

UN ESTUDIO MOLECULAR DE C60 ACTUANDO COMO INHIBIDOR DE LOS AGREGADOS β -AMILOIDES

Rodrigo Salcedo^a Sebastian A. Andujar^a Francesca Lugli^b Siegfrieg Hofinger^b
Francesco Zerbetto^b Ana M. Rodriguez^a y Ricardo D. Enriz^a

^aFacultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis, Chacabuco 917, 5700 San Luis, Argentina, IMIBIO-CONICET. ^b Dipartimento di Chimica “G. Ciamician”, Università di Bologna, 40126 Bologna, Italy. *saanduja@unsl.edu.ar

Introducción

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa devastadora que afecta a más de 37 millones de personas en el mundo [1]. Esta enfermedad afecta entre el 6% y 10% de humanos de 65 años y casi el 50% de las personas con 85 años de edad. En la República Argentina hay más de 300.000 casos registrados. Los síntomas más característicos de esta enfermedad son la pérdida progresiva de la memoria asociada con la pérdida de la capacidad de aprendizaje, fallas generales para realizar cualquier actividad cognitiva y una casi total reducción de los procesos de información cerebral. Una de las teorías principales para el tratamiento de la EA es “la hipótesis amiloide” que correlaciona el progreso de esta enfermedad con la acumulación en regiones específicas del cerebro de los péptidos β -amiloides (β A). Se ha demostrado que principalmente son los péptidos hidrofóbicos β A1-42 los que polimerizan espontáneamente en un medio hidrofílico generando los oligómeros neurotóxicos. Finalmente, debido a ese plegamiento anormal, los oligómeros se unen fácilmente entre sí, formando grandes agregados y asociaciones conocidas como placas amiloides que cuando aparecen ya hay síntomas de daños y deterioro neuronal irreversibles. Se han desarrollado numerosas estrategias terapéuticas para diseñar nuevas drogas que puedan potencialmente interferir en la cascada amiloide. La acción de los fullerenos (**Figura 1**) en los agregados β -amiloides, las neuronas y los procesos cognitivos es un camino nuevo que lanza un puente desde la nanotecnología a la neurociencia. Una de los caminos prometedores es precisamente investigar los mecanismos de la acción neuroprotectora de los fullerenos y sus derivados y la posibilidad de desarrollar sobre su estructura, medicamentos que actúen sobre los mecanismos moleculares claves de las enfermedades neurodegenerativas [2].

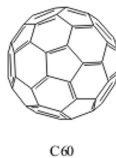


Figura 1: Vista esquemática de C60.

Objetivos

La estrategia que se está utilizando en estos últimos años es tratar de diseñar nuevas moléculas que puedan insertarse en el agregado de las placas amiloides y de esta manera romper o disolver su estructura de hojas β , principalmente interactuando con sus

péptidos hidrofóbicos. En este trabajo se ha realizado un estudio de Docking y Dinámica Molecular (DM) entre el fullereno (C60) y el pentámero β A1-42. El principal objetivo de este trabajo es determinar el posible mecanismo de acción de C60 actuando como agente inhibidor de la agregación de los péptidos β -A. Un objetivo más general es, utilizando la información obtenida mediante los estudios de modelado molecular, diseñar y obtener nuevos compuestos derivados de fullereno con capacidad de interrumpir el proceso tóxico de los agregados β -amiloides como una novedosa y prometedora estrategia para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

Resultados

Los resultados del estudio de Docking muestran que la interacción entre C60 y el pentámero β A1-42 se produce principalmente en tres sitios de unión como se muestra en la **Figura 2 A**. De estos sitios, dos de ellos fueron ubicados en la región polar que se caracteriza por ser desordenada (sitios I y II), mientras que el tercer sitio (III) está ubicado en la región hidrofóbica del péptido β A (**Figura 2 A**). Además de los estudios de docking, se realizaron cálculos de DM en los complejos (I-III) y el posterior análisis de los mismos para determinar el posible proceso de ruptura de la placa amiloide por medio de la interacción con C60. Todas las simulaciones de DM se realizaron utilizando el paquete de programas AMBER 11 [3]. Las simulaciones de DM fueron llevadas a cabo durante 100 ns usando condiciones NPT. El análisis posterior de las simulaciones se realizaron en el sitio de interacción en el complejo III, donde se forma un complejo con la parte hidrofóbica del péptido, es decir la zona fundamental del crecimiento de la fibrilla. Además, estos resultados se ven corroborados por los valores de ΔG que fueron calculados utilizando el protocolo MM/PBSA (**Figura 2 B**).

