionalmente regulados por p53



16

Figura 8 (Bates y cols, 1999)

BCRA1 Y BCRA2

Otras proteínas parcialmente desestructuradas que participan en el ciclo celular son BCRA1 y BCRA2. Son genes supresores de tumores que intervienen en el ciclo celular dando lugar a proteínas parcialmente desestructuradas.

BCRA 1(brazo largo Cr 17) Regula el ciclo celular evitando la proliferación descontrolada.

BCRA 2(brazo largo Cr 13) Implicado en la regulación del daño cromosómico, regulando la proteína producida por el RAD51 para la regulación de errores de corte en el ADN.

Ambas tienen múltiples funciones en respuesta al daño en el ADN: hacen de diana para la fosforilación (puntos de control), regulan la transcripción, el transporte intracelular y la función de la RAD51.

En el ciclo celular, BCRA1 Y BCRA2 forman un complejo activo en los sitios donde el ADN está dañado asegurando la estabilidad del material genético. Cuando uno de estos genes está mutado, el ADN no puede regularse adecuadamente. El complejo BCRA2 + RAD51 se une a BCRA1 al fosforilarse éste último, produciéndole una relocalización del complejo al área de replicación del ADN, regulado por la PCNA Y la p53. Si el BCRA (1 y/o 2) está mutado tras localizarse el complejo en el área de replicación, pueden darse dos situaciones:

Que el complejo regulado por la PCNA (sin p53) falle en su función de reparación del ADN produciéndose: incremento de p53, inducción de p21, detención del ciclo celular y apoptosis (o muerte celular); o que el complejo regulado por la PCNA (con p53) falle en la regulación de p53 u otros puntos de control, produciéndose una proliferación celular (cáncer). (Figura 9).

