

# COMPUESTOS CON POTENCIAL ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA OBTENIDOS A PARTIR DE CONOTOXINAS DE ANIMALES MARINOS (MOLUSCOS GASTERÓPODOS *CONUS MAGUS*)

## COMPOUNDS WITH POTENTIAL PHARMACOLOGICAL ACTIVITY DERIVED FROM CONOTOXINS OF MARINE ANIMALS (GASTROPOD MOLLUSKS *CONUS MAGUS*)

*Nelson Giovanni Rincón Silva<sup>1</sup>, Juan David Rincón Silva<sup>2</sup>, Cindy Vanessa Castellanos Bernal<sup>3</sup>*

### RESUMEN

El dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable, que pueden experimentar todos aquellos seres vivos que disponen de un sistema nervioso central -SNC, es una experiencia asociada a una lesión tisular o expresada como si esta existiera. En esta revisión, se presentan nuevas fuentes naturales para la obtención de diversos fármacos para tratar el dolor crónico de diversas patologías aislados desde animales marinos (caracoles del género *Conus*), se trata de conotoxinas aisladas de venenos de estos animales. Su efecto terapéutico consiste en un bloqueo selectivo de los canales de calcio (Ca) tipo N, por medio del cual reduce la liberación de neurotransmisores pronociceptivos en el asta posterior de la médula espinal, inhibiendo, de esta manera, la transmisión del impulso doloroso. Asimismo se plantean diversas metodologías para la obtención de estos novedosos compuestos, así como una caracterización completa de los animales de donde se extraen y otras aplicaciones médicas de estos compuestos.

**Palabras clave:** Analgésicos, Dolor, Venenos, Conotoxinas, Conopeptidos, Moluscos gasterópodos, Caracoles.

### ABSTRACT

Pain is a sensory and emotional unpleasant experience, which could experience all those living beings who have a central nervous system -CNS, is an experience associate to tissue injury or expressed as if it existed. In this review, new sources for obtaining various drugs to treat chronic pain of various pathologies isolated from marine animals (snails *Conus* genus) are presented. It is conotoxins isolated venoms of these animals, their therapeutic effect is a selective blockade calcium channel (Ca) type N, by which reduces the release of neurotransmitters pronociceptor in the dorsal horn of the spinal cord, inhibiting, thus pain impulse transmission. Different methodologies for obtaining these new drugs as well as a complete characterization of animals and other medical applications of isolated compounds were also indicated.

**Keywords:** Painkillers, Pain, Venoms, Conotoxins, Conopeptides, Gastropod Mollusks, Snails.

**Recibido:** Julio 31 de 2015

**Aceptado:** Agosto 28 de 2015

- 
1. Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia. Químico, Magíster en Ciencias-Química. Universidad de los Andes. Bogotá, Colombia. giovannyveland@gmail.com
  2. Universidad Pedagógica Nacional, Bogotá, Colombia. Biólogo, Estudiante de Ingeniería Eléctrica. Bogotá, Colombia. judavidrs@gmail.com
  3. Química. Universidad Santiago de Cali. Subgerente Laboratorios Amaquim S.A.S. Santiago de Cali, Colombia. cindyvanessalb@gmail.com

## INTRODUCCIÓN

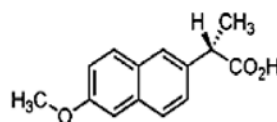
El dolor es una de las principales causas de consulta en atención primaria y urgencias médicas en el mundo, este es un padecimiento universal, por lo que resulta prioritario adquirir una formación adecuada en su diagnóstico y tratamiento. Por fortuna investigaciones en bioquímica, química farmacéutica, farmacología, entre otras ramas, se han enfocado en obtener diversos compuestos que bloquean algunos canales relacionados directamente con el dolor desde fuentes naturales, por ejemplo: conotoxinas de animales marinos que han resultado adecuadamente efectivos (1).

La ciencia que estudia el dolor se llama algología (es un término no registrado por el Diccionario de la Lengua Española pero encuentra su etimología en el griego *άλγος*, *algos*, *dolor*) (2). El dolor puede ser agudo o sordo. Puede ser intermitente o constante. En los humanos se puede sentir en algún lugar del cuerpo, como la espalda, el abdomen o el pecho o sentir dolor generalizado, como los dolores musculares (mialgia) (3). La sensación de dolor articular o muscular se puede producir por diversas enfermedades como: artritis, fibromialgia, algunos tipos de cáncer u otras enfermedades crónicas (4). Además, cuando se produce una lesión o traumatismo directo sobre un tejido por estímulos mecánicos, térmicos o químicos se produce daño celular, desencadenándose una serie de sucesos que producen liberación de potasio, síntesis de bradiquinina del plasma, y síntesis de prostaglandinas en la región del tejido dañado, que a la vez aumentan la sensibilidad del terminal a la bradiquinina y otras sustancias productoras del dolor o algógenas (4). Además de estos casos, algunos pacientes presentan severos dolores de cabeza o cefaleas que algunas veces pueden resultar incapacitantes cuando

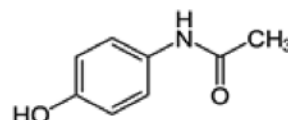
el dolor es tan fuerte que la persona no puede desarrollar ninguna actividad, padecimiento conocido como Migraña que puede ocurrir con síntomas como náuseas, vómitos o sensibilidad a la luz y al sonido, el cual algunas veces presenta causas desconocidas actualmente (1-3).