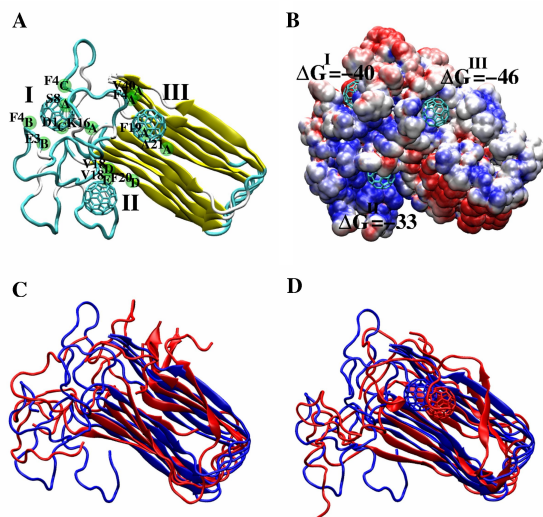


Figura 2: A: Sitios de unión de C60 y péptido β A. B: Valores de ΔG que fueron calculados utilizando el protocolo MM/PBSA. C: Estructuras iniciales y finales obtenidas a partir de las simulaciones de DM para el pentámero β A sin C60 y D: Estructuras iniciales y finales obtenidas a partir de las simulaciones DM para el pentámero β A para el complejo III.

Las estructuras iniciales y finales obtenidas a partir de las simulaciones de DM superponen para el pentámero β A sin C60 (**Figura 2 C**), así como para el complejo III (**Figura 2 D**). En esta última figura sólo se consideraron los residuos de la región bien

definida, es decir los residuos 18 a 42. Las representaciones gráficas de la superposición de las estructuras se muestran en las **Figura 2 C** y **D**. En donde se puede apreciar que los cambios significativos se producen principalmente en el plano paralelo de las distintas hojas β (β_1 y β_2).

Simulaciones de DM realizadas en forma paralela para el péptamero solo (**Figura 2 C**) y el complejo III (**Figura 2 D**) indicaron que se producen cambios en las distintas hojas β para el complejo III. Estos resultados indicarían que hay cambios significativos en la estructura del βA .

Otro aspecto importante para la formación de fibrillas de βA son las interacciones hidrofóbicas que han sido descritas por Zhao y colaboradores [4]. En nuestras simulaciones de DM hemos encontrado que las distancias entre los residuos I32 de la cadena B y el residuo I32 de la cadena C aumentan considerablemente cuando se comparan con la simulación del péptamero βA sin C60, en donde estas distancias se mantienen en valores cercanos a 5 Å. En la simulación del complejo III esta distancia es mucho mayor, lo que indicaría una ruptura en el corazón hidrofóbico (**Figura 3**).

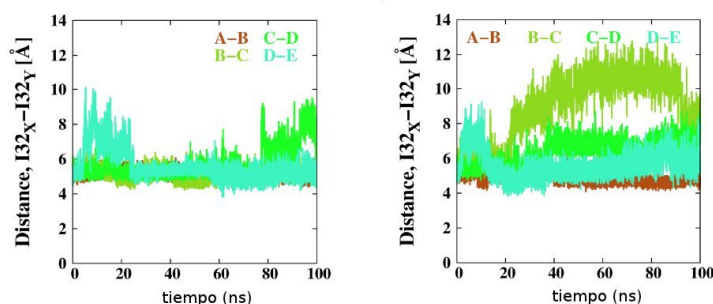


Figura 3: Distancia entre los residuos I32 del péptamero βA y el complejo III. Distancia vs. tiempo entre los residuos I32 del péptamero βA

Conclusión

Los resultados obtenidos con los estudios de modelado molecular permiten concluir que por acción del C60 se producen alteraciones significativas en la estructura del modelo de fibrilla βA . Esto incluye (i) la destrucción del giro helicoidal de las hojas β , (ii) la pérdida de un puente salino estabilizante y (iii) la pérdida de las interacciones hidrofóbicas que estabilizan el péptamero. Todos estos cambios estructurales fueron causados por la formación del complejo entre fullereno y βA . La débil unión que se encontró entre C60 y el péptamero nos da una idea de las posibles modificaciones que hay que proponer para producir un anclaje más fuerte entre los nuevos nanocompuestos y el βA , tratando de desarrollar complejos más estables.

REFERENCIAS

1. I. Melnikova, Nat. Rev. Drug. Disc. 2007, 6, 341.
2. S.A. Andujar, F. Lugli, S. Hofinger, R.D Enriz, F. Zerbetto. Phys. Chem. Chem. Phys. DOI: 10.1039/C2CP40680B.

3. D. A. Case, T. E. Cheatham, T. Darden, H. Gohlke, R. Luo, K. M. M. Jr., A. Onufriev, C. Simmerling, B. Wang and R. J. Woods, *J. Comput. Chem.*, 2005, 26, 1668–1688.
4. J. Zhao, H. Liu, Y. Liu, H. Lin, H. Fang, Y. Ho and W. Tsai, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 2009, 26, 481–490.