

AVANCE EN EL DISEÑO DE UN PÉPTIDO BLOQUEADOR DEL RECEPTOR OPIOIDE KAPPA 2 HUMANO

SONIA VIVIANA BELTRÁN V., DIEGO FAJARDO G.,
ADRIANA HERNÁNDEZ M., MÓNICA B. JIMÉNEZ,
BERNARDO MANTILLA, PAOLA MOYA G.,
ELIANA P. PALACIOS M., CAROLINA PARIS B.,
JAVIER RODRÍGUEZ Z., JUAN DIEGO ROJAS,
FEDERICO SÁNCHEZ O., CHRISTIAN SUÁREZ F.,
ÁLVARO A. VELÁSQUEZ Á.

Estudiantes, Facultad de Ciencias,
Pontificia Universidad Javeriana

Se evaluó la posibilidad de predecir una probable estructura secundaria para el Receptor Opiode Kappa 2 humano tomando como base la secuencia de aminoácidos del Receptor Opiode Kappa 1 humano. La estructura predicha mostró ser compatible con los datos que se poseen acerca de este tipo de receptores. Con esta prueba inicial, el proyecto que tiene como objetivo principal diseñar un análogo proteico para el Receptor Opiode Kappa 2 humano, ha mostrado el nivel mínimo de viabilidad necesario para ser continuado.

Palabras claves: Opiode, Kappa 2, Cocaína, Dopamina, Diseño de Proteínas.

INTRODUCCIÓN

La posición de Colombia como el mayor productor de cocaína del mundo, hace que corramos el riesgo de transformarnos, al igual que algunos países africanos, en víctimas de su consumo. El oeste y el sur de África se han convertido no sólo en puntos importantes para el transbordo de sustancias psicoactivas, sino también en áreas de creciente consumo local de cocaína y heroína. En Sudáfrica, por ejemplo, ha habido un aumento del tráfico y la adicción al "crack" y la cocaína, mientras que Cabo Verde experimenta una adicción en aumento como efecto secundario del tráfico. Como agravante al problema, la crisis económica que atraviesan los países africanos, centro y suramericanos estimula aún más la producción y el consumo de estas sustancias. Sin embargo, esta es una situación que comenzamos a compartir con otras regiones del planeta: la propagación rápida de cultivos ilícitos, tráfico y consumo en los países del centro de Asia, Kasajstán, Kyrgistán, Tayikistán, Turkmenistán y Uzbekistán y el Cáucaso. Kasajstán tiene la única región del mundo en donde la marihuana crece en forma silvestre (aproximadamente 3'000.000 de hectáreas) y podría convertirse en fuente importante de marihuana traficada ilícitamente (JIFE, 1999).

La cocaína es una de las drogas adictivas más potentes. Una vez que una persona ha probado la cocaína, no puede prever ni controlar hasta qué punto seguirá usándola. Las principales formas de administración de cocaína son la aspiración o inhalación, la inyección y el fumar (incluso cristales de cocaína y *crack*). Varios estudios indican

que al parecer, el uso compulsivo de cocaína puede verse acelerado si la sustancia se fuma en lugar de absorberse por vía intranasal. El fumar permite que dosis extremadamente altas de cocaína lleguen al cerebro muy rápido y produzcan un estímulo intenso e inmediato (NIDA, 2000b).

La Dopamina fluye desde la neurona presináptica a la sinapsis para formar un nexo temporal con un receptor en la membrana postsináptica y así transmitir una señal entre las dos neuronas; normalmente la Dopamina se evacúa de la sinapsis al ser recaptada por la neurona presináptica, como resultado de la acción de "transportador" cuyas moléculas se localizan sobre la superficie de la neurona presináptica. Los efectos de la cocaína se originan en su acción sobre la permanencia de la Dopamina en las sinapsis. La Dopamina es un neurotransmisor, una sustancia química que lleva mensajes desde una neurona a otra o desde una región funcional del cerebro a otra. Este neurotransmisor se encuentra asociado con el movimiento del cuerpo, la conciencia, el raciocinio, la capacidad de emitir juicios, la motivación y el placer y se libera como parte del sistema de recompensa del cerebro y tiene que ver con el estímulo que caracteriza el consumo de cocaína (NIDA, 2000a; Volkow *et al.*, 1997). La cocaína se une a la Proteína Transportadora de Dopamina, bloqueando de esta forma, la recaptación del neurotransmisor y aumentando los niveles sinápticos de Dopamina; este incremento en la concentración de Dopamina en el espacio sináptico sería el responsable de una constante estimulación de la membrana postsináptica, conducente al desarrollo de la euforia observable en las personas que consumen este alcaloide (Volkow *et al.*, 1997).

