

# Desarrollo de la cristalografía estructural en el siglo XX. Su impacto en las ciencias biomédicas y las perspectivas en este campo

Structural crystallography development in the 20<sup>th</sup> century. Impact in the biomedical sciences and perspectives in this field

Marina de Matheus\*

Luisa M. Matheus\*\*

\* *Dr. Sc. Docente pensionada del Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.*

\*\* *Ph. D. Unidad de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad del Rosario.*

Correspondencia

*Luisa M. Matheus. Carrera 24 No. 63C-69, Bogotá, Colombia.*

*Correo electrónico: luisa.matheus@urosario.edu.co*

*Recibido: septiembre de 2007*

*Aceptado: septiembre de 2007*

El desarrollo de la cristalografía estructural está estrechamente ligado a los avances en otras áreas de la ciencia y la tecnología: química, física y matemáticas, y a los adelantos en computación y robótica.

Aunque el descubrimiento de los rayos X por Wilhelm Honrad Roentgen (1845-1923) tuvo lugar en 1895, el uso de la radiación en la determinación de la estructura de los cristales sólo se logró a partir del descubrimiento de Max von Laue (1876-1960), en 1912, según el cual un cristal expuesto a un haz de rayos X originaba sombras específicas. A partir de ese hecho, la estructura de cristales simples, como el cloruro de sodio y el diamante, fue determinada con el método de difracción de rayos X. Sin embargo, para moléculas complejas como las proteínas, que por sus medidas de peso molecular son catalogadas como macromoléculas, no fue fácil la

determinación de su estructura tridimensional en esa época (1).

En 1934, John Desmond Bernal (1901-1971) y Dorothy Crowfoot Hodgkin (1910-1994) reportaron que los cristales de pepsina mantenidos en su líquido madre originaban excelentes patrones de difracción, pero ninguna de las técnicas analíticas ni computacionales les permitieron interpretar los datos obtenidos (2). Durante diez años, las técnicas de crecimiento de cristales y de obtención de datos de difracción fueron mejoradas, pero la elucidación de la estructura no pudo ser alcanzada, por falta de procedimientos para la determinación de las fases de las reflexiones.

El advenimiento de los llamados métodos directos para la resolución de estructuras cristalinas fue el camino para superar el problema de las fases.

En los años treinta, John Monteath Robertson (1900-1989) ideó el método de reemplazo isomorfo, que podría ser utilizado para la determinación de estructuras de moléculas orgánicas pequeñas. En 1953, Max Perutz (1914-2002), integrante del grupo de la Unidad de Biofísica del Laboratorio Cavendish, en Inglaterra, a pesar de las observaciones de Robertson, decidió utilizar el método de reemplazo isomorfo para la determinación de la estructura de la hemoglobina, un complejo órgano-metálico, reemplazando el átomo de hierro por mercurio (3). Perutz continuó trabajando sobre la hemoglobina, puesto que la primera estructura por sí sola no podía dar respuesta a todos los interrogantes biológicos, de suerte que estudió hemoglobinas mutantes humanas y animales con propiedades anormales (4).

Con el método de Robertson, Sir John Kendrew (1917-1997), primer alumno de doctorado de Perutz, determinó la estructura tridimensional de la mioglobina (5,6). El Premio Nobel de Química de 1962 fue compartido por Perutz y Kendrew. Posteriormente, el grupo de Cavendish resolvería la estructura de diversas proteínas y la del ADN. Watson, Crick y Wilkins recibieron el Premio Nobel de Fisiología o Medicina, también en 1962 (1).

En los años subsiguientes, las nuevas tecnologías pusieron a disposición de los cristalógrafos mayores facilidades para la recolección de datos y análisis de resultados de difracción, y, desde entonces, se han resuelto, cada vez con mayor rapidez, infinidad de estructuras proteicas

(40.342 proteínas están depositadas en el Protein Data Bank) (7). En la era posgenómica, donde es necesario encontrar la función que cumple cada uno de los productos de los nuevos genes hallados en el genoma humano, la dilucidación de las estructuras tridimensionales de las proteínas desempeña un papel preponderante, puesto que la función de las proteínas está estrechamente acoplada con su estructura tridimensional. A su vez, la estructura proteica determina con cuál molécula puede interactuar, ya que la forma de la molécula debe complementar la forma del sitio correspondiente en la proteína. Otra de las aplicaciones del conocimiento de la estructura tridimensional de las proteínas es el diseño de medicamentos basados en estructura. También, podrán ser empleados para los estudios evolutivos y de predicción de estructura (8).