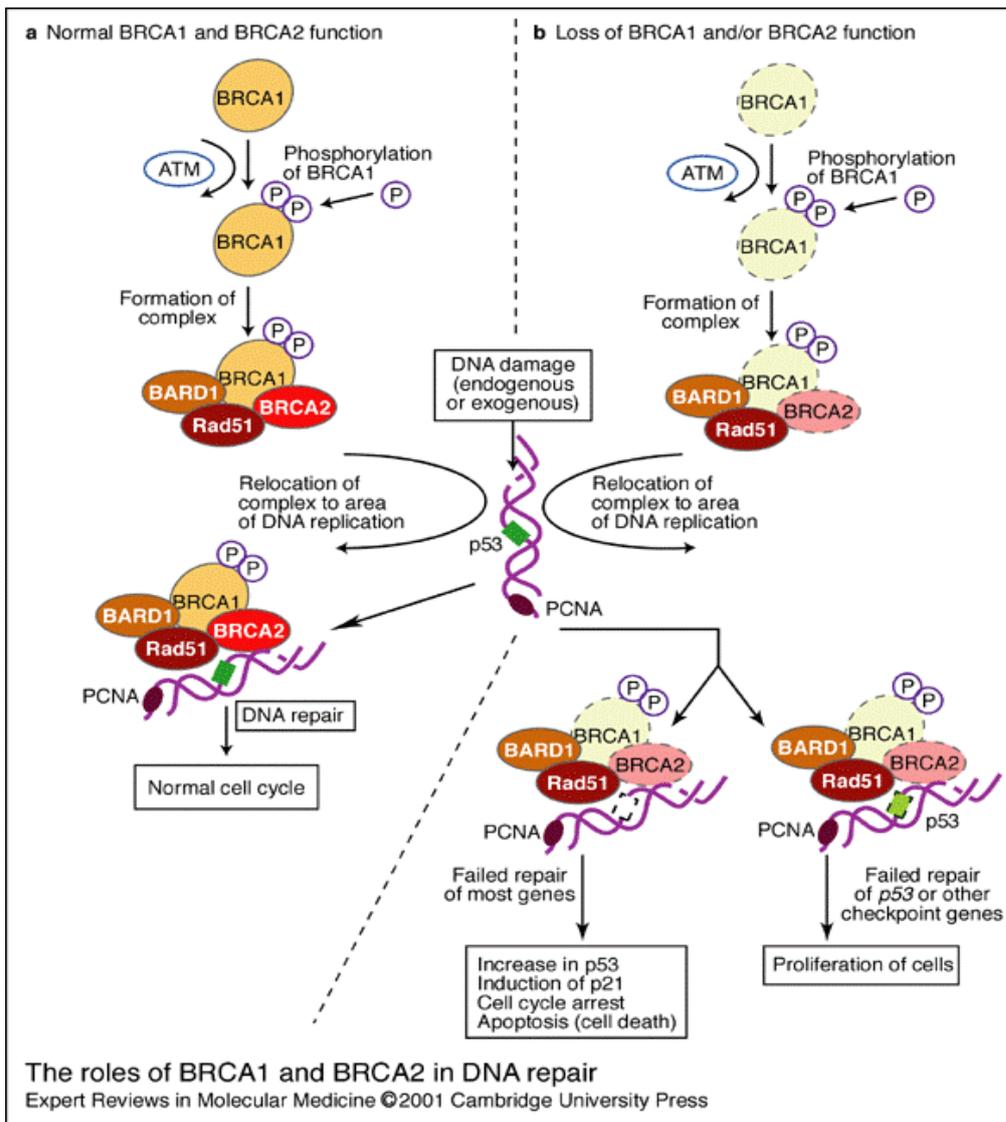


Figura 9 (Bases moleculares, jueves 27 de Marzo 2014. Universidad de San Carlos Guatemala. Facultad de ciencias médicas.)

4.5.2 PDI Y ENFERMEADES NEURODEGENERATIVAS

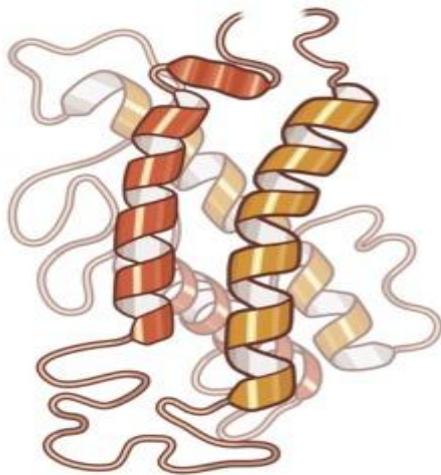
Además de las proteínas intrínsecamente desestructuradas que participan en la división celular, en la red de señalización, en respuesta a daños producidos en el ADN, en la muerte celular programada, etc; existen proteínas desestructuradas o parcialmente desestructuradas que intervienen en diferentes patologías neurodegenerativas como por ejemplo la proteína priónica, la Tau y la α -sinucleína.

Proteína priónica.

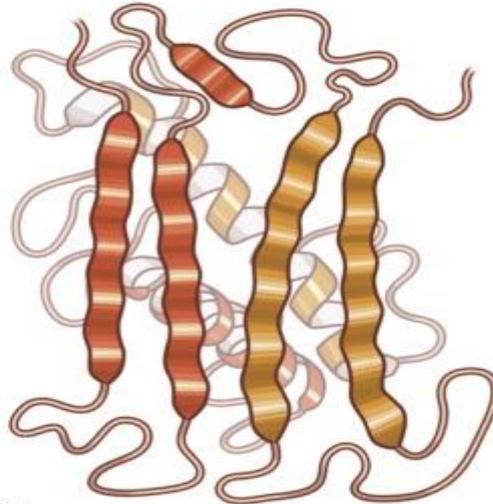
Una proteína desestructurada que causa patología es la proteína priónica. Un prion es una proteína infecciosa formada por una proteína denominada priónica capaz de formar agregados moleculares aberrantes. La proteína del prion es una sialoproteína patógena, la cual tiene alterada su estructura secundaria, teniendo un plegamiento incorrecto de su estructura terciaria. El plegamiento erróneo de la $P^{r_{PC}}$ (estado no patógeno) a $P^{r_{pSC}}$, confiere a $P^{r_{pSC}}$ dos propiedades que la diferencian de la $P^{r_{PC}}$: la resistencia parcial a la digestión por proteasas y su insolubilidad. Estas dos propiedades hacen que la $P^{r_{pSC}}$ sea estable y la capacitan para poder formar agregados proteicos responsables de la acumulación de $P^{r_{pSC}}$ en forma de placas amiloides en el tejido nervioso. Las principales diferencias entre la forma normal ($P^{r_{PC}}$) y la forma patógena ($P^{r_{pSC}}$) son: que la forma normal tiene estructura hélice α (4 regiones de proteína globular) y la forma patógena tiene estructura lamina beta (proteína plana); la forma normal es susceptible a proteasas y la patógena es resistente; la forma normal es una proteína monomérica estable, mientras que la patógena forma agregados proteicos que van a ser poco estable. Una proteína globular en forma de hélice alfa de una membrana neuronal entra en contacto con una proteína $P^{r_{pSC}}$ (forma patógena), que actúa de agente infeccioso haciendo que la $P^{r_{PC}}$ adquiera estructura plana en forma de lámina beta, es decir pasará a ser una $P^{r_{pSC}}$. Como consecuencia de este cambio conformacional, la nueva proteína no puede ser degradada y actúa como agente infeccioso sobre otros Prpc provocando el mal plegamiento de una manera exponencial. Este hecho es el causante de la acumulación de agregados de PrpSc en forma de placas amiloides, agregados proteicos patógenos que se acumulan en forma

