

Toxinas animales ¿Oportunidades farmacológicas frente a la isquemia cerebral?

Animal toxins, pharmacological opportunities against brain ischemia?



Yair Santiago Bermúdez Urrego

Yair Santiago Bermúdez Urrego¹
Edwin Alfredo Reyes Guzmán²
María Elisa Forero Vivas³

Resumen

Las enfermedades cerebrovasculares (ECV) comprenden un conjunto de trastornos de la vasculatura cerebral que disminuyen el flujo sanguíneo en el cerebro con afectación transitoria o permanente, generalizada o focal, sin que exista otra causa aparente que el origen vascular. Esta revisión aborda un tipo de accidente cerebrovascular (ACV) isquémico, definida como la muerte de una zona de tejido cerebral como consecuencia de un suministro insuficiente de sangre y oxígeno al cerebro debido a la obstrucción de una arteria. Siendo el ACV una de las principales causas de muerte por enfermedades crónicas alrededor del mundo, y la segunda causa de muerte en Colombia (WHO; 2015). En este documento se muestra cómo las toxinas peptídicas de origen arácnido, puntualmente de la especie *Phoneutria boliviensis*, podrían representar un tratamiento alternativo gracias a su potencial

“

Palabras clave:

Isquemia, Receptor NMDA, Toxinas, Citotoxicidad, Tratamiento, Excitotoxicidad, Glutamato, Farmacológico.

Keywords:

Ischemia, NMDA receptor, Toxins, Cytotoxicity, Treatment, Excitotoxicity, Glutamate, Pharmacological.

¹ Estudios de Pregrado en Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Antonio Nariño, Bogotá D.C., Colombia. Correo electrónico: ybermudez85@uan.edu.co

² Doctorado en Ciencia Aplicada. Vicerrectoría de Ciencia, Tecnología e Innovación. Universidad Antonio Nariño, Bogotá D.C., Colombia.

³ Docente Investigador, Facultad de Ciencias, Universidad Antonio Nariño, Bogotá D.C., Colombia.

farmacológico, ya que se sabe que las toxinas animales actúan sobre receptores específicos en el sistema nervioso (SN), en este caso sobre el receptor N-metil-D-aspartato (NMDAR), el cual a su vez, además de participar en la transmisión sináptica, memoria y aprendizaje, se ve implicado en asociaciones patológicas como los desórdenes neurodegenerativos y la isquemia cerebral.

En consecuencia, se aborda el potencial farmacológico que pueden tener algunas toxinas peptídicas de origen animal frente a la isquemia cerebral, enfocándose en el papel de un receptor neuronal y dos péptidos derivados del veneno de la araña colombiana (endémica), *Phoneutria boliviensis*.

Abstract

Cerebrovascular diseases (CVD) comprise a group of disorders of the cerebral vasculature that decrease blood flow in the brain with temporary or permanent, generalized or focal involvement, with no apparent cause other than vascular origin. This review addresses a type of ischemic cerebrovascular accident (CVA), which is defined as the death of an area of brain tissue as a consequence of an insufficient supply of blood and oxygen to the brain due to a blocked artery. Stroke is one of the main causes of death from chronic diseases around the world, and the second cause of death in Colombia (WHO, 2015). The objective is to present how peptide toxins of arachnid origin, specifically from the *Phoneutria boliviensis* species, could represent an alternative treatment thanks to their interesting potential in pharmacological development, since it is known that animal toxins act on specific receptors in the nervous system. (SN), in this case on NMDAR, which in turn, in addition to participating in synaptic transmission, memory and learning, is also involved in pathological asso-

ciations such as neurodegenerative disorders and cerebral ischemia.

Consequently, it addresses the pharmacological potential of some peptide toxins of animal origin against cerebral ischemia, focusing on the role of a neuronal receptor and two peptides derived from the venom of the Colombian spider (endemic), *Phoneutria boliviensis*.