Con el fin de acelerar la determinación de la estructura tridimensional de proteínas normales y relacionadas con patologías, entre 1998 y 2000 fueron creados consorcios entre centros de investigación que trabajan en cristalografía estructural en diferentes lugares del mundo: en USA, el Instituto Nacional de Salud (NIH); en el Japón, el laboratorio Riken, y en Europa, Structural Proteomics in Europe (SPINE) (9).

A finales del siglo XX, en un laboratorio de cristalografía de proteínas equipado con un sincrotrón de tercera generación y un robot controlado por computador, para montar, centrar y exponer cristales de proteína frente a la fuente de radiación, es posible obtener resultados confiables en menos de 24 horas (10).

## REFERENCIAS

1. Ortiz-Hidalgo C. "Encontramos el secreto de la vida". Cincuenta años del descubrimiento de la estructura del ADN. *Anales Médicos* 2003;48(3):177-88.
2. Bernal JD, Crowfoot D. X-ray photographs of X-ray photographs of crystalline pepsin. *Nature* 1934;133:794.
3. Green DW, Ingram VM, Perutz MF. The structure of hemoglobin. IV. Sign determination by the isomorphous replacement method. *Proc R Soc Lond A* 1953;225:287-307.
4. Petsko GA. The father of us all. *Genome Biol* 2002;3(3).
5. Kendrew JC, Bode G, Dintzis HM, Parrish RC, Wykoff H. A three-dimensional model of the myoglobin molecule obtained by X-ray analysis. *Nature* 1958;181:660-2.
6. Kendrew JC, Dickerson RE, Strandberg RE, Hart RG, Davies DR, Phillips DC, et al. Structure of myoglobin. A three-dimensional fourier synthesis at 2Å resolution. *Nature* 1960;185:422-7.
7. Protein Data Bank (PDB) [en línea]. [Fecha de acceso 25 de septiembre de 2007]. URL disponible en: <http://www.rcsb.org>.
8. Protein Structure Initiative (PSI) [en línea]. URL disponible en: <http://www.structuralgenomics.org>.
9. Structural Proteomics in Europe (SPINE) [en línea]. URL disponible en: <http://www.spineurope.org/page.php?page=details&sid=2ad9fb834b996145e447e199e4f44c8b>.
10. Abad-Zapatero C. Notes of a protein crystallographer: my nights with ACTOR. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 2005;61(Pt 10):1432-5.

## Estudio de caso

# Evento cerebrovascular y acidosis metabólica

## Stroke and Metabolic Acidosis

Alejandra Salcedo Monsalve MD. esp.\*

\* Unidad de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad del Rosario. Médica toxicóloga adscrita a la Clínica del Country, Bogotá.

### Correspondencia

Alejandra Salcedo Monsalve. Unidad de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Colegio Mayor de Nuestra Señora del Rosario. Carrera 24 No. 63C-69, Bogotá, Colombia.

Correo electrónico: asalcedo@urosario.edu.co

Recibido: 15 de mayo de 2007.

Aceptado: 30 de julio de 2007.

## Resumen

En este artículo se presenta para discusión el caso de una paciente de 59 años con pérdida súbita de conciencia. La tomografía axial computarizada reveló una hemorragia intraparenquimatosa; en el postoperatorio de la cirugía de drenaje del hematoma presentó marcada acidemia metabólica sin causa aparente.

*Palabras clave:* hemorragia intracerebral, acidosis metabólica.

## Abstract

This article is offered for discussion. A case of a 59-year-old woman with sudden loss of consciousness is presented. Cerebral computed tomography revealed intracerebral hemorrhage, in postoperative of surgical drainage of the hematoma, she had severe metabolic acidemia without apparent cause.

