

# Estructura de proteínas: plegamiento y priones

Antonio Rey-Gayo<sup>a</sup> y Francisco Calbo Torrecilla<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Química Física I. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Complutense de Madrid.

<sup>b</sup>Cátedra de Microbiología. Facultad Medicina. Hospital Carlos Haya. Universidad de Málaga. España.

Las encefalopatías espongiformes transmisibles han constituido en el último año un tema de gran alarma social, con relación al denominado "mal de las vacas locas" y su posible transmisión al ser humano. Entre los aspectos científicos más importantes de estas enfermedades destacan las características peculiares de su agente transmisor. En este artículo se describen brevemente los aspectos más relevantes de la hipótesis más aceptada para los mismos: los priones. Nos centramos en los aspectos moleculares de esta proteína, codificada en el genoma del huésped que padece la enfermedad, y en describir los cambios conformacionales en la estructura terciaria de la proteína a los que se atribuye su carácter patógeno. Nuestro objetivo es resumir el estado actual del conocimiento sobre los priones, las hipótesis formuladas sobre los posibles mecanismos de transmisión de la enfermedad sin recurrir a agentes con carga genética, y algunas peculiaridades específicas del nuevo agente infeccioso. La conexión entre este conocimiento y las posibles terapias de tratamiento de la enfermedad justifican una vez más la relación entre la química, la biología molecular y la medicina.

**Palabras clave:** Encefalopatías transmisibles. Priones. Conformaciones. Proteínas.

Protein structure: Folding and prions

Transmissible spongiform encephalopathies have become a subject of prime social concern in recent years because of its relation to "mad cow disease" and their potential for transmission to humans. Among the most important scientific aspects of these diseases are the peculiar characteristics of the agent involved in their transmission. In this article we briefly describe the outstanding features of prions, the most widely accepted hypothesis for these diseases. We focus on the molecular characteristics of this protein, coded in the genome of the affected host, and describe the conformational alterations in the protein's tertiary structure that have been blamed for its pathologic activity. Our aim is to summarize the state-of-the-art

knowledge on prions, the hypotheses proposed to explain mechanisms of disease transmission without agents containing genetic material, and some specific peculiarities of this new infectious agent. The links between this knowledge and possible therapeutic strategies to overcome the disease justify, once again, close interaction among chemistry, molecular biology, and medicine.

**Key words:** Transmissible encephalopathies. Prions. Conformations. Proteins.

## Introducción

Durante los últimos meses ha aparecido en España, fundamentalmente a través de la prensa, una gran cantidad de información relacionada con las enfermedades conocidas como encefalopatías espongiformes transmisibles (EET), también denominadas "enfermedades de priones". Esto ha ocurrido fundamentalmente a raíz de la detección en ganado bovino en nuestro país de los primeros casos de la variante bovina de esta enfermedad, la encefalopatía espongiforme bovina (EEB), conocida popularmente como "enfermedad de las vacas locas" (no ha habido detección de casos en España hasta la fecha), y la posibilidad de que la misma se pueda transmitir al ser humano. Hasta diciembre de 2001 la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha recogido entre confirmados y probables 122 casos de la "nueva variante ECJ" en Europa: 116 casos en Reino Unido, 5 casos en Francia y uno en Italia (109 casos positivos animales hasta marzo de 2002, datos del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación). El contenido de estas informaciones ha puesto de manifiesto, por un lado, las lagunas científicas existentes hoy día en cuanto al agente causante de estas enfermedades, sobre todo en lo referente a su mecanismo de transmisión. Por otra parte, ha acrecentado el interés por unas enfermedades que, aunque conocidas desde hace muchos años, han permanecido casi ignoradas como consecuencia de su bajísima incidencia en la población. Más en concreto, las EET descritas en el ser humano son varias y pueden agruparse en función de su actual mecanismo conocido de transmisión como:

1. Esporádica/desconocida: *a*) enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ<sup>a</sup>) descrita en la década de 1920 del siglo XX, y *b*) insomnio familiar letal (IFL).

2. Familiar/genética: *a*) la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ<sup>f</sup>); *b*) el insomnio familiar letal (IFL), y *c*) la enfermedad de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS).

Correspondencia: Dr. F. Calbo Torrecilla.  
Cátedra de Microbiología.  
Facultad de Medicina. 29010 Málaga.  
Correo electrónico: medprev@hch.sas.cica.es

3. De causa externa: *a)* la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJy) yatrogénica o accidental; *b)* el Kuru (temblor), endémico que fue en ciertas poblaciones de Nueva Guinea-Papúa (isla al norte de Australia) y prácticamente erradicado en la actualidad, y *c)* la nueva variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJnv), que se ha relacionado directamente con la EEB y que se ha descrito por primera vez en clínica humana en 1995 en el Reino Unido.