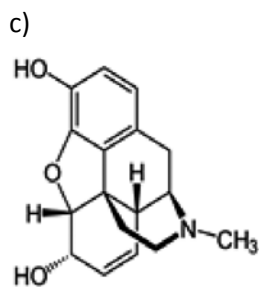
El dolor en los pacientes se trata con medicamentos denominados Analgésicos, los cuales pueden ser de diversos tipos; entre los principales se encuentran: Antiinflamatorios no esteroideos (AINES) como la aspirina, ibuprofeno o naproxeno (Figura 1. a), o el paracetamol más conocido como acetaminofén –AINE carente de efectos antiinflamatorios (Figura 1. b), los cuales actúan inhibiendo las prostaglandinas (5-7). Otros tipos de analgésicos son los opiáceos menores como el tramadol y los opiáceos mayores, estos son un grupo de fármacos naturales (opiáceos) como la morfina y artificiales (opioides) como el fentanilo. Entre estos el más popular es la morfina que se utiliza para tratar dolores crónicos en pacientes oncológicos, dolores en los huesos o en pacientes post-quirúrgicos (Figura 1. c) (7). El problema de la mayoría de estos analgésicos es que presentan efectos secundarios como daño hepático, gástrico o renal y en los opiáceos puede provocar adicción en los pacientes debido a la combinación de factores psicológicos y fisiológicos (7-8).

a)



b)





**Figura 1. Estructura química de los analgésicos comúnmente utilizados para tratar el dolor en enfermedades agudas y crónicas: a) Ácido (S)-2-(6-metoxi-2-naftil) propanoico conocido comúnmente como naproxeno. b) N-(4-hidroxifenil) acetamida conocido como paracetamol o acetaminofén. c) (5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ )-7,8-didehidro-4,5-epoxi-17-metilmorfina-3,6-diol alcaloide fenantreno del opio, conocida como morfina nombrada así por el farmacéutico alemán Friedrich Wilhelm Adam Sertürner en honor a Morfeo, el dios griego de los sueños (5,7,8-11). Imágenes editadas por autores**

Recientemente se ha demostrado la importancia de algunos compuestos químicos con actividad biológica presentes en algunos venenos de organismos marinos en el tratamiento contra diferentes tipos de dolores crónicos (12). Los reportes de investigaciones de metabolitos provenientes de organismos marinos datan desde 1997 con estudios que se llevaron a cabo con los peces globo y dinoflagelados para obtener tetrodotoxina y saxitoxina, hasta 1987 se reportaron cerca de 2500 metabolitos provenientes de estos organismos. En 1998 se tenían cerca de 850 nuevas estructuras de compuestos químicos con actividad medicinal provenientes de organismos del mar y para el año 2012 se presentaron más de 2000 nuevos compuestos en solo este año provenientes de la misma fuente (13). Estos potenciales analgésicos pueden llegar a tener un efecto mil veces más efectivo que poderosos analgésicos como la morfina pero sin dependencia ni depresión respiratoria, de ahí que actualmente son estudiados por cientos de grupos de investigación a nivel mundial (12-13).

Aproximadamente cerca del 70 % de la superficie

de la Tierra está cubierta por agua y los océanos contienen alrededor del 96,5 % de toda el agua del planeta donde hace millones de años surgió y evolucionó la vida (13-15). Dentro de los organismos marinos se encuentran el fitoplancton, las algas verdes, pardas, rojas y grandes filos del reino animal: esponjas o poríferos, cordados (específicamente el subfilo urocordados), equinodermos, moluscos, entre otros (15-16). Estos últimos y específicamente los caracoles resultan ser muy interesantes ya que su veneno contiene toxinas con gran poder analgésico (14-17). Por lo tanto, en este trabajo se pretende realizar una extensa revisión acerca de compuestos con actividad farmacológica obtenidos desde organismos marinos, con una extensa caracterización biológica y fisiológica de los animales (caracoles), de igual manera, se presentan metodologías actuales para la obtención y estudios de estos compuestos, así como diversas aplicaciones médicas de estas nuevas sustancias.

## LOS MOLUSCOS

Pertenecen al gran filo animal de los Mollusca. Trabajos recientes muestran que se han descrito alrededor de 100.000 especies de moluscos vivientes y más de 35.000 especies extintas (18-19). Los moluscos han colonizado la mayoría de ambientes terrestres, desde grandes alturas a más de 3000 m sobre el nivel del mar hasta profundidades de más de 5000 m, se distribuyen tanto en aguas polares como tropicales, aunque suelen ser más comunes en los litorales de todo el mundo (18-19).

Los moluscos son considerados como el segundo grupo más abundante de invertebrados después de los artrópodos. Presentan una morfología muy heterogénea, desde típicas formas de almejas, ostras,

caracoles, babosas, quitones y lapas hasta organismos con tamaños y formas considerables como los pulpos y calamares (20). Esta gran diversidad ha resultado en una enorme clasificación taxonómica, que incluye siete clases: Aplacophora, 320 especies; Monoplacophora, 20 especies; Poliplacophora, 600 especies; Escaphopoda, 350 especies; Bivalvia, 13000 especies; Cephalopoda, 800 especies y Gastropoda con 50.000 especies (Figura 2) (18-19).

**Figura 2. Diferentes representantes del filo de moluscos (Mollusca del latín *molluscum*, "blando") (20). Editada por autores**



### GENERALIDADES DE LOS GASTERÓPODOS (CARACOL Y BABOSAS)

Los gasterópodos (clase Gasterópoda) son el grupo más abundante de moluscos que incluye aproximadamente más de 40.000 especies descritas, aunque se han hecho algunas estimaciones con respecto a la cantidad de organismos que se han descrito y algunos consideran y sugieren que su número podría aumentar en los próximos años a unas 80.000 fácilmente, debido básicamente al desconocimiento, biodiversidad y fácil adaptabilidad de estos organismos a los diferentes ecosistemas (18-19). Se han descrito aproximadamente unos 15.000 fósiles de gasterópodos.

### CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA DEL GRUPO

Una de las principales características de los gasterópodos es su concha, puesto que varios de los sistemas de clasificación se basan en algunos de sus rasgos y características. Existen conchas de diferentes formas, en espiral, convexa, cónica, globosa, plana y turriculada. Los individuos presentan de modo más claro la típica división del blando cuerpo en cabeza, pie, masa visceral y manto (18-19). La concha de los gasterópodos se compone de varias capas como en la mayoría de los moluscos, pero su superficie, a menudo polícroma, solo suele revelar su belleza después de quitarle el periostraco. En el caso más simple la concha está dispuesta como un tubo arrollado en espiral que se ensancha continuamente. Cuando las espirales, llamadas también vueltas, se juntan en el eje formando un huso sólido, columnilla o columela, que se conecta en la boca al borde columelar: si las vueltas no se tocan, se origina un hueco cónico, llamado ombligo, visible en la base de la concha. Las vueltas contactan arriba y abajo en una sutura. El comienzo de las vueltas, con la espiral embrionaria, constituye el ápice. En el extremo opuesto de la concha está la base, borde inferior de la concha o peristomo, que en muchas especies se prolonga en forma de canal o sifón, surco por donde salen los tubos respiratorios. El agujero terminal de la concha, por donde asoma el blando cuerpo del molusco, se denomina estoma, y puede ser redondo, oval o hendido. El labio externo del estoma puede ser afilado o de forma labial, liso o dentado por dentro y revestido por fuera con tubérculos o espinas (18). La superficie de la concha es lisa y brillante, o bien está provista de costillas, tubérculos, espinas o cerdas; las costillas pueden ser paralelas al eje (escultura axial) o seguir los giros (escultura espiral). Cuando las esculturas se entrecruzan con un relieve del

mismo tipo, se produce un reticulado, que a veces presenta nódulos en los puntos de intersección. Algunos grupos tienen en la parte superior del pie un disco córneo o calcificado, el opérculo, que encaja exactamente en el estoma, cerrándolo al ocultarse el animal (19).

Un rasgo muy característico de un grupo antiguo de gasterópodos marinos y que los diferencia de los demás gasterópodos es el fenómeno de torsión de la masa visceral. Este consiste en una torsión de 180 grados que sufre el animal durante su desarrollo, este giro se da en torno a su eje longitudinal, en sentido opuesto a las agujas del reloj, al mismo tiempo que lo hace en espiral. Como consecuencia de ello, la masa visceral con los órganos pares (branquias, riñones y las aurículas del corazón), así como el orificio genital y el ano, se trasladan a la parte anterior del cuerpo. Las branquias se sitúan delante del corazón, por esta razón a este grupo se le denomina prosobranquios (subclase Prosobranchia). Además en este proceso, los gasterópodos pierden uno de los órganos pares y se quedan solo con una aurícula, una branquia y un riñón. El hepato-páncreas izquierdo aumenta mucho de tamaño a costa del derecho y las gónadas muestran también desarrollo unilateral. En los opistobranquios (subclase Opisthobranchia), “de branquias posteriores”, todos marinos, la masa visceral gira solo parcialmente, la cavidad paleal se coloca en el lado derecho del organismo, volviendo a situarse la branquia detrás del corazón. Lo propio ocurre también en los caracoles de tierra pulmonados (subclase Pulmonata), que se diferencian de los opistobranquios precisamente por la ausencia de branquias. En su caso, el revestimiento de la cavidad paleal se ha convertido en un tejido surcado por capilares, que funciona de modo similar al de un pulmón (19).

En muchos opistobranquios y pulmonados, la masa visceral se desplaza muy poco hacia delante; en ese caso, la mayoría de los órganos se alojan en el pie, y suele producirse también una involución de la concha, que pasa a ser un simple vestigio calizo cubierto por el manto e invisible; ocurre esto con los limacoideos (babosas). La concha desaparece totalmente en los nudibranquios, que desechan enseguida la concha embrionaria; la cavidad paleal y la branquia se refunden por completo, encargándose de su actividad unos lóbulos dérmicos tubulares, que actúan como branquias secundarias (18-19). La cabeza tiene ojos y uno o dos pares de tentáculos. En muchos prosobranquios se prolonga en forma de hocico, convirtiéndose en una larga probóscide protractil. El estoma es ventral, y la faringe presenta una rádula multidenticulada, precedida a menudo de unas placas afiladas que trabajan como mandíbulas. Unas glándulas esofágicas pares segregan un mucus que envuelve las partículas alimenticias; algunos géneros producen también una secreción tóxica que paraliza a la presa y la digiere después (18-19).

### ÓRGANOS SENSORIALES DE MOLUSCOS

En la mayoría de los casos existen, junto a la base de los tentáculos, unos ojos primarios, ocelos, o incluso ojos con lente, que les proporcionan una visión primitiva. Los pulmonados terrestres tienen esos ojos con lente en el extremo de un par de tentáculos contráctiles. Junto a la branquia y dentro de la cavidad paleal, hay células sensoriales que hacen de órgano olfativo. Controlan las sustancias aromáticas contenidas en el agua que entra en esa cavidad, para saber si proceden de presas, enemigos o individuos sexualmente interesantes. Eso permite al molusco desplazarse hacia adelante, reaccionar

ante un enemigo que se acerca o aproximarse a un compañero sexual (18-19). Los gasterópodos se desplazan normalmente reptando, por medio de ondas que recorren la suela del pie y empujan al animal hacia delante. Para poder avanzar también sobre superficies ásperas, sin fricción, una glándula pedal segrega mucus, de manera que el molusco se desliza sobre la “alfombra” viscosa resultante (19).

