

El papel de la microgravedad en el desarrollo de fármacos

Nahum Galindo Vargas

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-Instituto Politécnico Nacional.

correo: ngalindov2000@alumno.ipn.mx



RESUMEN

Para identificar la estructura tridimensional de las proteínas por difracción de rayos X es esencial su cristalización. Este paso es importante para dilucidar las interacciones proteína-proteína de la membrana celular y desarrollar fármacos específicos que inhiban estas interacciones. Sin embargo, las pequeñas diferencias en la concentración de las soluciones proteicas saturadas utilizadas para el crecimiento de los cristales afectan la pureza del cristal obtenido. Estas diferencias de concentración son inducidas a nivel microscópico por la sedimentación y las corrientes de convección, consecuencia del campo gravitatorio terrestre. La investigación ha recurrido a una nueva frontera: la microgravedad en el espacio para la obtención de cristales de alta pureza, de mejor calidad a los obtenidos en la Tierra.

Palabras clave: cristalografía de rayos X, gravedad cero, microgravedad, fármacos inhibidores de interacciones proteína-proteína, Estación Espacial Internacional

ABSTRACT

Crystallization is essential to identify the three-dimensional structure of proteins by X-ray diffraction. This step is important to elucidate the protein-protein interactions of the cell membrane and to develop specific drugs that inhibit these interactions. However, small differences in the concentration of the saturated protein solutions used for crystal growth affect the purity of the crystal obtained. These concentration differences are induced at the microscopic level by sedimentation and convection currents, a consequence of the earth's gravitational field. Research has turned to a new frontier: microgravity in space to obtain high-purity crystals of better quality than those obtained on Earth.

Keywords: X-ray crystallography, zero gravity, microgravity, protein-protein interaction inhibitor drugs, International Space Station

1 INTRODUCCIÓN

Además de su papel estructural, las proteínas poseen diversas funciones: las enzimas catalizan reacciones químicas, actúan como receptores en la comunicación celular y como anticuerpos en la respuesta inmunitaria (J. Karr et al. 2015). Más del 50% de fármacos modernos se centran en interrumpir la comunicación celular, inhibiendo la interacción entre la porción peptídica de la proteína señalizadora y su receptor en la membrana celular, como los anticancerígenos y anti-neurodegenerativos (J. Karr et al. 2015; Scott et al. 2016). Por ejemplo, los fármacos anticancerígenos se unen a los receptores proteicos de células cancerosas que secuestran a las proteínas que regulan la muerte celular, induciendo así su destrucción (Scott et al. 2016).

Para desarrollar fármacos que bloqueen los sitios de unión entre proteínas es necesario dilucidar la estructura tridimensional de la proteína receptora. La cristalografía de rayos X es una de las herramientas más utilizadas para descifrar la estructura de una proteína (Scott et al. 2016). Para esto, las proteínas deben formar cristales de tamaño adecuado y pureza elevada a partir de una solución saturada de proteína, lo que es muy complicado en la Tierra debido a la influencia del campo gravitatorio a escala microscópica (En Kim 2022). Esto ha motivado a exportar la experimentación hacia una nueva dirección: la microgravedad en la órbita terrestre, donde se han obtenido cristales de mayor volumen y resolución en la difracción de rayos X (J. Karr et al. 2015) (Figura 1).

