

Futur nanotecnològic en la teràpia enzimàtica

Utilització dels enzims com a fàrmacs gràcies a la nanotecnologia

Adrià Pérez Culubret

Treball de Fi de Grau (Juny de 2015) – Grau en Bioquímica

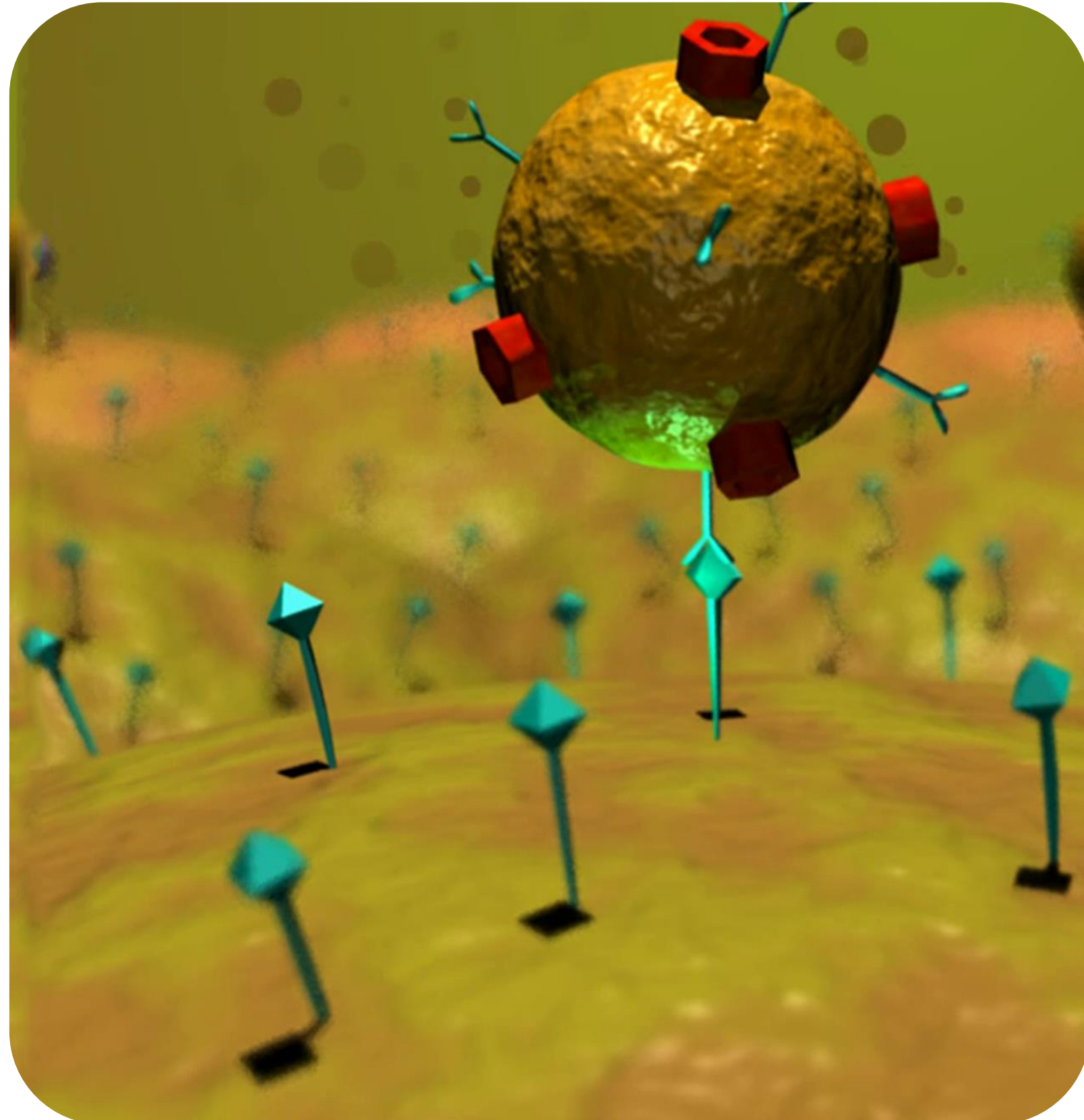
Tutor: Dr. Jaume Farrés

adriperez24@gmail.com

Introducció

Els enzims, utilitzats com a fàrmacs, presenten certes característiques molt interessants. A diferència dels fàrmacs tradicionals, els enzims són molècules amb una activitat coneguda, de gran especificitat i afinitat, que permeten controlar la cinètica d'una reacció de manera molt específica. No obstant, la teràpia enzimàtica té moltes limitacions. Una de les principals és la distribució de l'enzim i la seva farmacocinètica, ja que és complicat trobar algun enzim que es dirigeixi allà on interessa i que ho faci amb una bona eficiència, evitant la degradació per proteases i que un cop estigui localitzat, actuï amb una activitat catalítica suficient. Això podria canviar amb la incursió de la nanotecnologia en la teràpia enzimàtica. L'escassa distribució i la vulnerabilitat a la proteòlisi són problemes que la nanotecnologia pot solucionar, permetent-nos utilitzar els enzims de maneres molt més diverses i creatives. Varies estratègies sorgeixen per a encapsular i nanoparticulitzar els enzims.

Fig 1:
Representació d'un
polimersoma
ancorat a la
membrana
plasmàtica¹



Polimersomes

Entre els diferents tipus de vesícules artificials per a encapsular enzims i crear nanoreactors, els polimersomes són els més adients. Generalment formats per copolímers en bloc amfifílics, presenten una major resistència i estabilitat que els liposomes. La permeabilitat del polimersoma depèn del material utilitzat, però hi ha la possibilitat de permeabilitzar la