Introducción

Las enfermedades cerebrovasculares (ECV) hacen parte de las patologías que causan más muertes en todo el mundo. Se calcula que en 2012 murieron por esta patología 17.7 millones de personas, lo cual representa un 31% de todas las muertes registradas. De éstas, 7.4 millones se debieron a la cardiopatía coronaria y 6.7 millones a los accidentes cerebrovasculares (ACV). Más de tres cuartas partes de las defunciones por ECV se producen en los países de ingresos bajos y medios (Rabelo y Díaz, 2012).

El ACV se establece como la patología neurológica que constituye mayor discapacidad y acompañamiento interinstitucional para el paciente. Según la OMS, solamente en 2014, 6.9 millones de personas fallecieron a causa de los accidentes cerebrovasculares; donde 10 de cada 100 pacientes fallecieron de inmediato, 15 durante el primer año y 8 pacientes al transcurrir del segundo año, por tanto, dentro de los 2 primeros años fallecieron un 33% de los pacientes (Fabelo y Díaz, 2012).

Dentro de la complejidad fisiopatológica y molecular de las ECV están involucrados muchos factores, dentro de los cuales resulta interesante examinar un tipo de receptor neuronal que cumple un papel muy importante a nivel neurofisiológico: el NMDAR (Figura 1). Corresponde a un tipo de receptor

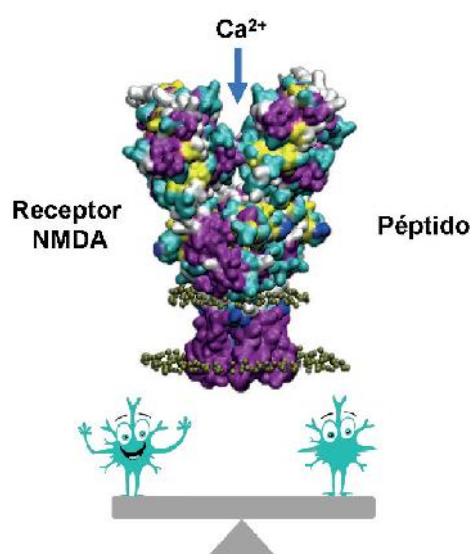
ionotrópico de glutamato presente en los sitios sinápticos del Sistema Nervioso Central (SNC), es decir, es un canal que permite el flujo de iones, principalmente de calcio, a las neuronas (Cuadrado, 2018). Su función primordial es la transmisión glutamatérgica y participa en procesos de memoria y aprendizaje. Alteraciones en la función del NMDAR se han relacionado con distintos desórdenes patológicos a nivel neurológico. En isquemia cerebral (un tipo de ACV), por ejemplo, la excitotoxicidad o sobre estimulación del receptor genera el aumento en el flujo del ion calcio (Ca^{2+}) a través del receptor, lo que favorece las vías de señalización asociadas a la muerte neuronal provocando un daño significativo que se extiende a varias zonas del cerebro. Hasta la fecha no se ha establecido un tratamiento efectivo para el ACV isquémico en el que está involucrado el receptor NMDA (Puentes, 2014).

Como lo muestra la Figura 1, el receptor NMDA es un receptor ionotrópico que permite el flujo de calcio hacia el interior neuronal. La entrada de calcio regula la frecuencia de disparo y la excitabilidad de las neuronas. La modulación de la activación del NMDAR por péptidos derivados de toxinas de origen animal resulta de interés farmacológico, en aquellos casos en que se involucre desregulación de los niveles de calcio intracelular e hiperexcitabilidad neuronal.

Las toxinas de naturaleza peptídica, procedentes de serpientes, escorpiones, avispas, caracoles y arañas, interactúan directamente con células del sistema nervioso central afectando diferentes vías de señalización involucradas en la actividad eléctrica y la comunicación neuronal (Vyklícky *et al.*, 2014). Los efectos de las toxinas van desde la inmovilización hasta la muerte de la presa o víctima (Tseng *et al.*, 2003).

La evidencia que la interacción específica de péptidos de toxinas de origen animal con

Figura 1. Receptor NMDA.



