



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

**Venenos que sanan: Venenos y toxinas en
farmacología y terapéutica**

Autor: Gonzalo Raguán Yáñez

Fecha: Julio 2020

Tutor: Luis García García

ÍNDICE

RESUMEN:	3
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES:	4
<i>Enfermedades neurodegenerativas:</i>	5
<i>Enfermedad de Alzheimer (EA):</i>	6
<i>Enfermedad de Parkinson (EP):</i>	7
<i>Cáncer:</i>	9
OBJETIVOS	10
METODOLOGÍA	10
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
<i>Veneno de <i>Phoneutria nigriventer</i></i>	10
• <i>PhTx3-1</i>	11
• <i>PhTx4-5-5</i>	11
• <i>PhTx3-3 y PhTx3-4</i>	12
<i>Veneno de <i>Apis mellifera</i></i>	12
• <i>Melitina</i>	13
• <i>Apamina</i>	14
<i>Veneno de <i>Leiurus quinquestriatus</i></i>	16
CONCLUSIÓN	19
BIBLIOGRAFÍA	19

RESUMEN:

Un veneno es una sustancia que, introducida en un ser vivo, es capaz de producir graves alteraciones funcionales, incluso causar la muerte. Una toxina, en cambio, es un veneno producido por un organismo vivo cuyo mecanismo de acción, produce efectos adversos directos e indirectos. Las toxinas, al provenir de animales y vegetales, suponen un rico arsenal terapéutico de péptidos y proteínas no solo para dilucidar procesos fisiológicos, sino también para el desarrollo de nuevos fármacos y terapias clínicas.

Es cierto que, con la mejora tecnológica y social de los últimos años, la esperanza de vida ha aumentado considerablemente; sin embargo, estos años están marcados por un declive de la capacidad física y mental, demencia, acompañado de una degeneración neuronal progresiva y fallos multiorgánicos. Por otro lado, debido en parte a la exposición de tóxicos ambientales y al incremento de la esperanza de vida se han incrementado las patologías de tipo tumoral. Desgraciadamente, los fármacos actuales no tienen las propiedades terapéuticas suficientes, obstaculizando así un tratamiento efectivo de la enfermedad. De aquí, la importancia de investigar nuevas moléculas para combatir estos problemas, mejorar la calidad de vida de los pacientes y eventualmente curar la enfermedad. Entre estas nuevas moléculas destaca el potencial uso de venenos de abeja y artrópodos para su uso en farmacología y terapéutica.

Los componentes de estos venenos son fuentes irrefutables que han demostrado su capacidad de neuroprotección y neuromodulación. En este sentido, este trabajo está encaminado a la búsqueda de posibles nuevas moléculas para las enfermedades neurodegenerativas de mayor prevalencia en países desarrollados como la enfermedad de Alzheimer o la enfermedad de Parkinson, así como para enfermedades de origen tumoral.

Palabras clave: Enfermedades neurodegenerativas, deterioro cognitivo, toxina, enfermedad tumoral.

ABSTRACT:

A poison is a substance that, once introduced in a living being, is able to produce serious functional alterations, even death. A toxin however, is a poison produced by a living being, that by its mode of action produces adverse side effects, both direct and indirect. Thanks to their animal and vegetal origin, toxins become a therapeutically stockpile of proteins and peptides, not only to clear up physiological processes but also for drugs and clinical therapies development.

It is acknowledged that the technological and social progress from the past years, life expectancy has considerably increased; nonetheless, in those final years people experience a substantial decline in their physical and mental capacity, dementia, progressive neuronal degeneration and multiple organ failure. Moreover, due to both environmental toxics and the increase in life expectancy, tumor-like pathologies have also boosted. Sadly, current drugs do not have enough therapeutic properties, hindering the continuous treatment of the disease.

This is why research in new molecules is key in order to solve these problems and improve the quality of life from those patients, and that would even eventually heal them. Among these molecules, the potential use of bee and arthropods poisons must be highlighted within the pharmacology and therapeutic industries.

The components of these poisons are undeniable sources that have proven their capacity for neuroprotection and neuromodulation. In this sense, the goal of this paper is to look for potential new molecules for neurodegenerative diseases that have more prevalence in developed countries like Alzheimer's, Parkinson's or tumor compatible diseases.

Key words: neurodegenerative disorder, cognitive impairment, toxin, tumor disease.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES:

Ya desde la prehistoria se han venido utilizando los venenos de forma ambivalente: con fines positivos como la caza, y con fines negativos como actos criminales. La primera constancia del uso de estas sustancias data del año 1500 a.C. Se documentó en el Papiro de Ebers, que es un tratado médico redactado en el antiguo Egipto, donde se recogen una miscelánea de tratamientos, entre los que destaca precisamente, el uso de toxinas de plantas y animales, aún vigentes (1).

Posteriormente, ya en Grecia y Roma, mejora el conocimiento sobre los venenos y evoluciona su uso; cubriendo también el control de enfermedades. De hecho, aparece la imagen del "envenenador oficial", siendo estos los expertos del tema (2).

Entre los usos de las toxinas como potencial terapéutico destaca dentro de la medicina tradicional China, la apiterapia, con un uso medicinal de los productos de las abejas. El método más utilizado es la acupuntura de veneno de abeja (AVA), que implica la inyección del veneno de abeja diluido, útil para enfermedades inflamatorias y patologías neuronales con componente inflamatorio, aliviando los síntomas como tratamiento adyuvante.

El avance en los últimos años es más evidente gracias a la mejora en los campos de la proteómica, transcriptómica y genómica, y a las nuevas técnicas de detección de alto rendimiento, que han beneficiado entre otros, a los fármacos basados en venenos (3).

En la **Tabla 1** se resumen los fármacos que provienen de venenos animales ya comercializados. Estos fármacos son sintetizados gracias a las técnicas de alta resolución surgidas recientemente.

La diversidad de moléculas con actividad biológica es amplia en el caso de venenos de abeja y artrópodos, tal como muestran los numerosos estudios científicos realizados hasta la fecha. Estos pueden servir como herramientas útiles en el estudio normal y patológico de las células del Sistema Nervioso Central (SNC), además de servir para la síntesis de nuevas moléculas.

La bioprospección de estos componentes es vital para posibles futuros tratamientos, ya que los actuales sólo proporcionan un alivio sintomático sin prestar atención a la

incidencia de nuevos casos o a los efectos graves que se generan en la estructura cerebral.

Fármaco	Especie de origen	Aplicación terapéutica	Referencia
Captopril	<i>Bothrops jacaraca</i>	Antihipertensivo	(4)
Exenatida	<i>Heloderma suspectum</i>	Antidiabético	(4)
Ziconotida	<i>Conus magus</i>	Analgésico	(4)
Eptifibatida	<i>Sistrurus miliarius barbouri</i>	Antiplaquetario	(4)

Tabla 1. Fármacos actualmente comercializados procedentes de venenos de origen animal.