Datos de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica, creada por Orden ministerial 21/2001, indican que en España, hasta el 31-12-2001 y desde 1993, hay recogidos un total de 1 caso de GSS, 18 casos de IFL y 408 de ECJ (estos últimos clasificados como 389 esporádicos, 16 familiar y 3 iatrogénicos; entre los esporádicos, 135 son con diagnóstico definitivo, 220 probables y 34 posibles).

La ECJ esporádica y la familiar son la que mayor número de casos han registrado. En España la incidencia anual se cifra aproximadamente en 1-1,37 caso al año por millón de habitantes.

Lo más desconcertante de esta enfermedad es que su transmisión se ha descrito como hereditaria en ciertos casos, infecciosa en otros (incluyendo los casos yatrogénicos), y con frecuencia esporádica. Esta diversidad se ha relacionado con un tipo de agente infeccioso nuevo, denominado *prion*.

El objetivo de esta revisión es describir someramente la naturaleza química de este agente y los conocimientos que se tienen en la actualidad sobre su estructura y función, ya que el diagnóstico en enero de 2001 del último caso en nuestro hospital, fue en un ciudadano de nacionalidad inglesa de tercera edad residente en España, en el que se llegó a tener que barajar el diagnóstico diferencial entre ECJe y ECJnv, y resultó ser un caso de tipo esporádico. Generó grandes inquietudes en el medio asistencial sobre el agente y revisamos por ello este caso. Aunque como se mencionará existen todavía numerosas incógnitas sobre estos aspectos, parece claro que un conocimiento profundo de éstos debe constituir la base sobre la que desarrollar posibles terapias hoy día inexistentes destinadas al tratamiento de las EET y los procedimientos de inactivación en muestras biológicas e instrumentación y equipos.

## Plegamiento de proteínas

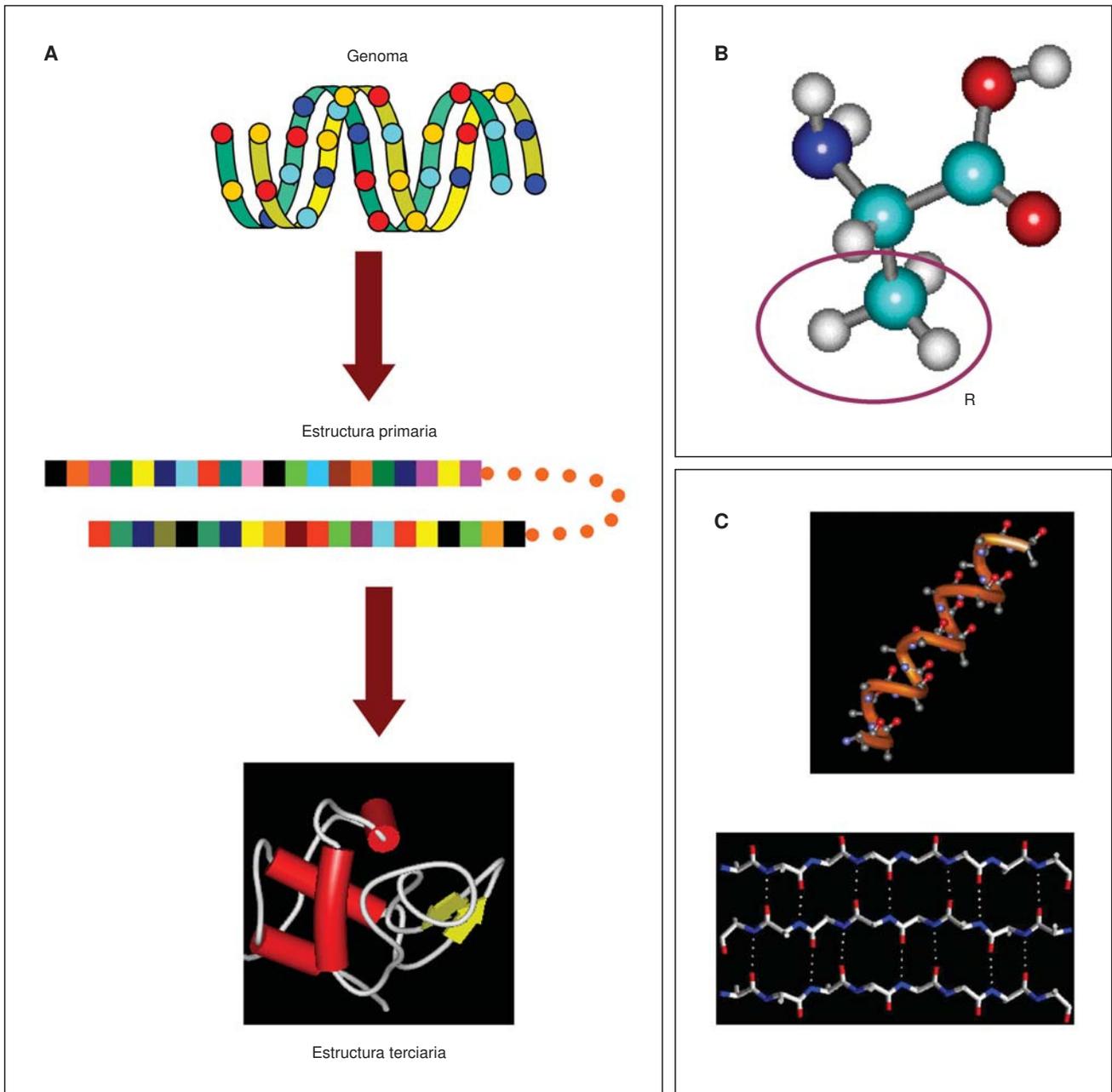
De acuerdo al Dogma Central de la Biología Molecular (F. Jacob y J. Monod), las secuencias de las cadenas de ADN contenidas en los cromosomas de los diferentes organismos codifican la estructura primaria de las proteínas, es decir, la secuencia covalente lineal de aminoácidos que las constituyen (fig. 1A). Esta secuencia (estructura primaria) consiste en la disposición *ordenada* de hasta 20 tipos diferentes de aminoácidos naturales, que se diferencian unos de otros en la naturaleza de su cadena lateral R (fig. 1B). Las distintas posibilidades incluyen grupos apolares o hidrófobos, grupos polares o hidrófilos neutros, grupos con carga neta positiva o negativa, etc. La presencia en una misma molécula de grupos químicos tan diferentes, en un entorno fundamentalmente acuoso (no olvidemos que las células tienen en promedio el 70% de