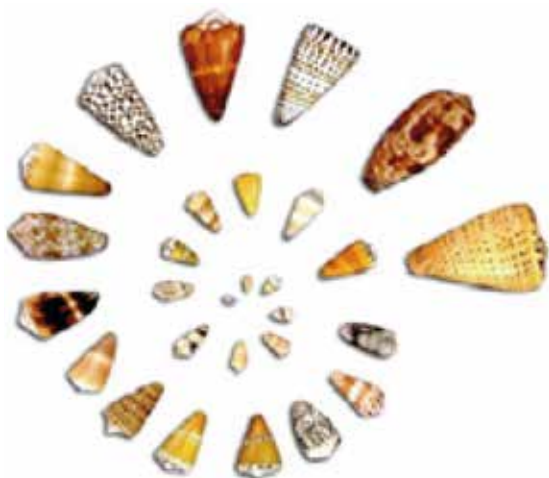
Los prosobranquios son, por lo regular, unisexuales. Suele hacer las veces de pene un apéndice de forma variada situado en la pared de la cabeza de los machos, que en las especies marinas se atrofia o es desechado después de la época de la reproducción. Los opistobranquios y los pulmonados son hermafroditas y generalmente practican una cópula cruzada; muy rara vez se autofecundan (18). Los gasterópodos se reproducen por huevos, que ponen por lo común en forma de cápsulas o cordones gelatinosos, o también de capullos apergaminados que contienen muchos huevos. Los caracoles terrestres envuelven los suyos en cubiertas duras, a menudo calizas, y los ponen en hoyos en el suelo. El desarrollo de las especies marinas pasa por un estadio larvario, el de velígera (larva velíger), con una fase de vida planctónica más o menos prolongada, pero a veces, las larvas permanecen dentro de la envoltura ovígera y se alimentan de los demás huevos de la misma puesta. Los gasterópodos de tierra y agua dulce se desarrollan directamente, sin estadio larvario (18-19).

Finalmente como se dijo con antelación, los gasterópodos se dividen sistemáticamente en prosobranquios (principalmente marinos), opistobranquios (exclusivamente marinos), y pulmonados (en su mayoría terrestres). Los moluscos gasterópodos (pie carnoso) pertenecientes al orden *Stylommato-*

*phora*, familia *Helicidae* (caracol) y *Limacidae* (babosa), se caracterizan por su movimiento en forma ondulatoria (18-19). La mayoría son polípagos y pueden provocar importantes daños en plantas ornamentales. Se alimentan de hojas y frutos y se observa su mayor actividad cuando hay buenas condiciones de humedad, esto generalmente se presenta cuando se hacen riegos sobre las plantas o se presentan lloviznas esporádicas, generalmente se alimentan de noche, aunque ocasionalmente lo hacen en el día (18-19).

De estos el que recibe mayor atención a nivel de compuestos con actividad bioquímica, específicamente farmacológica es el género *Conus*, el cual cuenta con cerca de 700 especies. Pertenecen a la familia *Conidae*, mejor conocidos como conos (Figura 3), son caracoles marinos de aguas tropicales encontrados en los arrecifes de coral. Son carnívoros y poseen un órgano venenoso, que consiste en una glándula unida a un diente radular en forma de arpón. Con base en el tipo de presas consumidas, los caracoles cono se clasifican en vermívoros (cazadores de gusanos), moluscívoros (cazadores de moluscos) y piscívoros (cazadores de peces) aunque hay algunas especies de caracoles cono que tienen el potencial de consumir más de un tipo de presa. El veneno de ciertas especies como *Conus geographus*, *Conus aulicus*, *Conus textile*, *Conus marmoreus*, *Conus leopardus*, puede ser fatal para el hombre, produce parálisis y puede llegar a producir la muerte. El veneno de los conos comprende numerosos péptidos ricos en cisteína llamados conotoxinas o conopéptidos junto con análogos de péptidos de señalización endógena y péptidos lineales. Estos péptidos se dirigen a los canales iónicos y receptores en el sistema nervioso de la presa con exquisita potencia y especificidad (12, 14).

**Figura 3. Caracoles marinos del género *Conus*, denominado de esta manera por la forma de su concha. Las especies que habitan el océano Indo-Pacífico producen un veneno que le puede causar la muerte a los humanos, de ahí surgió el interés por estudiar las toxinas presentes en estos animales, actualmente denominadas Conotoxinas (21-23).**  
a)



b)



Fuente: Imagen original de Janette y Scott Johnson. Editada por autores

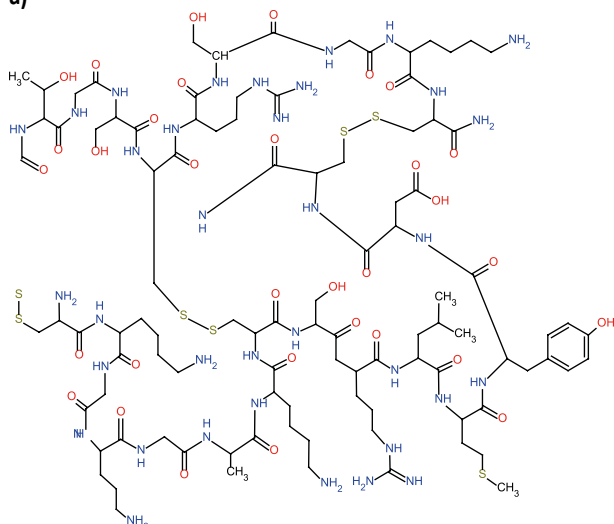
### Compuestos químicos con actividad farmacológica extraídos de caracoles