*Keywords:* intracranial hemorrhage, acidosis.

## PRESENTACIÓN DEL CASO

Paciente de sexo femenino de 59 años, natural y procedente de Bogotá; educadora. A las 10 a. m.

fue llevada, en ambulancia, a la institución hospitalaria, acompañada por su hija, quien refirió haberla encontrado en su habitación, en el piso, semidesnuda, inconsciente, con restos de vómito de color verdoso y escasos estigmas de sangrado en la cara. La última comunicación con la paciente se dio el día anterior en la tarde, pues no contestó llamadas en la noche.

## ANTECEDENTES

Hipotiroidismo en manejo con levotiroxina, 50 microgramos al día. Hace dos años, implante de marcapasos bicameral por enfermedad del nodo sinusal. Al parecer, endocrinopatía y disautonomía no aclarada por los familiares.

## EXAMEN FÍSICO (HALLAZGOS POSITIVOS)

Mal estado general, inconsciente, hipotérmica. FC: 88 x min., TA: 170/110, FR: 8 x min., temp.: 35 °C, Glasgow: 6/15. Pupilas isocóricas mióticas, con respuesta a la luz, reflejo corneano presente, restos de epistaxis. Disminución generalizada de los ruidos respiratorios. Equimosis sobre cresta ilíaca izquierda y pierna derecha, zona eritematosa

de presión en espina ilíaca anterosuperior derecha; en mano izquierda y hemicuerpo izquierdo se observan restos de materia fecal. Neurológico: estuporosa, apertura ocular al estímulo doloroso, no hay respuesta verbal, movimiento de retirada en hemicuerpo izquierdo al estímulo doloroso. *Plejía* de miembro superior derecho, paresia 2/5 en miembro inferior derecho y Babinski bilateral.

### IMPRESIONES DIAGNÓSTICAS DE INGRESO:

1. Síncope y colapso.
2. Enfermedad cerebrovascular no especificada.
3. Hipotermia.
4. Traumatismo intracraneal no especificado a estudio.

### CONDUCTA

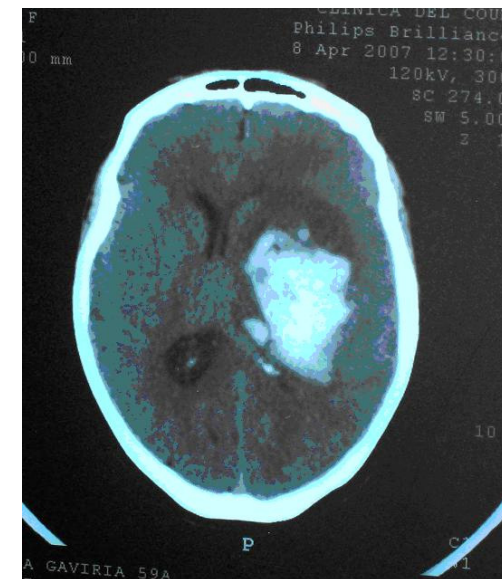
Se reanimó con líquidos endovenosos calientes (SSN 0,9%); se administró oxígeno por Venturi al 50% y fue cubierta con cobija térmica. Se le solicitaron paraclínicos, con el fin de descartar tóxicos o encefalopatía metabólica, e imágenes diagnósticas, para descartar enfermedad estructural, evento cerebrovascular o trauma craneoencefálico (Tablas 1 y 2 y Figura 1)

### EVOLUCIÓN

La paciente fue llevada a cirugía toda vez que las imágenes de tomografía cerebral confirmaron evento cerebrovascular tipo hemorragia intraparenquimatosa, de extensión parietotemporal e insular del hemisferio cerebral izquierdo, sin demostración de malformación arteriovenosa o forma aneurismática.