agua), produce una gran diversidad de interacciones de distinta naturaleza, tanto entre los distintos grupos de la proteína, como entre éstos y el medio que les rodea. Como consecuencia de las mismas, la proteína se *pliega*, adquiriendo una conformación tridimensional única, denominada estructura terciaria. Estableciendo una analogía sencilla, es como si una hebra de cuerda se hiciera un ovillo, adoptando una forma compacta bien definida. Cada proteína de un determinado ser vivo presenta una secuencia única, que determina a su vez una forma tridimensional única. A su vez, esta forma determina la función biológica de la proteína. En estas estructuras es frecuente la presencia de ciertas zonas más o menos extensas de simetría elevada, como los denominados elementos de estructura secundaria (fig. 1C). A pesar de los avances producidos en los últimos años, el problema del plegamiento de proteínas (la determinación de la estructura tridimensional a partir de la secuencia) permanece hoy en día sin resolver.

En este punto, merece la pena desarrollar ligeramente dos aspectos. En primer lugar, de acuerdo con lo que hemos comentado, si se produce una mutación en la secuencia de un gen en los cromosomas, puede producirse a su vez una mutación en la secuencia de aminoácidos de una proteína. Dependiendo de la posición que ocupe este aminoácido en la estructura plegada original, ésta puede permanecer inalterada, presentar cambios mínimos para adaptarse a la nueva cadena lateral o perderse totalmente esta estructura, imposibilitando con ello la función de la proteína en el organismo.

Por otra parte, la estructura plegada de una proteína debe considerarse como una estructura "frágil", ya que está sujeta a numerosos factores que pueden afectarla: los cambios en la secuencia, los aumentos de temperatura, los cambios bruscos de pH, la presencia de concentraciones elevadas de ciertos iones, o de determinadas sustancias químicas (urea, detergentes, algunos alcoholes, etc.) afectan el delicado equilibrio de interacciones que estabiliza la estructura terciaria, y origina la destrucción de la misma. La secuencia química de la proteína no se ve afectada, pero el ovillo plegado se deshace, produciendo conformaciones abiertas y cambiantes (equivalentes, en el ejemplo utilizado anteriormente, a las innumerables formas que se le pueden dar a la hebra de cuerda más o menos extendida). Este proceso recibe el nombre de *desnaturalización de la proteína*.

En resumen, las proteínas adquieren en las células una forma que es consecuencia de su secuencia de aminoácidos y de las condiciones del entorno. Es necesario alcanzar un compromiso entre las condiciones termodinámicas (que controlan las interacciones existentes) y las condiciones cinéticas (que determinan la rapidez del proceso) para que la proteína pueda adquirir su conformación funcional. Si fallan algunos de estos aspectos, la proteína desnaturalizada puede ser destruida por las proteasas, enzimas presentes en la célula que hidrolizan la proteína, permitiendo "reciclar" sus aminoácidos para la síntesis de nuevas proteínas. O, en otras circunstancias y muchas veces en el medio extracelular, distintas cadenas de proteínas desnaturalizadas pueden unirse entre sí, formando depósitos de agregados insolubles que pueden



**Figura 1 A-C.** A) Dogma Central de la Biología Molecular: La secuencia de nucleótidos en el ADN dicta la secuencia de aminoácidos en las proteínas (esquemática mediante un código de colores); ésta, junto con las condiciones ambientales, determina la estructura tridimensional plegada, responsable de la función de la proteína. B) Estructura genérica de un aminoácido, de fórmula  $H_2N-CHR-COOH$ ; la naturaleza química de la cadena lateral R determina el tipo de aminoácido. C) Elementos de estructura secundaria característicos de las proteínas: hélice  $\alpha$  (en la parte superior); lámina  $\beta$  (en la parte inferior). Sólo se muestra el esqueleto proteico, sin cadenas laterales.

afectar o incluso destruir las células, produciendo desarrollo de enfermedades.

