

La esencia de las moléculas

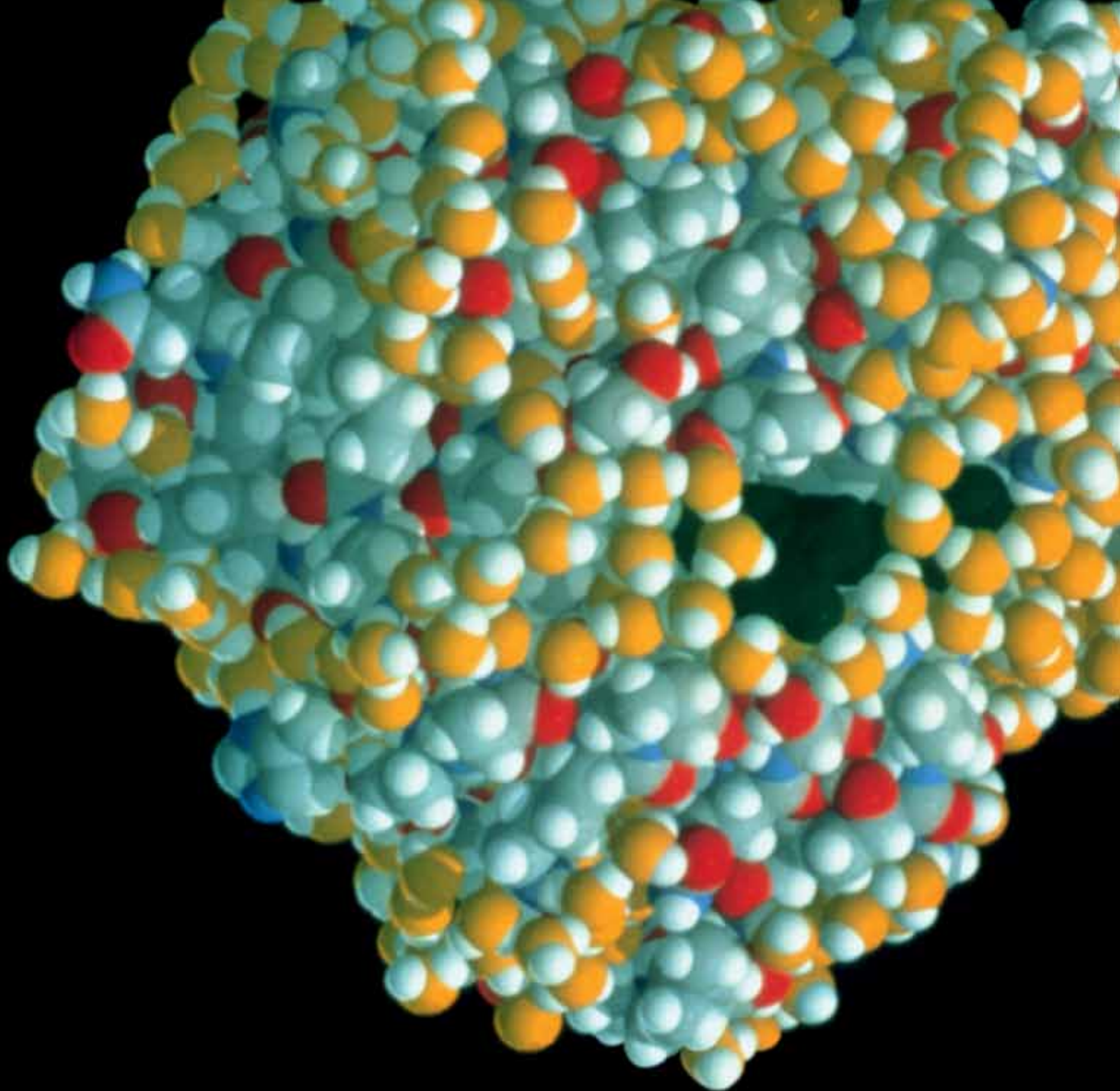
La cristalografía facilita el desarrollo de medicamentos

Eduardo Geraque

Si bien hace 20 años eran pocos los laboratorios que empleaban la cristalografía en Brasil, en la actualidad son decenas de centros de investigación que dominan esta técnica, que apunta a develar la estructura tridimensional de las proteínas. En São Paulo, el uso de la cristalografía dio un salto durante los años 2000 y 2001, con la presentación del proyecto Genoma Estructural, lanzado conjuntamente por la FAPESP y el Laboratorio Nacional de Luz Sincrotrón (LNLS), vinculado al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación. El proyecto Genoma Estructural inyectó 3,5 millones de dólares en decenas de laboratorios. Con dichos recursos, los grupos de investigación pudieron financiar la compra de equipamientos para la expresión, purificación, y cristalización de proteínas.