Enfermedades neurodegenerativas:

Estas constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades de incesante progresión donde la edad es uno de los principales factores de riesgo. Son frecuentemente estigmatizadas, se caracterizan por la degeneración y muerte neuronal como consecuencia del acúmulo de proteínas anormales en el interior del SNC, además de excitotoxicidad glutamatérgica, incremento de especies reactivas de oxígeno (ROS), neuroinflamación y apoptosis. Desgraciadamente, su etiología es todavía desconocida. Existe una sintomatología clara, deterioro cognitivo, acompañado de trastorno de la personalidad y problemas motores (5,6)

Uno de los procesos más dañinos en las enfermedades neurodegenerativas es el papel del glutamato, neurotransmisor excitatorio del SNC. Su activación y liberación excesiva es de hecho la causa principal de lesiones excitotóxicas, que desencadenan una muerte neuronal masiva en estadios avanzados de la enfermedad. La liberación excesiva de glutamato, genera un flujo masivo de iones, especialmente de calcio (Ca^{2+}). La entrada de calcio a través del receptor NMDA al interior de la célula genera una alteración de la membrana de la mitocondria por absorción excesiva de calcio, alterando la homeostasis celular. Dicha alteración provoca que la matriz de la mitocondria se hinche, provocando la rotura de la membrana con la consecuente liberación de proteínas al citosol, iniciándose el proceso de apoptosis. Del mismo modo, al alterar la cadena respiratoria de electrones propia de la mitocondria, se generan especies reactivas de oxígeno (ROS). El estrés oxidativo puede promover además, daños estructurales en el material genético (ADN), membrana celular y en la estructura y pliegue de las proteínas. Se demuestra que el aumento de ROS, aumenta la patogénesis de las enfermedades neurodegenerativas de forma proporcional (7).

Entre las enfermedades neurodegenerativas principales, destacan la enfermedad de Alzheimer (EA) con 15.201 muertes y la enfermedad de Parkinson (EP) con 4.558 muertes en el año 2017 en España (8). Estos resultados revelan la elevada mortalidad de las mismas en países desarrollados. A nivel mundial, en el año 2018 se contabilizaron sólo de enfermedad de Alzheimer unos 50 millones de casos estimándose para 2030 que haya más de 82 millones y un total de 152 millones para el año 2050 (9).

Enfermedad de Alzheimer (EA):

La EA es el tipo de demencia más común, con una prevalencia elevada que va en aumento en todo el mundo, debido a que se trata de una enfermedad dependiente de la edad. Su sintomatología consta de una fase amnésica, seguido de demencia con deterioro físico y vegetativo. Existen dos marcadores neuropatológicos principales: las placas neuríticas y los ovillos neurofibrilares (ONF).

Las placas neuríticas se forman en los depósitos extracelulares y están compuestas de proteína β -amiloide. El β -amiloide se genera por una escisión anómala de la proteína precursora de amiloide (APP). Cuando la APP es escindida por la α -secretasa, el producto resultante en la vía normal es un péptido soluble, eliminado fácilmente por el organismo. Sin embargo, en la EA predomina la escisión consecutiva por parte de la β -secretasa que genera productos insolubles que las neuronas excretan al exterior. A continuación, las células de la glía intentan su eliminación, generando un proceso inflamatorio que contribuye a la degeneración neuronal, alterando la plasticidad sináptica y la función de los canales iónicos, como pueden ser los canales de potasio (K^+). Los ONF, corresponden a lesiones de la citoarquitectura intracelular neuronal por hiperfosforilación de la proteína Tau.

Además, una de las partes más dañadas a nivel del SNC es el hipocampo, región que tiene estrecha relación con la memoria y la orientación, principales síntomas de la enfermedad. En el hipocampo predominan circuitos mediados por la acetilcolina, siendo éste uno de los principales neurotransmisores afectados (10,11).

Existe también daño en orgánulos de la célula como la mitocondria que afecta a la cadena transportadora de electrones, excitotoxicidad glutamatérgica o la inducción de procesos apoptóticos y producción de radicales libres que producen la neuroinflamación característica (7).

Con respecto al tratamiento actualmente disponible, es exclusivamente de carácter sintomático. Destacan los inhibidores de acetilcolinesterasa (donepezilo, galantamina y rivastigmina), que inhiben la enzima que se encarga de degradar la acetilcolina en la sinapsis, frenando la metabolización del neurotransmisor acetilcolina. De esta forma se consigue aumentar la concentración cerebral de este neurotransmisor, cuyos niveles se encuentran reducidos en la EA. Estos mejoran la transmisión colinérgica mejorando la memoria y frenando el deterioro cognitivo. Por otra parte, los antagonistas del receptor NMDA, como la memantina, sirven en el tratamiento en la enfermedad, ante una liberación excesiva de glutamato actuando sobre dicho receptor (3).

Enfermedad de Parkinson (EP):

La EP, es una patología progresiva, neurodegenerativa que como la EA, que afecta al SNC. En este caso afecta principalmente a los ganglios basales, y al igual que las enfermedades neurodegenerativas su prevalencia va en aumento con la edad.

Se caracteriza por una alteración de la vía nigroestriatal dopaminérgica, que conduce a una deficiencia de dopamina afectando primariamente a la actividad motora y causando la sintomatología típica de la enfermedad: bradicinesia, rigidez y temblor postural. A nivel citohistoquímico, cabe destacar también la presencia de cuerpos de inclusión eosinófilos en el citoplasma neuronal, llamados cuerpos de Lewy, con α -sinucleína como componente principal. Dicha agregación y plegamiento anormal de esta proteína contribuye al estrés oxidativo acompañado de neuroinflamación por activación microglial induciendo la neurodegeneración dopaminérgica subyacente a la patogénesis de la EP. En general no se conoce la causa (que podría ser debida a factores ambientales desconocidos), aunque en ciertos casos es hereditaria (mutaciones en α -sinucleína y parkina), lo que genera un plegamiento y acumulación intracelular de α -sinucleína (3).

Ha sido demostrado que la liberación de sustancias proinflamatorias como las citoquinas activadas por los astrocitos y microglía activada empeoran la neurodegeneración.

El tratamiento actual principalmente está enfocado a estimular la actividad dopaminérgica central, bien mediante la administración de levodopa (habitualmente asociada a inhibidores de la dopa descarboxilasa periférica o de la catecol-O-metil transferasa) o con fármacos agonistas dopaminérgicos o inhibidores de la metabolización de dopamina. El tratamiento, por tanto, está centrado en mejorar los síntomas motores, restaurando la vía nigroestriatal. Sin embargo, el tratamiento a largo plazo de la L-dopa pierde eficacia y además, se acompaña de importantes efectos adversos tales como trastornos posturales que reducen la calidad de vida de los pacientes (12).