de fibras insolubles y que matan las neuronas produciendo agujeros en el cerebro.

Configuración normal:



Configuración alterada:



© Classe Qsl - www.encyclopediasalud.com - V.Barceló

Figura 10 Configuración normal y alterada de priones.

La enfermedad del Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa donde también participan las proteínas intrínsecamente desestructuradas, las personas que padecen esta enfermedad presentan acumulaciones de depósitos proteicos con diferentes características morfológicas conocidos como depósitos amiloides, placas seniles y ovillos neurofibrilares. Las placas seniles y los ovillos neurofibrilares están formados por la proteína amiloide beta y la proteína Tau respectivamente. (De Alba y cols, 2012)

Tau es una proteína desestructurada, mediante microscopía electrónica Tau aparece como una molécula alargada, con longitud aproximada de 35 nm. En solución, vista a través de rayos X, Tau no presenta una forma bien definida. Como otras proteínas, su molécula es descrita como un polímero desestructurado; en otras palabras, Tau en solución parece una proteína desnaturalizada. Tau puede ser tratada con desnaturalizantes (calor, ácidos diluidos) y no perder su actividad biológica. Estudio de espectroscopia mediante dicroísmo circular (CD) no proporcionan evidencia alguna de estructura secundaria regular como hélices alfa o láminas beta. (García y cols, 2004). Tau forma parte importante del citoesqueleto en neuronas; estabilizando microtúbulos, manteniendo la forma celular y como vía de transporte axonal. Sin

embargo, por mecanismos desconocidos, tau sufre modificaciones importantes como son fosforilación anormal debida a la actividad desequilibrada de varias cinasas y fosfatasas, afectando su función biológica normal. Bajo estas circunstancias tau comienza a agregarse originando complejos proteicos denominados agregados neurofibrilares (NFTS) que son hallazgos histopatológicos característicos de la enfermedad del Alzhéimer junto con las placas seniles. (Caglayan, 2014).