Fuente: Elaboración propia.

receptores de la membrana neuronal altera/modula la actividad neuronal, los convierte en un potencial farmacológico y en una oportunidad farmacológica interesante para tratar el ACV (Mansbach *et al.*, 2019; Vyklícky *et al.*, 2014). Pero, ¿de qué forma estas toxinas presentes en venenos pueden ser una esperanza para el tratamiento del ACV y específicamente cómo interactúan y regulan sus péptidos la actividad del NMDAR? Profundizar en la caracterización de la estructura y la composición de estas toxinas contribuirá a la generación de tratamientos terapéuticos y farmacológicos.

Toxinas de origen animal

Los NMDAR, son moléculas blanco de una gran variedad de sustancias químicas secretadas por diversas especies animales como mecanismos de defensa o cacería (Tseng *et al.*, 2003). Dentro de este amplio grupo, cabe destacar arácnidos, artrópodos (escorpiones), anfibios,

peces, ofidios (serpientes) y moluscos (caracoles). Se considera que de todas las especies existentes alrededor del 15% secretan sustancias químicas venenosas (Figura 2) (Kotpal, 2012; Whittington y Belov, 2007).

Estas sustancias químicas suelen caracterizarse como venenos, ya que son capaces de provocar algún tipo de modificación fisiológica puntual o sistémica en sus presas o víctimas (Holford *et al.*, 2018). Cuando el objetivo es la depredación, la función de estos venenos o toxinas es inmovilizar o paralizar a la presa para facilitar la deglución (Wüster, 2004). Cuando se trata de defensa, estas toxinas animales pueden desencadenar diferentes alteraciones sobre la fisiología de las víctimas, en procesos inflamatorios e infecciosos, alteraciones renales, cardiovasculares y del sistema nervioso, entre otras (Pereáñez y Vargas, 2008; Otero *et al.*, 1992).

Es importante mencionar que, históricamente, las toxinas animales han sido usadas en diferentes culturas con fines terapéuticos, y así mismo, han tenido otros usos como en la práctica de la cacería, algo tradicional en las

tribus indígenas amazónicas (Ortiz-Prado *et al.*, 2015; Rusell, 1988).

Venenos con potencial farmacológico

Los venenos o toxinas de origen animal tienen una amplia variedad de composiciones y se pueden clasificar en dos grupos principales. Por un lado, están las toxinas peptídicas con secuencias de entre 8 a 70 aminoácidos y son principalmente sintetizadas en los conductos venosos de los animales; por otro lado, se encuentran las no-peptídicas que han sido aisladas de organismos que acumulan alcaloides en su dieta, siendo en su mayoría poliaminas (Bogin, 2005). Algunas toxinas animales tienen alta diversidad química con péptidos ricos en enlaces disulfuro en su estructura, es decir, un tipo de enlace químico que hace que los péptidos sean moléculas estables, con afinidad y especificidad por blancos biológicos específicos (receptores celulares) interesantes para el diseño de agentes terapéuticos (Servent *et al.*, 2003).

Figura 2. Animales que secretan toxinas de interés farmacológico.



En la naturaleza hay una alta diversidad de especies que secretan toxinas que pueden tener un interés farmacológico como lo son las arañas (a), escorpiones (b), caracoles marinos (c) y serpientes (d).

Definir el potencial farmacológico de las toxinas de origen animal, y específicamente de péptidos, ha conllevado a avances biotecnológicos importantes, desde el enfoque del descubrimiento tradicional basado en la bioactividad, en el que las fracciones de veneno crudo se analizan frente a blancos conocidos, seguido de purificaciones y secuenciación para dilucidar la secuencia de péptidos específicos, hasta nuevos enfoques como la denominada “venómica integrada”, que combina datos de secuencia recopilados de transcriptomas de las glándulas o conductos que contienen el veneno con datos proteómicos, obtenidos de venenos crudos, a través de cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas en tándem (Vetter *et al.*, 2011; Dutertre *et al.*, 2015; Muttenthaler *et al.*, 2021). El uso de estas técnicas de purificación, secuenciación y caracterización estructural y funcional de toxinas peptídicas de origen animal permite obtener miles de secuencias peptídicas de forma rápida, eficaz y rentable que pueden ser sintetizadas químicamente y ser probadas en una amplia gama de proteínas, incluidos canales iónicos, enzimas, receptores acoplados a proteínas G y transportadores. Dos ejemplos interesantes de fármacos peptídicos derivados de venenos son la Exenatida, un agonista del receptor GLP1 (Péptido similar al glucagón tipo 1) obtenido del veneno del monstruo de Gila (*Heloderma suspectum*), un lagarto venenoso, y la Ziconotida, un inhibidor peptídico de canales de calcio dependientes de voltaje, fármaco obtenido del veneno de un caracol marino. En 2005, la Exenatida se convirtió en el primero de una clase de fármacos de gran éxito que actúan como agonistas del receptor GLP1 (Estrada-Gómez *et al.*, 2015), es decir, un fármaco tipo hormona sintética usado para el tratamiento de la diabetes tipo 2 al regular los niveles de glucosa en sangre.