De la misma forma que en la EA, los tratamientos se basan exclusivamente en aliviar la sintomatología sin hacer frente a la degeneración neuronal e inflamación que producen, de aquí que surja la necesidad urgente de aprovechar la diversidad de moléculas que podemos sintetizar a partir de los venenos; destacando los venenos de *Apis mellifera* y *Phoneutria nigriventer*.

Los mecanismos de neuroprotección de *Phoneutria nigriventer* y de *Apis mellifera* se muestran esquematizados en las **Figuras 1 y 2**, respectivamente (13).

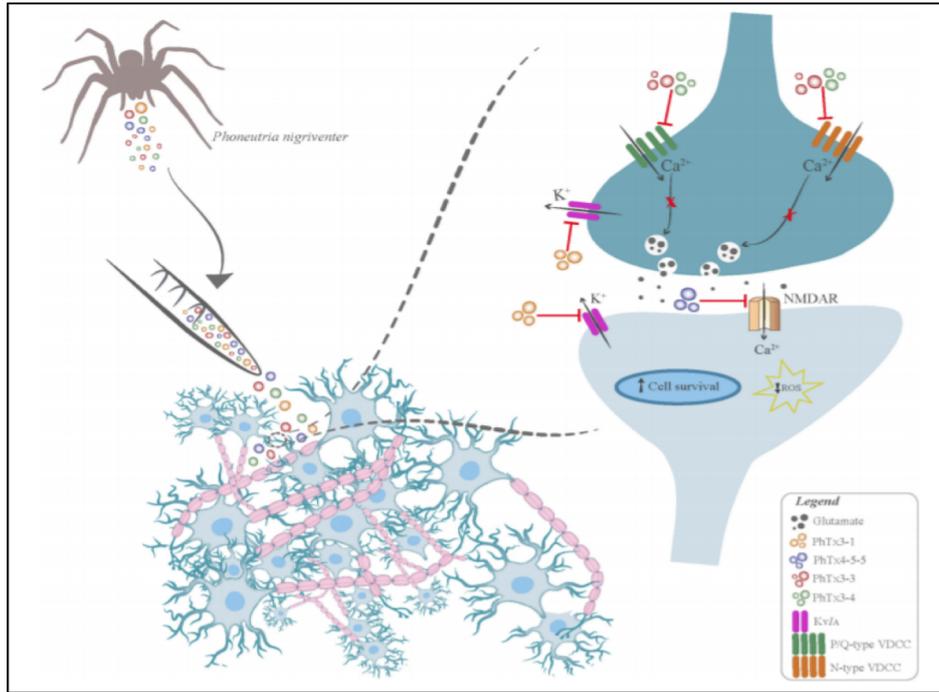


Figura 1. Principales mecanismos de neuroprotección de *Phoneutria nigriventer*

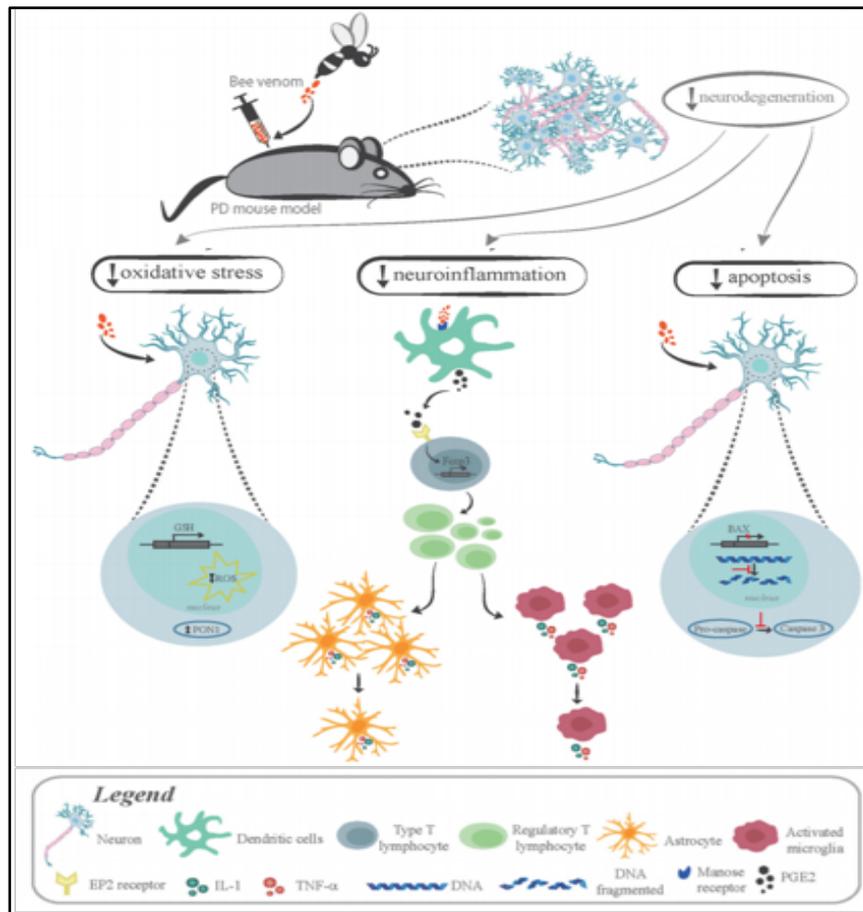


Figura 2. Principales mecanismos de neuroprotección de *Apis mellifera*.

Cáncer:

El cáncer constituye una de las principales causas de morbi-mortalidad en el mundo, con una incidencia de alrededor de 18 millones de casos en todo el mundo en el 2018; y, que los pronósticos actuales, se estima será de 30 millones en el año 2040. La necesidad de buscar nuevas dianas y tratamientos eficaces contra la patología es por tanto evidente (15).

En particular y en relación a los tumores que afectan al SNC, cabe destacar el glioma, que se desencadena en el cerebro a partir de las células gliales que rodean las neuronas y constituye la segunda causa de muerte por cáncer en personas con menos de 35 años. Se trata de un tumor maligno, con multiplicación rápida asociada a metástasis y que genera daños inmediatos a nivel cerebral difíciles de delimitar. Entre sus características, se incluye un proceso de hipoxia desencadenado por la falta de oxígeno en las células. Además, se caracteriza por el proceso de angiogénesis, proceso patológico de formación de nuevos vasos para la nutrición del tumor. El cáncer comienza con un pequeño tumor avascular, que secreta estímulos angiogénicos como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), de manera que se van a activar proteasas que destruyen la estructura celular.

Destaca a nivel tumoral los canales de cloruro dependiente de voltaje (CIC) y una familia de enzimas llamada metaloproteasas de matriz (MMP), capaces de destruir proteínas en la matriz extracelular. Las proteasas activadas destruyen las estructuras celulares, proliferan y se organizan en nuevas redes vasculares que dan lugar a un tumor vascularizado. Se encuentran sobreexpresados en tumores humanos, siendo los principales contribuyentes al proceso de invasión a través de vías de interconexión del propio cerebro (14, 15).

