

# Los modelos *in silico*, una herramienta para el conocimiento farmacológico

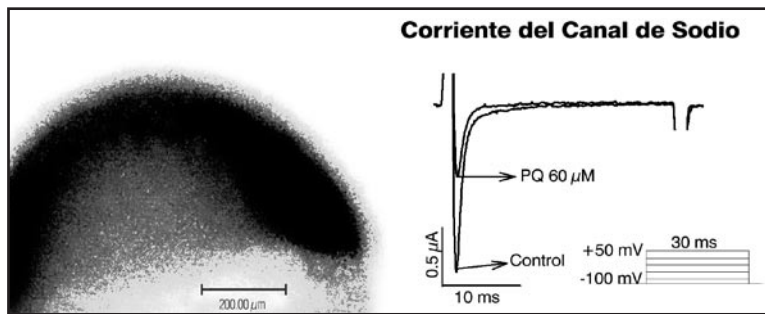
Thomas **Scior**,  
Evelyn **Martínez Morales** y  
Eduardo **Salinas Stefanón**

Desde mediados del siglo XIV, Leonardo Da Vinci usó modelos, tanto teóricos como prácticos, para tratar de explicar el funcionamiento de algunos sistemas simples como el movimiento del agua fluyendo en un canal, o complejos como el vuelo de las aves o el funcionamiento del corazón. El acercamiento de Leonardo a tales sistemas por este método práctico sirvió de cimiento para el estudio experimental.

La observación de los fenómenos naturales y el intento de darles una explicación es un proceso normal impulsado por la curiosidad, es decir, es producto de la inteligencia humana que nos lleva a realizar una serie de preguntas, que en muchas ocasiones sólo logran respuestas parciales.

Desde que el hombre empezó a ser consciente de su entorno, siempre, después de la observación cuidadosa, surgió la pregunta ¿cómo funciona? Ejemplos típicos en los que esta interrogante se aplicó lo son el tránsito periódico de la Luna, la dirección del flujo de agua en los ríos, el efecto de la mandrágora en el comportamiento de algunos individuos, etcétera. Los casos de la farmacología y la fisiología no son ajenos a esta manera de mirar el mundo.

Esta visión a ojo de pájaro nos lleva a considerar un sinnúmero de fenómenos físicos que han sido susceptibles a ser respondidos (buscando las razones subyacentes) con la creación o simulación de modelos experimentales que se recrean en sistemas tales como las computadoras.



**FIGURA 1.** Un ovocito (media esfera a la izquierda) y la corriente de sodio registrada después de la aplicación de un pulso de voltaje bajo condiciones control y luego de la aplicación de primaquina (PQ).

A esta forma de recreación de estructuras complejas por medio de las computadoras se le ha dado el nombre de modelos *in silico* haciendo alusión a la estructura interna del computador que está hecho en un 90% de materiales de sílice. Cuando se escucha esta palabra se entiende que todo el proceso de simulación experimental ha ocurrido dentro del ordenador y no comparte ninguna de sus características físicas con el proceso original a partir del cual fue creado.

Desde la invención de la computadora en la década de los cuarenta se ha intentado reproducir fenómenos naturales de alta complejidad o bien que contienen un elevado número de variables que tomaría mucho tiempo engarzar para entenderlos en su totalidad. Un buen ejemplo de esto es el comportamiento de los fármacos dentro del cuerpo humano y la manera en la cual se relacionan con las diversas estructuras internas (léase células y tejidos) para así obtener (y entender) el efecto deseado.

#### **ACOPLAMIENTO MOLECULAR ENTRE LIGANDO Y RECEPTOR**

El acoplamiento (*docking*) molecular es un método computacional que busca formas de unión entre ligandos potenciales (un fármaco) y un blanco macromolecular (normalmente células, proteínas o procesos químicos), cuya estructura es conocida experimentalmente.<sup>1,2</sup> Particularmente, el acoplamiento molecular se aplica para encontrar la orientación y posición de un ligando en el sitio activo de su blanco macromolecular, sin conocer el resultado final, es decir, la conformación tridimensional de la unión ligando-receptor. Esta última es nor-

malmente estudiada por la cristalografía de rayos X, o analizando los complejos de energía de la resonancia magnética nuclear.

El objetivo de la técnica consiste en encontrar la unión más probable entre el ligando y el receptor, es decir, la que menos energía requiera (a menor energía, más fuerte la unión) así como el sitio idóneo de unión molecular. Es evidente que al conocer esta respuesta, el investigador está en posición de llevarla a la experimentación *in vivo* y así corroborar sus resultados obtenidos *in silico*.

Esta forma de trabajo experimental ha resultado de gran valía para entender de qué manera los fármacos que utilizamos diariamente alcanzan su objetivo dentro de nuestro cuerpo, y también facilita el desarrollo de nuevos fármacos con características bien definidas o con objetivos seleccionados previamente.

