

Artículo original

Identificación de posibles dianas terapéuticas en la enfermedad de la diabetes mellitus tipo 2 (T2DM) en base a estudios bioinformáticos
Identification of potential therapeutic targets in type 2 diabetes mellitus (T2DM) based on bioinformatics studies.

Guevara Proaño David *; Galarza Galarza Cinthia **; Varela Polit Luis ***; Galarza Galarza Cristian *

*Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador, ORCID: (<https://orcid.org/0000-0003-1725-3082>)

*Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador, ORCID: (<https://orcid.org/0000-0001-6822-7875>)

**Facultad de Ciencia de la Salud, Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador, ORCID: (<https://orcid.org/0000-0001-7890-5043>)

***Hospital Metropolitano, Universidad Internacional del Ecuador, Quito, Ecuador, ORCID: (<https://orcid.org/0000-0002-2874-7451>)

cf.galarza@uta.edu.ec

Recibido: 12 de marzo del 2023

Revisado: 25 de mayo del 2023

Aceptado: 29 de junio del 2023

Resumen.

La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad crónica caracterizada por la resistencia a la insulina y la disfunción de las células beta del páncreas, lo que resulta en niveles elevados de glucosa en sangre. Los niveles elevados de glucosa en la sangre pueden derivar en trastornos de los sistemas circulatorio, nervioso e inmunitario. El objetivo de este estudio fue identificar posibles dianas terapéuticas mediante la aplicación de técnicas bioinformáticas y bases de datos biológicas para estudiar los genes que presentan asociación y potencial terapéutico para tratar la enfermedad. Se utilizó la metodología de diseño de fármacos asistido por computador, se aplicaron técnicas de acoplamiento molecular y cribado virtual para identificar sitios de unión con características deseables de drugabilidad en los que se acoplaron compuestos químicos y ligandos comerciales. Se evaluó la energía de acoplamiento en los diferentes complejos proteína-ligando, se escogió los que presentaron mayor estabilidad. El cribado virtual mostró varios compuestos químicos y medicamentos comerciales cuya energía de afinidad oscilaba entre -9.3 y -9.8 kcal/mol. Se identificó la proteína IRS-1 como diana terapéutica, esta presentó un receptor proteico identificado en la base de datos Protein Data Bank con 1QQG con una drugabilidad de 0.84, se probaron los compuestos Zosuquidar, Rimacalib, Uk432097, Mosapramine, Devazepide y Setipiprant, se obtuvo una energía media de afinidad de -7.5 kcal/mol estableciéndose como posibles ligandos para la diana terapéutica, el análisis de toxicidad confirmó la aplicación de estos compuestos y medicamentos como un posible tratamiento para la enfermedad.

Palabras clave: Diabetes mellitus Tipo 2, Quimioinformática, Modelado Molecular, Cribado Virtual.

Abstract

Type 2 diabetes mellitus is a chronic disease characterized by insulin resistance and dysfunction of the beta cells of the pancreas, resulting in elevated blood glucose levels. Elevated blood glucose levels can lead to disorders of the circulatory, nervous, and immune systems. The aim of this study was to identify potential therapeutic targets by applying bioinformatics techniques and biological databases to study genes that show association and therapeutic potential to treat the disease. Computer-aided drug design methodology was used,

molecular docking and virtual screening techniques were applied to identify binding sites with desirable drugability characteristics where chemical compounds and commercial ligands were docked. The docking energy in the different protein-ligand complexes was evaluated, and those with the highest stability were chosen. Virtual screening showed several chemical compounds and commercial drugs whose affinity energy ranged from -9.3 to -9.8 kcal/mol. The protein IRS-1 was identified as a therapeutic target, it presented a protein receptor identified in the Protein Data Bank database with 1QQG with a drugability of 0.84, the compounds Zosuquidar, Rimacalib, Uk432097, Mosapramine, Devazepide and Setipiprant were tested, an average affinity energy of -7.5 kcal/mol establishing them as possible ligands for the therapeutic target, the toxicity analysis confirmed the application of these compounds and drugs as a possible treatment for the disease.

Keywords: Type 2 Diabetes mellitus, Chemoinformatics, Molecular Modeling, Virtual Screening.

Introducción.

Las enfermedades metabólicas son identificadas por un conjunto de disfunciones puntuales o multifactoriales que inhiben la absorción de compuestos integrales a rutas bioquímicas, generando patologías como la obesidad, diabetes, hipertensión, entre otros (1). La Diabetes Mellitus tipo 2 (T2DM) se considera una enfermedad metabólica crónica asociada a la resistencia a la insulina e insuficiencia de insulina secretada por las células β del páncreas (2).

De acuerdo con los datos de la Organización Mundial de la Salud (WHO), se observó un aumento de 422 millones de personas con diabetes desde 1980 al 2014, se registró un incremento en la tasa de mortalidad del 5% prematura entre el 2000 al 2016 y se estima que, en el 2019, la diabetes fue la causa de 1,5 millones de defunciones (3). En Ecuador, el Instituto Nacional de Estadística y Censos reportó que la T2DM fue la segunda causa de mortalidad en el 2014, en donde se reportó un aumento en la vulnerabilidad proporcional a la edad con una prevalencia del 15,2% en el rango de 60 a 64 años con mayor incidencia en mujeres (4).

Mecanismos Moleculares de la T2DM

Los mecanismos moleculares más representativos asociados son: resistencia a la insulina e insuficiencia en la exocitosis de insulina, provocando hiperglucemia en ayunas y estado posprandial. Los factores ambientales han sido asociados con el estrés oxidativo y síntesis de especies reactivas de oxígeno a causa de una disfunción mitocondrial en las células β provocado por estados nutricionales excesivos como glucotoxicidad, lipotoxicidad y glucolipotoxicidad (5).

Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina representa la disminución de la respuesta de las células sensibles a la insulina en los tejidos periféricos que regulan el nivel de glucosa en la sangre. Durante este estado, las células no responden al estímulo fisiológico de la hormona y como resultado, la glucosa no ingresa en las células, provocando hiperglucemia en ayunas y posprandial (6). El incremento de la expresión de las catecolaminas promueve la lipólisis y glucogenólisis, mientras que los glucocorticoides favorecen al catabolismo muscular, gluconeogénesis y lipólisis y el glucagón estimula la producción de glucosa. La activación en conjunto de estas vías puede inducir a la resistencia a la insulina en los tejidos diana como el músculo esquelético, tejido adiposo e hígado (7).

Disfunción de células β

Se ha demostrado que la disfunción de las células β se asocia con los mecanismos de apoptosis (8). Sin embargo, existe un conjunto de mecanismos adicionales que pueden afectar su funcionalidad, morfología e integridad por orígenes ambientales, como la obesidad. En estado tóxico a favor de la resistencia a la insulina por hiperglucemia e hiperlipidemia, las células β son más susceptibles que el resto de las células debido a su arquitectura genética ya que su expresión de antioxidantes es baja en comparación con otras células (6), y como resultado, pueden ser vulnerables a toxicidades bajo estrés inflamatorio, estrés del retículo endoplasmático (ER), estrés metabólico, oxidativo y amiloide cuyo efecto es crítico para la pérdida de los islotes pancreáticos (9).

Bioinformática.

La bioinformática es el enfoque biológico a escala molecular desde una perspectiva biotecnológica, en

la que se emplea técnicas informáticas asociadas a la matemática, estadística y ciencias computacionales, con el objetivo de tener acceso a la información sobre las moléculas estudiadas (10), aquí se manipula la información sobre la genética evolutiva o mutaciones desencadenantes de enfermedades como la esclerosis lateral amiotrófica, Alzheimer, Parkinson, enfermedad de Huntington o la bioinformática aplicada al SARS-CoV-2 (11).

La proyección o cribado virtual (VS) es una técnica ampliamente aplicada en el descubrimiento de fármacos cuya estructura molecular causa un impacto terapéutico. Este consiste en un análisis de probabilidad *in silico* del mecanismo asociado a la actividad biológica deseada en una ruta bioquímica propia de una enfermedad. El principal enfoque del método se aplica a las bases de datos de ligandos con el objetivo de obtener una lista clasificada en función de la probabilidad de actividad relevante, contribuyendo en la identificación del mejor producto que permita enlazar al receptor proteico con el fármaco.

Objetivo.

Identificar posibles dianas terapéuticas en la enfermedad de la Diabetes Mellitus tipo 2 mediante el uso de bases de datos genómicas, proteómicas y de enfermedades humanas, y la aplicación de técnicas de diseño de fármacos asistido por computador, como simulaciones por dinámica y acoplamiento molecular.

Material y métodos.

Selección de bibliografía

Para la elaboración de la presente investigación, se utilizó información disponible en bases de datos de enfermedades, revistas científicas, plataformas web enfocados en proteínas y sus vías metabólicas (último acceso 25-Mayo-2022). Se obtuvo y analizó la información de la T2DM con el objetivo de detallar los avances científicos en el descubrimiento de genes implicados en el desarrollo de la enfermedad, información general, sintomatología y tratamientos actuales. Se buscó la información en diferentes bases de datos como OMIM, MalaCards, PubMed, Google Scholar, NCBI, SciELO, se estableció una antigüedad de 10

años para los artículos que se revisaron en la presente investigación.

Selección de Genes

Para la selección de los genes se utilizó la función de puntuación que ofrece la base de datos MalaCards, esta puntuación se asocia a las enfermedades genéticas y se calculan como sumas ponderadas de las puntuaciones individuales derivadas de las siguientes 8 fuentes de información: OMIM, ClinVar, Orphanet, SwissProt/Humsavar, GeneTests, DISEASES y GeneCards. Estos valores de puntuación dependen del nivel de curación manual de la fuente de información, así como de la importancia asignada por la propia fuente a sus diferentes clases de anotación.

Se seleccionó 36 genes representativos asociados a la enfermedad en una hoja de cálculo con sus respectivas puntuaciones e integración dentro de las bases de datos y fueron organizadas en función del nombre del gen, su puntuación y disfunción. Posteriormente se descartó los genes que no estaban incluidos en al menos 3 bases de datos para reducir el número en función de su importancia. Se encontró numerosas disfunciones en cada gen, y se asoció en relación con el daño metabólico que causan los defectos genéticos como resistencia a la insulina y disfunción de las células β .

Integración de Datos

Para este proceso se utilizó el plugin GeneMANIA Cytoscape ya que a través de esta herramienta se puede predecir rápidamente la función de los genes (12). Se generó la hipótesis sobre la función, análisis de listas y priorización de genes para ensayos funcionales.

Se realizó columnas con información de la red, en esta lista se encuentra el identificador, nombre de los genes, número de nodos y la puntuación. Las columnas restantes hicieron referencia al grado de centralidad que presentó cada uno. La identificación de los nodos con mejor puntuación y mayor número de interacciones se realizó mediante una representación de colores y formas, por lo que se identificó los nodos más representativos por el color verde y forma circular. Posteriormente, para generar los gráficos de agrupación de genes de

forma jerárquica y de similar puntuación se aplicó el método de Hierarchical clúster y K-Means, respectivamente.