El Centro de Biología Molecular Estructural, dependiente del Instituto de Física de São Carlos (IFSC) de la Universidad de São Paulo (USP), rápidamente descolló como uno de los protagonistas en ese sector. El grupo ya había dilucidado la estructura molecular de aproximadamente 20 proteínas mediante el empleo de la cristalografía por difracción de rayos X. Las macromoléculas estudiadas eran potenciales blancos de inhibidores de enfermedades tales como la hepatitis B, el paludismo y algunos tipos de cáncer.

Los primeros pasos del centro de cristalografía de São Carlos se concretaron en 1989. “El área estaba pasando por un en todo el mundo, con la creación de muchos centros. Entonces resolvimos hacer algo nuestro. El laboratorio tenía una pileta de azulejos y 16 metros cuadrados, ante unos mil con los que contamos actualmente”, comenta Glaucius Oliva, coordinador del núcleo de la USP de São Carlos. Actual presidente del Con-



La imagen de la parte superior representa al oxígeno que carga la mioglobina, una de las primeras proteínas que se examinaron mediante cristalografía; las esferas coloreadas representan a los aminoácidos de la mioglobina, que ayuda a almacenar oxígeno en los músculos

sejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (CNPq), Oliva comenzó en el área hace treinta años, cuando cursaba la carrera de física, bajo la supervisión de la profesora Yvonne Mascarenhas, quien inició los trabajos con cristalografía en la ciudad paulista de São Carlos. En 2000, su grupo adquirió el estatus de Centro de Investigación, Innovación y Difusión (Cepid) y, más recientemente, el de Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología (INCT), con el apoyo del gobierno federal y de la FAPESP.

En 1992, por primera vez, una proteína, la glucosamina-6-fosfato desaminasa de la bacteria, fue enteramente caracterizada en el país por medio de la cristalografía. En 1997, el mismo año en que el grupo del Instituto de Física de la USP de São Carlos hizo crecer cristales en gravedad cero a bordo de los trasbordadores espaciales estadounidenses, comenzó a funcionar una línea de luz específica para estudios de cristalografía en el LNLS, en la ciudad de Campinas. De acuerdo con Oliva, aparte de que se ha expandido mucho la formación de recursos humanos en el sector a partir de los años 1990, personal que actualmente lidera grupos de investigación en distintos estados de Brasil, la cristalografía ha pasado por una “evolución metodológica y tecnológica muy grande durante este tiempo”.

Si bien antes, todas las soluciones empleadas para hacer crecer cristales de proteínas debían obtenerse en forma manual, ahora existen robots que prácticamente llevan a cabo el experimento completo. La velocidad y el rendimiento son mucho mayores, dicen los expertos. “Pese a todo esto, la técnica todavía es bastante experimental. No existe una teoría de la cristalografía. No se consigue antever si va salir bien o no”, afirma Oliva.

En simultáneo con la maduración del centro de investigaciones de São Carlos, a comienzos de los años 2000, también con la coordinación del LNLS, empezó a funcionar la Red de Biología Molecular Estructural (Smolbnet), lo que facilitó el trabajo de equipos de decenas de laboratorios, que identificaron la estructura tridimensional de 52 proteínas en dos años (). En esa época, el equipo de Oliva realizó otro experimento pionero, al dilucidar las vías bioquímicas de producción de glucosa del, el protozoo de la enfermedad de

La técnica de la cristalografía se emplea para diseñar nuevos fármacos y descifrar la estructura de las moléculas del veneno de serpientes

Chagas (lea el reportaje de la página 20).

La Biblioteca Virtual de la FAPESP, que registra los proyectos que han contado o cuentan con apoyo de la Fundación desde 1992, cataloga 93 proyectos de investigación en el área, de los cuales 17 se encuentran en marcha y 76 concluidos. Los investigadores emplean la cristalografía para estudiar proteínas que puedan derivar en nuevos fármacos o esclarecer el desarrollo de algunos tipos de cáncer.

El peso de las técnicas modernas de cristalografía se percibe a las claras mediante un sencillo ejercicio, que consiste en invertir la logística de la producción de un fármaco. Un medicamento, para ser eficiente, debe actuar, como en el caso de la enfermedad de Chagas, en la relación entre el parásito y el huésped. La medicación debe funcionar y, de preferencia, matar al primero sin interferir en el segundo.

Pero, ¿cómo visualizar todas estas interacciones biológicas a nivel molecular? Solamente mediante verdaderas disecciones moleculares de todo el proceso. Y éste es el rol de la cristalografía, que consiste en un conjunto de técnicas que detallan la estructura de las proteínas por medio de la difracción (dispersión) de los rayos X en un cristal formado por las proteínas que se desea estudiar, por ejemplo.

Cuanto más avanzan las investigaciones, más proteínas se identifican y se validan mediante el empleo de la cristalografía, y así se expande el banco de datos biológicos sobre un determinado problema. De este modo, la cantidad de opciones con que se contará para enfrentar y resolver ciertos retos a nivel molecular tiende a ser mayor.