La mayoría de conopéptidos oscilan entre 10 y 30 aminoácidos de longitud y cada especie de caracoles como produce un veneno que comprende más de 1000 péptidos únicos. Su pequeño tamaño, la relativa facilidad de síntesis química y la diversidad de canal iónico y los receptores objetivo hacen que los conopéptidos sean valiosos fármacos (24-26). Muchos de los conopéptidos farmacológicamente

caracterizados se dirigen a los *receptores de canal iónico* (proteínas transmembrana con poros acuosos que cuando se abren permiten el paso selectivo de iones específicos a través de las membranas celulares) en los mamíferos, los cuales participan en las vías del dolor, incluyendo los receptores nicotínicos de acetilcolina ( $\alpha$ -conotoxinas), los canales de sodio ( $\mu$ -conotoxinas y  $\mu$ O-conotoxinas), los canales de calcio ( $\omega$ -conotoxinas), transportadores de noradrenalina ( $\chi$ -conopéptidos), receptor de NMDA (conantoquinas) y el receptor de neurotensina (contulakins) con alta selectividad haciéndolos fármacos muy útiles (12, 27-29). Por ejemplo, el conopéptido Ziconotida tipo  $\omega$ -MVIIA se encuentra disponible en el mercado bajo el nombre comercial de *Prialt* (Figura 4 a y b) aprobado en 2004 por la FDA (*Food and Drug Administration*: Agencia de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos responsable de la regulación de alimentos, medicamentos cosméticos, aparatos médicos, productos biológicos y derivados sanguíneos), como analgésico intratecal (lugar donde fluye el líquido que se encuentra alrededor de la médula espinal). Este es un analgésico que bloquea los canales de calcio tipo N (BCCN: Analgésicos con importancia biomédica en el tratamiento de la hipertensión y arritmias cardíacas), no es narcótico y es aislado del veneno que emplea la especie *Conus magus* para aturdir las presas que captura. Los canales CCN regulan la liberación de neurotransmisores en poblaciones neuronales específicas, responsables del procesamiento medular del dolor. Al unirse a estos CCN neuronales, la ziconotida inhibe la corriente de calcio sensible al voltaje en las vías aferentes nociceptivas principales que terminan en las capas superficiales del asta dorsal de la médula espinal. A su vez, esto inhibe la liberación de neurotransmisores (incluida la sustancia P: un undecapéptido de estructura Arg-Pro-Lis-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gli-Leu-Met-NH<sub>2</sub> (RPKPQQFFGLM) con una aminación

en el carboxilo terminal especialmente involucrada en la percepción del dolor, es un neuropéptido que actúa como neuromodulador y neurotransmisor y, por tanto, la señalización medular del dolor (12, 24-30).

**Figura 4. a) Conopéptido Ziconotida tipo  $\omega$ -MVIIA. b) Comercialmente denominado *Prialt*. Este fue el primer derivado marino que recibió la aprobación como medicamento (31). Imágenes editadas por autores a)**



b)



Actualmente se estima que hay más de 50000 conopéptidos diferentes de los cuales menos del 0,1 % se ha caracterizado hasta la fecha. Esta cantidad está aumentando con la llegada de nuevas técnicas más rápidas y que además requieren menos cantidad de muestra de veneno. Específicamente la téc-

nica instrumental de espectrometría de masas MS, la cual cada vez es más sensible. La combinación de los datos de espectrometría con información de secuencias de ADN obtenidas a partir de bibliotecas de ADNc y EST's marcador de secuencia expresada (acrónimo del inglés *Expressed Sequence Tag*) resulta ser muy práctico (12, 15, 24-28).

### NUEVAS HERRAMIENTAS EN EL DESCUBRIMIENTO Y OBTENCIÓN DE CONOPÉPTIDOS

La obtención de conopéptidos tradicionalmente se realiza mediante métodos clásicos de bioactividad guiados por fraccionamiento, donde el veneno es detectado por su bioactividad, luego se purifica y caracterizan las fracciones que exhiben actividad biológica. No obstante, este método requiere bastante tiempo para llevarse a cabo y necesita de grandes cantidades de veneno crudo, lo que convierte inviable el trabajo con este método (31).

Con el fin de acelerar el proceso de obtención y de limitar la cantidad de veneno necesaria para estos estudios, han sido implementados nuevos métodos con ayuda del avance tecnológico en la instrumentación y el desarrollo de nuevas técnicas, así como su combinación (Figura 5), por ejemplo: la proteómica (estudio del proteoma o conjunto de proteínas presentes en una unidad biológica, fracción celular, célula, tejido, órgano u organismo bajo condiciones de interés específicas), junto a esta se requiere un espectrómetro de masas MS con alta sensibilidad debido a la extremadamente pequeña cantidad de muestra del veneno (32-33). Desarrollos paralelos en el campo de la proteómica y las mejoras en la instrumentación de MS han hecho de los estudios proteómicos uno de los pilares en el campo de los estudios de veneno (34-35). Estas se



componen principalmente de péptidos y por tanto son susceptibles de estudio de análisis de masas. El acoplamiento con técnicas como la cromatografía líquida con espectrometría de masas (LC-MS), así como el aumento de la sensibilidad en la instrumentación ha ayudado a desentrañar la verdadera complejidad de los venenos. En particular técnicas como: Desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI, en inglés *Matrix-Assisted Laser Desorption-ionización*) con detector de iones de tiempo de vuelo TOF, permite el análisis de biomoléculas (biopolímeros como las proteínas, los péptidos, los azúcares y los lípidos) y moléculas orgánicas grandes (como los polímeros, los dendrímeros y otras macromoléculas) que tienden a hacerse frágiles y fragmentarse cuando son ionizadas por métodos más convencionales, además la proteómica emplea la espectrometría de masas ionización por electrospray (en inglés, *Electrospray ionization* o ESI). Así, la espectrometría de masas ha elucidado la complejidad del veneno. Adicionalmente, estas técnicas han permitido un aumento de diez veces en estimaciones del número de conopéptidos presentes en cada especie *Conus* y han ayudado a especificar la diversidad de veneno entre diferentes especies, así como dentro de la misma (12, 33).