membrana polimèrica amb canals proteics o de DNA Origami. La compartimentalització dels enzims permet protegir-los de la degradació i ens permet dirigir-los a un teixit específic, amb la funcionalització del polimersoma. El confinament de moltes molècules enzimàtiques en un espai reduït permet crear nanoreactors multienzimàtics, ja que degut a la proximitat dels enzims es poden acoblar les reaccions catalitzades; principi similar al que utilitzen els organismes vius amb els diferents orgànuls. Les aplicacions són varies, des de crear nanoreactors per a activar profàrmacs (Fig 1) fins a la creació de peroxisomes artificials per a reduir l'estrès oxidatiu.

Virus-Like Particles

Les Virus-Like Particles (VLPs) consisteixen en l'ús de partícules víriques no infeccioses per a encapsular diferents substàncies, com fàrmacs o enzims. L'encapsulació d'enzims amb VLPs aporta una avantatge molt interessant respecte a altres nanoreactors i és el mètode de síntesi d'aquestes. Les VLP es poden produir en cultius cel·lulars diversos, des de línies cel·lulars de mamífers fins a llevats, utilitzant un sol vector que produirà l'expressió de les proteïnes de la càpside i l'enzim a encapsular. Al donar-se la síntesi de les proteïnes i l'autoensamblatge tot en la mateixa cèl·lula, ens estalvia molts passos de síntesi i purificació in vitro i les pèrdues de material conseqüents. El mètode de síntesi no depèn de l'enzim a encapsular, el que facilita la creació de diferents VLPs. La síntesi, però, depèn de la partícula vírica utilitzada. El bacteriòfag P22, per exemple, utilitza una proteïna scaffold fusionada amb l'enzim per a unir-lo a la proteïna de la càpside (Fig 2). El bacteriòfag Q β , en canvi, utilitza un aptàmer d'RNA com a linker (Fig 3).