Con respecto al tratamiento, se trata de un tratamiento combinado entre radioterapia y quimioterapia acompañado de cirugía para una extracción óptima del tumor. De igual manera, el veneno de *Leiurus quinquestriatus* ha sido el primer ejemplo exitoso como medida antitumoral. El proceso de inhibición tumoral de *Leiurus quinquestriatus* está esquematizado en la **figura 3**.

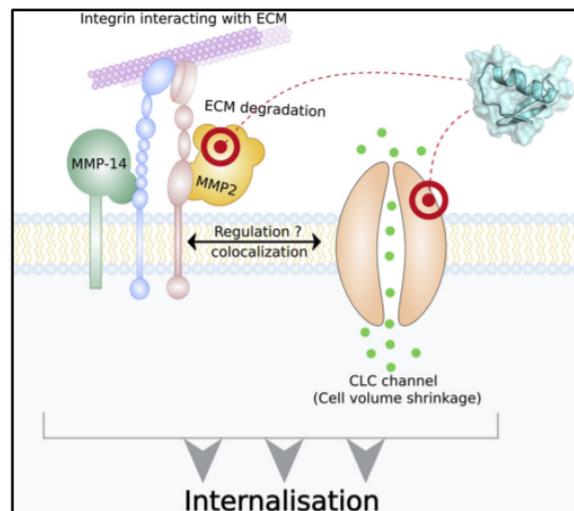


Figura 3. Mecanismo de inhibición de *Leiurus quinquestriatus*.

OBJETIVOS

Debido a limitaciones en extensión para la realización del TFG y considerando la importancia sociosanitaria de las enfermedades neurodegenerativas y del cáncer en países desarrollados como España, el objetivo del presente trabajo fue llevar a cabo una revisión bibliográfica sobre el potencial uso de las toxinas, en particular las animales y análogos sintéticos de éstas, como agentes anti-cáncer y en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas

El trabajo comienza con una breve explicación del posible mecanismo de acción de las diferentes neurotoxinas, continuando con una explicación de evidencias científicas halladas en diferentes estudios, destacando aspectos que se relacionan con la eficacia, tolerabilidad y sobre todo, seguridad de las mismas. Además, se trata de una revisión en la que se contrasta la acción fisiológica de las toxinas frente a su posible aplicación terapéutica.

Por consiguiente, se analizará si las diferentes toxinas son adecuadas en las patologías prevalentes anteriormente citadas y la importancia de buscar nuevos métodos de tratamiento.

METODOLOGÍA

Para la realización del presente TFG, se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica exhaustiva obteniendo la información necesaria a partir de libros de texto en papel de la biblioteca de la Facultad de Farmacia, combinada con fuentes oficiales y artículos científicos encontrados en Internet.

En particular, las principales fuentes oficiales utilizadas han sido la Organización Mundial de la Salud (OMS), PubMed, Scientific Electronic Library Online (SciELO), la biblioteca Cochrane y el Instituto Nacional de Estadística para tomar datos de las enfermedades más prevalentes en España; así como información de estudios clínicos realizados en animales de experimentación y del Instituto de Investigación Biomédica de Barcelona (IRB).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Veneno de *Phoneutria nigriventer*

El veneno de la araña brasileña *Phoneutria nigriventer* es una fuente de péptidos biológicamente activos muy interesantes desde el punto de vista farmacológico. Se ha demostrado que la mezcla de toxinas que presenta, altera la función de los canales iónicos, disminuye la muerte de células neuronales y mejora significativamente las alteraciones de la neurotransmisión a diferencia de los tratamientos que existen en la actualidad.

Está compuesto por iones inorgánicos, aminoácidos, aminas biogénicas, neurotransmisores y toxinas proteicas más grandes, siendo hasta ahora, sus dianas principales los canales de K^+ , Ca^{2+} y Na^+ . Se ha estudiado el veneno del arácnido hasta obtener el aislamiento de diferentes fracciones que contienen varios tipos de toxinas, siendo las más importantes las que se mencionan a continuación.

- *PhTx3-1*

La toxina PhTx3-1 (**figura 1**), se ha podido sintetizar a través del sistema de expresión de proteínas recombinantes. Esta es una técnica que permite obtener grandes cantidades de proteínas con características homólogas a las nativas, que puede servir para generar versiones mutadas del péptido nativo y mejorar cualquier aspecto negativo para la salud.

La PhTx3-1 actúa como bloqueador selectivo de un amplio espectro de canales de potasio. Las corrientes de potasio juegan un papel de control en la excitación neuronal regulando la forma y duración del potencial de acción. Estas, regulan el potencial excitatorio postsináptico, modulando así la plasticidad sináptica. Todo esto demuestra su importancia en la correcta regulación en enfermedades neurodegenerativas como la EA.

Se ha demostrado que, en un modelo animal consistente en ratones con sintomatología típica de EA, inyectados con PhTx3-1, mejora la memoria a corto y largo plazo en el reconocimiento de objetos conocidos sin ningún efecto adverso considerable. Para simular la enfermedad, se les inyectaron, mediante administración intracerebroventricular (i.c.v.), agregados del péptido β -amiloide. Concretamente el fragmento β (25-35) que ha demostrado actividad neurotóxica, simulando los efectos producidos por la EA. La mejora de los déficits de memoria se puede atribuir a la inhibición selectiva de corrientes transitorias de potasio hacia el exterior, a nivel cortical y del hipocampo, favoreciendo de dicha manera la excitabilidad neuronal.

La toxina PhTx3-1 no muestra analogía en su secuencia de aminoácidos comparando con otros bloqueantes de canales de K^+ , lo que podría explicar el patrón selectivo de la toxina por las corrientes de K^+ y, por lo tanto, un posible mejor perfil terapéutico en comparación con el bloqueante no selectivo de canales de Kv como la 4-aminopiridina (4-AP). La potencia demostrada de la toxina en condiciones similares a la EA la convierte en un prototipo potencial para terapias más efectivas en el deterioro cognitivo relacionado con la enfermedad (16).

- *PhTx4-5-5*

La toxina de *Phoneutria nigriventer*, PhTx4-5-5 (**figura 1**), muestra un grado de neuroprotección frente a las proteínas de β -amiloide acumuladas en la EA y frente a la excitotoxicidad del glutamato mediante el bloqueo del receptor NMDA de glutamato en el área corticoestriatal de los ratones. Al bloquear el receptor NMDA, impide la entrada de calcio al interior celular, imposibilitando la alteración mitocondrial; y, por tanto, reduce la aparición de ROS y la apoptosis celular. Todo ello contribuye a un aumento de la supervivencia celular y a una mejora de la EA.

Así, en la medida que esta toxina combate algunos efectos adversos originados por el glutamato, común en diferentes patologías neurodegenerativas, podría ser una opción válida de tratamiento para todas ellas (y no solo para la EA).