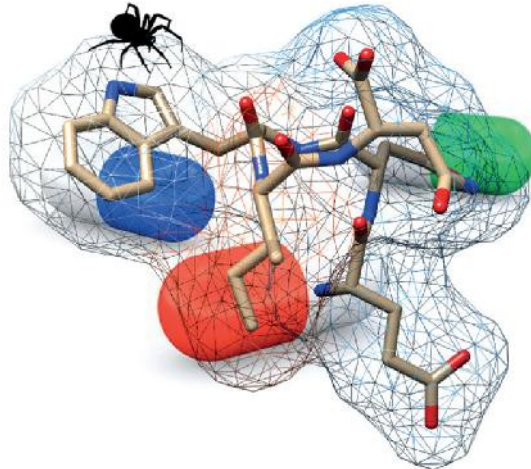
El uso de técnicas de purificación, secuenciación y caracterización estructural y funcional de toxinas peptídicas de origen animal permite obtener miles de secuencias peptídicas de forma rápida, eficaz y rentable.

Otros estudios se han centrado en identificar el potencial de toxinas presentes en especies endémicas colombianas. Estrada-Gómez *et al.* (2015) mostraron un estudio de purificación y caracterización parcial del veneno de la araña colombiana *Phoneutria boliviensis* donde mediante espectrometría de masas hallaron la presencia de dos péptidos: Ctenitoxina-Pb48 y Ctenitoxina-Pb53, los cuales podrían interactuar con el NMDAR (Reyes-Guzmán *et al.*, 2017).

Reyes-Guzmán *et al.* (2017) estudiaron el efecto modulador de una serie de péptidos sintéticos derivados del caracol marino *Conus geographus* sobre la actividad del NMDAR. Los péptidos con efecto antagonista redujeron el flujo iónico de calcio vía NMDAR en un proceso excitotóxico, indicando preliminarmente que dichos péptidos pueden tener un efecto sobre la actividad del NMDAR en procesos como la isquemia cerebral (Carvajal y Reyes-Guzmán, 2020).

Recientemente, Carvajal y Reyes-Guzmán (2020) realizaron un estudio *in silico* donde

Figura 3. El potencial farmacológico de las toxinas animales es bastante amplio y se espera con los avances biotecnológicos poder tener compuestos altamente selectivos, eficaces y seguros.



Fuente: Elaboración propia.

proponen la secuencia completa de los péptidos Ctenitoxina-Pb48 y Ctenitoxina-Pb53 y, mediante el respectivo análisis de la predicción de la estructura tridimensional de cada péptido y estudios de docking molecular con el receptor, sugieren que estos péptidos pueden ser blancos terapéuticos del NMDAR (Bermúdez y Reyes-Guzmán, 2021).

Finalmente Bermúdez *et al.* (2021) en su trabajo de grado propone establecer si los péptidos derivados de Ctenitoxina-Pb48 y Ctenitoxina-Pb53 obtenidos mediante síntesis química (Carvajal y Reyes-Guzmán, 2020), generan un efecto citotóxico en la línea celular HEK 293 y, por consiguiente, poder establecer las concentraciones de péptidos no tóxicas que permitan evaluar su efecto fisiológico/regulador en modelos de isquemia cerebral.

