



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA
CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA



Identificación de posibles dianas terapéuticas para la Enfermedad de Parkinson mediante la aplicación de métodos in silico

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención de título de Ingeniero Bioquímico, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Klever Javier Chimbo Gavilanes

Tutor: Mg. Cristian Fernando Galarza Galarza

Ambato-Ecuador

Febrero 2024

APROBACIÓN DEL TUTOR

MSc. Cristian Fernando Galarza Galarza

CERTIFICA

Que el presente Informe final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación opción de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 19 de diciembre del 2023

Msc. Cristian Fernando Galarza Galarza

C.I. 1803160272

TUTOR

AUTORIA DEL TRABAJO DE TITULACION

Yo, Klever Javier Chimbo Gavilanes, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de titulación, opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Bioquímico, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Klever Javier Chimbo Gavilanes

C.I. 1804616983

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él, como documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Klever Javier Chimbo Gavilanes

C.I. 1804616983

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, opción proyecto de investigación el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato

Para constancia firman:

Presidente del Tribunal

Dr. Mario Daniel García Solís

1103605471

Dra. Lorena De Los Ángeles Núñez Villacís

1804256905

Ambato, 06 de febrero 2024

DEDICATORIA

“Todo lo puedo en Cristo que me fortalece” Filipenses 4:13

A mi familia.

Mi abuelita, Cleofe, Mi cofre de cuentos y sueños de infancia; Mi Madre, Patricia Mi estrella polar que siempre marca mi norte y hacia donde avanzar; Mi tío, Thonlay, Mi guía y camino espiritual; Mi hermana, Natali, Mi complemento. Por ustedes, que me ha llevado a cumplir esta meta que, aunque parecía no llegar nunca, por fin se materializo como muestra de su amor infinito, por cada uno de los valores que me han inculcado, por enseñarme a ser perseverante en mi camino hasta lograr mis sueños y anhelos.

A Nataly, Amor de mi vida; por ti por tus consejos y por tu apoyo incondicional, por tu paciencia en malos momentos, vamos juntos por más.

Con Amor,

Javier.

AGRADECIMIENTO

“Gracias por sentarse conmigo a ver las estrellas”

Gracias a Dios por brindarme la sabiduría para lograr culminar con este paso tan importante en mi vida, un pequeño logro más. Gracias a mi Madre, viejita si no fuera por ti y por tu amor de madre jamás lo hubiera logrado, porque en ti encuentro mi inspiración a ser ese guerrero que lucha por cumplir cada promesa que se propone. Gracias a mi Tío por ser ese padre que nunca tuve, gracias Thonly por ese amor que jamás me negaste, por tus consejos por siempre estar, aunque sea con tu silencio lleno de cariño y amor.

Gracias a mi abuelita, por ser ese cofre de sueños que guardare por siempre en mi corazón, con su sonrisa que ilumina mi vida, mi amor nunca me faltes que por ti he logrado ser grande, por tus cuidados desde niño. Gracias a mi hermana, porque siempre me has sabido complementar, por tus consejos y por tus palabras de aliento en días buenos y días malos, sé que tú también lograras cada sueño que tienes. Confío en ti.

Gracias a Nataly; amor de mi vida que sin ti no lo hubiera logrado, por tu apoyo y amor incondicional. ¡Te amo!

Gracias a ustedes; Monserrath, Yessenia, Jordy, Karen e Ingrid, amigos y amigas de esta larga trayectoria, por ustedes que están y no están, y de alguna u otra manera también lo están logrando. Gracias a Mi tutor, Mg. Cristian Galarza que desde el primer día que llego a brindarme clases supo ser un ángel guardián dentro de esas aulas y hasta el final se convirtió en un gran amigo para mí.