- *PhTx3-3 y PhTx3-4*

Otras de las toxinas aisladas son PhTx3-3 y PhTx3-4. Éstas bloquean los canales de calcio dependientes de voltaje de tipo N y P/Q (VDCC) inhibiendo su entrada, e impidiendo así la liberación de glutamato y evitando la excitotoxicidad. Por consiguiente, se ve reducida la formación de ROS y por tanto, la apoptosis y muerte neuronal (13,17).

Veneno de *Apis mellifera*

El veneno de *Apis mellifera*, se compone de una mezcla de compuestos de bajo y alto peso molecular. La **tabla 2** recoge la composición principal de la apitoxina:

Componentes	Veneno de <i>Apis Mellifera</i>	Referencia
Péptidos	Melitina	(20)
	Apamina	
Aminas biógenas	Histamina	(20)
	Dopamina	
	Adrenalina	
	Acetilcolina	
Enzimas	Fosfolipasa A ₂	(20)
	Hialuronidasa	

Tabla 2. Componentes principales de la apitoxina

El veneno de abeja (apitoxina) provoca, además de daño en el sitio de la inyección, reacciones locales y sistémicas, desencadenando lo que se conoce como “el síndrome de envenenamiento y reacciones de hipersensibilidad de tipo I”, en las que, a nivel fisiológico, activan la producción de IgE provocando la degranulación de mastocitos con el consiguiente vertido de histamina y otros agentes de la reacción anafiláctica y activando citocinas y sustancias proinflamatorias, que generan las características clásicas del veneno, entre otras.

Se ha demostrado a través de sus componentes principales su capacidad de reducción tanto del estrés oxidativo como de la neuroinflamación y de actuación anti-apoptótica. Destaca su aplicación para inhibir respuestas inflamatorias y nociceptivas (17, 18).

El veneno de abeja está compuesto principalmente por compuestos proteicos, aminas biógenas y una mezcla de enzimas. Destaca la presencia de polipéptidos como la melitina y apamina, así como enzimas (ej. hialuronidasa o la fosfolipasa A₂) constituyendo un 75% de la toxina, siendo éstos los mayores alérgenos del veneno.

- **Melitina**

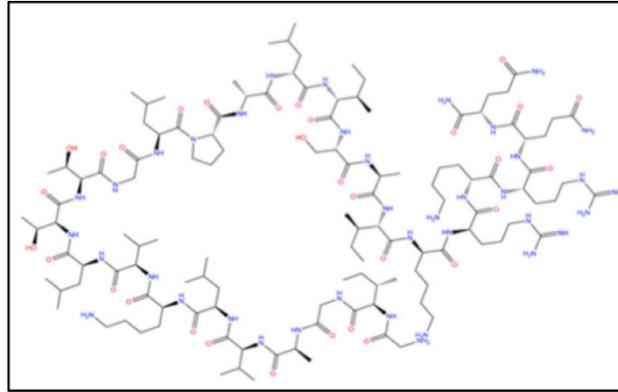


Figura 4. Estructura molecular de la melitina

La melitina (**figura 4**), péptido de 26 aminoácidos, presenta una parte N-terminal hidrofóbica y una parte C-terminal hidrofílica, por lo que se trata de una molécula anfifílica. Este péptido es el principal responsable de los efectos adversos del veneno a dosis altas. Sin embargo, a dosis bajas produce efectos antiinflamatorios a nivel central junto con otros componentes del veneno.

Entre las utilidades terapéuticas de la melitina, está la regulación de la producción de proteínas mal plegadas mediante la regulación de proteínas chaperonas. Estas se encargan del plegamiento correcto de proteínas de nueva síntesis. Gracias a esta regulación se alivia la modificación post transduccional de la α -sinucleína, impidiendo el acúmulo de la proteína característica de la EP, y evitando la degeneración neuronal precoz.

Cabe destacar su posible aplicación no solo para EP, sino también para la EA, que se caracteriza por trastornos conductuales debidos a una disminución de la acetilcolina, principal neurotransmisor de la enfermedad. Tal como se ha mencionado en la introducción, actualmente la estrategia más utilizada para reducir la sintomatología de la EA consiste por tanto en aumentar la concentración de dicho neurotransmisor mediante el uso de inhibidores de acetilcolinesterasa de acción central. La melitina se ha demostrado en diversos ensayos como un inhibidor competitivo de la acetilcolinesterasa, dado que no permite su eliminación, manteniendo los niveles de acetilcolina constantes y mejorando la sintomatología de la enfermedad (13, 18).

Además, la hialuronidasa cataliza la despolimerización del ácido hialurónico, que actúa como factor de difusión para expandir el veneno por los diferentes tejidos por degradación de los polímeros de ácido araquidónico, permitiendo una mejor diseminación por todo el organismo.

- Apamina

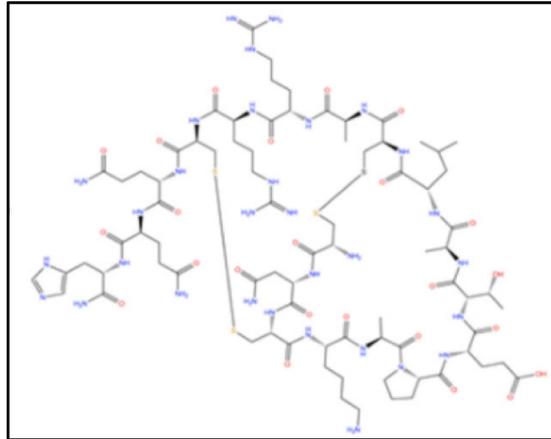


Figura 5. Estructura molecular de la apamina

Cabe destacar otro compuesto de la apitoxina, la apamina (**figura 5**), que se encuentra en un 2% dentro del veneno. Se compone de 18 aminoácidos, que por sus características químicas permite el paso a través de la BHE, centrándose aquí su actividad farmacológica. Por ello, después de varias modificaciones químicas, se ha obtenido un péptido lanzadera que es capaz de transportar fármacos a través de la barrera hematoencefálica para patologías neurodegenerativas tales como la EP.

La EP consiste en una degeneración de neuronas dopaminérgicas, cuyo tratamiento farmacológico actual de 1ª línea consiste en aumentar los niveles de dopamina a nivel central mediante la administración del aminoácido precursor levodopa. En ese sentido, la tirosina hidroxilasa resulta ser la enzima clave (regulando el paso limitante) dado que cataliza la conversión de L-tirosina en L-dihidroxifenilalanina (L-DOPA), fundamental para regular el metabolismo de la dopamina (3,17).

La síntesis de dopamina a nivel central se realiza por el siguiente proceso donde destaca el papel de la tirosina hidroxilasa y la DOPA descarboxilasa (**figura 6**).