En cuanto a la transcriptómica (ómica encargada de identificar la porción del genoma de un organismo transcrito a mRNA, rRNA, tRNAs, niRNA, miRNA presentes en una célula, tejido u órgano, o la cuantificación de los niveles de transcripción de los genes), varios grupos han utilizado métodos genómicos y transcriptómicos tradicionales para estudiar los genes que codifican para los componentes del veneno que se encuentra en los caracoles cono. Estos estudios se basan en la construcción de bibliotecas de ADNc seguidos por el método de

secuenciación *Sanger* (determinación del orden de los nucleótidos en un oligonucleótido de ADN) (32, 36).

La secuenciación de un marcador de secuencia expresada *EST* (una secuencia nucleotídica transcrita codificante de una proteína) ha permitido la identificación de un número de genes que codifican para toxinas particulares. Adicionalmente, también ha llevado al descubrimiento de nuevas  $\alpha$ -conotoxinas. El uso de perfiles de expresión génica también se ha utilizado para ayudar a explicar los mecanismos de la variación y la evolución de los conopéptidos. Sin embargo, la cantidad de información obtenida a través de la secuenciación de partes específicas del transcriptoma es evidentemente restringida y tales métodos son propensos a los efectos que impiden la identificación de los complejos transcritos de muestreo.

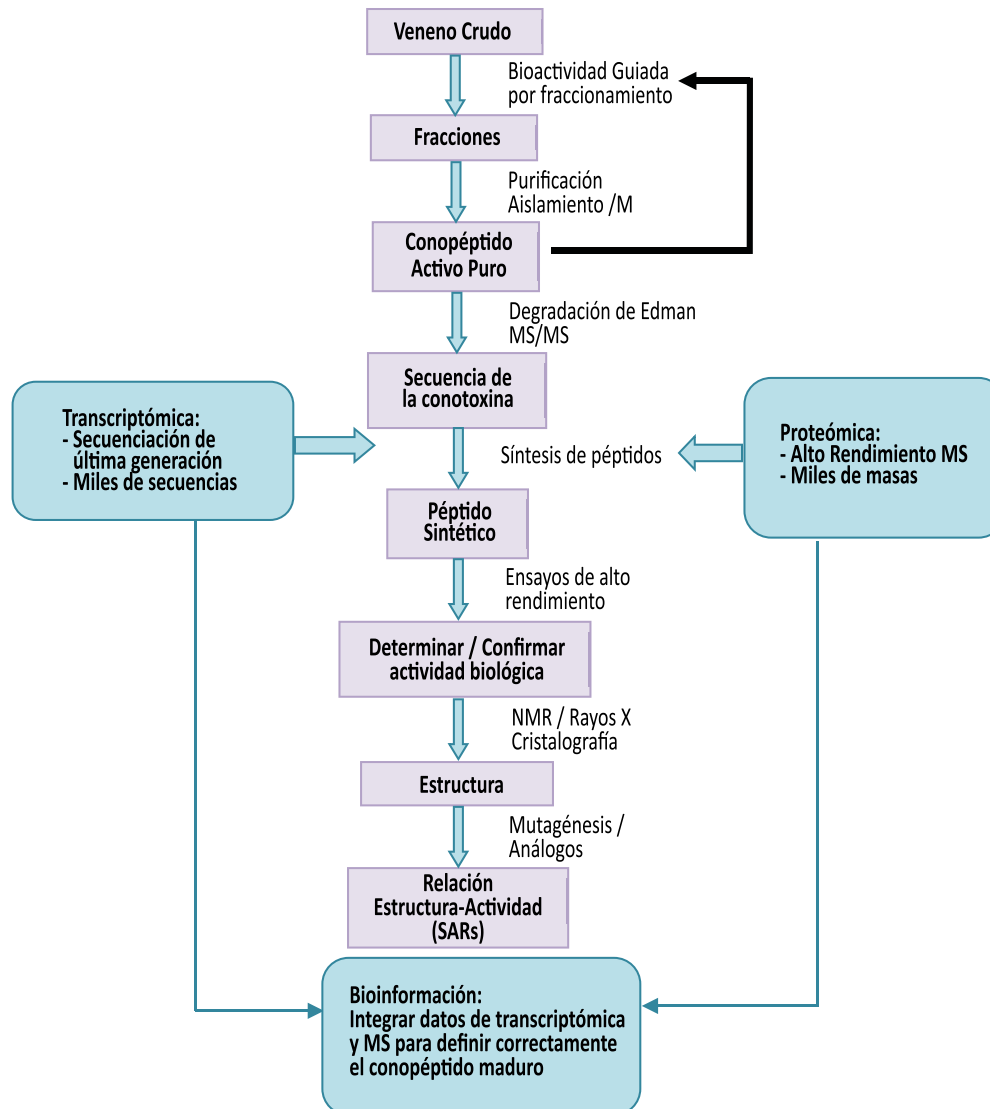
La reciente disponibilidad de plataformas de secuenciación de última generación como Illumina (Illumina Inc.) y 454 pirosecuenciación (Roche) ha hecho posible que todo el transcriptoma o genoma se estudie de una manera relativamente rápida y confiable. El estudio de la totalidad del transcriptoma permite a los investigadores obtener una comprensión más profunda de los procesos que determinan la composición del veneno. Sin embargo, los métodos de secuenciación de última generación no están exentos de defectos y errores. Estos grupos de investigación también descubrieron varias enzimas nuevas en la modificación postraduccional (cambio químico ocurrido después de la síntesis de una proteína) y así han presentado la caracterización completa de la glándula de veneno (32-36).