Y por último, pero no menos importante al equipo de trabajo de Agroterranova, Ing., Luis Silva, Ing. Marianita López, Ing. Rosita Córdova, Lileana Andachi y Cristian Párraga, gracias por su paciencia y enseñanzas diarias.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
AUTORIA DEL TRABAJO DE TITULACION	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS	viii
ÍNDICE DE TABLAS	x
INDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xii
RESUMEN EJECUTIVO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
CAPÍTULO I	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes Investigativos.....	1
1.1.1. Enfermedad de Parkinson (EP)	1
1.1.2 Mecanismos Moleculares de la enfermedad de Parkinson	2
1.1.2. Enfoques terapéuticos.....	4
1.1.3. Bioinformática para la enfermedad de Parkinson.....	6
1.2. Objetivos	10
1.2.1 Objetivo General	10
1.2.2 Objetivos Específicos.....	10
CAPITULO II	11
METODOLOGÍA	11
2.1 Materiales y equipos	11
2.1.1 Materiales	11
2.2 Métodos.....	12
2.2.1 Selección Bibliográfica	12
2.2.2. Obtención de genes	12

2.2.2.5. Selección de los genes más relevantes	14
2.2.3 Integración de los datos.....	15
2.2.4 Validación de genes seleccionados	15
2.2.5 Prueba de viabilidad de dianas terapéuticas.....	16
2.2.6 Búsqueda de moléculas con posible interacción frente a las dianas ...	16
2.2.7 Cribado Virtual	17
2.2.8 Análisis de la toxicidad de las moléculas	17
2.2.9 Docking Molecular gen LRRK2 y Losulazine	18
CAPITULO III.....	18
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
3.1 Análisis y discusión.....	18
3.1.1 Análisis de las bases de datos.....	18
3.1.2. Análisis de la integración de datos	32
3.1.3 Análisis de la validación de los genes seleccionados	37
3.1.4 Prueba de viabilidad de las dianas terapéuticas.....	39
3.1.5 Análisis del cribado virtual con MTiOpeenScreen.....	42
3.1.6 Análisis de la toxicidad de las moléculas	51
CAPITULO IV	58
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	58
4.1 Conclusiones	58
4.2 Recomendaciones.....	59
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
ANEXOS	67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Genes relacionados al desarrollo de la Enfermedad de Parkinson obtenido de las bases de datos.	21
Tabla 2. Genes élite seleccionados para la creación de la red biológica de interacción por Cytoscape con el plugin GENEMANIA	29
Tabla 3. Interacción de genes en la aparición del Parkinson en Cytoscape con Genemania	33
Tabla 4. Fármacos existentes y potenciales para la Enfermedad de Parkinson.	38
Tabla 5. Cavidades puntuadas con probabilidad drugable del gen LRRK2.	40
Tabla 6. Fármacos con mejor energía de afinidad, posibles dianas terapéuticas para la EP.....	43
Tabla 7. Interpretaciones de datos.....	51
Tabla 8. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -13,2 a -11,6 kcal/mol Grupo 1	52
Tabla 9. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -11,4 a 11 kcal/mol Grupo 2	53
Tabla 11. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -11,5 kcal/mol Grupo 4	55
Tabla 12. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -11,5 a -10,6 kcal/mol Grupo 5	56
Tabla 14. Posibles dianas terapéuticas encontrados para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.....	58

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ruta de reciclaje celular (Apoptosis) mediada por el gen LRRK2	20
Figura 2. Interacción molecular gen LRRK2 por Cytoscape.....	36
Figura 3. Interacción de genes por STITCH.....	36
Figura 4. Pocket_0 de la probabilidad mayormente drugable de LRRK2 (Leucine-Rich Repeat Kinase 2)	41

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Búsqueda de genes élite de la enfermedad de Parkinson en MalaCards ...	67
Anexo 2. Investigaciones previas relacionadas a la EP con el soporte de genes élite	67
Anexo 3. Análisis de genes de la EP en Harmonizome Gene Set.	68
Anexo 4. Red de interacción biológica en STITCH y Cytoscape para la EP, gen LRRK2 con varias interacciones	68
Anexo 5. Validación de posibles fármacos disponibles para LRRK2 (Fostamanib).	69
Anexo 6. Bosquejo de cristalografía tridimensional gen LRRK2.	69
Anexo 7. Prueba DogSiteScorer de identificación de pockets con mayor drugabilidad.	70
Anexo 8. Cribado virtual con MTiOpeenScreen, espera de ligandos encontrados con las cordenadas de aminoácidos para el gen LRRK2.....	70
Anexo 9. Interacción Molecular tridimensional por MtiOpeenScreen.....	71
Anexo 10. VEGA in silico para evaluación de toxicidad de dianas probables para tratamiento de la EP.....	71
Anexo 11. Docking Molecular con PyRx entre gen LRRK2 y diana propuesta ligando Losulazine.....	72

RESUMEN EJECUTIVO

En la exploración de posibles blancos terapéuticos para tratar la enfermedad de Parkinson mediante la química computacional, se emplea el diseño de medicamentos utilizando herramientas de docking. Este proceso se basa en el análisis de genes como el LRRK2, donde el objetivo principal es identificar los sitios de unión más óptimos en términos de estabilidad energética, considerándolos como posibles ubicaciones ideales para la acción de proteínas. En este contexto, el cribado virtual permite verificar si los complejos formados entre la proteína y el ligando representan una vía potencial para la investigación de un fármaco específico para la enfermedad.