Y este trabajo de armar y desarmar a nivel molecular no existe únicamente para la enfermedad de Chagas, sino también para varias afecciones, y aparte permite otras aplicaciones dentro de la biología en general. El objetivo consiste siempre en identificar macromoléculas y, en laboratorio, intentar sintetizar otros compuestos que se unen a los denominados blancos biológicos. Lo que se pretende es bloquear esa ruta, para que algunos desdoblamientos normalmente deseables se concreten, como lo es la muerte del *T. cruzi*.

Otra prueba de que las técnicas de cristalografía son vitales para el desarrollo

científico proviene del mundo de las serpientes. Varios proyectos en curso en el estado de São Paulo durante los últimos años emplean precisamente esta herramienta para descifrar los venenos de estos animales.

La analogía que puede hacerse es fácil de entender. Los componentes de la ponzoña –y varios proyectos de investigación contribuyeron a esos descubrimientos recientemente– no se adecuan para su uso clínico. Pero, de conocerse bien sus estructuras moleculares, los expertos creen que podrían alterar una parte de la molécula para modificar su acción sobre el organismo. Esta modificación planteada en la estructura original de una molécula podrá tener, según se cree, un uso terapéutico en muchas enfermedades. Un grupo de investigación de la Fundación Hermínio Ometto, de la ciudad de Araras, está avanzando justamente por esa senda. Los investigadores están interesados en aislar un grupo de enzimas del veneno de la serpiente *Crotalus durissus terrificus*, la conocida cascabel. Junto a otras herramientas, la cristalografía por difracción de rayos X está usándose para dilucidar las estructuras tridimensionales de las proteínas seleccionadas.

De acuerdo con el grupo, las enzimas L-aminoácido-oxidasas (LAAOs), que le

confieren al veneno de la serpiente una tonalidad amarillo ámbar, presentaron potencial citotóxico, bactericida y anti-parasitario *in vitro*. Han sido descritas como inductoras de una serie de efectos tóxicos en sistemas biológicos, tales como agregación plaquetaria, hemorragia, edema y apoptosis.

La evolución de estas técnicas y de los bancos de datos de estructuras de proteínas, con sus informaciones moleculares conocidas, es tan sólo una parte del problema. También existen lagunas del lado de la investigación aplicada.

Desde que la mioglobina, una de las primeras estructuras de una proteína totalmente conocida por medio de la cristalografía, fue validada en Estados Unidos en 1960, comenzó una evolución paralela en el sector empresarial, aunque en Brasil pocas empresas invierten en investigación de nuevos fármacos, la principal área en que se ha venido aplicando la cristalografía.

Las consecuencias de los avances en biología estructural solamente podrán desembocar donde se espera en términos de salud en caso de que los procesos de innovación tecnológica y desarrollo de fármacos se encuentren totalmente aceitados, según advierten los investigadores. Éstos estiman que el desarrollo de moléculas que realmente podrán alcanzar los blancos biológicos para los

cuales se las diseñó solamente se hará efectivo si las universidades y las empresas logran trabajar juntas. Solamente un producto que sea rentable para las empresas podrá contar con apoyo económico como para luego fabricárselo a escala comercial. ■

Los proyectos

1. Instituto Nacional de Biotecnología Estructural y Química Medicinal en Enfermedades Infecciosas –INBEQMeDI –nº 2008/ 57910-0 (2009-2014); ; **Modalidad** Temático; **Coordinadores** Glaucius Oliva –IFSC/ USP; **Inversión** R\$ 1.340.213,83.

2. Cristalografía, modelado molecular y planificación de sustancias de interés biológico II –nº 1994/ 00587-9 (1995-1998); ; **Modalidad** Temático; **Coordinadores** Glaucius Oliva –IFSC/ USP; **Inversión** R\$ 257.249,99.

3. Centro de Biotecnología Molecular Estructural –nº 1998/ 14138-2 (2000-2012); **Modalidad** Programa Centros de Investigación –Cepid; **Coordinadores** Glaucius Oliva –IFSC/ USP; **Inversión** R\$ 28.449.954,27.

4. Caracterización bioquímica, estructural y funcional de L-aminoácido-oxidasas aislada del veneno amarillo de la serpiente *Crotalus durissus terrificus* –nº 2011/ 12267-6 (2012-2013); ; **Modalidad** Línea regular de ayuda al proyecto de investigación; **Coordinadores** Maurício Ventura Mazzi –Centro Universitario Hermínio Ometto (Uniararas); **Inversión** R\$ 301.426,83.

De nuestro archivo

El rompecabezas de la vida, Edición especial Cepids –mayo de 2007; *La clave para los nuevos medicamentos*, Edición nº 57 –septiembre de 2000; *Genes identificados pueden tener relación con la CVC*, Edición nº 38 –diciembre de 1998; *Cooperación en el espacio*, Edición nº 21 –junio de 1997; *Viaje de reconocimiento*, Edición nº 19 –abril de 1997.

En tres dimensiones

La creación de los modelos espaciales de proteínas, paso a paso