Perspectivas

Hasta la fecha no se ha establecido un método específico eficaz para el tratamiento en isquemia cerebral cuando está

involucrado el receptor NMDA, por lo que la búsqueda de herramientas terapéuticas para tratar la excitotoxicidad revierte gran importancia. En el caso específico de péptidos que puedan tener efecto modulador y ser agentes terapéuticos en isquemia cerebral se deben superar una serie de retos, como la especificidad, la potencia de bloqueo y el poder atravesar la barrera hematoencefálica. Además, los péptidos son reconocidos por ser altamente selectivos, eficaces y al mismo tiempo, relativamente seguros y bien tolerados. En consecuencia, existe interés en el uso de péptidos en la investigación farmacéutica. En los últimos años más de 60 péptidos, en sus respectivas formulaciones farmacológicas, estuvieron disponibles en el mercado, y aproximadamente 140 agentes peptídicos con fines terapéuticos han sido evaluados en ensayos clínicos (Fosgerau y Hoffmann, 2015). Se espera que las tecnologías emergentes en el uso de péptidos, incluyendo péptidos multifuncionales, péptidos permeantes y conjugados fármaco-péptido, ayudarán a ampliar la aplicabilidad de los

péptidos como agentes terapéuticos. El uso de herramientas computacionales ha facilitado el diseño racional de péptidos derivados de toxinas de origen animal debido a que el conocimiento de aspectos relativos a la estructura y, por consiguiente, al comportamiento de una molécula, facilitan el diseño de experimentos y permiten el ahorro de energía, tiempo y recursos (Figura 3).

En el caso de péptidos derivados de toxinas de origen animal, es interesante ver cómo una serie de moléculas que biológica y evolutivamente fueron diseñadas para generar un efecto nocivo sobre un organismo, puedan utilizarse para modular la actividad de receptores, cuya disfunción activa rutas de señalización de muerte celular y neurodegeneración es decir, la naturaleza nos brinda oportunidades farmacológicas que podemos aprovechar para el tratamiento de enfermedades que tienen un alto impacto en la vida de las personas y una carga significativa en el control y el tratamiento de enfermedades como es el caso de la isquemia cerebral.

Referencias bibliográficas

- Bermúdez, S. y Reyes-Guzmán, E. A. (2021). “Evaluación del efecto citotóxico de los péptidos pb48a y pb53a sobre la línea celular HEK-293” (Tesis de pregrado).
- Bogin, O. (2005). Venom peptides and their Mimetics as Potential Drugs. *Modulator*, pp. 9-13. Recuperado de: [<https://www.alomone.com/article/venom-peptides-mimetics-potential-drugs>].
- Carvajal, J. y Reyes-Guzmán, E. A. (2020). “In silico analysis of the interacción of peptides derived from the Ctenitoxin-Pb48 and Ctenitoxin-Pb53 toxins of the Colombian spider *Phoneutria boliviensis* with the NMDA receptor” (Tesis de grado).
- Cuadrado, C. A. (2018). “Nuevas dianas terapéuticas en el tratamiento de la isquemia cerebral”. (Trabajo fin de grado, Universidad Complutense de Madrid).
- Dutertre, S. et al. (2015). In *Venoms to Drugs: Venom as a Source for the Development of Human Therapeutics* (ed. King, G. F.). Royal Society of Chemistry.
- Estrada-Gómez, L. J., Muñoz, V., P. Lancho, P. y Latorre, C. S. (2015). Partial characterization of venom from the Colombian spider *Phoneutria boliviensis* (Araneae Ctenidae). *Toxins (Basel)*, vol. 7, no. 8, pp. 2872-2887, Doi: [[10.3390/toxins7082872](https://doi.org/10.3390/toxins7082872)].
- Fosgerau, K. y Hoffmann, T. (2015). Peptide therapeutics: current status and future directions. *Drug Discovery Today*. Volume 20, No. 1, pp. 122-128.
- Holford, M., Daly, M., King, G. F. y Norton, R. S. (2018). Venoms to the rescue: insights into the evolutionary biology of venoms are leading to therapeutic advances. *Science* 361, pp. 842-844.
- Kotpal, R. L. (2012). *Modern Text Book of Zoology: Invertebrates*. India: Rastogi Publications.
- Mansbach, R. A., Travers, T., McMahon, B. H., Fair, J. M. y Gnanakaran, S. (2019). Snails in silico: A review of computational studies on the conopeptides. *Marine drugs*, 17(3), p. 145.
- Muttenthaler, M., King, G. F., Adams, D. J. y Alewood, P. F. (2021). Trends in peptide drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*. Doi: [[10.1038/s41573-020-00135-8](https://doi.org/10.1038/s41573-020-00135-8)].
- Ortiz-Prado E, Molina C, Ramírez D, Espín E, Fierro D. (2015). Perspectivas actuales sobre el uso terapéutico del veneno de serpientes. *Rev Med Vozandes*; 26, pp. 47-52. Recuperado de: [https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/06/999866/am_01.pdf].

