



Diseñan moléculas para tratar enfermedades neuronales

A partir de una toxina del potente veneno del caracol de mar *Conus geographus*, se propondría un fármaco para controlar este tipo de afecciones. Dos péptidos (cadenas de aminoácidos) diseñados ofrecen resultados promisorios.

Después de adelantar un complejo trabajo de 80 ensayos *in silico* (virtuales), como parte de una tesis doctoral, el profesor Édgar Reyes y el estudiante de Maestría en Ciencias Bioquímicas, César Machuca, guardaron en un tubo de ensayo el resultado de sus estudios.

En ese ligero equipaje científico, que llevaron a la Universidad de Nueva York, iban en forma liofilizada (sólida, sin solventes) todas las expectativas de 15 años de trabajo en la Universidad Nacional de Colombia (UN): un tipo de moléculas denominadas péptidos (cadena de aminoácidos), diseñadas para actuar sobre una proteína específica, que podrían servir para tratar enfermedades neuronales, como isquemias, párkinson o alzhéimer.

Si estos péptidos funcionan, podrían evitar el daño neuronal producido después de una isquemia cerebral o trombosis, como se conoce esta patología, al actuar en calidad de agentes reguladores para que las células alteradas (cuando falte el oxígeno y nutrientes) retornen a la normalidad. Tal aplicación resulta muy valiosa, pues aunque es un modelo inicial sobre el que se desarrollan ensayos *in vitro* (de laboratorio), también funcionaría en otras alteraciones neuronales.

En el micromundo de los péptidos, hallar los indicados para esta función tan compleja y precisa es la tarea titánica en la que se ha embarcado el Grupo de Investigación en Proteínas (GRIP) de la UN, del cual forma parte el profesor Reyes, doctor en Ciencias Químicas.

Para ello, este equipo de investigación parte de un receptor de glutamato a nivel neuronal, llamado NMDA (N-Metil-D-Aspartato). El glutamato es uno de los neurotransmisores más importantes del sistema nervioso central, porque interviene activamente en la transmisión de las corrientes eléctricas que producen procesos fisiológicos tan fundamentales en el ser humano, como la memoria y el aprendizaje. Además, estos requieren canales iónicos, complejos proteicos con un poro que permite la entrada selectiva de varios iones a una célula.

Cuando estos canales no funcionan de forma adecuada generan desbalance entre las neuronas y afloran algunas patologías como dolores neuropáticos, alzhéimer, isquemias o párkinson.



La isquemia, el modelo sobre el cual trabaja el GRIP, se produce cuando el aporte de oxígeno al encéfalo disminuye o es interrumpido, según el profesor Rodrigo Pardo, de la Facultad de Medicina de la un.

“Al haber bloqueo en el transporte de oxígeno a las células, la reacción puede llevar a la muerte neuronal”, explica por su parte el profesor Reyes. Además, precisa, el mayor impacto no es generado por el evento isquémico, sino por el fuerte choque que sufren las células al restablecerse el flujo sanguíneo, pues estas reaccionan y abren todos sus canales, lo cual produce una entrada excesiva de calcio. Así, esto generaría más daño que el mismo derrame cerebral.

Por ello, un complejo proteico como el receptor NMDA, según el doctor Reyes, es un buen blanco farmacológico para estos casos, ya que contribuiría de manera eficaz en la respuesta de las células ante el restablecimiento del flujo sanguíneo en condiciones más regularizadas y, como tal, menos nocivas.

La toxina del caracol

Para iniciar el diseño de los péptidos, que se unieron al canal iónico deseado, el equipo investigador tomó como base de estudio una toxina denominada Conantokina G, extraída del *Conus geographus*, un caracol de mar de vistosos colores.

Este molusco, según el biólogo Juan Manuel Díaz Merlano de la un, es una especie de gasterópodo de la familia de los cónidos, a la cual pertenecen alrededor de 500 especies, la mayoría de ellas localizadas en mares tropicales, en especial, arrecifes de coral. “Se trata de una especie común y como tal no figura en las listas rojas de especies amenazadas”, puntualiza.

El profesor Díaz indica que, como todos los cónidos, es una especie carnívora. “Su alimento son los peces, que caza mediante un dardo en forma de arpón, acoplado con una glándula que produce uno de los venenos más potentes entre organismos marinos, el cual puede causarle la muerte al ser humano”.

Al respecto, explica, la letalidad del veneno radica en que son animales de movimiento muy lento y se alimentan de peces de desplazamiento rápido. “Cuando el pez es alcanzado por el dardo, el veneno actúa inmediatamente para impedir que el animal escape y termine en la boca de otro pez o pulpo”.