Validación de genes seleccionados

Para la validación de los genes se utilizó la base de datos DrugBank, esta es una base de datos que contiene información sobre los medicamentos y su diana de acción. En cuanto a la base de datos, sus entradas de los fármacos están relacionadas con las proteínas. Además, cada entrada posee múltiples campos de datos segmentado en 2 partes, esto es, la mitad corresponde a la información química o fármacos, mientras que la otra mitad pertenece a datos informativos de proteínas o dianas farmacológicas (13). Aquí se encontró información acerca de los medicamentos y las funciones que cumplen, se ingresó el nombre de los genes y se especificó que se busca información acerca de las dianas. Se identificó varias entradas de medicamentos enlazadas a proteínas, cada entrada contiene varios campos con información importante, tales como, ensayos realizados, los targets y las fases de experimentación en la que se encuentra. De los datos obtenidos se comprobó que la mitad corresponde a información química o de medicamentos y la otra mitad, a proteínas o dianas farmacológicas

Pruebas de Viabilidad de las dianas terapéuticas

Para verificar la viabilidad de las dianas terapéuticas se estudió una característica fundamental conocida como “drugabilidad”, la que se analizó en cada uno de los dominios seleccionados. La “drugabilidad” refiere a la capacidad de una molécula o blanco terapéutico para convertirse en un fármaco efectivo y seguro. Implica la evaluación de si una molécula tiene el potencial de ser desarrollada y convertida en un medicamento, se basa en una serie de propiedades y características que se consideran deseables en una molécula o blanco terapéutico. En el descubrimiento de fármacos, la drugabilidad se define como la unión que puede ocurrir en un sitio biológico con buena potencia nano molar y que al mismo tiempo presenta biodisponibilidad oral y progresión clínica (14).

Se utilizó el servicio web Proteins Plus del Centro para bioinformática de la Universidad de

Hamburgo. En este servicio web se ingresó el nombre de las proteínas y se utilizó distintas herramientas de análisis molecular tales como, predicción de hidrógenos, interacciones proteína-proteína, predicción geométrica, datos de afinidad de proteína-ligando, elucidación estructural, diagramas de interacción 2D, acoplamiento de proteína-ligando y química textual en PDB (15). Se seleccionó el valor de “drugabilidad” mediante DoGSiteScorer, se escogió el sitio que presentó la mejor puntuación. Así mismo, el análisis de las rutas metabólicas de los genes seleccionados permitió que se escogieran aquellos genes que comparten una misma función y mecanismo molecular.

Búsqueda de moléculas que podrían interactuar con las dianas

Para la búsqueda de los cristales se utilizó la base de datos Protein Data Bank (PDB), desde esta se descargó las estructuras 3D de los receptores que contienen los dominios identificados. Así también, se verificó los parámetros de calidad de los cristales mediante el análisis de métricas tales como: método de cristalización, resolución, valor RFree, clashcore, entre otros, con la finalidad de trabajar con un cristal de óptimas condiciones. Con estas moléculas y mediante el software Autodocktools, se calculó las dimensiones de la Grid y las coordenadas del centro, para posteriormente realizar el cribado virtual.

Para el cribado virtual se utilizó el receptor en formato 3D, se lo preparó eliminando previamente estructuras y disolventes presentes en la estructura. Este receptor se encontraba acomplejado con un ligando específico, por lo que fue necesario eliminar esta estructura para quedarnos únicamente con el receptor. Mediante el servicio web MTIOpenScreen se efectuó un filtrado de posibles medicamentos, medicamentos en desarrollo y estructuras químicas que pueden acoplarse con el receptor (15). Se seleccionó la opción Custom parameters y se ingresó las coordenadas del sitio de unión y las dimensiones del centro, con el fin de ejecutar los cálculos del acoplamiento sobre esta zona específica. Esta lista de los compuestos obtenidos de la base de datos de drogas y estructuras químicas, fueron ordenadas en función de la cantidad de energía de unión con el receptor.

Análisis de toxicidad de las moléculas

Una vez encontradas las posibles estructuras (dianas terapéuticas) que presentan afinidad por el sitio de unión de las proteínas, se empleó el paquete VEGA, mediante la aplicación de modelos QSAR, estos modelos permiten relacionar la actividad biológica con descriptores moleculares o información fisicoquímica de una estructura química. Se realizó pruebas de mutagenicidad, carcinogénesis y hepatotoxicidad a través del uso de los códigos SMILES (Simplified molecular-input line-entry system) para comparar resultados de inhibidores conocidos con la diana. Finalmente, se analizó las propiedades de las moléculas elegidas mediante el servicio web pkCSM (16) para realizar pruebas de ADMET (Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción, Toxicidad)

a partir de los códigos SMILES anteriormente mencionados.

Resultados

Genes Elite relacionados con T2DM e integración de datos.

De acuerdo con los datos de la Tabla 1, se han registrado 36 genes elite extraídos de las bases de datos cuya principal disfunción ya se ha identificado, la deficiencia en la utilización y secreción de la insulina, a excepción de PRMT7 e IL6 que participan en diferentes rutas metabólicas, pero contribuyen al desarrollo de la enfermedad, sin embargo, no se ha registrado información sobre NIDDM4, por lo tanto, su expresión y función genética es desconocida.

Tabla 1. Genes elite involucrados en la Diabetes Mellitus tipo 2 (T2DM).

#	Genes	Mecanismo Molecular	Proteína	Base de Datos			
				MalaCards	OMIM	Harmonizome	KEGG
1	IRS1	Resistencia a la Insulina	Sustrato del receptor de insulina 1	1421,65	Si	1,8409	Si
2	HNF4A	Células β	Factor nuclear de hepatocitos 4 alfa	1388,86	Si	0,6826	-
3	NEUROD1	Células β	Diferenciación neurogénica 1	1379,14	Si	0,6277	-
4	PPP1R3A	Resistencia a la Insulina	Proteína fosfatasa 1 subunidad reguladora 3 ^a	1361,64	Si	0,6438	-
5	HNF1B	Células β	Homebox B de factor nuclear hepatocito 1	1336,53	Si	0,8192	Si