Estos estudios paralelos han demostrado la idonei-

dad de utilizar métodos transcriptómicos para generar información valiosa para el rápido descubrimiento de nuevos componentes del veneno (37). De esta manera, los nuevos avances en MS están siendo integrados con la transcriptómica, genómica, proteómica y bioinformática en un enfoque multidisciplinario que algunos investigadores han denominado *venómica* (32).

Otra aplicación médica de las conotoxinas provenientes de caracoles ha sido estudiada por diferentes grupos de investigación en los últimos años, donde estas toxinas se han empleado en tratamientos contra desórdenes neurodegenerativos, específicamente en patologías como Alzheimer, enfermedad de Parkinson y esclerosis múltiple (38-39). Enfermedades que conducen con el tiempo a una

**Figura 5. Diagrama de flujo de trabajo secuencial para el procedimiento tradicional (rosado) y los procedimientos integrados (azul). El proceso integrado supera la necesidad de varios de los pasos iniciales que se encuentran en el proceso tradicional (fraccionamiento guiado por bioensayos, purificación, degradación de Edman y/o secuenciación MS/MS) y por lo tanto, reduce la cantidad de tiempo requerido. También aumenta enormemente el alcance del descubrimiento debido al número de secuencias y los datos proteómicos producidos. Además, el enfoque integrado requiere una cantidad mucho más pequeña de material y por lo tanto presenta varias ventajas sobre el enfoque tradicional (12). Editada por autor**



incapacidad progresiva y que afectan a millones de seres humanos. Se ha observado que diferentes canales iónicos en las neuronas como algunos de sodio y potasio tienen efectos directos en los padecimientos neurodegenerativos dependiendo de las expresiones y anomalías en sus funciones (40-41). Por otro lado, las toxinas aisladas de los caracoles presentan afinidad por diferentes canales iónicos de los cuales algunos se relacionan directamente con el desarrollo de estas enfermedades. Las conotoxinas que pueden presentar dicha interacción principalmente son: srXIA, srIA,  $\alpha$ D-cap,  $\alpha$ D-mus, CalTx, SIIIa, SIIIB, entre otros. De ahí que la investigación con esta interacción puede conducir al impedimento en la destrucción de los canales iónicos y como tal con la disminución del proceso neurodegenerativo (40-42).

Finalmente, a pesar de los potenciales efectos analgésicos de los conopeptidos aislados de moluscos gasterópodos que ya han sido comprobados en pruebas farmacológicas, solo un pequeño número de conopeptidos ha sido caracterizado detalladamente en la actualidad. No obstante las mejoras en los campos de estudio: proteómica y transcrip-tómica y el desarrollo en técnicas instrumentales de MS/MS, han acelerado los estudios de descubrimiento y caracterización de conopeptidos, lo que favorece la esperanza en pacientes con fuertes dolores que les impide llevar una vida tranquila. Por tanto, es importante favorecer las investigaciones en esta área así como asegurar la protección de las diferentes especies marinas que son investigadas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Grimmer-Somers K, Vipond N, Kumar S, Hall G. A review and critique of assessment instruments for patients with persistent pain. *Journal of Pain Research*. 2009; 2:21-47.
2. Girard JR, Aldrete J. Consideraciones sobre la palabra algología. *Revista Dolor, Clínica y Terapia* 2008; 8.
3. Frey-Law LA, Lee JE, Wittry AM, Melyon M. Pain rating schema: three distinct subgroups of individuals emerge when rating mild, moderate, and severe pain. *Journal of Pain Research*. 2014; 7:13-23.
4. Eustice C. fibromyalgia vs. rheumatoid arthritis pain-what factors determine treatment? Some patients have both conditions. *Arthritis & Joint Conditions Expert*; 2014.
5. Katz N, Paillard FC, Van Inwegen R. A Review of the Use of the Number Needed to Treat to Evaluate the Efficacy of Analgesics. *The Journal of Pain* 2015; 16(2):116-23.
6. Sammour RN, Ohel G, Cohen GM, Gonen R. Oral naproxen versus oral tramadol for analgesia after cesarean delivery. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*. 2011; 113:144-7.
7. Malm H. Borisch C. Analgesics, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), muscle relaxants, and antiepileptic medications. *Drugs During Pregnancy and Lactation (Third Edition)*. 2015; 27-58.
8. Piazuelo E, Lanás A. NSAIDs and gastrointestinal cancer. *Prostaglandins & other Lipid Mediators*. Article in press; 2015.
9. Ficha Técnica del Naproxeno. [Citado 15 may 2015]. Disponible: <https://botplusweb.portalfarma.com/Documentos/FICHAS%20TECNICAS%20POR%20LABORATORIOS%20PDF/Dexter%20Farmaceutica/f6341%20FT%20Naproxeno%20Dexter%20500%20sobres.PDF>
10. Ficha Técnica de Paracetamol. [Citado 15 may 2015]. Disponible: [http://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/57652/P\\_57652.pdf](http://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/57652/P_57652.pdf)