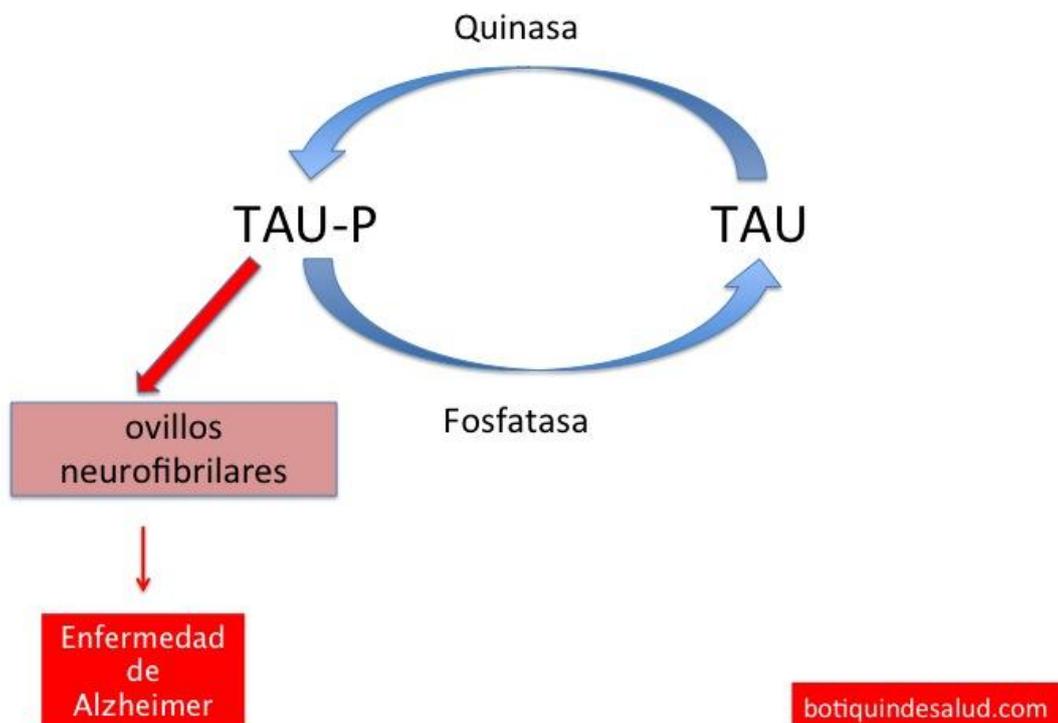


Figura 11 Botiquín de salud. <https://botiquindesalud.com/tag/a%CE%B2/> (Caglayan, 2014)

En cerebro normal el equilibrio entre fosforilación y defosforilación de tau origina cambios estructurales y conformacionales lo que regula la estabilidad del citoesqueleto y consecuentemente la morfología axonal. (Puyol, 2011). (Figura 11)

Si la proteína tau es hiperfosforilada, pierde su efectividad para estabilizar los microtúbulos y empiezan a producirse una acumulación de la misma. La hiperfosforilación y la acumulación de la proteína tau son dos signos que se observan en demencias como la enfermedad de Alzheimer. Por tal motivo, la proteína tau se

considera un indicador clave en las investigaciones sobre esta enfermedad. (Martone y cols, 2013). (Figura 12)