Existe una fuerte tendencia hacia la búsqueda de posibles tratamientos farmacológicos para el control de la dependencia generada por la cocaína y otros alcaloides. Algunas investigaciones recientes (Pilotte, 1997; Staley *et al.*, 1997; NIDA, 2000a), han mostrado que el activar ciertos receptores cerebrales puede ser útil para tratar el alcoholismo. Los investigadores hallaron que si se activa un receptor específico del cerebro, llamado Receptor Opiode Kappa, parece que se reduce la euforia o sensación de bienestar producida por muchos alcaloides que causan adicción, incluyendo el etanol, y la cocaína. Esto implica que si se disminuyen los efectos eufóricos de las drogas también se puede reducir el deseo de ingerirlas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente informe de avance corresponde a un proyecto que tiene como objetivo general diseñar un péptido bloqueador para el Receptor Opiode Kappa 2 humano, como alternativa para el tratamiento de la dependencia a la cocaína. La realización de este proyecto se ha planeado en la siguiente forma:

OBTENER LA ESTRUCTURA TRIDIMENSIONAL DEL RECEPTOR KAPPA 2 HUMANO:

Debido a la trascendencia económica que conlleva la obtención de un péptido de esta naturaleza, buena parte de la información concerniente al Receptor Kappa 2 humano se encuentra restringida al uso interno de los laboratorios que se hallan tras el diseño de este péptido, con fines comerciales. Por esto, nos hemos visto obligados

a enfrentar el problema, prediciendo las estructuras secundarias y terciarias del Receptor Opiode Kappa 2 humano, en la siguiente forma:

- Seleccionando un Receptor Kappa humano.
- Prediciendo su estructura secundaria a partir de su secuencia.
- Encontrando el sitio más probable de unión con el ligando.
- Prediciendo la estructura terciaria del sitio más probable de unión con el ligando.
- Reconstruyendo la estructura terciaria aproximada para este sitio de unión.
- Diseñar un péptido que bloquee este sitio de unión.
- Probar el péptido diseñado.

PREDICCIÓN DE LA ESTRUCTURA SECUNDARIA DEL RECEPTOR OPIOIDE KAPPA 1 HUMANO:

Se obtuvo una copia de la secuencia de aminoácidos del Receptor Opiode Kappa 1 humano, a partir de la base de datos llamada Swissprot, empleando para ello el programa Entrez ubicado en el Centro Nacional para la Información en Biotecnología, Estados Unidos (NCBI). La secuencia fue comparada contra todas las secuencias de aminoácidos de las proteínas conocidas, presentes en Swissprot, en busca de las más parecidas; esta comparación se hizo con el fin de confirmar la presunción de que las secuencias de aminoácidos de los Receptores Opioides son muy similares entre sí; para esto se empleó el programa Blast presente en el NCBI. Se realizó una predicción por consenso de la estructura secundaria del Receptor Opiode Kappa 1 humano, utilizando el programa Jpred2.

RESULTADOS

SECUENCIA DEL RECEPTOR OPIOIDE KAPPA 1 HUMANO:

Se escogió esta proteína debido a que es el único receptor opioide humano de clase Kappa presente en el banco de secuencias. Los datos de la secuencia de aminoácidos y sus parámetros derivados son los siguientes:

gi|4505511|ref|NP_000903.1|pOPRK1| receptor opioide, kappa 1
MESPIQIFRGEPTCAPSACLPPNSSAWFPGWAEPDSNGSAGSEDAQLEPAHISPAIPVI
ITAVYSVFWVGLVGNLSVMFVIIRYTKMKTATNIYIFNLALADALVTTTTPFQSTVYLMNS
WPFQDVLCIKIVISIDYNNMFTSIFTLTMMMSVDRIYAVCHPVKALDFRTPLKAKIINICIWLLS
SSVGISAIVLGGTKVREDVDVIECSLQFPDDYSWWDLFMKICVFIFAFVIVLIIIVCYTLMI
LRLKSVRLSGSREKDRNLRRITRLVLVWVAVFCWVTPIHIFILVEALGSTSHSTAALSSYYF
CIALGYTNSSLNPILYAFLDENFKRCFRDFCFPLKMRMERQSTSRVRNTVQDPAYLRDID
GMNKPV