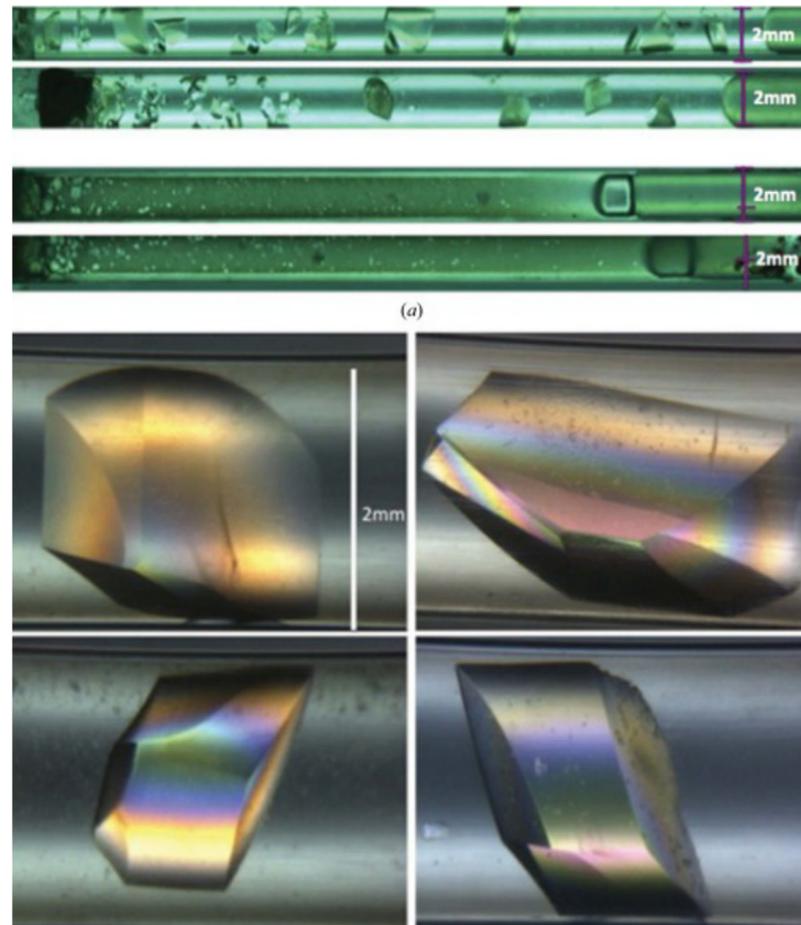


Figura 1. a) Crecimiento de un cristal de proteína en la microgravedad (arriba) y en la Tierra (abajo) bajo las mismas concentraciones y protocolos, dentro de tubos capilares de 2 mm de diámetro. b) cristales de proteínas obtenidas en la microgravedad vistas bajo luz polarizada. Imagen tomada de Ng, et al., 2015.

2 LA MICROGRAVEDAD

La microgravedad, también conocida como gravedad cero, es un concepto utilizado para describir la ingravidez experimentada en los vuelos espaciales, dada por una aparente falta de aceleración gravitatoria ("g" en tus clases de física) con respecto al vehículo espacial (Klaus 2023). En términos llanos, esto significa que no caerás dentro de la nave. La gravedad cero se percibe cuando caes hacia la Tierra a la misma velocidad a la que eres desplazado por la órbita terrestre; es decir, experimentas una caída libre pero al mismo tiempo eres desplazado tangencialmente alrededor de la Tierra, sin salir de la órbita terrestre, por lo que en realidad no caes.

A 400 km de la superficie terrestre se encuentra la Estación Espacial Internacional (ISS por sus siglas en inglés), circundando al planeta en una órbita "baja" a una velocidad de 28 000 km/h (En Kim 2022). En la ISS se experimenta un 90% de la gravedad de la Tierra, pero la sensación es de ingravidez porque la estación está en caída libre constante mientras recorre la órbita terrestre. Conviene aclarar que la microgravedad no significa que la aceleración gravitatoria haya disminuido o desaparecido; tampoco tiene que ver con el prefijo micro ($\mu=1 \times 10^{-6}$) que expresa una millonésima parte, ni con modificación alguna a la constante gravitatoria universal G, de la famosa ley de gravitación universal de Newton (Klaus 2023).



3 CAMBIOS MACROSCÓPICOS Y MICROSCÓPICOS EN LA MICROGRAVEDAD

Al derramar agua en la gravedad cero, esta no fluye hacia el suelo como normalmente sucede en la Tierra, sino que queda suspendida como una gota enorme por la fuerza de unión entre las moléculas del agua, fenómeno conocido como tensión superficial. Al encender una flama en la microgravedad esta toma una forma esférica, distinta a la característica forma que observamos en una

vela encendida (Brazil 2018). En la Tierra la combustión se lleva a cabo por difusión del oxígeno hacia la flama y convección de los gases de combustión, con la zona más fría en la parte baja de la flama y la zona caliente en la parte superior. Pero en la ingravidez, la combustión se lleva a cabo lentamente por difusión del oxígeno, por lo que la llama adquiere una forma esférica.