El análisis de diversas bases de datos de enfermedades, como MalaCards, Harmonizome, KEGG, OMIM, Unitpro, Disgenet, GeneReviews y Orphanet, ha permitido identificar los genes clave en la enfermedad del Parkinson. Estos genes son de gran importancia, ya que, entre numerosos candidatos, se seleccionaron aquellos que presentaban similitudes en procesos moleculares y disfunciones comunes. La agrupación y categorización de estos genes facilitó la creación de una red biológica de interacciones mediante Cytoscape, acompañada de una investigación bibliográfica de las rutas metabólicas y las relaciones entre ellos gracias a este enfoque se identificaron las mutaciones en el gen LRRK2 para luego buscar posibles sitios drugables en esta molécula, con el objetivo de formar complejos proteína-ligando. Así, los fármacos existentes o los ligandos pueden ser analizados mediante cribado y evaluación de propiedades toxicológicas.

En este estudio bioinformático de blancos terapéuticos, señalo que el principal ligando Losulazine presenta una mayor afinidad de interacción farmacológica con el gen LRRK2.

Palabras clave: Bioinformática, química computacional, cribado virtual, Parkinson, dianas terapéuticas, diseño de fármacos, docking molecular.

ABSTRACT

In the exploration of possible therapeutic targets to treat Parkinson's disease through computational chemistry, drug design using docking tools is employed. This process is based on the analysis of genes such as LRRK2, where the main objective is to identify the most optimal binding sites in terms of energetic stability, considering them as possible ideal locations for protein action. In this context, virtual screening makes it possible to verify whether the complexes formed between the protein and the ligand represent a potential avenue for the investigation of a disease-specific drug.

The analysis of several disease databases, such as MalaCards, Harmonizome, KEGG, OMIM, Unitpro, Disgenet, GeneReviews and Orphanet, has allowed the identification of key genes in Parkinson's disease. These genes are of great importance since, among numerous candidates, those with similarities in molecular processes and common dysfunctions were selected. The grouping and categorization of these genes facilitated the creation of a biological network of interactions using Cytoscape, accompanied by a bibliographic investigation of the metabolic pathways and the relationships between them, thanks to this approach, mutations in the LRRK2 gene were identified to then search for possible druggable sites in this molecule, with the aim of forming protein-ligand complexes. Thus, existing drugs or ligands can be analyzed by screening and evaluation of toxicological properties.

In this bioinformatics study of therapeutic targets, I point out that the main ligand Losulazine presents a higher affinity of pharmacological interaction with the LRRK2 gene.

Keywords: Bioinformatics, computational chemistry, virtual screening, EP, Parkinson disease, drug design, therapeutic targets, molecular docking.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

1.1.1. Enfermedad de Parkinson (EP)

La investigación sobre la enfermedad de Parkinson ha evolucionado significativamente a lo largo del tiempo, abarcando diversos aspectos que van desde la identificación de síntomas clínicos hasta los avances en la comprensión molecular y genética de la enfermedad. Inicialmente descrita por James Parkinson en 1817, la investigación se ha centrado en la caracterización de sus manifestaciones motoras, como temblores, rigidez y bradicinesia (**Balestrino & Schapira, 2020**).

A medida que avanzó el siglo XX, los estudios neuropatológicos revelaron la pérdida de células dopaminérgicas en la sustancia negra como una característica distintiva. La introducción de la levodopa en la década de 1960 marcó un hito en el tratamiento sintomático, aunque con el tiempo se evidenciaron complicaciones motoras y fluctuaciones en la respuesta al medicamento. Con el advenimiento de la biotecnología y la genómica, la investigación se ha dirigido hacia la identificación de factores genéticos que contribuyen a la susceptibilidad a la enfermedad. El descubrimiento de mutaciones en genes como SNCA y LRRK2 ha proporcionado información valiosa sobre las bases genéticas de la enfermedad de Parkinson, aunque la mayoría de los casos aún se consideran esporádicos (**Armstrong & Okun, 2020**).