Un buen ejemplo de lo anterior lo encontramos en una serie de fármacos conocidos genéricamente como antimaláricos (actúan sobre el *Plasmodium vivax* y *ovale*, causantes del paludismo), pero que tienen efectos indeseables muy notables sobre el tejido cardíaco.<sup>3</sup> El mecanismo por el cual estos fármacos alteran el funcionamiento de las células cardíacas no ha sido bien documentado hasta el momento, y sólo conocemos una pequeña parte de él; estas drogas se unen de manera específica a los canales de sodio (responsables del inicio del latido del corazón) y producen alteraciones del ritmo cardíaco conocidas como arritmias, las cuales pueden variar en intensidad y son responsables de muchas de las muertes ocasionadas por intoxicación con estos fármacos.

En el laboratorio de biofísica cardíaca nos hemos propuesto encontrar cuál es el sitio de unión, o al menos cuál es el sitio más probable, mediante el cual estos

fármacos bloquean el paso de iones de sodio al interior de las células cardiacas afectando, posteriormente, la depolarización celular.

## MÉTODOS

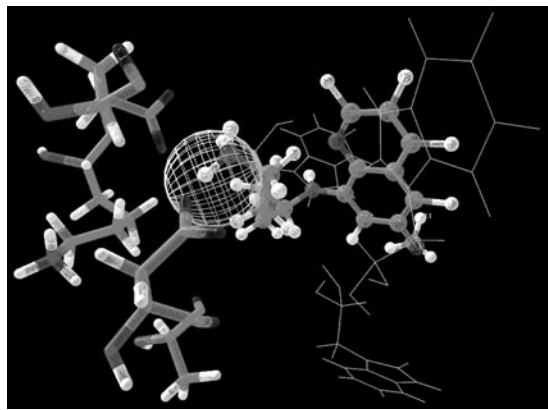
Para resolver esta pregunta usamos un método experimental *in vivo*, conocido como transfección heteróloga, esto es, usamos el DNA complementario del canal de sodio y lo incluimos en el núcleo de una célula animal (en este caso, ovocitos de *Xenopus laevis*, una rana), para utilizar el sistema natural de fabricación de cientos de miles de copias de cDNA; una vez fabricada la proteína del canal, ésta viaja hasta la membrana celular para funcionar exactamente igual a como lo hace en las células cardiacas.

## RESULTADOS

Para estar seguros de que nuestro método de inclusión de cDNA fue exitoso, marcamos con un gen reportero el cDNA del canal de sodio, de manera que este gen nos indica si el canal ha sido incluido en la membrana celular. En la Figura 1 podemos apreciar un ovocito que está marcado con verde —esfera gris en la imagen— (el gen reportero), lo cual indica que el canal de sodio se encuentra en la membrana celular; junto, observamos el efecto causado por la primaquina sobre la corriente de sodio generada en la célula. Es evidente que el fármaco



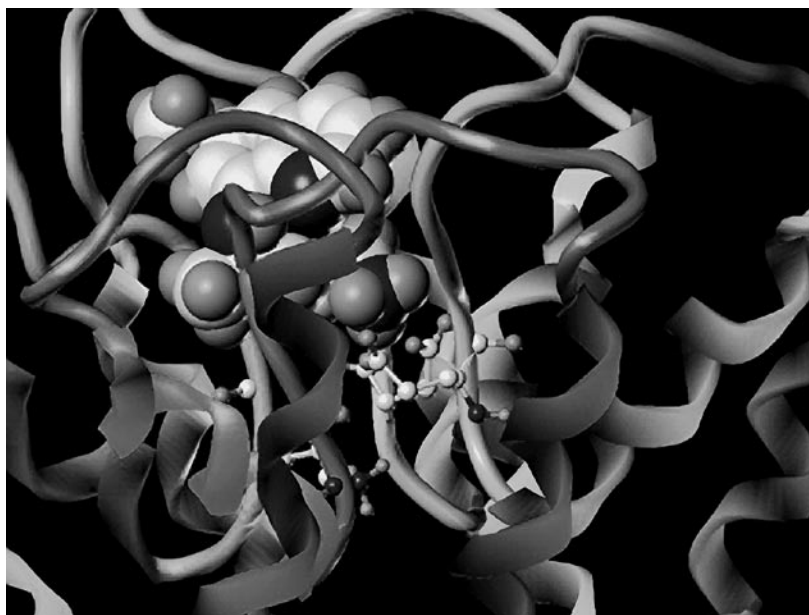
**FIGURA 2.** Vista desde arriba de un canal de sodio que muestra un ión de sodio (esfera central) y el fármaco primaquina (estructura con módulos hexagonales sobre el ión).