6	PAX4	Células β	Caja emparejada 4	1329,57	Si	0,2059	-
7	AKT2	Células β	AKT Serina/Treonina Quinasa 2	1321,83	Si	-	Si
8	HNF1A	Resistencia a la Insulina	Factor nuclear 1 alfa de hepatocito	1115,48	Si	1,5018	-
9	ENPP1	Resistencia a la Insulina	Ectonucleótido	1115,3	Si	-	Si
10	SLC2A2	Células β	Pirofosfatasa/fosfodiesterasa 1	1107,74	Si	1,3625	-

Fuente: Elaboración propia

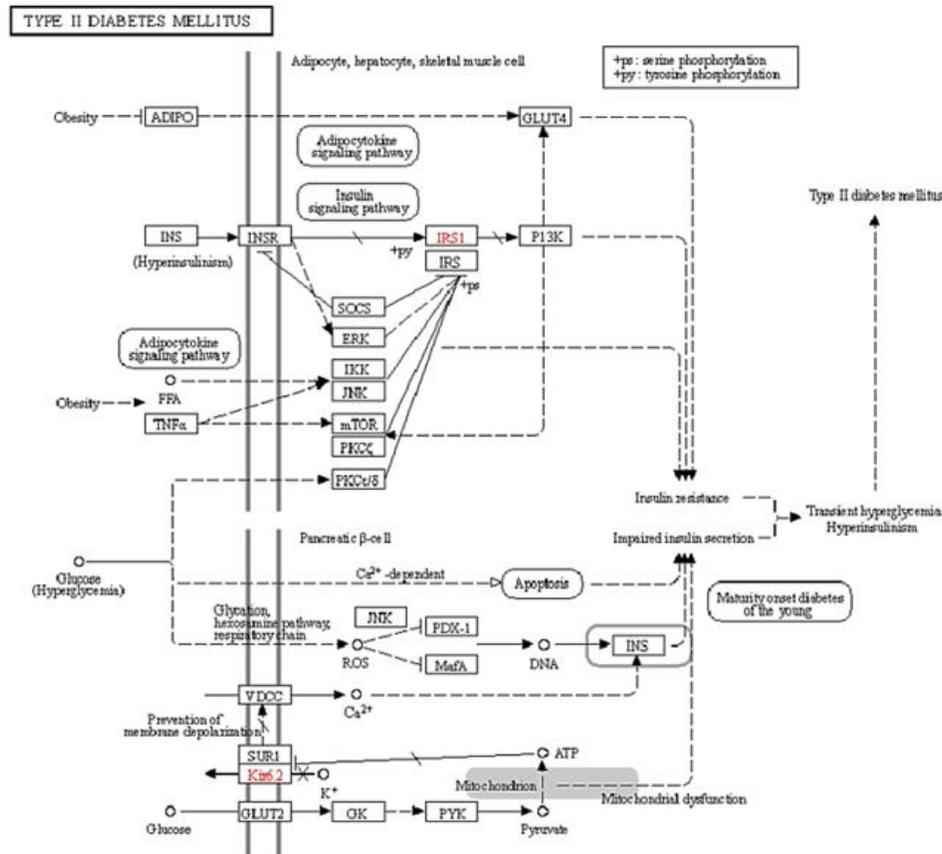


Figura 1. Ruta metabólica disfuncional de la T2DM

Fuente: Elaboración propia desde Base de datos KEEG

En la figura 1 se observa los genes marcados por KEEG que presentan resistencia e insuficiencia a la insulina son el IRS-1 y KCNJ11 y se confirma más su participación en el desarrollo de la enfermedad como objetivos terapéuticos

El análisis sobre la integración de los datos mediante Cytoscape permitió la visualización de la interacción genética definida por la combinación de determinadas formas de un par de genes que origina un efecto inesperado en donde se representan 4 niveles de interacción.

En la figura 2, se demuestra la interacción de los genes implicados en la resistencia a la insulina en forma de nodes y edges. Los nodos PPARγ y PTPN1 son de alta interacción y los nodos HMG1A1, SLC2A4, AKT2, INSR e IRS-1 son de muy alta interacción.

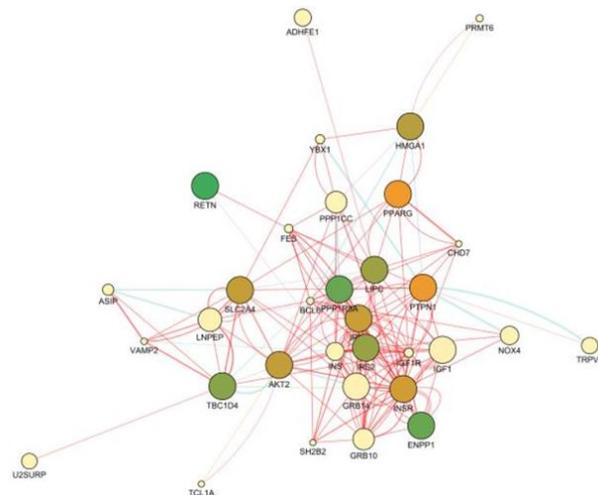


Figura 2. Red biológica de la resistencia a la insulina.

Fuente: Elaboración propia desde GeneMania Cytoscape

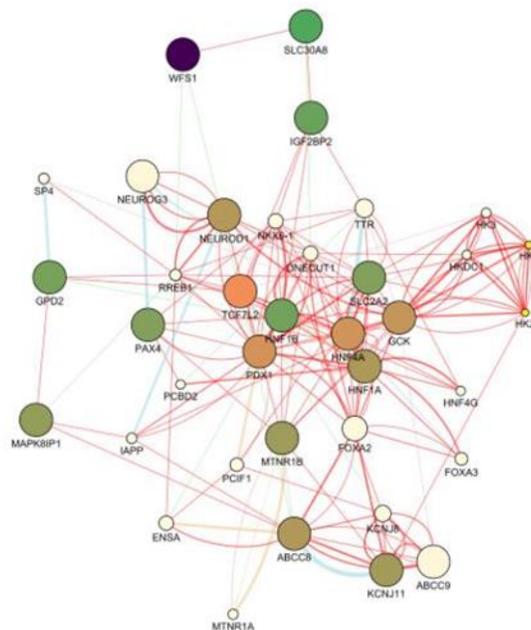


Figura 3. Red biológica de la disfunción de células β .