Avances más recientes incluyen el uso de técnicas de neuroimagen para detectar cambios en el cerebro antes de la aparición de síntomas motores, así como investigaciones sobre posibles biomarcadores que faciliten un diagnóstico más temprano y preciso. La investigación actual también se centra en enfoques terapéuticos novedosos, como la estimulación cerebral profunda y estrategias para modular la inflamación y la función mitocondrial (**Rizek et al., 2016**).

1.1.1.1. Epidemiología

La EP es una de las enfermedades neurodegenerativas más comunes, y su prevalencia varía geográficamente. A nivel mundial, se estima que afecta a aproximadamente 1% de la población mayor de 60 años, pero esta cifra aumenta a medida que la población

envejece (Dorsey et al., 2018). La prevalencia es ligeramente mayor en hombres que en mujeres. La incidencia de la enfermedad también aumenta con la edad, siendo más común en personas mayores de 60 años. Sin embargo, un porcentaje significativo de casos se diagnostica en personas más jóvenes. Se estima que alrededor del 4-5% de los casos se presenta antes de los 50 años, clasificándose como casos de inicio temprano **(Simon et al., 2020)**.

Además de la edad, varios factores de riesgo han sido identificados. La predisposición genética desempeña un papel, con algunos casos vinculados a mutaciones genéticas específicas, aunque la mayoría de los casos son esporádicos. La exposición a ciertos agentes ambientales, como pesticidas, herbicidas y metales pesados, también se ha asociado con un mayor riesgo de desarrollar EP **(Rizek et al., 2016)**.

Se observan variaciones en la prevalencia de la EP según la región geográfica y las características étnicas de la población. Algunos estudios han sugerido diferencias en la incidencia entre poblaciones urbanas y rurales, así como entre grupos étnicos **(Váradi, 2020)**.

La EP es una enfermedad progresiva que conduce a la discapacidad a medida que avanza. Aunque la velocidad de progresión puede variar entre individuos, en general, la enfermedad impacta negativamente en la calidad de vida y puede requerir atención médica y apoyo a medida que se desarrollan los síntomas motores y no motores **(Armstrong & Okun, 2020)**. Dada su naturaleza crónica y discapacitante, la EP contribuye significativamente a la carga global de enfermedad. No solo afecta la calidad de vida de los pacientes, sino que también impone un considerable peso económico y social en términos de costos de atención médica y pérdida de productividad laboral **(Simon et al., 2020)**.

1.1.2 Mecanismos Moleculares de la enfermedad de Parkinson

La acumulación anormal de la proteína alfa-sinucleína es una característica distintiva de la EP. Esta proteína se agrega formando estructuras llamadas cuerpos de Lewy, presentes en las neuronas afectadas. La formación de estas inclusiones puede interferir con la función normal de las células nerviosas y desencadenar procesos tóxicos **(Simon et al., 2020)**.

El estrés oxidativo, resultado del desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno y la capacidad antioxidante del cuerpo, desempeña un papel crucial en la degeneración neuronal en la EP. Las neuronas dopaminérgicas son particularmente susceptibles al daño oxidativo, lo que contribuye a su muerte prematura (**Rizek et al., 2016**). Alteraciones en la función mitocondrial también son implicadas en la EP. Las mitocondrias, responsables de la producción de energía celular, muestran disfunciones en los pacientes con Parkinson, incluida la disminución de la capacidad de generar ATP y la liberación de moléculas tóxicas que pueden desencadenar apoptosis neuronal (**Váradi, 2020**). La respuesta inflamatoria en el sistema nervioso central, conocida como neuroinflamación, está asociada con la EP. Microglía y astrocitos, células del sistema inmunológico del cerebro, pueden activarse y liberar factores proinflamatorios que contribuyen al daño neuronal. La vía del sistema de ubiquitina-proteosoma, encargada de degradar proteínas no deseadas, está comprometida en la EP. La acumulación de proteínas mal plegadas, como alfa-sinucleína, puede abrumar este sistema, llevando a la acumulación de proteínas tóxicas en las células nerviosas (**Simon et al., 2020**).