### Agente etiológico de las EET

Como ya se ha mencionado en la introducción, existen varias modalidades de encefalopatías espongiformes, transmisibles o no, en el ser humano. Los principales estudios sobre estas enfermedades se han realizado, sin

embargo, partiendo de la variante de esta enfermedad presente en las ovejas y cabras, conocida generalmente como *scrapie* (aunque en España se la conoce también como “tembladera”). El estudio de esta enfermedad en las ovejas, y sobre todo en ratones y hámsters inoculados con extractos cerebrales de animales infectados, es lo que ha permitido un estudio profundo de las EET.

A mediados del siglo XX, cuando este tipo de estudios empezó a desarrollarse, se consideraba que las EET estaban causadas por los denominados *virus lentos*,

nombre que alude a la gran duración de los períodos de incubación de la enfermedad (que en seres humanos oscilan desde meses hasta decenas de años). Sin embargo, el análisis de las propiedades de estos agentes mostró enseguida características bien diferenciadas respecto a los agentes infecciosos habituales. Además del largo período de incubación, hay que mencionar la falta de respuesta inflamatoria en el huésped, así como la ausencia de respuesta inmunológica con anticuerpos específicos. Por otra parte, el agente causal (los inóculos extraídos de sujetos enfermos) mantiene su infectividad frente a agentes como nucleasas, elevadas temperaturas y, sobre todo, radiaciones de alta energía (ultravioleta o ionizante). Además, son parcialmente resistentes a las proteasas. Estos datos hacían sospechar la ausencia en el agente infeccioso de cadenas de ácidos nucleicos (ADN o ARN), ya que los reactivos y métodos mencionados producen la degradación rápida de sus cadenas moleculares. Esta situación suponía enfrentarse a un agente desconocido, ya que los agentes infecciosos habituales (bacterias, hongos, parásitos o virus) presentan en todos los casos cadenas propias de ácidos nucleicos. Descartadas otras posibilidades, Stanley Prusiner (Premio Nobel de Medicina en 1997) propuso la denominada “*protein only hypothesis*”, según la cual el agente transmisor de las EET es una proteína, que denominó *prion* (acrónimo aproximado de “*proteinaceous infectious particle*”, o partícula infecciosa proteica, desprovista por tanto de ácidos nucleicos). En notación científica, esta proteína se denota como PrP (*prion protein*).

La cuestión que se plantea entonces es: ¿cómo una proteína, cuya secuencia y por tanto su estructura vienen codificadas por el ADN de los genes, puede actuar como agente infeccioso de una enfermedad? De acuerdo con la hipótesis de Prusiner, esto es posible porque la proteína del prion puede adquirir dos formas diferentes: una de ellas, denominada PrP<sup>c</sup> (de celular) o PrP<sup>sen</sup> (de sensible), es una proteína normal, susceptible de ser desnaturizada mediante los procedimientos habituales; pero existe una segunda forma, un plegamiento distinto de la cadena, denominada PrP<sup>Sc</sup> (de *scrapie*, independientemente de que se produzca o no en ovejas) o PrP<sup>res</sup> (de *resistente*), que debe este nombre a su elevada estabilidad frente a muchos de los agentes que desnaturizan habitualmente las proteínas, salvo que se utilicen condiciones extremas. Esta estabilidad se debe a que las moléculas de PrP<sup>res</sup> se unen unas a otras, formando agregados filamentosos conocidos como SAF (de *scrapie associated fibrils*). Esta agregación protege a la que podríamos denominar una “conformación incorrecta de estas proteínas” del ataque de las proteasas, explicando su resistencia parcial a las mismas y a otros agentes desnaturizantes. Por supuesto, al tratarse de cadenas proteicas, las fibrillas no son degradadas por los agentes que destruyen los ácidos nucleicos. Es importante destacar que, hasta el momento, no se ha detectado ninguna diferencia o modificación química entre la secuencia de aminoácidos de la proteína del prion en sus dos plegamientos. Este hecho se subraya en ocasiones mediante la utilización del término isoforma, y se habla de la isoforma normal y de la isoforma anómala o patógena, para referirse, respectivamente, a PrP<sup>sen</sup> y PrP<sup>res</sup>.

Todavía queda un asunto importante por explicar, y es el desarrollo molecular de las EET. De acuerdo con la hipótesis de Prusiner, el contacto entre dos moléculas de proteína del prion, una de ellas en su forma sensible y otra en su forma resistente, induce un cambio conformacional en la primera, que pasa a adquirir también la forma patógena. Se entra de esta forma en una especie de “reacción en cadena” que conduce paulatinamente a la desaparición de la PrP<sup>c</sup> y al crecimiento de las fibrillas formadas por PrP<sup>Sc</sup>. La acumulación de estas fibrillas puede originar el daño neuronal característico de las EET.