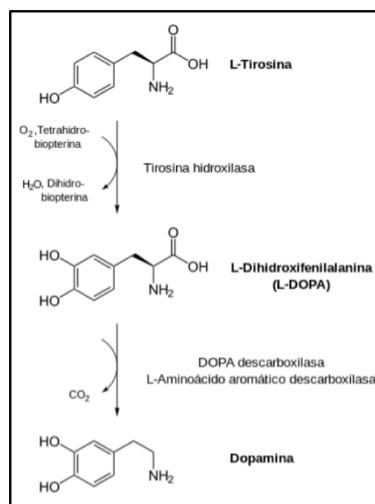


Figura 6. Ruta de síntesis de la dopamina

Uno de los ensayos realizados fue un modelo de ratón inducido con 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP). La administración de MPTP conlleva la destrucción de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra a nivel central, produciendo alteraciones típicas del comportamiento observadas en la enfermedad del Parkinson. Este ensayo demostró que gracias a la acupuntura de la apitoxina, el porcentaje de supervivencia de células que presentan la tirosina hidroxilasa mejoró en un 70% el día 1 y en un 78% el día 3 en comparación con ratones normales inducidos con EP (19).

Se demuestra además el efecto protector y antiinflamatorio de la apitoxina en modelos inducidos con EP. Dichos efectos se deben a un aumento de la concentración de células T regulatorias que ayudan a controlar la respuesta inmune de las células CD₄T. La apamina junto con otros componentes del veneno, como la fosfolipasa A₂, se une directamente con el receptor de manosa de las células dendríticas y en consecuencia se libera PGE₂, que promueve a su vez, a través de su receptor en las células T reguladoras, la expresión de Foxp₃. En consecuencia, se promueve la diferenciación de las células T reguladoras. Esto permite la supresión de la activación microglial y de los astrocitos, por disminución de los niveles de MAC-1 e iNOS, reducción de sustancias proinflamatorias como IL-1 o el TNF- α ; y, además, la reducción de infiltración de células que coordinan la respuesta inmunitaria, como una reducción de células CD₄T (**figura 2**).

Otro estudio realizado se basa en el uso de la rotenona, insecticida de origen vegetal cuya acción radica en el bloqueo de la cadena de electrones mitocondrial. Este bloqueo provoca estrés oxidativo y aumento de radicales libres, generando un modelo de parkinsonismo con alteraciones motoras en ratas. Es extremadamente lipófilo y atraviesa la BHE con facilidad. Dichos autores demostraron que la apitoxina tiene efectos antiinflamatorios, así como la capacidad de inhibir la apoptosis y el estrés oxidativo (**figura 2**).

- Su efecto antioxidante se debe a la capacidad de potenciar enzimas antioxidantes como la glutatión peroxidasa y PON-1 reduciendo la peroxidación de lípidos y evitando la formación de radicales libres (ROS).
- Su efecto antiapoptótico se debe a la disminución de la expresión del gen Bax, una sustancia pro-apoptótica que induce la desorganización de la membrana plasmática y ruptura endolítica del ADN. Asimismo, suprime la activación de la vía de las caspasas, mediador esencial del proceso de apoptosis. Concretamente inhibe la formación de la caspasa-3, por activación de la rotenona (3).

Todos estos efectos promueven una mejoría de los síntomas motores, equilibrio y progresión de la degeneración neuronal. Por consiguiente, se ha visto una mejora significativa en la Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS); una escala de estratificación usada para seguir el avance de la EP. Este efecto no se debe solo a la apamina, sino al conjunto de péptidos que forman la toxina.

Veneno de *Leiurus quinquestriatus*

Los venenos de escorpiones se consideran candidatos prometedores para la síntesis de fármacos en el tratamiento del cáncer.

El veneno de *Leiurus quinquestriatus* está formado por un conjunto de neurotoxinas de gran potencia, destacando la importancia de la clorotoxina (**figura 7**). Este es un péptido pequeño, formado por 36 aminoácidos, compacto y estable, gracias a la presencia de puentes disulfuro. Los polipéptidos bioactivos de los venenos de escorpión se unen selectivamente y modulan específicamente canales iónicos de membranas celulares, en este caso, la clorotoxina es un inhibidor de canales de cloro.

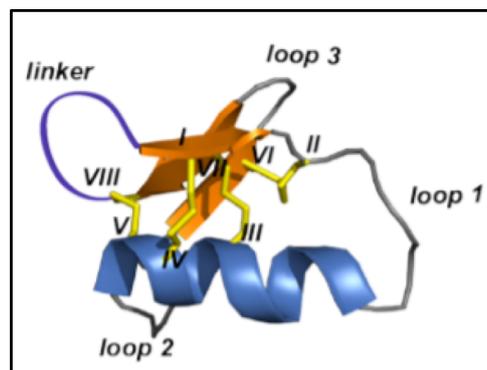


Figura 7. Estructura tridimensional de la clorotoxina.

La clorotoxina (CTX) presenta una alta selectividad por las células tumorales del cerebro debido a su capacidad de atravesar la BHE. Se han obtenido análogos más sencillos que la molécula original, pero manteniendo las propiedades iniciales. Uno de los análogos estudiados, el MiniCTX3 ha demostrado la capacidad de transporte de compuestos a través de la BHE. A este tipo de compuesto se les denomina BBB shuttle o péptidos lanzadera, debido a que son péptidos se unen a fármacos, permitiendo su llegada al SNC (21). Destaca cierta similitud con componentes del veneno de abeja, como la apamina, que también se usa como péptidos lanzadera tal como se ha indicado. En un estudio realizado en ratas con sintomatología típica de EP, se unió la CTX a la levodopa, encontrándose una mayor cantidad de dopamina en el cerebro, demostrando su actividad de péptido lanzadera y mejorando, además, los trastornos motores de EP.

Sumado a la capacidad de atravesar la BHE, se caracteriza también por ser un péptido de penetración celular (CPP). La función de estos péptidos es introducir la carga al interior celular mediante endocitosis a temperatura fisiológica, aunque en el caso de la CTX no se conoce con exactitud su mecanismo de internalización. Un ensayo realizado ha demostrado que alrededor del 60% de la CTX fue internalizada una hora después de su administración a una temperatura de 37°C; cuando se realizó el mismo ensayo modificando la temperatura a 4°C se comprobó una internalización del 10% a las 3 horas de la administración. De ambas características surge la necesidad de aprovechar la CTX como agente anti-cáncer (22).

La aplicación específica de la CTX se ha observado frente al glioma, uno de los tipos de cáncer cerebrales más letales. A pesar de la resección quirúrgica y posterior tratamiento combinado de radioterapia y quimioterapia el pronóstico de los pacientes con glioma es desfavorable.

En este sentido, la toxina actúa frente a varias dianas a la hora de combatir el proceso tumoral (23). La CTX presenta, gran afinidad de unión en biopsias tumorales a nivel central, sin embargo, es incapaz de unirse a tejidos normales del cerebro y otros órganos. Es por ello que se pretende utilizar la toxina como posible herramienta de diagnóstico y tratamiento oncológico no invasivo (22).