Múltiples genes han sido identificados como asociados con la EP. Mutaciones en genes como SNCA (que codifica la alfa-sinucleína), LRRK2 y PARK2 pueden aumentar el riesgo de desarrollar la enfermedad. Estas mutaciones pueden afectar diversos aspectos celulares, desde la función mitocondrial hasta la regulación de la respuesta inflamatoria (**Domingos et al., 2019**). La EP también se asocia con la alteración del transporte axonal, el proceso por el cual las células nerviosas mueven sustancias a lo largo de sus prolongaciones. Esta desregulación puede afectar la distribución de vesículas sinápticas y contribuir al deterioro de las conexiones neuronales (**Saunders-Pullman et al., 2018a**).

1.1.1.2. Mutación G2019S del gen LRRK2

La mutación G2019S es la más común y bien estudiada en el gen LRRK2. Esta mutación se encuentra en la región de la cinasa del gen y lleva a un aumento de la actividad cinasa de LRRK2. Se ha asociado con un mayor riesgo de desarrollar la EP,

y la presencia de esta mutación es más frecuente en individuos de ascendencia europea y del norte de África (**Greenbaum et al., 2013**).

1.1.1.3. Mutación R1441C/G/H

Las mutaciones en la posición R1441 (R1441C, R1441G, R1441H) afectan la función de la GTPasa de LRRK2. Estas mutaciones han sido identificadas en varias poblaciones y se asocian con un mayor riesgo de EP. La variabilidad clínica asociada con estas mutaciones sugiere una diversidad en los fenotipos y la progresión de la enfermedad (**Muda et al., 2014**).

1.1.1.4. Mutación Y1699C

La mutación Y1699C ha sido encontrada en la región de la quinasa del gen LRRK2. Aunque es menos común que la G2019S, también se ha asociado con un riesgo elevado de desarrollar la EP. Estudios indican que esta mutación puede tener efectos variables en la penetrancia y la edad de inicio de los síntomas (**Lee & Cannon, 2015**).

1.1.2. Enfoques terapéuticos

Medicamentos Levodopa: La levodopa es el fármaco más eficaz para aliviar los síntomas motores de la EP. Se convierte en dopamina en el cerebro, compensando la deficiencia de dopamina en las neuronas dopaminérgicas afectadas. Sin embargo, su efectividad puede disminuir con el tiempo, y su uso prolongado puede llevar a complicaciones motoras (**Di Fonzo et al., 2005**).

Agonistas Dopaminérgicos: Estos medicamentos estimulan directamente los receptores de dopamina en el cerebro. Pueden ser utilizados en combinación con levodopa o como terapia inicial. Los agonistas dopaminérgicos ofrecen una opción para gestionar los síntomas motores y, en algunos casos, pueden retrasar la necesidad de levodopa (**Fernández-Pajarín et al., 2023**).

Inhibidores de la MAO-B: Los inhibidores de la monoaminoxidasa B (MAO-B) actúan bloqueando la enzima que degrada la dopamina en el cerebro. Esto ayuda a

mantener niveles más estables de dopamina y a mejorar los síntomas motores. Se utilizan tanto como monoterapia como en combinación con otros medicamentos.

Anticolinérgicos: Estos medicamentos contrarrestan el desequilibrio entre la dopamina y la acetilcolina en el cerebro, aliviando así algunos de los síntomas motores. Sin embargo, su uso se limita a ciertos casos debido a efectos secundarios como confusión y deterioro cognitivo (**Lunati et al., 2018**).

1.1.3.1 Terapia física y ocupacional

La rehabilitación física y ocupacional desempeña un papel esencial en el manejo de la EP. Estos programas incluyen ejercicios específicos para mejorar la movilidad, el equilibrio y la fuerza muscular. La terapia ocupacional se centra en facilitar las actividades diarias (**Osborne et al., 2022**).

Cirugía de Estimulación Cerebral Profunda (DBS): La DBS implica la implantación de electrodos en regiones específicas del cerebro y la entrega controlada de impulsos eléctricos. Esta intervención quirúrgica puede aliviar los síntomas motores, especialmente en pacientes que han desarrollado complicaciones con medicamentos (**Radder et al., 2020**).