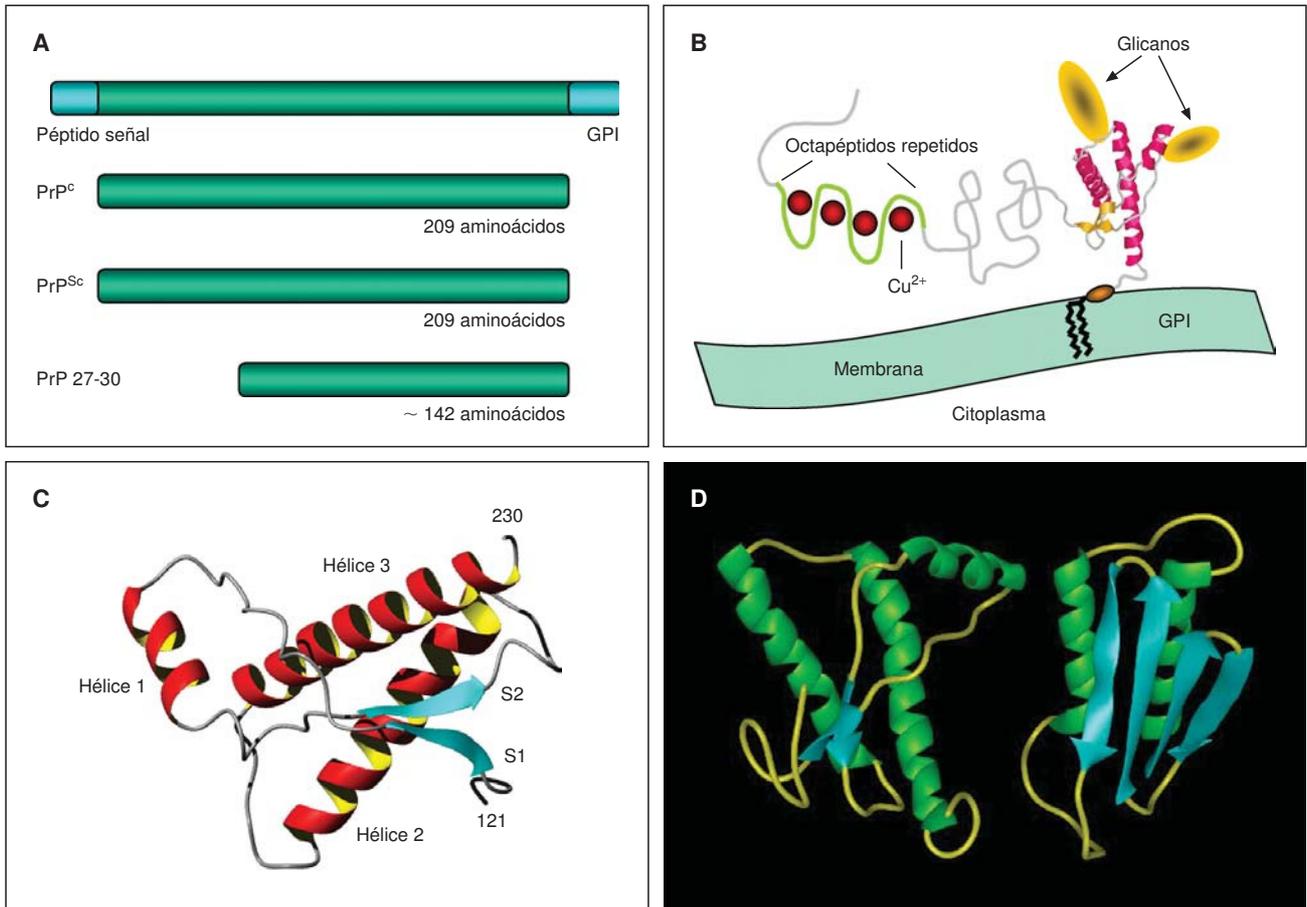
## Proteína PrP

El análisis detallado de las fibrillas SAF permitió la identificación parcial de la secuencia de aminoácidos que constituyen la proteína del prion. A su vez, la determinación de esta secuencia permitió la búsqueda del gen que la codifica. De forma sorprendente, se encontró que dicho gen se encuentra en el genoma del huésped (en el caso del ser humano, en el brazo corto del cromosoma 20). De hecho, esta proteína se encuentra expresada en numerosos órganos del huésped (en los que por lo tanto se ha detectado la forma PrP<sup>c</sup>), si bien existe una clara acumulación en el tejido neuronal. Además, la PrP se ha encontrado en todas las especies de mamíferos en las que se ha buscado, así como en algunas aves y reptiles. Lo que es más interesante, las diferencias en la secuencia de la proteína entre las distintas especies son pequeñas, con más del 85% de homología entre los diferentes mamíferos. Una secuencia tan conservada hace pensar, en comparación con otros casos semejantes, que esta proteína puede desempeñar una función importante en el organismo.