Tratamiento oncológico no invasivo

La actividad antitumoral de la clorotoxina se demostró por unión a un péptido marcado con ^{125}I (^{125}I -CTX), este péptido selectivo para el SNC, se acumula dentro de las células tumorales del glioma. La característica más importante, es su limitación para unirse a los astrocitos (un tipo de célula glial) con una función normal, siendo selectiva por los astrocitos en proceso tumoral (astrocitomas). Se recalca su afinidad debido a que la CTX mostró cierta selectividad por células tumorales ya que no ha mostrado eficacia frente a otras patologías neurológicas no tumorigénicas como la EA o EP.

A nivel de tratamiento, del mismo modo que la unión con ^{125}I , destaca su uso en radioterapia, marcando la CTX con yodo radioactivo (^{131}I), para producir la molécula ^{131}I -CTX. Esta molécula se ha utilizado como agente en radioterapia para controlar la progresión del tumor, así como para detectar su tamaño y localización. Tanto ^{125}I -CTX como ^{131}I -CTX tienen la capacidad de unirse específicamente a las células cerebrales tumorales, haciendo de este péptido un candidato prometedor en el tratamiento de radioterapia post quirúrgico. Se estudió en ensayos clínicos de fase I, sin ningún efecto adverso observable; fue bien tolerado y eliminado del organismo entre las 24-48 horas de su administración (22).

Asimismo, la CTX permite su uso en nanopartículas conjugadas con CTX en el tratamiento oncológico. Esta conjugación permite un sistema de soporte para cargar medicamentos como la doxorubicina o el cisplatino en el tratamiento quimioterápico dirigido o en terapia génica (25). El veneno de *Leiurus quinquestriatus* aumenta la biodisponibilidad de dichos fármacos mejorando su eficiencia y permitiendo un tratamiento óptimo. Recientemente se ha desarrollado una versión sintética de la clorotoxina llamada TM-601 que alcanzó la fase III en los ensayos clínicos.

A nivel tumoral existen varias dianas específicas sobre las que actúa la toxina. En primer lugar actúa sobre la capacidad angiogénica, donde la interacción entre las células y los componentes de la matriz extracelular juega un papel fundamental en la invasión de las células tumorales. La CTX, in vitro, inhibe la migración e invasión de células del glioma, inhibiendo así su diseminación. La CTX muestra capacidad de inhibir vasos, dependiendo de dosis, inducida por una serie de estímulos como pueden ser los factores de crecimiento (VEGF, IL-6 o TNF- α).

En segundo lugar, presenta 2 dianas moleculares principales: la metaloproteasa de matriz (MMP) y los canales de cloruro dependiente de voltaje (CIC), sobre-expresados en el glioma. Las células malignas de glioma se caracterizan por una migración activa a través del espacio extracelular del cerebro. Se excretan iones osmóticamente activos a través CIC, lo que lleva a la liberación de agua citoplasmática y posterior contracción celular y difusión. La familia de proteínas CIC está formada por 7 proteínas distintas (CIC-1 a CIC-7), destacando CIC-3 como principal contribuyente a la salida de iones cloruro e invasión de células de glioma (24).

De la misma forma, existen diferentes grupos de metaloproteasas de matriz: MMP-1, MMP-2, MMP-3 o MMP-9, estas no se encuentran en tejido cerebral normal. CIC-3 forma complejo con MMP-2 de forma específica, en la superficie de las células. El complejo proteico forma un invadopodio (**figura 8**), es decir, protuberancias celulares especializadas en la invasión tumoral. A medida que degrada la matriz extracelular, gracias a la MMP-2, se va creando nuevos puntos de adhesión y por consiguiente, se van destruyendo las uniones antiguas para permitir el avance de la célula. Es por ello que la presencia de invadopodios están asociados con altos niveles de proteólisis, contribuyendo al proceso de metástasis.

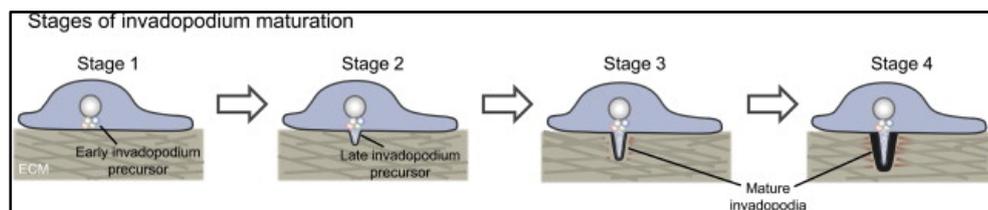


Figura 8. Fases de la maduración del invadopodio.

La CTX, ha mostrado capacidad de inhibición a 3 niveles en las vías de señalización tumoral. En primer lugar la inhibición de MMP-2 que limita la capacidad de la célula cancerosa para degradar las macromoléculas de la matriz extracelular, en segundo lugar, la inhibición de canales de CIC que tiene un efecto sobre la capacidad de contracción de la célula, y por último la inhibición del complejo CIC-3/MMP-2 de forma dependiente a la dosis administrada, reduciendo por endocitosis del complejo, la invasividad y expresión del glioma in vivo e in vitro (**figura 3**). Sin embargo, no tuvo efecto sobre los demás grupos de metaloproteasas de matriz ni demás familias de CIC (22, 25). El bloqueo farmacológico de CIC-3/MMP-2 no es suficiente para inhibir completamente la invasión de células de glioma. Por este motivo, una combinación de bloqueadores de CIC puede ser necesaria para el bloqueo completo del transporte de iones cloruro a través de la membrana celular del glioma (24, 25).

Herramienta de diagnóstico

Por último, otra de las aplicaciones de la CTX podría ser como técnica de diagnóstico. La toxina se puede conjugar con Cy5.5 (CTX: Cy5.5), colorante fluorescente que absorbe la luz en el espectro infrarrojo cercano y es compatible con imágenes intraoperatorias. Este conjugado es capaz de delinear las células tumorales de aquellas que no lo son, ya que permite, debido a su selectividad, la iluminación de la zona del tumor para una extracción óptima a nivel cerebral, especialmente relevante en tumores malignos, presentando una alta sensibilidad.

El compuesto CTX: Cy5.5 ha demostrado no ser tóxico a la concentración administrada y por lo tanto, es un agente terapéutico potencialmente seguro (22,27).

CONCLUSIÓN

Tanto el cáncer como las enfermedades neurodegenerativas suponen un alto impacto social y económico, por desgracia, los tratamientos actuales tienen un efecto ineficaz o un tratamiento que se centra en el alivio sintomático. Es vital la búsqueda de nuevas terapias basadas en la bioprospección de venenos, sin olvidar que el uso de venenos crudos implica también grandes desafíos, por lo que estos suponen un arma de doble filo.