1.1.3.2 Compuestos que actúan contra LRRK2 con mutación G2019S

En general, los tratamientos para la EP, incluidos aquellos asociados con la mutación G2019S, se centran en aliviar los síntomas y no en abordar directamente las causas genéticas. Algunos fármacos y enfoques terapéuticos que se utilizan para el tratamiento de la EP, independientemente de la presencia de la mutación G2019S, incluyen:

Levodopa: La levodopa sigue siendo uno de los medicamentos más efectivos para aliviar los síntomas motores de la EP, ya que se convierte en dopamina en el cerebro, compensando la deficiencia de dopamina en las neuronas dopaminérgicas afectadas (**Nagarajan et al., 2018**).

Inhibidores de la MAO-B: Medicamentos como rasagilina y selegilina, que son inhibidores de la monoaminoxidasa B (MAO-B), ayudan a mantener niveles más estables de dopamina al bloquear la enzima que la degrada en el cerebro (**Váradi, 2020**).

Agonistas Dopaminérgicos: Medicamentos como pramipexol, ropinirol y rotigotina estimulan directamente los receptores de dopamina en el cerebro, aliviando los síntomas motores (**Stoker & Greenland, 2018**).

1.1.3. Bioinformática para la enfermedad de Parkinson

La bioinformática aplicada a la enfermedad de Parkinson se presenta como una herramienta crucial en la investigación contemporánea. Este campo multidisciplinario utiliza métodos computacionales y análisis de datos para entender aspectos moleculares, genéticos y funcionales de la enfermedad. La identificación de genes relevantes, análisis de rutas metabólicas, y la búsqueda de posibles blancos terapéuticos se han beneficiado significativamente de técnicas bioinformáticas (**Domingos et al., 2019**).

La utilización de bases de datos como MalaCards, Harmonizome y KEGG, junto con herramientas como Cytoscape, ha permitido un análisis integrado de la información molecular y genómica. La identificación de mutaciones en genes como LRRK2 y la exploración de interacciones proteína-ligando mediante técnicas de docking son áreas de enfoque, facilitadas por la bioinformática. Además, la bioinformática desempeña un papel crucial en la interpretación de datos de secuenciación genómica, análisis de expresión génica y estudios de asociación genética. Estos enfoques ayudan a identificar biomarcadores, comprender la heterogeneidad de la enfermedad y avanzar en la personalización de tratamientos (**Tan et al., 2023**).

1.1.4.1. Diseño de fármacos mediante química computacional

El diseño de fármacos mediante química computacional es una disciplina innovadora que utiliza herramientas computacionales avanzadas para identificar y desarrollar nuevos compuestos terapéuticos de manera eficiente. Se basa en técnicas de modelado

molecular, acoplamiento molecular y dinámica molecular para predecir la interacción entre fármacos potenciales y sus blancos moleculares **(Meng et al., 2011)**.

La química computacional permite analizar la estructura tridimensional de las moléculas, evaluar la afinidad entre un fármaco y su objetivo, y predecir la estabilidad de los complejos proteína-ligando. Esto agiliza el proceso de cribado virtual, donde se exploran virtualmente miles de compuestos para identificar aquellos con mayor potencial terapéutico **(Silakari & Singh, 2021)**.

Este enfoque ha revolucionado la investigación farmacéutica al acelerar la identificación de candidatos a fármacos, optimizar la eficacia y reducir los costos asociados con la síntesis y prueba experimental. La química computacional no solo contribuye al descubrimiento de nuevos medicamentos, sino que también facilita la personalización de tratamientos y la comprensión detallada de las interacciones a nivel molecular **(Morris & Lim-Wilby, 2008) & (Silakari & Singh, 2021)**.

1.1.4.2. Virtual screening

El Virtual Screening como herramienta de la química computacional a día de hoy permite agilizar la identificación de compuestos químicos con potencial terapéutico al analizar virtualmente bibliotecas de moléculas. Utilizando métodos de modelado molecular y acoplamiento, esta técnica evalúa la capacidad de las moléculas para interactuar con blancos biológicos específicos, como proteínas asociadas a enfermedades **(Li & Shah, 2017)**.