El gen de la proteína consta de unos 750 nucleótidos, lo que codifica una proteína de unos 250 aminoácidos (fig. 2A). Los primeros 22 aminoácidos (en el ser humano) constituyen lo que se denomina un “péptido señal”, que en este caso puede dirigir a la proteína hacia su ubicación funcional. Como se ha mencionado, ésta se localiza preferentemente en las neuronas, sobre todo en la cara externa de su membrana, cerca de las conexiones sinápticas (fig. 2B). Precisamente, aproximadamente los 20 últimos aminoácidos de la secuencia se pierden también cuando la proteína queda anclada en la membrana celular mediante una molécula denominada GPI (glicano-fosfatidil-inositol). Además, la PrP es lo que se denomina una glicoproteína, al incluir dos sitios de unión para moléculas de azúcar (en posiciones 180 y 196).

Por lo tanto, la proteína funcional tiene un tamaño de poco más de 200 aminoácidos, tanto en su “forma sensible” como en su “forma resistente”. De la digestión parcial con proteasas de las fibrillas SAF en condiciones desnaturizantes se ha aislado también una proteína de menor tamaño, denominada PrP 27-30 (ya que éste es el tamaño, en kilodaltons, de la proteína resultante, detectado por electroforesis). Esta proteína corresponde a la eliminación de los primeros 60-70 aminoácidos de la PrP (fig. 2A).

Es importante mencionar que, a pesar de toda la información disponible en la actualidad para la PrP, la función de su forma celular normal constituye todavía un



**Figura 2 A-D.** A) Proteína PrP. Esquema de la secuencia de aminoácidos codificada en el gen, en las isoformas PrP<sup>c</sup> y PrP<sup>Sc</sup>, y en la PrP27-30, mostrando la relación entre éstas. B) Proteína PrP. Representación simplificada de la estructura de la PrP<sup>c</sup> y su localización en la superficie de la neurona. La primera mitad de la secuencia no muestra una estructura bien definida. C) Detalle de la estructura tridimensional, determinada por resonancia magnética (RM), de la segunda mitad de la proteína PrP<sup>c</sup>. Se aprecian las tres hélices  $\alpha$  y una pequeñísima lámina  $\beta$  (formada por las hebras S1 y S2). D) Comparación entre la estructura de la “forma celular” de la proteína del prion (estructura determinada experimentalmente, a la izquierda) y la estructura propuesta para la “forma patógena” (modelo hipotético, a la derecha), con alto porcentaje de lámina  $\beta$  representada en color azul. (Adaptada de [http://www.cmpharm.wcsf.edu/cohen/research/gallery/aw\\_prion.gif](http://www.cmpharm.wcsf.edu/cohen/research/gallery/aw_prion.gif).)

tema controvertido. El estudio de ratones transgénicos, en los que se ha suprimido el gen que la codifica, no ha mostrado demasiadas alteraciones en su comportamiento, aunque se han publicado algunos datos referentes a anomalías en los ritmos circadianos. Hoy día, sin embargo, las investigaciones se centran en una serie de patrones repetitivos (cada 8 aminoácidos) en la estructura primaria, situados en la primera mitad de la proteína, que presentan una afinidad específica hacia los iones  $\text{Cu}^{2+}$ , cobre (fig. 2B). Probablemente la proteína PrP<sup>c</sup> desempeñe una función importante en el metabolismo del cobre, y con él en posibles mecanismos de protección de las uniones sinápticas ante procesos oxidativos.

El tamaño relativamente pequeño de la PrP ha permitido el análisis de la estructura tridimensional de su “forma sensible”, soluble en medio acuoso (una característica fundamental para poder aplicar la técnica de resonancia magnética, RM). Las proteínas PrP de mamíferos muestran en general una estructura bastante semejante (como cabía esperar a partir de la homología de sus secuencias). En todos los casos, los primeros 90-100 aminoácidos no muestran una estructura bien

definida, sino que manifiestan una elevada flexibilidad (como se esquematiza en la figura 2B). Como mucho, la unión a los iones  $\text{Cu}^{2+}$  parece inducir en esta parte de la proteína una cierta estructura helicoidal, pero que no puede considerarse en absoluto rígida. Por el contrario, la segunda mitad de la proteína muestra una estructura mucho más definida (fig. 2C). En ésta se observan tres hélices  $\alpha$  y una mínima lámina  $\beta$ .