En el procedimiento quirúrgico se drenó un gran hematoma intraparenquimatoso e intraventricular, que dejó una cavidad de 6 cm con salida de abundante líquido cefalorraquídeo; además, se resecó una lesión quística de 1,5 cm

de diámetro adherida a plejo coroideo, con una vena sangrante en su interior que fue coagulada; el procedimiento fue realizado sin complicaciones. En el postoperatorio (POP) inmediato la paciente fue trasladada a la unidad de cuidado intensivo (UCI) para observación neurológica y extubación programada. La paciente ingresó a UCI bajo efectos de sedación con Glasgow 3/15, sin soporte inotrópico, con ventilación mecánica en modo asistido SIMV 8 + presión de soporte 8, con una frecuencia respiratoria total de 16, con



de diámetro adherida a plejo coroideo, con una vena sangrante en su interior que fue coagulada; el procedimiento fue realizado sin complicaciones. En el postoperatorio (POP) inmediato la paciente fue trasladada a la unidad de cuidado intensivo (UCI) para observación neurológica y extubación programada. La paciente ingresó a UCI bajo efectos de sedación con Glasgow 3/15, sin soporte inotrópico, con ventilación mecánica en modo asistido SIMV 8 + presión de soporte 8, con una frecuencia respiratoria total de 16, con

una fracción inspirada de oxígeno de 0,4, PEEP 6, con lo que saturaba el 97%.

En las primeras horas de estancia en la UCI, la paciente evolucionó satisfactoriamente; recuperó su estado neurológico respecto al ingreso, con Glasgow 7/15. En los laboratorios de control del primer día POP se encontró hipokalemia (3,2 mEq/L), que persistió a pesar de reposición de potasio y cursó con acidemia metabólica (pH 7,32) (Tabla 3). Se interrogó nuevamente a los familiares por historia no clara de alteración endocrina y se solicitaron paraclínicos, para descartar acidosis hiperclorémica y trastornos suprarrenales y tiroideos (Tabla 3).

Los estudios complementarios permitieron descartar compromiso endocrino; sin embargo, en el segundo día POP, a pesar del manejo, la paciente empeoraba su condición ácido básica (el pH descendió a 7,25 y el bicarbonato a 7,7 mEq/L); continuaba requiriendo soporte ven-

tilatorio y no mejoraba su estado neurológico, permanecía con Glasgow 7/15, pupilas reactivas a la luz, afasia y hemiparesia derecha sin recuperación; no requería soporte inotrópico, TA 119/72, FC 86 x min., FR 16 x min., T 36,4 °C, gasto urinario 1,2 cc/kg/hora; ruidos cardiacos rítmicos, ruidos respiratorios sin agregados, abdomen blando sin masas.

Para este momento se trata de una paciente de 59 años, con alteración súbita del estado de conciencia, con una lesión cerebral hemorrágica intraparenquimatosa, sin antecedente de hipertensión arterial y con acidemia metabólica que apareció 24 horas después de ingresar a la institución, sin causa aparente, que ha progresado a pesar de manejo médico. En ese sentido, *¿Cuál sería su sospecha diagnóstica para explicar la acidemia metabólica marcada que presentaba la paciente?, ¿Qué estudios complementarios solicitaría usted en este caso?*

Tabla 1. Resultados de exámenes paraclínicos al ingreso a urgencias

| EXAMEN DE LABORATORIO  | RESULTADO                  |         |
|------------------------|----------------------------|---------|
| Cuadro hemático        | Hematocrito (%)            | 45,6    |
|                        | Hemoglobina g/dL           | 15,6    |
|                        | Leucocitos mm <sup>3</sup> | 15.450  |
|                        | Neutrófilos (%)            | 86,9    |
|                        | Linfocitos (%)             | 6       |
|                        | Plaquetas mm <sup>3</sup>  | 213.000 |
| Pruebas de coagulación | PT seg                     | 12,1    |
|                        | PTT seg                    | 25      |
| Electrolitos           | Sodio mEq/L                | 140     |
|                        | Potasio mEq/L              | 3,6     |
|                        | Cloro mEq/L                | 99      |