Fuente: Elaboración propia desde GeneMania Cytoscape

La red biológica de interacción dentro de la disfunción de las células β se observa en la figura 3, los genes más representativos dentro de este grupo de disfunción se encuentran los genes TCF7L2, NeuroD1, GSK, HNF4A, PDX1. Los

genes TCF7L2, NeuroD1 son factores de transcripción y PDX1 es un factor de activación, por lo que las estructuras de estos genes pueden presentar ambigüedad en posteriores análisis de viabilidad y acoplamiento molecular.

Validación de los genes seleccionados

De acuerdo con lo detallado en la tabla 2, los genes IRS-1, KCNJ11, GCK, ABCC8, PTPN1 y PPARG son objetivos terapéuticos aprobados para la T2DM o complicaciones de la diabetes. Adicionalmente,

los genes que no presentan fármacos asociados, pero se han clasificado como dianas (PDX-1, IRS2, TCF7L2 y HMGA1) se debe a las fases experimentales tempranas en las que se encuentran (17).

Tabla 2. Número de fármacos asociados a los genes élite de la T2DM.

#	Nombre	Gen	Diana - T2DM	Fármacos asociados	Se aplica en T2DM
1	Receptor de insulina	IRS-1	Si	1	No
2	Regulador de ATPk y liberación de insulina	ABCC8	Si	11	Si
3	Regulador negativo de la insulina.	PTPN1	Si	51	Si
4	Sensor de glucosa / función de células β .	SLC2A2	No	6	No
5	Función de los canales de potasio / células β .	KCNJ11	Si	7	Si
6	Acción glucoquinasa / insulina.	GCK	Si	8	Si
7	Receptor nuclear / acción de la insulina.	PPARG	Si	74	Si
8	-	RETN	No	0	No
9	Secreción de la insulina, factor de transcripción de GLUT2.	PDX-1	Si	-	No
10	Involucrado en varios procesos celulares con insulina.	IRS2	Si	-	No
11	Participa en la vía de señalización Wnt / función de las células β .	TCF7L2	Si	-	No
12	Regulador transcripcional / Acción de la insulina.	HMGA1	Si	-	No

Fuente: Elaboración propia

Pruebas de viabilidad de los genes seleccionados

Se obtuvo y evaluó la puntuación de la probabilidad en la identificación de un ligando similar a un fármaco en una estructura

tridimensional de la proteína (drugability) en las expresiones de los genes candidatos a través de la herramienta DoGSiteScorer del servicio web Protein.plus. Con lo cual se ha identificado las siguientes proteínas.

Tabla 3. Puntuación de los sitios de unión de los genes satélite

#	Genes	Protein.Plus	Druggabilidad
1	IRS1	1QQG	0,84
2	HNF4A	1M7W	0,81
3	NEUROD1	Alphafold	0,78

4	PPP1R3A	Alphafold	0,80
5	HNF1B	2DA6	0,73
6	PAX4	Alphafold	0,81
7	AKT2	3D0E	0,83
8	HNF1A	Alphafold	0,80
9	ENPP1	Alphafold	0,81
10	SLC2A2	Alphafold	0,81
11	KCNJ11	Alphafold	0,84
12	GPD2	Alphafold	0,80
13	WFS1	Alphafold	0,81
14	GCK	3FGU	0,80
15	ABCC8	7S5V	0,80
16	MAPK8IP1	Alphafold	0,81
17	INSR	5E1S	0,85
18	RETN	Alphafold	0,18
19	PDX1	Alphafold	0,81
20	IL6	1ALU	0,75
21	IRS2	Alphafold	0,80
22	TCF7L2	Alphafold	0,80
23	PTPN1	7KLX	0,63
24	LIPC	Alphafold	0,81
25	SLC30A8	6XPD	0,81
26	PPARG	6TSG	0,82
27	IGF2BP2	Alphafold	0,83
28	HMGA1	Alphafold	0,70

29 MTNR1B Alphafold 0,81

Fuente Elaboración propia.

En la figura 4 se observa la estructura tridimensional de IRS-1, donde el volumen de la

cavidad es de 847,49 Å³ y 18,85 Å de profundidad con 0,48 del ratio de aminoácidos apolares (RAA).

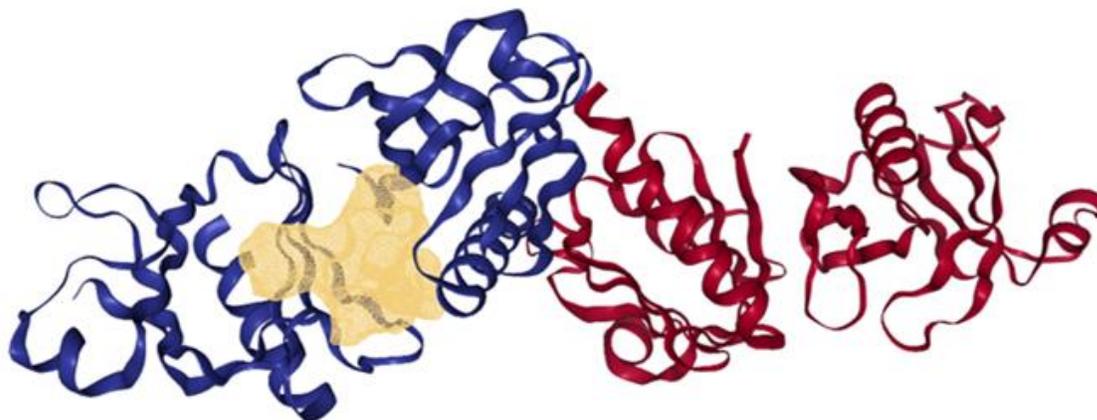


Figura 4. Estructura proteica del Receptor Sustrato de Insulina 1 (IRS-1) con el mejor pocket drugable.