A diferencia de la “forma celular normal”, la estructura tridimensional de la “forma resistente” no se conoce con detalle. Su insolubilidad impide análisis de RM. Sólo se dispone de información espectroscópica de baja resolución. De acuerdo con ella, la PrP<sup>Sc</sup> presenta un contenido en hélice  $\alpha$  del 30%, y del 43% en lámina  $\beta$ . Como comparación, la PrP<sup>c</sup> presenta el 42% de estructura  $\alpha$  y sólo el 3% de estructura  $\beta$ ; por último, la PrP 27-30 presenta el 21% de estructura  $\alpha$  y hasta el 54% de estructura  $\beta$ . Todos estos datos afianzan la hipótesis del “cambio conformacional” de la PrP en el paso de su “forma normal” a su “forma patógena”. Además, el alto contenido en estructura  $\beta$  de esta última es compatible con la información disponible para otras proteínas responsables

de enfermedades en las que aparecen depósitos de placas amiloides, como ocurre en la enfermedad de Alzheimer.

Toda esta información se ha utilizado para postular un *modelo teórico* de la estructura correspondiente a la PrP<sup>Sc</sup>. Este modelo se muestra, comparándolo con la estructura experimental de la PrP<sup>c</sup>, en la figura 2D. El modelo recoge de forma evidente la disminución en el contenido helicoidal de la estructura (en verde) y el aumento en el contenido en lámina  $\beta$  (en azul).

Como curiosidad final, la denominada “proteína 14-3-3”, cuya detección en el líquido cefalorraquídeo (LCR) se utiliza por su alta sensibilidad en el diagnóstico de la ECJ clásica, y no está asociada tan fuertemente para el diagnóstico de la ECJ<sup>nv</sup>, no tiene nada que ver con la PrP. La proteína 14-3-3 es una proteína normal en el ser humano y en otros mamíferos, y se encuentra de forma predominante en las neuronas del sistema nervioso central. Se cree que interviene en la estabilización de otras proteínas neuronales. Su presencia en el LCR indica procesos agudos o subagudos de degeneración neuronal, no específicos de la ECJ (p. ej., aparece también en encefalitis virales agudas, infarto cerebral, síndromes paraneoplásicos y en episodios de intervenciones cerebrovasculares). Por eso, esta técnica analítica que no es específica, debe utilizarse en combinación con otros métodos diagnósticos, para descartar otras posibles fuentes de la proteína y basar la confirmación en pruebas de alta especificidad.

## Desarrollo y propagación de las EET

La hipótesis del prion implica que las encefalopatías espongiiformes se desarrollan, molecularmente, por medio del “cambio conformacional” que implica la transformación de la forma PrP<sup>c</sup> en la forma PrP<sup>Sc</sup>, sin ninguna modificación química asociada. A su vez, esta transformación es inducida por el contacto entre las dos isoformas de la PrP. La ausencia de cualquiera de ellas impide por tanto el desarrollo de la enfermedad. Si bien el desconocimiento estructural detallado de la conformación en la forma patógena impide a su vez conocer el mecanismo de esta transformación, existen una serie de datos que han permitido la formulación de hipótesis razonables.

En primer lugar, se sabe que la aparición de estas enfermedades, fundamentalmente en su “forma hereditaria”, se asocia a la presencia de ciertas mutaciones en el gen que codifica la PrP. Por ejemplo, los enfermos de la ECJ presentan siempre un aminoácido metionina en la posición 129 de la secuencia (que normalmente codifica una valina). También hay mutaciones específicas asociadas a las enfermedades IFL (cambio de un ácido aspártico por una asparagina en posición 178) y GSS (cambio de una leucina por una prolina en posiciones 102 y 105). En la actualidad se han detectado unas 20 mutaciones que, por sí solas o en combinación, parecen *aumentar la susceptibilidad* de la forma plegada PrP<sup>c</sup> para sufrir el cambio hacia la forma patógena. En cualquier caso, esto no implica en ningún caso que la presencia de la mutación vaya a inducir automáticamente el desarrollo de la enfermedad. Prueba de ello es que estas enfermedades se manifiestan en el ser

humano, por regla general, a una edad superior a los 50 años. Además, estas mutaciones son mucho más habituales que el escaso número de individuos que desarrollan la enfermedad.

Por otra parte, se ha demostrado que el contacto entre la forma patógena y la forma celular sólo induce de forma relativamente eficaz un cambio conformacional en esta última cuando ambas proteínas presentan la misma secuencia. Esto es lo que se ha denominado la barrera de especie. Por ejemplo, a pesar de que las secuencias y las estructuras de las PrP<sup>c</sup> del ratón y del hámster son muy parecidas, las pequeñas diferencias existentes entre ellas hacen que un ratón desarrolle fácilmente la encefalopatía espongiiforme si se inocula con extractos cerebrales de ratón infectado, pero no si se inocula con extractos cerebrales de hámster infectado, y viceversa. Esto no quiere decir que la barrera sea infranqueable. De hecho, el inicio de la EEB en ganado bovino se ha atribuido originalmente a la utilización de harinas cárnicas con contenido de proteínas de ovejas infectadas de *scrapie*. Además, una vez se supera la barrera (un proceso infectivo aún mucho más lento de lo habitual en estas enfermedades, según estudios de laboratorio), la infectividad transcurre ya al ritmo normal de la nueva especie (y, en el ejemplo anterior, puede estar provocado también por la contaminación de harinas cárnicas de origen bovino).