Pero ¿qué sucede a nivel microscópico en una solución de proteínas por efecto de la gravedad? La gravedad terrestre induce el movimiento de estas macromoléculas en solución, produciendo pequeñas corrientes convectivas. A este fenómeno se le conoce como convección impulsada por la flotabilidad. Un ejemplo del efecto de las corrientes convectivas a nivel macroscópico se observa en la agrupación de los residuos en ciertas zonas en el fondo de una alberca. Además de esto, la gravedad también promueve la sedimentación. Por ejemplo, una



solución turbia de tierra fina se aclara después de unos días de reposo. Ambos fenómenos provocan la formación de gradientes (diferencias) en la concentración de una solución. Sin embargo, en la microgravedad desaparecen la convección y la sedimentación, y se mantiene solo la difusión, lo que reduce los gradientes de concentración en la solución (J. Karr et al. 2015).

4 CRISTALIZACIÓN DE PROTEÍNAS EN LA MICROGRAVEDAD

En la microgravedad las soluciones proteicas son más homogéneas. En un laboratorio terrestre, por ejemplo, una solución saturada de proteína contenida en tubo eppendorf (tubos cónicos de plástico) puede tener una concentración de un 95% en la zona superficial y de 105% en el fondo del tubo por los fenómenos de convección y sedimentación (En Kim 2022). Sin embargo, la diferencia en la concentración para esta misma solución se reduce a 99.9% y 100.1% en la microgravedad. Esta ventaja se ha utilizado para obtener cristales de proteínas con una alta pureza, de mayor tamaño a los obtenidos en la Tierra y con mayor resolución en los resultados de difracción de rayos X (J. Karr et al. 2015).

Durante el crecimiento de cristales se genera una diferencia de concentraciones entre la solución proteica saturada y la zona alrededor del cristal, conocida como zona de agotamiento, con una menor concentración de proteínas. Esta diferencia de concentraciones implica un gradiente de densidades, lo que provoca la formación de corrientes de convección por flotabilidad en presencia de la gravedad terrestre. Las corrientes convectivas incorporan moléculas de proteínas de forma turbulenta y desordenada al cristal, ocasionando defectos estructurales (Kundrot et al., 2001). Pero en la micro-

gravedad las corrientes convectivas se reducen enormemente, por lo que el cristal solo crece por difusión. Esto favorece un ordenamiento más preciso de las proteínas y el crecimiento lento y controlado del cristal. Se reduce así la incorporación de unidades mal orientadas, obteniéndose un mayor orden cristalino (Kundrot et al., 2001).

Por si fuera poco, las corrientes convectivas pueden desprender pequeños agregados del cristal, generando nuevos núcleos, fenómeno conocido como nucleación secundaria (Kundrot et al., 2001). En la microgravedad también se reduce la nucleación secundaria, lo que produce la formación de menos cristales, pero de mayor tamaño y mejor ordenados (figura 1). Además, durante el crecimiento de un cristal en la Tierra, este tiende a sedimentarse por efecto de la gravedad. Cuando el cristal toca el fondo o a las paredes del tubo capilar donde se lleva a cabo el experimento, su crecimiento deja de ser uniforme en todas sus caras, lo que afecta la forma del cristal (Kundrot et al., 2001). En la microgravedad los cristales formados se mantienen suspendidos en la solución, por lo que su crecimiento es más simétrico. Un crecimiento lento y simétrico conduce a la formación de cristales con menos defectos estructurales, de mayor calidad para los estudios de cristalografía de rayos X (Kundrot et al., 2001).