Tras esta revisión queda demostrado el importante papel desempeñado por el veneno de *Apis mellifera* como terapia psiconeurológica para enfermedades neurodegenerativas, gracias a componentes bioactivos que son apamina y la melitina, que permiten aprovechar los mecanismos de acción patológicos para frenar y mejorar la enfermedad. Además, se demuestra que los fragmentos obtenidos de *Phoneutria nigriventer* bloquean canales iónicos y reducen problemas de excitotoxicidad relacionada con el glutamato, útil en el tratamiento de EA o EP. Asimismo, el veneno de *Leiurus quinquestriatus* ejerce efectos anticancerosos al interferir con CIC-3/MMP-2, principales reguladores de migración de células del glioma, además de servir como medida de diagnóstico o tratamiento adyuvante en radioterapia.

Para concluir, cabe destacar que a pesar de los intensos esfuerzos, el uso de componentes de veneno como agentes terapéuticos en clínica ha sido moderadamente exitoso. A pesar del efecto prometedor que presentan algunos componentes del veneno, se requieren más estudios preclínicos y clínicos para demostrar la eficacia y la seguridad de estos péptidos anticancerígenos y neuroprotectores.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gómez J. La Medicina Interna: situación actual y nuevos horizontes. Anales de Medicina Interna. junio de 2004;21(6):51-5.
2. Repetto M. Toxicología Fundamental. Ediciones Díaz de Santos; 1997. 430 p.
3. Silva J, Monge-Fuentes V, Gomes F, Lopes K, Anjos L, Campos G, et al. Pharmacological Alternatives for the Treatment of Neurodegenerative Disorders: Wasp and Bee Venoms and Their Components as New Neuroactive Tools. Toxins. 18 de agosto de 2015;7(8):3179-209.
4. Yang X, Wang Y, Wu C, Ling E-A. Animal Venom Peptides as a Treasure Trove for New Therapeutics Against Neurodegenerative Disorders. CMC. 16 de octubre de 2019;26(25):4749-74.

5. World Health Organization, editor. Neurological disorders: public health challenges. Geneva: World Health Organization; 2006. 218 p.
6. Lucila Finkel, Millán Arroyo Menéndez, Carmen Crespo Puras, Mario Garcés. Resumen ejecutivo: Estudio sobre las enfermedades neurodegenerativas en España y su impacto económico y social. febrero de 2016.
7. Zárata CB. El glutamato: de nutriente cerebral a neurotóxico. septiembre de 2005;6.
8. INE. Instituto Nacional de Estadística [Internet]. INE. [citado 28 de abril de 2020]. Disponible en: <https://www.ine.es/>
9. Christina Patterson. La investigación de vanguardia sobre la demencia: Nuevas fronteras. Alzheimer's Disease International (ADI), Londres. septiembre de 2018;48.
10. Lopera F. Enfermedad de Alzheimer. Perspectivas en nutrición humana. octubre de 2004;29-32.
11. Enfermedad de Alzheimer: parte 2 [Internet]. [citado 28 de abril de 2020]. Disponible en: <https://www.hipocampo.org/alzheimer-2.asp>
12. Nasrolahi A, Safari F, Farhoudi M, Khosravi A, Farajdokht F, Bastaminejad S, et al. Immune system and new avenues in Parkinson's disease research and treatment. Rev Neurosci. 23 de febrero de 2019;
13. de Souza JM, Goncalves BDC, Gomez MV, Vieira LB, Ribeiro FM. Animal Toxins as Therapeutic Tools to Treat Neurodegenerative Diseases. Front Pharmacol. 23 de febrero de 2018;9:145.
14. WHO cancer mortality database (IARC) [Internet]. [citado 22 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://www-dep.iarc.fr/WHOdb/WHOdb.htm>
15. Cifras del cáncer en España | SEOM - Día Mundial del Cáncer 2020 [Internet]. SEOM | Día Mundial del Cáncer 2020. [citado 22 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://seom.org/dmccancer/cifras-del-cancer/>
16. The selective A-type K⁺ current blocker Tx3-1 isolated from the Phoneutria nigriventer venom enhances memory of naive and A β ;25-35-treated mice | Elsevier Enhanced Reader [Internet]. [citado 28 de abril de 2020]. Disponible en: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0041010113003437?token=60704696225FD74941AF22CB2F9757F21180B9B4E12417DD4F6FB0F4F95FDF98DF102CC94431B68674D263DACABC6613>
17. Monge-Fuentes V, Gomes FMM, Campos GAA, Silva J de C, Biolchi AM, dos Anjos LC, et al. Neuroactive compounds obtained from arthropod venoms as

- new therapeutic platforms for the treatment of neurological disorders. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.* diciembre de 2015;21(1):31.
18. Silva J, Monge-Fuentes V, Gomes F, Lopes K, Anjos L, Campos G, et al. Pharmacological Alternatives for the Treatment of Neurodegenerative Disorders: Wasp and Bee Venoms and Their Components as New Neuroactive Tools. *Toxins.* 18 de agosto de 2015;7(8):3179-209.
 19. Zhu M, Gong D. A Mouse Model of 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine (MPTP)-Induced Parkinson Disease Shows that 2-Aminoquinoline Targets JNK Phosphorylation. *Med Sci Monit.* 25 de abril de 2020;26:e920989.
 20. Peña L, Pineda ME, Hernández M, Rodríguez-Acosta A. Toxinas Naturales: abejas y sus venenos. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica.* junio de 2006;25(1):6-10.
 21. Veneno de escorpión para hacer llegar fármacos al cerebro [Internet]. IRB Barcelona. [citado 25 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://www.irbbarcelona.org/es/news/veneno-de-escorpion-para-hacer-llegar-farmacos-al-cerebro>
 22. Ojeda PG, Wang CK, Craik DJ. Chlorotoxin: Structure, activity, and potential uses in cancer therapy: Chlorotoxin. *Biopolymers.* enero de 2016;106(1):25-36.
 23. Caracterización neuropsicológica de pacientes con glioma tratados en el instituto de cancerología de Medellín. 2008;24(1):11.
 24. Lui VCH, Hung KN, Leung GKK. Invasion of Human Glioma Cells Is Regulated by Multiple Chloride Channels Including CIC-3. *ANTICANCER RESEARCH.* 2010;10.
 25. Srairi-Abid N, Othman H, Aissaoui D, BenAissa R. Anti-tumoral effect of scorpion peptides: Emerging new cellular targets and signaling pathways. *Cell Calcium.* junio de 2019;80:160-74.
 26. Xu T, Fan Z, Li W, Dietel B, Wu Y, Beckmann MW, et al. Identification of two novel Chlorotoxin derivatives CA4 and CTX-23 with chemotherapeutic and anti-angiogenic potential. *Sci Rep.* abril de 2016;6(1):19799.
 27. La clorotoxina se erige como tinción tumoral [Internet]. CuidatePlus. 2015 [citado 28 de abril de 2020]. Disponible en: <https://cuidateplus.marca.com/enfermedades/cancer/2007/07/16/clorotoxina-erige-tincion-tumoral-14005.html>