Fuente: Elaboración propia obtenida en AutoDockTools

Desde una perspectiva amplia, la aplicación de IRS-1 puede ser un factor clave de efecto directo en la resistencia a la insulina y efecto parcial en otros mecanismos asociados a la T2DM, debido a la complejidad poligénica multifactorial.

Análisis de interacción molecular.

Se observa en la figura 5, los resultados donde se establece un valor estándar para los posteriores análisis del cribado virtual ya que se define relativamente el acoplamiento con el compuesto

tomado de las bases de datos y la librería de compuestos de la plataforma 'MTiOpenScreen'.

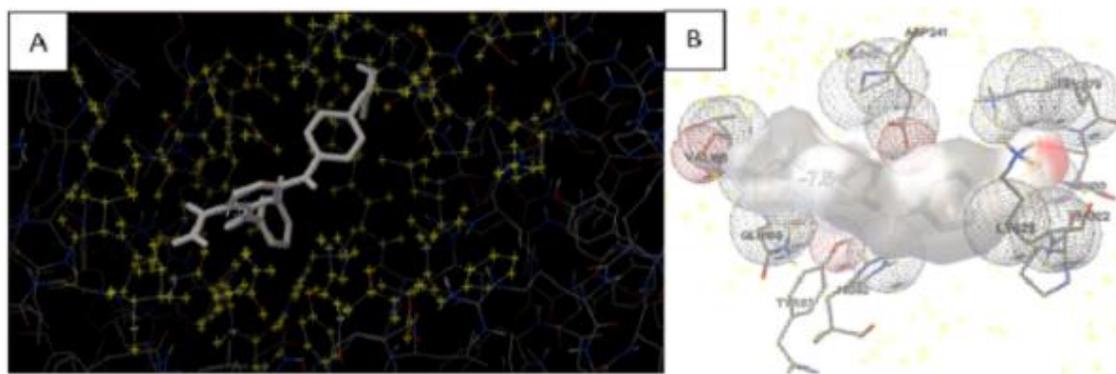


Figura 5. Acoplamiento del ligando en el receptor y su afinidad como energía de interacción

Fuente: Elaboración propia obtenida en AutoDockTools

Se obtuvo los primeros 100 resultados con mejor afinidad de interacción de los cuales se tomó los resultados con mejores energías de interacción de -

9,8 kcal/mol hasta -9,3 kcal/mol. En la tabla 4 se observan los fármacos con sus energías de interacción.

Tabla 4. Fármacos candidatos con energía de interacción favorable

#	Compuesto	Energía de afinidad	nRot
1	Zosuquidar	-9,8	7
2	Seganserin	-9,8	5
3	Cortisuzol	-9,8	9
4	R428	-9,7	5
5	Mk3207	-9,6	4
6	Sb-649868	-9,6	5
7	Rimacalib	-9,6	4
8	Uk432097	-9,5	16
9	Mosapramine	-9,5	4
10	Devazepide	-9,5	3
11	Dihydroergotamine	-9,4	5
12	Entrectinib	-9,4	7

13	Bms-754807	-9,3	6
14	Hesperidin	-9,3	15
15	Setipiprant	-9,3	3

Fuente: Elaboración propia

Análisis de la toxicidad de las moléculas

Se realizó los análisis de toxicidad de todos los fármacos demostrados en la tabla 4, cuya función analítica permite la obtención de resultados de toxicidad mediante predicción computacional. Entre los parámetros que se evalúan a los

compuestos están: mutagenicidad, toxicidad del desarrollo, carcinogenicidad, intoxicación aguda, sensibilización de la piel, aberración cromosómica, ensayos de micronúcleos, efecto del receptor de estrógeno, andrógenos y tiroideo, actividad disruptiva endócrina, NOEL, LOEL, clasificación Cramer y hepatotoxicidad.

Tabla 5. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -9,8 kcal/mol

Parámetro	FÁRMACOS					
	Zosuquidar		Seganserin		Cortisuzol	
	Predicción	Confiabilidad	Predicción	Confiabilidad	Predicción	Confiabilidad
Mutagenecity	Seguro	2	Seguro	2	Seguro	1
Dev. Toxicity	Tóxico	1	Tóxico	2	Tóxico	1
Carcinogenicity	Tóxico	1	Seguro	1	Seguro	1
Acute toxicity	-	-	-	-	-	-
Skin sensitization	Seguro	1	Tóxico	1	Seguro	1
Chro. Aberration	Seguro	1	Seguro	1	Tóxico	1
Micro. Assay	Seguro	1	Tóxico	1	Tóxico	1
ER Effect	Seguro	1	Seguro	3	Seguro	3
AR Effect	Seguro	1	Seguro	2	Seguro	1
TR Effect	Seguro	3	Seguro	3	Seguro	3
ED Activity	Seguro	-	Seguro	-	Seguro	-

NOAEL	-	1	-	1	-	1
LOAEL	-	1	-	1	-	1
Cramer class.	-	-	-	-	-	-
Hepatotoxicity	Tóxico	1	Tóxico	2	Tóxico	2

Fuente: Elaboración propia

Discusión

Se han detectado 36 genes élite los cuales han sido asociados por probabilidad a la enfermedad mediante interacciones gen-enfermedad a partir de información respaldada por fuentes confiables y curación manual, la lista completa de los genes ha sido extraída a partir de 4 mecanismos de tratamiento de información, estos son: GeneCards, pruebas genéticas específicas en la enfermedad, variantes genéticas causales y curación manual de los genes con la enfermedad.