En 1981 se cristalizó la enzima β -galactosidasa en un ambiente de gravedad cero a bordo de un cohete sonda alemán, el primer experimento de este tipo. De acuerdo con el Foro de la Ciencia del Programa de la ISS, el crecimiento de cristales de proteínas, con más de 500 experimentos hasta el año 2021, es por mucho el principal tipo de experimentos realizados dentro de la ISS (National Aeronautics and Space Administration (NASA) et al., 2022). En la figura 2 se indican solo unos cuantos ejemplos representativos de cristalización de proteínas con ayuda de la microgravedad la Estación Espacial Rusa Mir.

La Agencia de Exploración Aeroespacial Japonesa (JAXA por sus siglas en inglés) lleva más de 20 años trabajando en la cristalización de proteínas para el desarrollo de fármacos anticancerígenos, contra enfermedades dentales y la distrofia muscular de Duchenne, una enfermedad de origen genético (NASA et al., 2022). Aunque aún no se han revelado más detalles, se sabe que algunos fármacos están en ensayos preclínicos. Con la cristalización de proteínas también se ha identificado que el receptor proteico donde se unen los fármacos para tratar la tuberculosis llega a cambiar su diámetro. Esta característica dificulta su tratamiento, pero ha dado pistas para el desarrollo de mejores tratamientos. La empresa farmacéutica Bristol Myers Squibb ha trabajado en la cristalización de proteínas en la microgravedad desde los años 90's y, en el año 2017, Merck envió al espacio su fármaco anticancerígeno Keytruda, anticuerpos monoclonales de administración intravenosa, para su cristalización (En Kim 2022; Merck 2022). Los cristales obtenidos fueron más homogéneos y de mayor pureza, lo que incrementa la estabilidad y solubilidad del fármaco, facilita su administración intramuscular y reduce costos para su aplicación.