| EXAMEN DE LABORATORIO |                               | RESULTADO   |
|-----------------------|-------------------------------|---|
| Química sanguínea     | Glucemia mg/dL                | 100   |
|                       | BUN mg/dL                     | 17,4  |
|                       | Creatinina mg/dL              | 1,35  |
|                       | Bilirrubina total mg/dL       | 1,3   |
|                       | Bilirrubina indirecta mg/dL   | 0,93  |
|                       | Bilirrubina directa mg/dL     | 0,37  |
|                       | AST UI/L                      | 102   |
|                       | ALT UI/L                      | 102   |
|                       | CPK total U/L                 | 1.639   |
|                       | CPK MB U/L                    | 55  |
|                       | Troponina I U/L               | 0,0   |
| Tóxicos               | Drogas de abuso               | Negativo para cocaína, anfetaminas, fenciclidina, benzodiacepinas, cannabinoides, opiáceos, barbitúricos, metadona, metanefrina, morfina, antidepresivos tricíclicos. |
| Gases arteriales      | Ph                            | 7,46  |
|                       | paCO <sub>2</sub> mmHg        | 26,8  |
|                       | paO <sub>2</sub> mmHg         | 215,1   |
|                       | HCO <sub>3</sub> mEq/L        | 18,7  |
|                       | TC                            | 19,6  |
|                       | BE mEq/L                      | -5,1  |
|                       | Saturación O <sub>2</sub> (%) | 99  |

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 2. Resultado de imágenes diagnósticas al ingreso

| ESTUDIO IMAGENOLÓGICO   | REPORTE  |
|---|--|
| Radiografías de pelvis  | Normales   |
| Radiografías de tórax   | Normales   |
| Tomografía axial computarizada (TAC) de cuello y columna cervical | Normal   |
| TAC de cráneo simple  | Hemorragia intraparenquimatosa de extensión parietotemporal e insular del hemisferio cerebral izquierdo (Figura 1) |
| AngioTAC  | Descartó lesiones aneurismáticas y malformaciones arteriovenosas   |

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 3. Resultados de exámenes de laboratorio durante el postoperatorio

| EXAMEN DE LABORATORIO  | RESULTADO                     |                               |         |
|------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------|
|                        | PRIMER DÍA DE POSTOPERATORIO  | SEGUNDO DÍA DE POSTOPERATORIO |         |
| Cuadro hemático        | Hematocrito (%)               | 35,1                          | 33,7    |
|                        | Hemoglobina g/dL              | 11,3                          | 10,6    |
|                        | Leucocitos mm <sup>3</sup>    | 11.090                        | 10.700  |
|                        | Neutrófilos (%)               | 82,2                          | 80,8    |
|                        | Linfocitos (%)                | 8,1                           | 7,5     |
|                        | Eosinófilos (%)               | 0,1                           | 11,6    |
|                        | Plaquetas mm <sup>3</sup>     | 172.000                       | 186.000 |
| Electrolitos           | Sodio mEq/L                   | 144                           | 143     |
|                        | Potasio mEq/L                 | 3,2                           | 4,4     |
|                        | Cloro mEq/L                   | 113                           | 113     |
|                        | Calcio mg/dL                  | 8,0                           | 8,7     |
|                        | Magnesio mg/dL                | 1,89                          |         |
| Química sanguínea      | Glucemia mg/dL                | 59                            |         |
|                        | BUN mg/dL                     | 14                            |         |
| Perfil endocrinológico | Creatinina mg/dL              | 1,35                          |         |
|                        | TSH mU/L                      | 0,72                          |         |
|                        | T4 libre ug/dL                | 1,2                           |         |
| Gases arteriales       | Cortisol 8 a. m. ug/d         |                               | 23,6    |
|                        | pH                            | 7,321                         | 7,25    |
|                        | paCO <sub>2</sub> mmHg        | 22,7                          | 17,7    |
|                        | paO <sub>2</sub> mmHg         | 72                            | 114,6   |
|                        | HCO <sub>3</sub> mEq/L        | 11,9                          | 7,7     |
|                        | TC                            | 13                            | 8,2     |
|                        | BE mEq/L                      | -14                           | -19,6   |
|                        | Saturación O <sub>2</sub> (%) | 94                            | 97,8    |

Fuente: Elaboración propia.