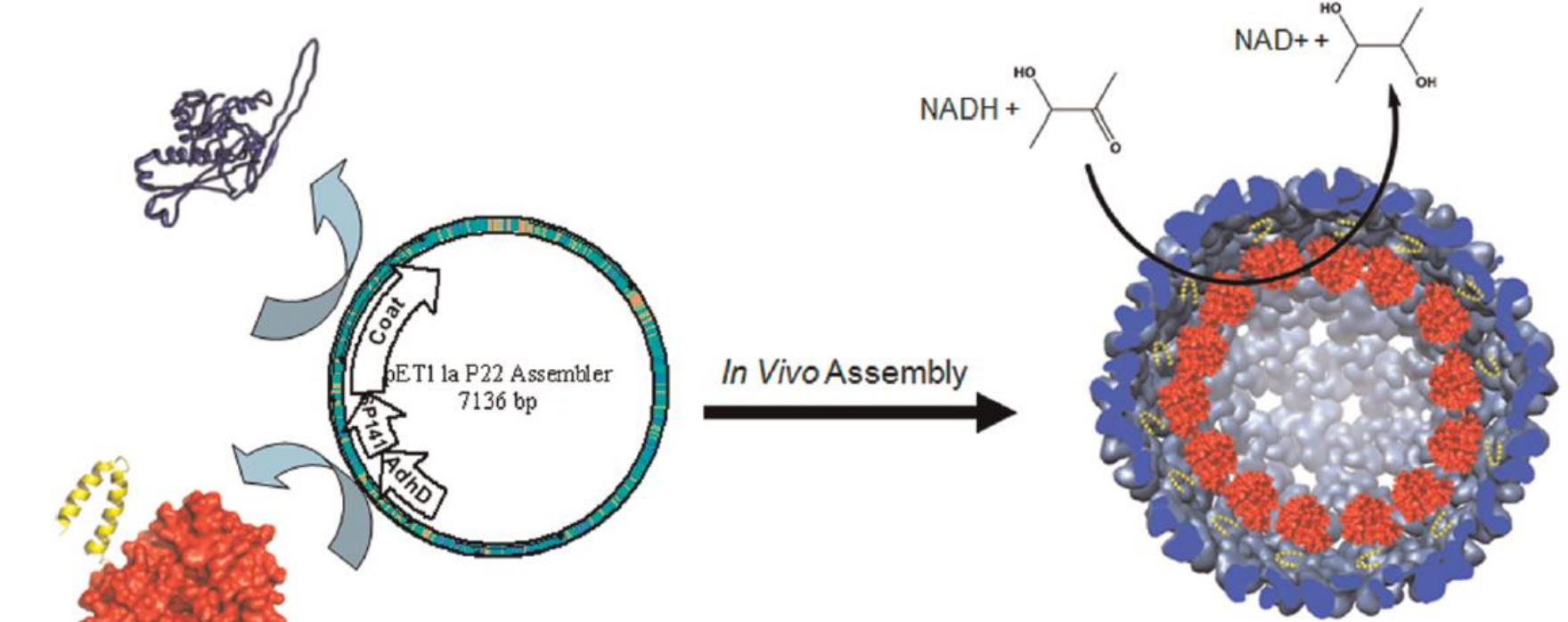


Fig 2: Bacteriòfag
P22²

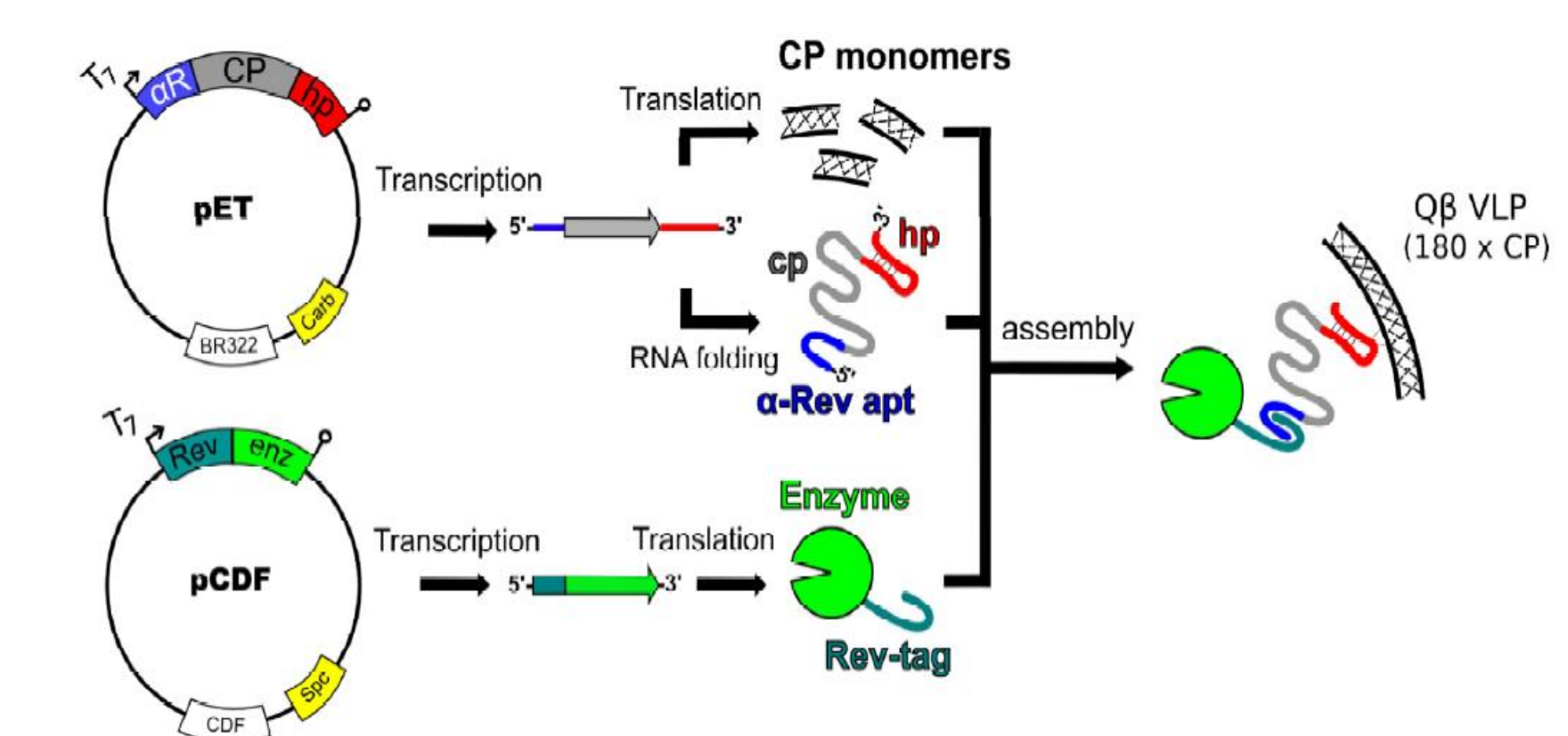


Fig 3: Bacteriòfag
Q β ³

Single Enzyme Nanoparticles

Les Single Enzyme Nanoparticles (SENs) es basen en el recobriment de la superfície d'una sola molècula d'enzim amb una estructura, orgànica o inorgànica, d'uns pocs nanòmetres de gruix. Aquesta "armadura" aporta al enzim estabilitat i propietats diverses, depenent del material que el recobreix. La immobilització de l'enzim gràcies a l'embolcall polimèric li dona una gran estabilitat i resistència enfront a variacions de pH i temperatura, així com protecció a proteòlisi i una llarga durabilitat de l'activitat enzimàtica. Degut a la immobilització, l'activitat catalítica es veu reduïda (k_{cat}), però la K_m no es veu alterada, el que indica que l'accés al substrat no s'impedeix amb l'embolcall polimèric. Aquest embolcall pot estar fet de diferents materials i pot concedir a les molècules d'enzim propietats extra. Un exemple seria utilitzar materials ferromagnètics (Fe_3O_4) per a donar als enzims propietats superparamagnètiques. Aquesta tècnica també es pot utilitzar per a recobrir un complex enzimàtic de reaccions encadenades (Fig 4). El fet de poder controlar la posició espacial dels enzims dona una gran eficiència al complex.