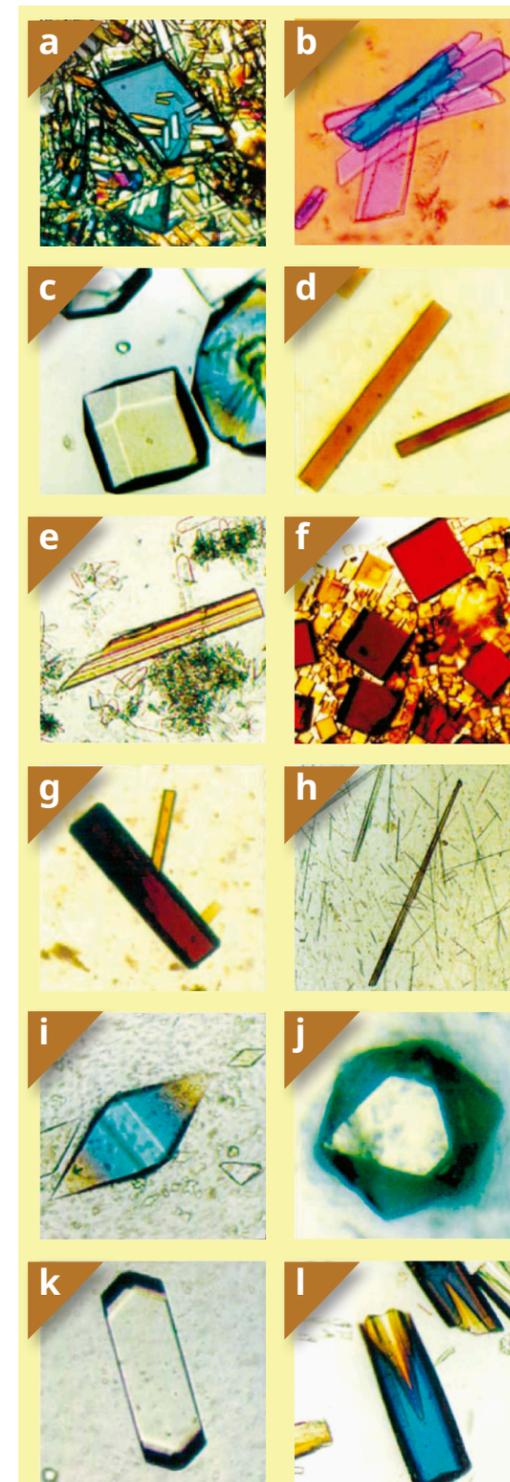


Figura 2. Algunos ejemplos de proteínas cristalizadas en un ambiente de microgravedad dentro de la Estación Espacial Rusa Mir: a) canavalina romboédrica, (b) creatina quinasa, (c) lisozima, (d) catalasa bovina, (e) α -amilasa porcina, (f) catalasa fúngica, (g) mioglobina, (h) concanavalina B, (i) taumatina, (j) apoferritina, (k) virus satélite del mosaico del tabaco, y (l) canavalina hexagonal. Imagen tomada de McPherson y DeLucas, 2015.

5 CONCLUSIÓN

Además de los altos costos de trasladar un experimento a las alturas y la larga lista de espera para acceder a ocupar un espacio en la ISS, no todos los experimentos son exitosos. Por este motivo se han buscado algunas alternativas que simulan la microgravedad en la Tierra, como las torres de caída libre, los vuelos parabólicos y los cohetes sonda, con la desventaja de que los tiempos de duración del efecto de la microgra-

vedad son muy cortos, desde segundos a unos cuantos minutos. Por lo pronto, los avances en la identificación estructural de proteínas para el desarrollo de fármacos inhibidores de las interacciones proteína-proteína, apoyados de la tecnología aeroespacial, continuará en tanto existan instalaciones como la ISS, o alternativas que permitan llevar la investigación hacia una nueva frontera biotecnológica: el espacio.

6 AGRADECIMIENTOS

Al Conahcyt por el financiamiento otorgado (2023-000002-01NACF-02641)

REFERENCIAS

Brazil R (2018) Science in microgravity. Chemistry World. Available from <https://www.chemistryworld.com/features/science-in-microgravity/3009826.article> [fecha de revisión 10 febrero 2025]

En Kim S (2022). Pharma looks up. C&EN Global Enterprise 100(40):18-23.

J Karr L, Y Miller T, N Donovan D (2015) A Researcher's Guide to: Macromolecular Crystal Growth. National Aeronautics and Space Administration. Available from https://www.nasa.gov/wp-content/uploads/2016/05/np-2015-08-027-jsc_macromolecular_crystals-iss-mini-book-102715-508c.pdf [fecha de revisión 10 febrero 2025]

Klaus DM (2023) Microgravity. In Encyclopedia of Astrobiology. Edited by M Gargaud, WM Irvine, R Amils, P Claeys, HJ Cleaves, M Gerin, D Rouan, T Spohn, S Tirard, M Viso. Springer Berlin Heidelberg. 1942-1943 pp.

Kundrot CE, Judge RA, Pusey ML, Snell EH (2001) Microgravity and Macromolecular Crystallography. Crystal Growth & Design 1(1):87-99.

McPherson A, DeLucas LJ (2015). Microgravity protein crystallization. Npj Microgravity 1(1):15010. doi: 10.1038/npjmgrav.2015.10

Merck (2022) Proteins in space: Taking our research to the final frontier. Innovation [online]. Available from <https://www.merck.com/stories/proteins-in-space-taking-our-research-to-the-final-frontier/> [fecha de revisión 10 febrero 2025]

National Aeronautics and Space Administration (NASA), Canadian Space Agency (CSA), European Space Agency (ESA), Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA), State Space Corporation, ROSCOSMOS (ROSCOSMOS), Italian Space Agency (ASI) (2022). International Space Station Benefits for Humanity 2022. International Space Station Program Science Forum. Available from <https://www.nasa.gov/missions/station/all-editions-of-international-space-station-benefits-for-humanity/>

Ng JD, Baird J K, Coates L, Garcia-Ruiz JM, Hodge TA, Huang S (2015). Large-volume protein crystal growth for neutron macromolecular crystallography. Acta Crystallographica Section F Structural Biology Communications 71(4):358-370. doi:10.1107/S2053230X15005348

Scott DE, Bayly AR, Abell C, Skidmore J (2016) Small molecules, big targets: Drug discovery faces the protein-protein interaction challenge. Nature Reviews Drug Discovery 15(8):533-550.