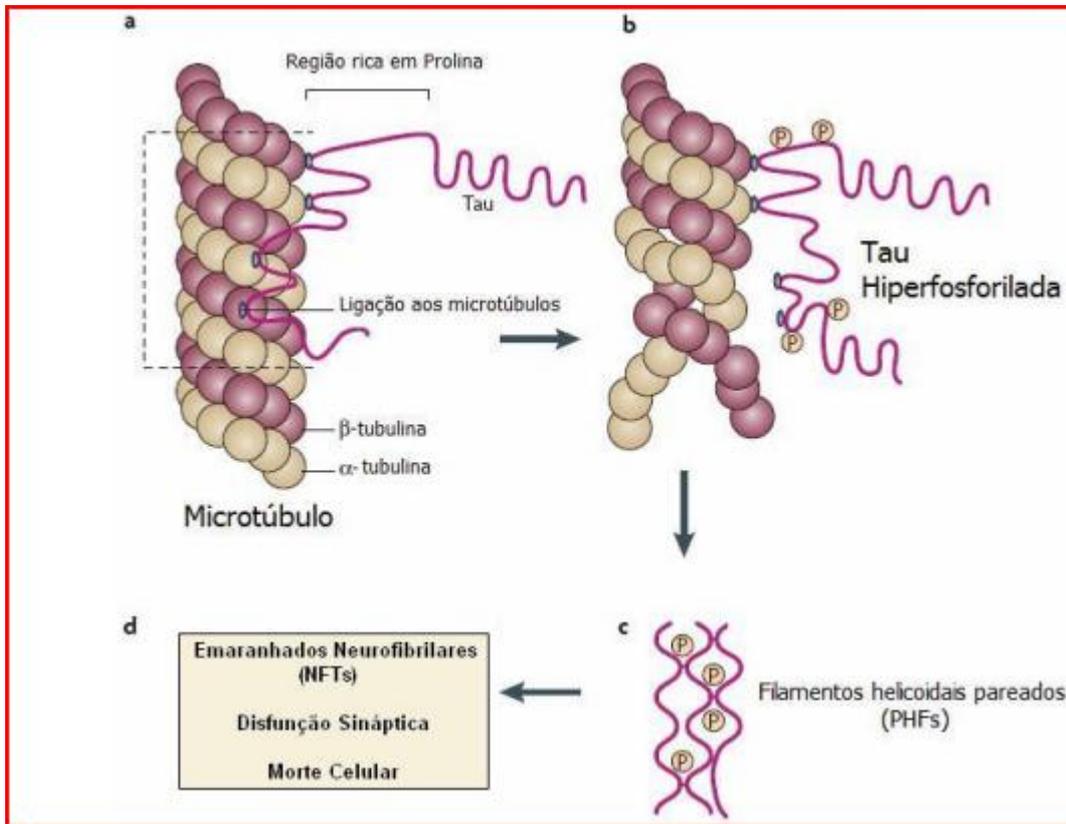


Figura 12 (Fernández y cols, 2014)

Existen enfermedades neurodegenerativas, conocidas también como sinucleinopatías, que se caracterizan por la formación de agregados fibrilares de la proteína alfa-sinucleína. Se ha comprobado que en condiciones fisiológicas la proteína alfa-sinucleína está desordenada casi en su totalidad mostrando estructura residual alfa-helicoidal en un fragmento de unos 30 aminoácidos, y un ligero grado de compactación. Cuando varían las condiciones de Ph y temperatura, la alfa-sinucleína es capaz de variar su conformación adoptando diversos grados de estructuración y de estado de agregación. Los agregados pueden presentar morfologías muy variables; esferas, fibras y cúmulos amorfos. Debido a esto se conoce a la alfa-sinucleína como proteína camaleón. Se trata de una proteína clave en el desarrollo de la enfermedad del Parkinson. El mal plegamiento de esta proteína causa una agregación anormal que da lugar a los llamados cuerpos de Lewy en las neuronas de los individuos afectados por la enfermedad. Un estudio reciente ha mostrado que estas proteínas defectuosas

son capaces de trasladarse desde las células afectadas hacia las sanas que la rodean produciendo eventualmente la destrucción de las mismas.

La sinucleína es una proteína de 140 aminoácidos, con α - tres regiones diferenciadas. El extremo amino terminal está cargado positivamente, el segmento hidrofóbico central, entre los residuos 61 a 90, y el extremo carboxilo que está cargado negativamente. La alfa-sinucleína posee cuatro residuos de tirosina, uno (Y39) cerca del extremo amino y tres (Y125, Y133, e Y136) cerca del extremo carboxilo.

(Fernández y cols, 2014).