Los resultados sobre las disfunciones demuestran dos categorías fundamentales en la T2DM que se definen en resistencia a la insulina y disfunción de las células β . En las redes de interacción se observa que el gen PDX1 presenta los parámetros más altos de interacción, seguido de GCK. Sin embargo, los métodos bioinformáticos pueden diferir debido a los mecanismos bioquímicos y vías metabólicas en factores de transcripción o activación ya que interactúan con el DNA, formando un complejo proteína-DNA cuya estructura no posee sitios de unión (18).

Cabe destacar que los genes que no presentan mecanismos relacionados a la T2DM se deben a que su aporte genético y molecular aún se mantiene por dilucidar entre la comunidad científica. Sin embargo, estudios de secuenciación genómica han detectado anomalías genéticas de estos genes en contraste con sujetos de control no diabéticos (19). Se atribuye la participación de RETN en respuestas inflamatorias y resistencia a la insulina ya que se registró una relación inversa con la T2DM. Hay numerosos estudios (1, 17, 20) que aportan la hipótesis de que RETN contribuye a la resistencia

a la insulina en pacientes obesos debido a la sobreexpresión de este gen. Así mismo, genes como AKT2, IL6 y IGF2BP2 han sido seleccionados en la incidencia sobre la T2DM por estudios experimentales en donde se identificó polimorfismos de un solo nucleótido o mutaciones puntuales, dependiendo de la población de estudio.

De acuerdo con la investigación realizada por (21), no se han establecido parámetros límite o criterios para la selección de un objetivo favorablemente druggable, sin embargo, en el trabajo realizado por (22) menciona que un gran volumen de pocket (apertura de unión), alta profundidad y proporción de aminoácidos apolares son parámetros que determinan una alta probabilidad en la efectividad deseable para determinar la drugabilidad de un objetivo. Las puntuaciones que registra IRS-1 en DoGSiteScorer se asemejan con los parámetros en los pockets seleccionados en la investigación de (23), lo que sugiere una alta probabilidad de drugabilidad de la proteína.

La proteína expresada por IRS-1 presenta una drugabilidad considerable, debido a la escala en DoGSiteScorer en donde 0 es mínimo (undruggable) y 1 es el máximo (druggable), su puntuación fue de 0,84. De acuerdo con (18), una proteína considerablemente druggable se toma a partir de 0,5 a 1, por lo que se toma esta proteína como diana terapéutica. En función de MalaCards, el IRS-1 es el gen candidato con mayor puntuación de incidencia dentro de los genes élite que participa en la resistencia a la insulina.

El docking molecular arrojó un acoplamiento con energía de afinidad de -7,5 kcal/mol del ligando con el receptor, como se observa en la figura 5A.

Este resultado establece un valor estándar para los posteriores análisis del cribado virtual ya que se define relativamente el acoplamiento con el compuesto tomado de las bases de datos y la librería de compuestos de la plataforma 'MTiOpenScreen'. Adicionalmente, (22) mencionan que los aminoácidos con menor frecuencia en las secuencias son los de mayor abundancia en los sitios de unión como Trp, His, Met, Tyr y Phe, mientras que las estructuras proteicas homólogas en complejo con el mismo ligando demostraron mayor conservación de residuos en el sitio de unión cuyos residuos son Gly, Glu, Arg, Asp, His y Thr. En la estructura analizada, el compuesto acoplado demostró interacción con Asp241, Val245, Val66, Lys79, Asn80, Gln165, Lys23, Pro22, His92 y Tyr87 (figura 5B).

Finalmente, se han encontrado medicamentos como el Zosuquidar, Rimacalib, Uk-432097, Mosapramine, Devazepide y Setipirant, que poseen un menor nivel de fiabilidad en predicción de toxicidad, y mayor número de predicciones de seguridad, se descartó del presente estudio los fármacos con toxicidad mayor o igual a 2 en parámetros críticos como la carcinogenicidad, intoxicación aguda, mutagenicidad y aberración cromosómica por las consecuencias graves que éstos ocasionan.

Conclusiones

Se encontró que las principales disfunciones relacionadas con la T2DM son: resistencia a la insulina desarrollada en los tejidos periféricos, tejido adiposo e hígado y la disfunción de las células β . Los genes identificados presentaron diversas funciones debido a que se involucra diferentes aportes proteicos cuya actividad enzimática pertenece a diferentes rutas metabólicas y, en consecuencia, la T2DM representa un desafío en los estudios genómicos y patogénicos.

Los genes que actualmente se encuentran identificados como dianas terapéuticas (proteínas kir6.5 (ABCC8), PPARG e INSR), fueron considerados como control para probar la eficiencia de la metodología del CADD. Se analizó una lista de 36 genes élite identificados en MalaCards con disfunciones que están asociadas a

la patología y patogénesis de la T2DM, se filtró y validó correlacionando esta información en bases de datos como OMIM, Harmonizome y KEGG.

Las rutas metabólicas de la T2DM permitieron identificar la incidencia del gen IRS-1 como diana terapéutica principal a partir de los estudios de mutaciones puntuales asociadas a la resistencia a la insulina y asociación con las células β debido a su participación en el control de diversos procesos celulares lo que causa reducción de la eficiencia de la insulina endógena y aumenta los niveles de glucosa en la sangre.

Los modelos QSAR permiten analizar la toxicidad de los compuestos que presentaron las mejores propiedades para ser considerados como ligados de la diana terapéutica para la T2DM. Estos seis compuestos son el resultado del presente trabajo, los cuales, como siguiente paso, deberían ser comprobados mediante métodos bioinformáticos más exhaustivos para pasar a la siguiente fase de diseño del fármaco.

Contribuciones de los autores: Redacción - revisión y edición, DG, CG, LV y CG; Metodología, DG y CG; Conceptualización, LV y CG. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Agradecimientos: A los investigadores del presente estudio por su aporte al desarrollo de la investigación biomédica en Ecuador.