Como dato interesante, mientras que las secuencias de la PrP de vaca y oveja difieren sólo en 7-8 aminoácidos, entre el ser humano y la vaca la diferencia es de algo más de 30 aminoácidos. Aún así, los casos detectados de la ECJ<sup>nv</sup> podrían indicar, al confirmarse su origen en el consumo de productos cárnicos de origen bovino contaminados con PrP<sup>Sc</sup>, que también esta barrera de especie puede superarse. La posibilidad de que sean ciertas posiciones específicas en la estructura y no el número total de aminoácidos los responsables de la barrera, es hoy un tema de investigación de indudable interés.

Además de los aspectos mencionados, existen todavía una serie de factores desconocidos en el mecanismo molecular de desarrollo de la enfermedad. Por ejemplo, se supone (pero no existe todavía evidencia absoluta de ello) que el “cambio conformacional” se produce por un mecanismo de *nucleación*, donde una molécula de PrP<sup>c</sup> se une a un agregado con un cierto número de moléculas de PrP<sup>Sc</sup>. Éste actúa como “plantilla tridimensional” para, en las condiciones adecuadas, inducir la desnaturalización parcial o total de la forma celular, su cambio conformacional, y su incorporación al núcleo patógeno en crecimiento. Si bien no se han detectado directamente otras moléculas presentes en esta transformación, no se descarta totalmente la presencia de alguna proteína adicional (a la que se menciona en la bibliografía con el nombre de proteína X) que pudiera colaborar en el proceso. Incluso es posible que la propia presencia de cationes metálicos como el Cu<sup>2+</sup> pudiera participar en éste.

Tampoco está en absoluto claro el tema de las “cepas” en la propagación de las EET. Éstas se refieren a la presencia, dentro de la misma enfermedad, de diferentes cuadros clínicos y distintas velocidades de incubación. Si bien la explicación de estas cepas es compleja dentro de la

hipótesis del prion, puede abordarse dentro de distintos patrones de agregación de la forma patógena.

## Conclusiones

En esta revisión se han resumido brevemente los aspectos moleculares relacionados con las EET. La hipótesis del prion, si bien no está universalmente aceptada, sí se reconoce hoy en día como la más plausible para explicar la transmisión de estas enfermedades. El término prion se utiliza tanto para referirse a la proteína celular normal (el PrP) como al agente infeccioso de las EET, que estaría en realidad compuesto por agregados de la isoforma irregular de la PrP.

El estudio de los priones se ha bifurcado en numerosas líneas de investigación que intentan elucidar los mecanismos detallados del cambio conformacional producido en estas proteínas, y en cuyas peculiaridades

parece residir su carácter infeccioso (no debe olvidarse que otras enfermedades, como el Alzheimer o la diabetes tipo II, muestran también el cambio conformacional de ciertos fragmentos proteicos, sin presentar ninguna característica infecciosa).

En el fondo, el conocimiento de estos mecanismos busca el diseño, aunque por el momento sólo sea especulativo, de posibles terapias para estas enfermedades. De acuerdo con los conocimientos actuales, parece claro que cualquier bloqueo de la forma PrP<sup>Sc</sup> de origen externo en su entrada al organismo o en su camino al sistema nervioso central, de su contacto con la forma PrP<sup>C</sup>, o del cambio conformacional inducido en ésta, puede evitar el desarrollo de la enfermedad. Por eso se investiga (a escala molecular) en posibles ligandos que estabilicen la forma celular e impidan su modificación estructural, y sobre todo en el conocimiento de los posibles intermedios de esta transformación, cuya eliminación podría interrumpir el proceso.

En cualquier caso, vemos una vez más cómo, a pesar del largo camino que queda por recorrer en este caso, la combinación de los conocimientos de la química y de la biología estructural con la medicina contribuyen a una mayor comprensión de las bases moleculares de las enfermedades, y por lo tanto a sentar los fundamentos de un futuro tratamiento de éstas.

## Bibliografía general

- Caughey B. Interactions between prion protein isoforms: The kiss of death? *Trends Biochem Sci* 2001;26:235-42.
- Cohen FE, Prusiner SB. Pathologic Conformations of Prion Proteins. *Annu Rev Biochem* 1998;67:793-819.
- Collinge J. Prions Diseases of Humans and Animals. Their Causes and Molecular Basis. *Annu Rev Neurosci* 2001;24:519-50.
- Creighton TE. *Proteins: Structures and Molecular Properties*, 2<sup>a</sup> ed. New York: Freeman, 1993.
- Dobson CM. Protein misfolding, evolution and disease. *Trends Biochem Sci* 1999;24:329-32.
- Huang Z, Prusiner SB, Cohen FE. Scrapie prions. A three-dimensional model of an infectious fragment. *Fold Des* 1996;1:13-9.
- Prusiner SB. Prions. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1998;95:13363-83.
- Radford SE. Protein folding. Progress made and promises ahead. *Trends Biochem Sci* 2000;25:611-8.