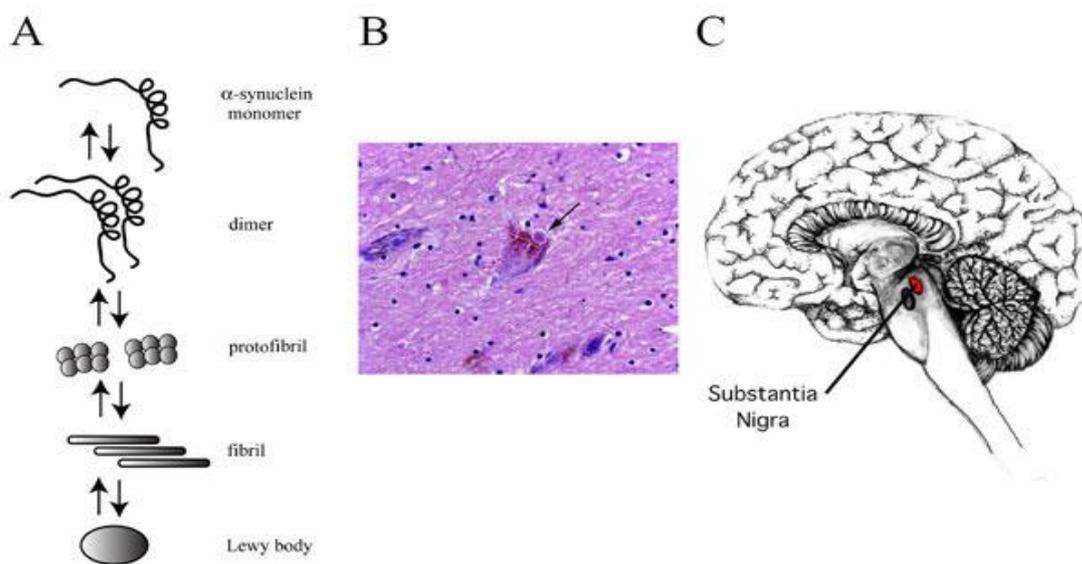


Figura 13 (De Alba, 2012)

4.5.3 OTRAS PDIS

La amilina, que se trata de una pequeña proteína totalmente desordenada que sufre un cambio conformacional adquiriendo cierto grado de estructura y posteriormente dando lugar a la formación de los depósitos

La amilina (en terminología anglosajona, islet amyloid polypeptide [IAPP]) es un péptido de 37 aminoácidos sintetizado y cosecretado con la insulina por la célula β -pancreática en respuesta a los mismos estímulos secretagogos. Este péptido constituye el principal componente de los depósitos de sustancia amiloide que aparecen en los islotes pancreáticos de la inmensa mayoría de individuos que

padecieron diabetes mellitus (DM) tipo 2 clínicamente establecida, constituyendo un hecho característico de esta enfermedad. Actualmente, se considera que la presencia de depósitos de sustancia amiloide ejerce un papel crítico en la progresiva disfunción y destrucción de la población celular β que se produce en el curso evolutivo de la DM tipo 2. No obstante, los mecanismos moleculares responsables de la conversión de la amilina en fibras insolubles son, en gran parte, desconocidos. La presencia de mutaciones en el gen de la amilina y la sobreexpresión del péptido han sido involucradas en el desarrollo de la amiloidosis en los islotes pancreáticos y de la DM tipo 2. El gen codificante para la amilina humana está ubicado en el brazo corto del cromosoma 12, y contiene tres exones y dos intrones.

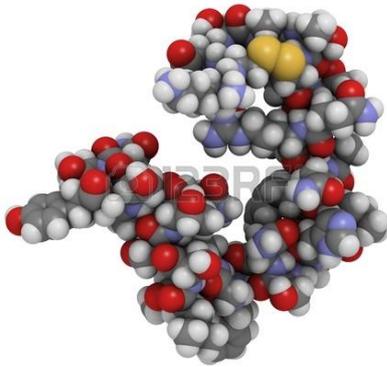


Figura 9 AMILINA. Estructura química de una molécula de amilina (amiloide de los islotes polipéptido, IAPP). http://es.123rf.com/photo_16083487_estructura-quimica-de-una-molecula-de-amilina-amiloide-de-los-islotes-polipeptido-iapp--iapp-es-una-.html

5. CONCLUSIONES

Tras el estudio de las PDIs hemos llegado a las siguientes conclusiones:

- No toda desestructuración conlleva la pérdida de su función.
- No poseen una estructura terciaria definida, pero esto no implica que no tenga un destino que cumplir o una función por realizar necesaria en el organismo.
- Son más abundantes en eucariotas y lo son aun más al aumentar la complejidad del organismo. Tienen un papel importante en la regulación del ciclo celular, apoptosis y también en el cáncer.
- Su papel predominante en las funciones de regulación de señales pudieran estar relacionados con la complejidad de las redes de señalización.
- Implicación de muchas de ellas en patologías como por ejemplo el alzhéimer, el Parkinson, diferentes tipos de cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares.
- El ochenta por ciento de las proteínas humanas involucradas en cáncer tienen extensas regiones intrínsecamente desplegada.

Asi pues estamos en el alba de una nueva era en lo que respecta a la comprensión de las proteínas que nos han permitido evolucionar más allá de las bacterias. Su relevancia biomédica es evidente aunque todavía nos queda mucho para poder entenderlas.