Esta toxina tendría la capacidad de bloquear el paso excesivo de iones a través del canal de estudio, pues se une de manera muy selectiva a la subunidad que modula la apertura o cierre del receptor evaluado, explica el profesor Reyes. Una subunidad es una parte del



complejo proteico. En otras palabras, el complejo es una asociación de varias proteínas (subunidades) que unidas permiten que funcione, en este caso, como canal iónico.

La sustancia tóxica seleccionada funciona como antagonista del receptor, toda vez que cambia su acción normal y bloquea el paso de iones a través de este. Con ella han desarrollado ensayos en el mundo, estos indican que se une muy fuerte a la subunidad y casi bloquea el canal de manera permanente. Sin embargo, en casos como los mencionados, se requiere que el bloqueo sea solo temporal para asegurar que estos canales vuelvan a ser funcionales.

Por tanto, los investigadores de la un trabajan en el diseño de péptidos que tengan una afinidad menos fuerte que la Conantokina G, con el fin de lograr su reversibilidad al suministrarlos después de un evento isquémico y, así, evitar el daño neuronal. El secreto está en disminuir gradualmente su efecto o lograr que este sea reversible y retirar el péptido para que la célula siga funcionando de manera natural.

Bioinformática, laboratorio virtual

Tales cadenas de aminoácidos fueron diseñadas con ayuda de la bioinformática, que permite simular su comportamiento *in silico*, un procedimiento virtual que resulta muy favorable, pues no requiere trabajo *in vitro*, ni *in vivo* (pruebas de campo), realizado con animales de experimentación. “Con ella se simulan las interacciones o uniones entre los péptidos y el receptor”, precisa el investigador Reyes. Esta parte del proyecto fue financiada por Colciencias.

La bioinformática proporciona herramientas especializadas que facilitan simular las interacciones de cada uno de los péptidos propuestos con la subunidad en estudio, con el fin de realizar un análisis exhaustivo que permita seleccionar aquellos con mejores probabilidades de funcionamiento, de acuerdo con el diseño realizado.

En principio, fueron propuestos 80 péptidos y después del análisis *in silico* determinaron evaluar *in vitro* cuatro de ellos y uno adicional que actúa como control. Posteriormente, fueron llevados liofilizados a Nueva York para los estudios correspondientes.

A la fecha se han examinado dos péptidos y el control. En desarrollo de la tesis doctoral en Biotecnología del estudiante Edwin Reyes, calificada como meritoria, fue evaluada la especificidad de cada uno de los péptidos hacia el receptor NMDA y la reversibilidad de su unión al disminuir su concentración en el medio.

El investigador dispuso los péptidos en cultivos celulares y con la técnica de electrofisiología (estímulos eléctricos) revisó si los canales funcionaban o actuaban como antagonistas; además, si no quedaban adheridos al receptor. Por ello, fue necesario hacer



la evaluación durante la presencia del péptido en el medio y luego de ser retirado, para determinar la recuperación de las células.

Al final, se encontró que dos de estos péptidos funcionan muy bien al ejercer la función de antagonista buscada y, además, actúan de manera selectiva para la subunidad GluN2.

Dado el importante hallazgo, el equipo inició el trámite de patentar los péptidos junto con un tercero que se potencia como agonista del receptor, es decir, con características similares a los dos primeros, pero sin efecto de bloqueo. Se quería como un control negativo, que no le hiciera nada. Pero el efecto fue contrario a los otros dos, es decir generaba efecto, pero de agonista, con lo que al adicionar este péptido, el receptor funciona como si estuviera con su ligando natural (glutamato).

Sobre los dos péptidos antagonistas, analizados según la técnica de imagen de calcio (calcium imaging), fue recopilada tanta información, que tuvo que ser almacenada en un disco de un terabyte (un trillón de bytes).

Por lo pronto, la investigación, en la que ha colaborado el profesor John Sutachán, de la Universidad Javeriana, quien facilitó el contacto con la doctora Esperanza Recio-Pinto, de la Universidad de Nueva York, tiene pendiente cuatro pruebas concluyentes.

Una vez inicien las pruebas *in vivo* se propondrá un fármaco que permita controlar enfermedades neuronales. Por ejemplo, solo en el caso de la isquemia cerebral, están asociadas en forma directa a 6.2 millones de decesos anuales, que representan el 10.6 % de la mortalidad mundial, registra la *Guía de práctica clínica para el diagnóstico, tratamiento y rehabilitación del episodio agudo del ataque cerebrovascular isquémico en población mayor de 18 años*, dirigida por el profesor Pardo.

En Colombia, señala el documento, la prevalencia de esta enfermedad, según edad y género, fluctúa entre 1.4 a 19.9 casos por cada 1.000 habitantes. Por ello, estos estudios, como el que realiza el GRIP, constituyen una de las más esperadas respuestas para el mundo médico y millones de pacientes.