11. Lu Y, Hu J, Dong C. Morphine may enhance the cardioprotection induced by remote ischemic preconditioning. *International Journal of Cardiology*. 2015; 187(6):443-4.
12. Prashanth JR, Lewis RJ, Dutertre S. Towards an integrated venomics approach for accelerated conopeptide discovery. *Toxicon*. 2012; 60:470-7.
13. Hu Y, Chen J, Hu G, Yu J, Zh X, Lin Y. Statistical research on the bioactivity of new marine natural products discovered during the 28 years from 1985 to 2012. *Marine drugs*. 2015; 13:202-21.
14. Cragg GM, Newman DJ. Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2013; 1830: 3670-95.
15. Costantini M. An overview on genome organization of marine organisms. *Marine Genomics*. Article in press; 2015.
16. Padilla DK, Savedo MM, Chapter Two – a systematic review of phenotypic plasticity in marine invertebrate and plant systems. *Advances in Marine Biology*. 2013; 65:67-94.
17. Dutertre S, Lewis RJ, Cone Snail Biology, Bio-prospecting and Conservation, Snails: Biology, Ecology and Conservation. Nova Science. New York: Publishers; 2012.
18. Brusca RC, Brusca JR. *Invertebrates*. 2da ed. Sinauer Associates, Inc., E.U.A; 2002.
19. Zamorano P, Michel E. Moluscos de aguas profundas del sur del golfo de California. *Rev. Mex. Biodiv*. 2007; 78(2):311-8.
20. Bermúdez JA. Animales invertebrados. Los artrópodos. Disponible: <https://proyectoeducere.wordpress.com/category/recursos-educativos/conocimiento-del-medio/los-seres-vivos/los-animales/animales-invertebrados/>. 2015.
21. Gofas S, Moreno D, Salas C. *Moluscos Marinos de Andalucía (Vol. I y II)*. Universidad de Málaga. Junta de Andalucía. (1ª ed); 2011.
22. Quiñonero-Salgado S, López Alabau A, García Meseguer AJ. Nuevas localidades de *Helix lucorum* (Linnaeus, 1758) para la península Ibérica. *Spira*. 2010; 3(3-4):193-5.
23. Hannon H, Atchison W. Omega-conotoxins as experimental tools and therapeutics in pain management. *Mar. Drugs*. 2013; 11:680-99.
24. Favreau P, Stöcklin R. Marine snail venoms: use and trends in receptor and channel neuropharmacology. *Current Opinion in Pharmacology*. 2009; 9:594-601.
25. Hu H, Bandyopadhyay P, Olivera B, Yandell M. Characterization of the *Conus bullatus* genome and its venom-duct transcriptome. *BMC Genomics*, 2011; 12(60).
26. Jakubowski JA, Kelley WP, Sweedler JV, Gilly WF, Schulz JR. Intraspecific variation of venom injected by fish-hunting *Conus* snails. *Journal of Experimental Biology*. 2005; 208:2873-83.
27. Jones A, Bingham JP, Gehrman J, Bond T, Loughnan M, Atkins A, et al. Isolation and characterization of conopeptides by high performance liquid chromatography combined with mass spectrometry and tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 1996; 10:138-43.
28. Kaas Q, Westermann JC, Halai R, Wang CKL, Craik DJ. ConoServer, a database for conopeptide sequences and structures. *Bioinformatics*. 2008; 24:445-6.
29. Lewis RJ, Dutertre S, Vetter I, McDonald CJ. *Conus* venom peptide pharmacology. *Pharmacological Reviews*. 2012; 64:259-98.

30. Lewis RJ, Garcia ML. Therapeutic potential of venom peptides. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2003; 2:790-802.
31. Hillyard DR, Monje VD, Mintz IM, Bean BP, Nadasdi L, Ramachandran J, et al. A new Conus peptide ligand for mammalian presynaptic Ca<sup>2+</sup> channels. *Neuron*. 1992; 9:69-77.
32. Martínez AP, Ardila HD. Del genoma a la era Post-Genómica. *Química e industria*. 2015; 27(1):06-13.
33. Davis J, Jones A, Lewis RJ. Remarkable inter- and intra-species complexity of conotoxins revealed by LC/MS. *Peptides*. 2009; 30: 1222-7.
34. Calvete J. Snake venomomics: From the inventory of toxins to biology. *Toxicon* 2013; 75:44-62.
35. Rincón Silva NG, Carazzone C, Rincón Silva JD. Envenenamiento por mordeduras de serpientes: Impacto general en Colombia y en el mundo. *Química e industria*. 2015; 27(5): 32-7.
36. Biggs JS, Olivera BM, Kantor YI.  $\alpha$ -Conopeptides specifically expressed in the salivary gland of *Conus pulicarius*. *Toxicon*. 2008; 52:101-05.
37. Terrat Y, Biass D, Dutertre SB, Favreau P, Remm M, Stöcklin R, et al. High-resolution picture of a venom gland transcriptome: case study with the marine snail *Conus consors*. *Toxicon*. 2012; 59:34-46.
38. Alonso D, Khalil Z, Satkunanathan N, Livett BG. Drugs from the sea: conotoxins as drug leads for neuropathic pain and other neurological conditions. *Mini Rev. Med. Chem*. 2003; 3:785-7.
39. Martínez Hernández L, López Vera E, Aguilar Ramírez MB. El veneno de los caracoles marinos y su paradójico uso médico. *Revista Digital Universitaria UNAM*. 2014; 15(11):100-12.
40. What is Neurodegenerative Disease? *JPND Neurodegenerative Disease Research*; 2015. <http://www.neurodegenerationresearch.eu/about/what/>.
41. Bingham JP, Mitsunaga E, Bergeron Z. Drugs from slugs-past, present and future perspectives of  $\omega$ -conotoxin research. *Chem. Biol. Interact*. 2010; 183:1-18.
42. Brand-Schieber E, Werner P. Calcium channel blockers ameliorate disease in a mouse model of multiple sclerosis. *Exp. Neurological*. 2004; 189:5-9.