**FIGURA 3.** Simplificación del canal de sodio. Estructura del canal de sodio vista lateralmente con la posible unión del fármaco. Nótese que la unión se realiza sólo con dos aminoácidos (bastones grises claros y negros).

utilizado disminuye la amplitud de la corriente de sodio en un 50%. Una vez observado el efecto bloqueador de la primaquina, deberemos investigar si este efecto es producido cuando el fármaco se une al canal de sodio de manera directa (ligando-receptor) y dónde lo hace.

Para responder esta pregunta usamos la simulación *in silico* que nos permitirá evaluar la conformación tridimensional del canal de sodio y su interacción con el fármaco utilizado. En la Figura 2 observamos una representación del canal de sodio visto desde arriba, la droga que estamos utilizando y las posibles interacciones proporcionadas por el programa de simulación. En este caso, también incluimos un átomo del ión sodio (la esfera central) que nos indica por dónde ocurre el paso de iones a través del canal. Para apreciar mejor la conformación tridimensional del fármaco con el canal, decidimos cortar los elementos que no interactúan directamente con la droga, de esta manera, al simplificar el diagrama sólo vemos los elementos esenciales de la unión según se ilustra en la Figura 3. Aquí únicamente observamos los aminoácidos que sí se unen al fármaco, los bastones rojos y verdes (negros y grises claros en la imagen), a diferencia de los azules y blancos, indicándonos qué estructura es la responsable de la interacción. Ahora ya tenemos pruebas confiables (en el modelo *in silico*) de que una serie de aminoácidos interactúan directamente con el fármaco. Sólo nos resta entender cómo en una estructura tridimensional se da esa unión entre el ligando (el fármaco) y su receptor



**FIGURA 4.** Vista lateral tridimensional del canal de sodio y el fármaco. El fármaco se muestra con esferas grandes grises y negras y su posible unión a los aminoácidos del canal con esferas pequeñas grises y negras. En el dibujo, la parte superior representa el espacio extracelular, la parte inferior, el espacio intracelular.

(el canal). En la Figura 4 mostramos cómo sería, dentro del modelo, el arreglo tridimensional; aquí representamos el fármaco con esferas de color azul, celeste (negro y gris en la imagen) y blanco, el canal de sodio con bastones y listones de color verde, magenta, amarillo y naranja (diversos tonos de gris en la imagen) y por último con esferas pequeñas de color rojo, gris y azul (negro, gris y blanco en la imagen), la estructura probable de unión, un sitio conocido como el motivo DEKA o filtro de selectividad.

## CONCLUSIONES

Nuestro modelo *in silico* puede explicar en un 90% los resultados obtenidos en nuestros experimentos *in vivo*. Aunque la similitud del modelo no es completa, tenemos que recordar que en los experimentos *in vivo* existen una serie de variables que no están presentes en el modelo, tales como las soluciones que bañan a las células, la solubilidad de la droga en las membranas, las coronas de agua que se forman alrededor de los iones, etc., por lo tanto, siempre existe un porcentaje de variabilidad en los resultados.<sup>4</sup> Sin embargo, el modelo sí explica una forma de unión entre el fármaco y el canal, así como

un sitio probable de unión, indicando que es muy factible que el mecanismo de acción del fármaco antimárico sea el de bloquear el paso de iones de sodio al interior celular debido a la unión específica sobre el filtro de selectividad (DEKA). Si existieran drogas parecidas a la que empleamos en la simulación, los efectos sobre el canal de sodio serían muy similares, por lo tanto se podrían diseñar fármacos con base en esta simulación y obtener el mismo efecto sobre el canal de sodio que, al final, serían muy útiles para modificar diversos procesos celulares tales como la transmisión nerviosa, el ritmo cardíaco, el dolor, etcétera.

## BIBLIOGRAFÍA

- <sup>1</sup> Meng EC, Shoichet BK, Kuntz ID. Automated docking with grid-based energy evaluation. *J. Comput. Chem* 13 (1992) 505-524.
- <sup>2</sup> Morris GM, Goodsell DS, Halliday RS, Huey R, Hart WE, Belew RK, Olson AJ. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *J. Comput. Chem.* 19 (14), (1998) 1639-1662.
- <sup>3</sup> Orta-Salazar G, Bouchard R, Morales-Salgado F and Salinas-Stefanon E. Inhibition of cardiac  $INa^+$  by primaquine. *Br. J. Pharmacology J.* 135 (2002) 751-763.
- <sup>4</sup> Taylor RD, Jewsbury PJ, Essex JW. A review of protein-small molecule docking methods. *J. Comput.-Aided Mol. Design* 16 (2002) 151-166.

**Thomas Scior, Facultad de Ciencias Químicas,  
Evelyn Martínez Morales y Eduardo Salinas  
Stefanón, Instituto de Fisiología, BUAP.  
esalinas@siu.buap.mx**