6. BIBLIOGRAFÍA

Bates, S., Vousden, K. *Mechanism of p53-mediated apoptosis, Cell. Mol. Life. Sci.*, 1999. **55**, 28-37

Caglayan, S. [Enfermedad de Alzheimer \(familiar\).SORLA/SORL1...un importante descubrimiento.](#) *Sci. Transl. Med.* 2014 6, 224-250

Cuevas L., Covarrubias A. Las proteínas desordenadas y su función: una nueva forma de ver la estructura de las proteínas y las respuestas de las plantas al estrés. *TIP Rev.Esp.Cienci.Quim.Biol.* 2011; vol 2: 98-102

De Alba, E. Structure and interdomain dynamics of apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC). *J. Biol. Chem.* 2009. 284, 32932-3294.

Fernández E, García-Moreno JM, Pablos AM, Chacón J. May the Evaluation of Nitrosative Stress Through Selective Increase of 3- Nitrotyrosine Proteins Other Than Nitroalbumin and Dominant Tyrosine- 125-136, 2014.

Jimenez B, Volpert OV: Mechanistic insights on the inhibition of tumor angiogenesis. *Journal of Molecular Medicine* 78, 2001. 663-672. Mecanismo de la inhibición de la angiogenesis tumoral por trombospondina-1. *NEFROLOGÍA.* Vol. XXIII. Suplemento 3. 2003.

Kluck, E. Boissy-Wetzel, D. R. Green and D. D. Newmeyer. *The release of cytochrome c from mitochondria: a primary site for bcl-2 regulation of apoptosis, Science*, 1997. **275**, 1132-1136.

Lozano J.A.. La Verdad. Ciencia y Salud. Cáncer: Angiogenesis y p53. 1 de Enero de 1994 [consultado en junio 2016] http://cienciaysalud.laverdad.es/9_3_7.html

Marquez S, Ifrán S, E Zabala. Ciclo celular y Duplicación del ADN. [Consultado en Junio 2016] <http://genomasur.com/lecturas/Guia12a.htm>

Martone, R., Jensen, J. Examinación de la fosforilación de la proteína Tau como potencial biomarcador de la enfermedad del Alzheimer, 6 de Noviembre de 2013.

[Consultado en Junio 2016] <http://es.covance.com/sdblog/dcovance/2013/11/tau-phosphorylation/>

Nelson, L., Cox, M. Principios de Bioquímica 4ª edición .Lehninger, OMEGA. 2006 p: 265-286

Nely,.M. La proteína alfa-sinucleína puede desencadenar el parkinson 9 de abril 2014. [Consultado en junio 2016].

<http://nelyvivirelparkinsonenbaleares.blogspot.com/2014/04/la-proteina-alfa-sinucleina-puede.html>

Pons, M. SEBBM Divulgación. La ciencia al alcance de la mano.Las proteínas invisibles que nos hacen humanos. Instituto de investigación Biomédica del departamento de química orgánica de la Facultad de Química de Barcelona, Octubre 2011. [Consultado en junio 2016] <https://issuu.com/argos/docs/nameeb0944>

Puyol, X. El caso de la proteína Tau Revista Argentina de Clínica Neu-ropsiquiátrica, Año 16, Vol. 14, Nº 1, septiembre de 2007, págs. 81 a 85

Segovia, D. Clonado y Evaluación de la funcionalidad de mutantes sinónimos de Tp53 humano. Facultad de Ciencias UdeLaR. Universidad de la República (Uuguay) Sección Bioquímica y Biología Molecular. Febrero 2014. [Consultado en Junio 2016] <http://www.bib.fcien.edu.uy/files/etd/pasan/uy24-17008.pdf>

Silva, A. Gutierrez del Arroyo, A., Arias, C., Lázaro, I. Estructura regulación y funciones del gen supresor de tumores p53. V Congreso virtual hispanoamericano de anatomía patológica, 2002. [Consultado en Junio 2016] <http://www.uninet.edu/conganat/conferencias/C016/>

Uversky,N. The multifacet roles of intrinsic disorder in protein complexes. FEBS Lett. 2015. 589, 15-22.

Yruela, I. Proteínas desordenadas. En_ Sebastian. A, Pascual A (eds). (EEAD) Libros y partes de libros. Rayuela. 2014. 1, 333-347.