- Otero, R. G., Osorio, R., Valderrama, R. y Giraldo, C. A. (1992). "Efectos farmacológicos y enzimáticos de los venenos de serpientes de Antioquia y Chocó (Colombia)," *Toxicon*, vol. 30, no. 5-6, pp. 611-62. Doi: [[10.1016/0041-0101\(92\)90855-Y](https://doi.org/10.1016/0041-0101(92)90855-Y)].
- Pereáñez Jiménez, J. A. y Vargas Muñoz, L. J. (2008). "Toxinas de serpientes con alto potencial terapéutico y su uso en la biomedicina". *Iatreia*, 22, 4, pp. 382-391.
- Puentes Madera, I. C. (2014). Epidemiología de las enfermedades cerebrovasculares de origen extracraneal. *Revista Cubana de Angiología y Cirugía Vascular*, 15(2), pp. 66-74.
- Rabelo Padua, G. y Díaz Piñera, W. J. (2012). Enfermedades no transmisibles. Tendencias actuales. *Revista Cubana de Salud y Trabajo*, 13(2), pp. 50-54.
- Reyes-Guzmán EA, Vega-Castro N, Reyes-Montaña EA, Recio-Pinto E. (2017). Antagonistic action on NMDA/GluN2B mediated currents of two peptides that were conantokin-G structure-based designed. *BMC Neurosci*; 18, pp. 1-13.
- Russell, F. E. (1988). Snake venom immunology: Historical and practical considerations. *Toxin Rev.*, vol. 7, no. 1, pp. 1-82, (1988). Doi: [[10.3109/15569548809059725](https://doi.org/10.3109/15569548809059725)].
- Servent Le Du M-H., Zinn-Justin, D., Ménez, S., Bourgoïn, A., Gilquin, M. B, et al. (2003). Motions and structural variability within toxins: Implication for their use as scaffolds for protein engineering. *Protein Sci.* 12, pp. 266-277.
- Tseng, W. P. y Lin-Shiau, S. Y. (2003). Activation of NMDA receptor partly involved in β -bungarotoxin-induced neurotoxicity in cultured primary neurons. *Neurochemistry international*, 42(4), pp. 333-344.
- Vetter, I. et al. (2011). Venomics: a new paradigm for natural products- based drug discovery. *Amino Acids* 40, pp. 15-28.
- Vyklicky, V., Korinek, M., Smejkalova, T., Balik, A., Krausova, B., Kaniakova, M. y Horak, M. (2014). Structure, function, and pharmacology of NMDA receptor channels. *Physiological research*, 63.
- Whittington C. M. y Belov, K. (2007). Platypus venom: A review. *Australian Mammalogy*, vol. 29, no. 1. CSIRO, pp. 57-62. Doi: [[10.1071/AM07006](https://doi.org/10.1071/AM07006)].
- WHO (2015). ¿Qué son las enfermedades cardiovasculares? Organización Mundial de la Salud. Recuperado de: [https://www.who.int/cardiovascular_diseases/about_cvd/es/].
- Wüster, W. (2005). Book Review: The Venomous Reptiles of the Western Hemisphere. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, vol. 99, pp. 476-477. Doi: [[10.1016/j.trstmh.2004.12.001](https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2004.12.001)].