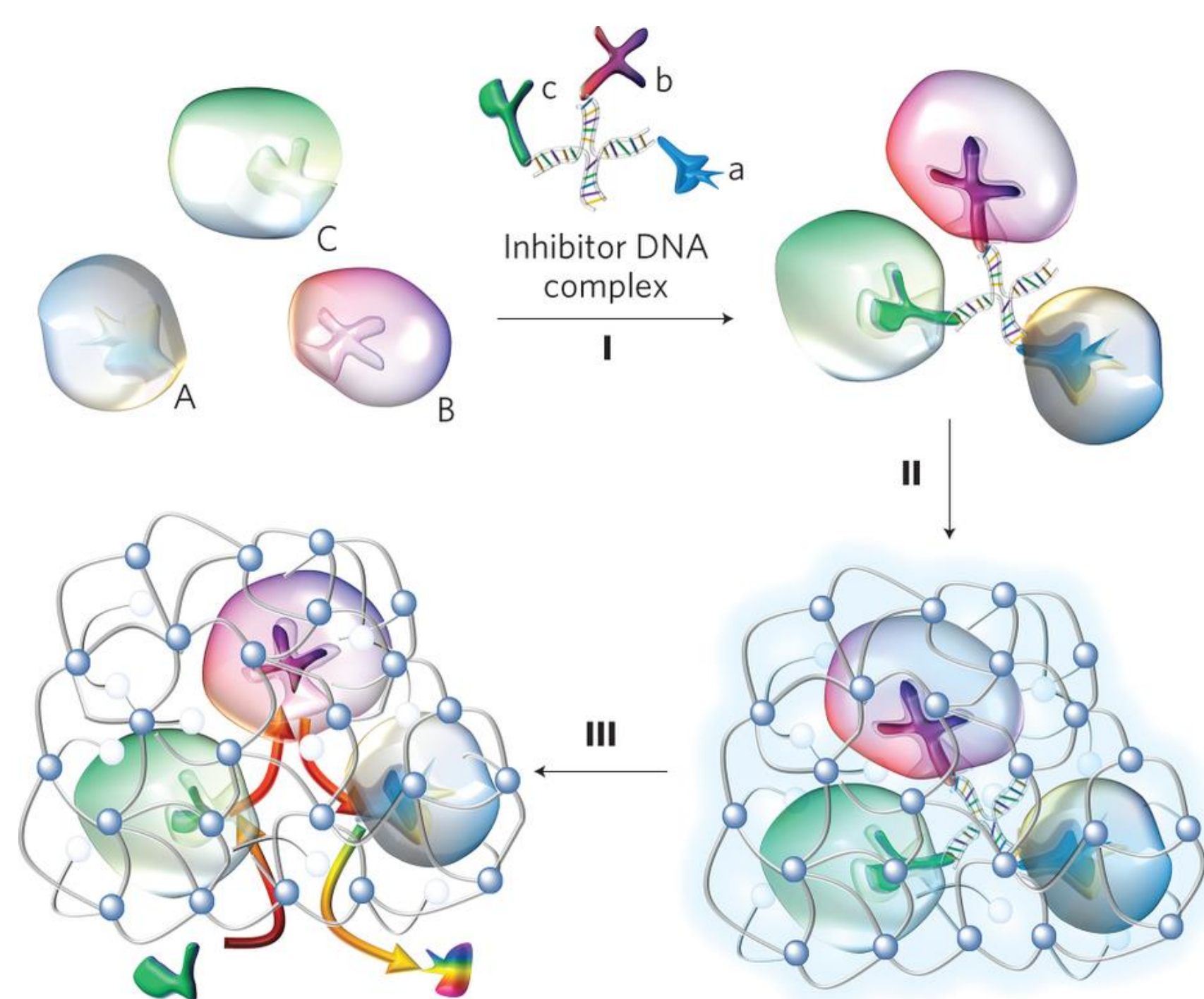


Fig 4: Nanocomplex enzimàtic immobilitzat amb un envolcall orgànic⁴

Conclusions

La teràpia enzimàtica, amb l'ajut de la nanotecnologia, es pot convertir en una eina molt rellevant amb un gran potencial per a tractar diverses patologies. Les investigacions que es porten a terme tenen un futur prometedor, amb possibles aplicacions que van més enllà de la nostra imaginació. Però per a fer-ho realitat, fa falta més atenció sobre el camp i una recerca més translacional.

Referències

- 1- Dresden Nanoromous Project (BIOMOD2013) - Smart Nanoreactor. Disponible a <http://openwetware.org/wiki/Biomod/2013/Dresden>
- 2- D. Patterson, P. Prevelige, T. Douglas. (2012) Nanoreactors by programmed enzyme encapsulation inside the capsid of the bacteriophage P22. *ACS Nano* 6, 5000-5009.
- 3- J.F. Fiedler, S.D. Brown, J.L. Lau, M.G. Finn. (2010) RNA-directed packaging of Enzymes within Virus-Like Particles. *Angew. Chem. Int. Ed.* 49, 9648-9651.
- 4- Y. Liu, J. Du, M. Yang, M.Y. Lau, J. Hu, H. Han, O.O. Yang, S. Liang, W. Wei, H. Wang, J. Li, X. Zhu, L. Shi, W. Chen, C. Ji, Y. Lu. (2013) Biomimetic enzyme nanocomplexes and their use as antidotes and preventive measures for alcohol intoxication. *Nature Nanotechnology* 8, 187-192.