Número de aminoácidos: 380

Peso molecular: 42659.2 daltons

pI teórico: 7.92

Los alineamientos realizados con Blast nos mostraron que las proteínas más parecidas en su secuencia, al Receptor Opiode Kappa 1 humano son los demás receptores opioides, tanto en el humano como en otras especies (datos no presentados).

empleada en este trabajo como base para predecir su estructura secundaria. La estructura secundaria predicha nos muestra la posible existencia de siete hélices separadas por segmentos de aminoácidos probablemente organizados en vueltas; a pesar de lo sugestivo de su organización, creemos que son necesarios algunos estudios adicionales que nos permitan predecir la orientación de estas hélices y la existencia de dominios transmembranales dentro de la secuencia. Pese a esto, al comparar la secuencia con la predicción (datos no presentados), se puede ver como la mayor parte de los aminoácidos alifáticos se hallan presentes en las hélices.

Estos hechos nos llevan a pensar que es posible suponer una alta homología entre las secuencias de los Receptores Opioides del hombre y de otras especies entre sí y, por ende, sería esperable, el hallar que las proteínas más semejantes en secuencia, a la del receptor escogido, fueran todas ellas Receptores Opioides, tal y como lo muestran los resultados de los alineamientos obtenidos con Blast. De ser cierta esta apreciación, será posible acercarse a la estructura terciaria del Receptor Opiode Kappa 2 a partir de la secuencia del Receptor Opiode Kappa 1.

CONCLUSIONES

Las semejanzas funcionales y de secuencia, existentes entre los Receptores Kappa se pueden ver manifestadas como parte de la explicación de los resultados obtenidos al comparar la secuencia del Receptor Opiode Kappa 1 con las secuencias de las demás proteínas conocidas.

Una primera aproximación a la búsqueda de una molécula proteica que se una al Receptor Opiode Kappa 2 humano, nos ha permitido caracterizar la posible estructura secundaria de un receptor homólogo a él. La estructura predicha parece corresponder a la organización general de los aminoácidos que integran los Receptores Opioides. Es necesario realizar otros análisis y predicciones para corroborar la afirmación anterior, así como para enriquecer los detalles estructurales del receptor investigado.

BIBLIOGRAFÍA

- CORBETT, A., MCKNIGHT S. & HENDERSON G. 1999. Opioid Receptors, Pharmacological Reviews, Tocris Cookson Inc, USA.
- INSTITUTO NACIONAL SOBRE DROGADICCIÓN (NIDA); 2000a. Explicación del Abuso de Drogas y la Drogadicción, Informe 12948, junio de 2000.
- INSTITUTO NACIONAL SOBRE DROGADICCIÓN (NIDA); 2000b. Nuevas Conclusiones en Estudio de Consumo de Drogas y Drogadicción, Comunicado de prensa, Washington, D.C., 16 de junio de 2000.
- JUNTA INTERNACIONAL DE FISCALIZACIÓN DE ESTUPEFACIENTES; 2000. Informe correspondiente a 1999, New York, 23 de febrero de 2000.
- PILOTTE, N. S. Neurochemistry of cocaine withdrawal, *Curr-Opin-Neurol.* 1997 Dec; 10(6): 534-8.

- SIMONIN, F., GAVERIAUX-RUFF, C., BEFORT, K., MATTHES, H., LANNES, B., MICHELETTI, G., MATTEI, M. G., CHARRON, G., BLOCH, B. & KIEFFER, B. Kappa-Opioid receptor in humans: cDNA and genomic cloning, chromosomal assignment, functional expression, pharmacology, and expression pattern in the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995 Jul 18;92(15):7006-10.
- STALEY, J. K.; ROTHMAN, R. B., RICE, K.C., PARTILLA, J & MASH, D. C. 1997. Kappa2 opioid receptors in limbic areas of the human brain are upregulated by cocaine in fatal overdose victims, *J-Neurosci*. 1997 Nov 1; 17(21): 8225-33.
- VOLKOW, N. D., WANG, G. J., FISCHMAN, M. W., FOLTIN, R. W., FOWLER, J. S., ABUMRAD, N. N., VITKUN, S., LOGAN, J., GATLEY, S. J., PAPPAS, N., HITZEMANN, R. & SHEA, C. E. Relationship between subjective effects of cocaine and dopamine transporter occupancy. *Nature* 386:827-830, 1997.