Conflictos de interés:

“Los autores declaran no tener conflicto de interés”.

Referencias.

1. Lee Y, Berglund ED, Yu X, Wang M-Y, Evans MR, Scherer PE, et al. Hyperglycemia in rodent models of type 2 diabetes requires insulin-resistant alpha cells. 2014;111(36):13217-22.
2. WHO COJD. World health organization. 2020.
3. Cordero LCA, Vásquez MA, Cordero G, Álvarez R, Añez R, Rojas J, et al. Prevalencia de la diabetes mellitus tipo 2 y sus factores de riesgo en individuos adultos de la ciudad de Cuenca-Ecuador. 2017;6(1):10-21.
4. Rehman K, Akash MSHJJob. Mechanism of generation of oxidative stress and

- pathophysiology of type 2 diabetes mellitus: how are they interlinked? 2017;118(11):3577-85.
5. Petersen MC, Shulman GI. Mechanisms of insulin action and insulin resistance. 2018;98(4):2133-223.
 6. Xia XJ. *Time*. *Bioinformatics and drug discovery*. 2017;17(15):1709-26.
 7. Kim J, Zhang J, Cha Y, Koltz S, Funt J, Escalante Chong R, et al. Advanced bioinformatics rapidly identifies existing therapeutics for patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19). 2020;18(1):1-9.
 8. Franz M, Rodriguez H, Lopes C, Zuberi K, Montojo J, Bader GD, et al. GeneMANIA update 2018. 2018;46(W1):W60-W4.
 9. Wishart DS, Feunang YD, Guo AC, Lo EJ, Marcu A, Grant JR, et al. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018. 2018;46(D1):D1074-D82.
 10. Finan C, Gaulton A, Kruger FA, Lumbers RT, Shah T, Engmann J, et al. The druggable genome and support for target identification and validation in drug development. 2017;9(383):eaag1166.
 11. Goodsell DS, Zardecki C, Di Costanzo L, Duarte JM, Hudson BP, Persikova I, et al. RCSB Protein Data Bank: Enabling biomedical research and drug discovery. 2020;29(1):52-65.
 12. Zhou Y, Zhang Y, Lian X, Li F, Wang C, Zhu F, et al. Therapeutic target database update 2022: facilitating drug discovery with enriched comparative data of targeted agents. 2022;50(D1):D1398-D407.
 13. Radaeva M, Ton A-T, Hsing M, Ban F, Cherkasov AJ. *DDT*. Drugging the 'undruggable'. Therapeutic targeting of protein-DNA interactions with the use of computer-aided drug discovery methods. 2021;26(11):2660-79.
 14. Flannick J, Florez JC. *JNRG*. Type 2 diabetes: genetic data sharing to advance complex disease research. 2016;17(9):535-49.
 15. Abi Hussein H, Geneix C, Petitjean M, Borrel A, Flatters D, Camproux A-C. *DDT*. Global vision of druggability issues: applications and perspectives. 2017;22(2):404-15.
 16. Calahorrano AZ, Fernández EJ. *MU*. Diabetes mellitus tipo 2 en el Ecuador: revisión epidemiológica. 2018;2(4):3-9.
 17. Cirillo E, Kutmon M, Gonzalez Hernandez M, Hooimeijer T, Adriaens ME, Eijssen LM, et al. From SNPs to pathways: Biological interpretation of type 2 diabetes (T2DM) genome wide association study (GWAS) results. 2018;13(4):e0193515.
 18. Doncheva NT, Morris JH, Gorodkin J, Jensen LJ. *Jopr*. Cytoscape StringApp: network analysis and visualization of proteomics data. 2018;18(2):623-32.
 19. Elseginy SA. *JoBS*, Dynamics. Virtual screening and structure-based 3D pharmacophore approach to identify small-molecule inhibitors of SARS-CoV-2. *Mpro*. 2021:1-17.
 20. Fuchsberger C, Flannick J, Teslovich TM, Mahajan A, Agarwala V, Gaulton KJ, et al. The genetic architecture of type 2 diabetes. 2016;536(7614):41-7.
 21. Ghemrawi R, Battaglia-Hsu S-F, Arnold CJ. Endoplasmic reticulum stress in metabolic disorders. 2018;7(6):63.
 22. Gutiérrez-Rodelo C, Roura-Guiberna A, Olivares-Reyes JA. *JGMM*. Molecular mechanisms of insulin resistance: An update. 2017;153(2):214-28.
 23. Jin B, Liu R, Hao S, Li Z, Zhu C, Zhou X, et al. Defining and characterizing the critical transition state prior to the type 2 diabetes disease. 2017;12(7):e0180937.
 24. King A. Animal models of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Animal models for the study of human disease*: Elsevier; 2017. p. 245-65.
 25. Legeay M, Doncheva NT, Morris JH, Jensen LJ. Visualize omics data on networks with Omics Visualizer, a Cytoscape App. 2020;9.
 26. Lohohola PO, Mbala BM, Bambi S-MN, Mawete DT, Matondo A, Mvondo J. *MJI*. *TD*, et al. In Silico ADME/T properties of quinone derivatives using SwissADME and pkCSM web servers. 2021;42(11):1-12.
 27. Prahasti AE, Yuanita T, Rahayu RP. *JoID*, Research M. Computer Aided Drug Discovery Utilization in Conservative Dentistry. 2022;15(2):899-903.
 28. Reddy KA, Ashma M, Jyothi V, Jyostna TS. *JoPS*. Molecular Properties Prediction of Phenothiazine Derivatives by Using Swiss ADME, PkCSM, Lazar and Prottox. 2019:65-71.
 29. Tripathi A, Misra K. *JJC*. Molecular docking: A structure-based drug designing approach. 2017;5(2):1042-7.
 30. Wang X, Song K, Li L, Chen LJ. *TiMC*. Structure-based drug design strategies and challenges. 2018;18(12):998-1006.