En lugar de realizar costosos y laboriosos experimentos in vitro, el Virtual Screening permite preseleccionar candidatos prometedores de manera eficiente, reduciendo el número de compuestos a ser sintetizados y evaluados experimentalmente. Esta aproximación ha demostrado ser especialmente valiosa en el diseño de fármacos, acelerando el proceso de descubrimiento y optimización de nuevos medicamentos **(Gimeno et al., 2019)**.

1.1.4.3. Docking molecular

La técnica del Docking Molecular simula la interacción entre moléculas, generalmente fármacos, y sus blancos biológicos, como proteínas. Este método predice cómo las

moléculas se acoplan entre sí, estimando la afinidad y la geometría de la unión. Utilizando algoritmos y modelos matemáticos, el Docking Molecular ayuda a identificar posibles sitios de unión y evalúa la estabilidad de los complejos proteína-ligando (**Silakari & Singh, 2021**).

En el contexto del diseño de fármacos, el Docking Molecular es esencial para predecir la eficacia de un compuesto en la modulación de una proteína específica. Permite a los investigadores seleccionar candidatos a fármacos de manera eficiente, optimizando la probabilidad de éxito en experimentos posteriores. Esta técnica ha demostrado ser valiosa en la búsqueda y optimización de terapias, acelerando el proceso de desarrollo de nuevos medicamentos (**Gimeno et al., 2019**).

1.1.4.4. Preparación de las moléculas

La obtención preferente de estructuras tridimensionales se realiza a través de bases de datos oficiales que respaldan archivos mediante parámetros de cristalización y resolución. Estos archivos proporcionan configuraciones óptimas de afinidad para ligandos, ya sean de origen natural o sintético. Entre las bases de datos recomendadas para estudios con estructuras en formato .pdb se encuentran el Protein Data Bank (PDB) y el Protein Data Bank in Europe Knowledge Base (PDBe-KB).

En casos donde ciertas proteínas no están disponibles en estas bases de datos o no han sido cristalizadas, es posible diseñarlas o recuperarlas de bases de datos de simulación, como es el caso de AlphaFold, que ha demostrado ser una herramienta valiosa en la predicción de estructuras de proteínas.

Aunque la mayoría de las proteínas se encuentran en el PDB, algunas de ellas pueden presentar características especiales, como la dimerización, interacciones de ligandos, inclusiones de residuos de aminoácidos o incluso partículas de agua. En tales situaciones, es imperativo emplear software especializado como Pymol o Chimera. Estos programas son esenciales para eliminar interferencias y realizar un proceso detallado por separado tanto para la proteína como para el ligando, garantizando la precisión en el análisis estructural (**Meng et al., 2011**).

1.1.4.5. Acoplamiento rígido o flexible

El proceso de acoplamiento molecular entre la proteína y el ligando suele adoptar una naturaleza semiflexible, ya que la estructura estable y de mínima energía de la proteína impide que se despliegue o tenga numerosos grados de libertad. En este contexto, es el ligando el que experimenta giros, rotaciones y cambios en su flexibilidad para lograr un acoplamiento adecuado en el sitio de unión de la proteína (**Chen et al., 2020**). Algunos ligandos se encuentran en forma bidimensional, pero con herramientas como Vina o Avogadro, es posible convertirlos en estructuras tridimensionales al liberar su energía de torsión.

Un paso esencial en este proceso implica agregar libertad de torsión a los ligandos, permitiendo que los ángulos de estas moléculas pequeñas adquieran energía y se desplieguen, facilitando la interacción posterior. Este enfoque semiflexible proporciona mayor practicidad en comparación con métodos de acoplamiento rígidos o flexibles (**Pinzi & Rastelli, 2019**).

En el acoplamiento rígido, no hay opción para la flexibilidad en ninguna parte de las moléculas. Esta técnica se centra en el ajuste preciso de ligandos y proteínas específicas, excluyendo la posibilidad de cambios estructurales. Por otro lado, el acoplamiento flexible brinda total libertad para la alteración funcional del complejo proteína-ligando, aunque no se recomienda debido a la pérdida de parámetros importantes y al elevado esfuerzo computacional requerido (**Torres et al., 2019**).

1.1.4.6. Función de puntuación de interacción de complejo proteína-ligando

La evaluación de la drugabilidad del ligando unido a la proteína se basa en diversos parámetros y algoritmos configurados en el software utilizado, ya sea Autodock u otras herramientas similares. En este proceso, el ligando no solo busca una única forma de unirse a la proteína, sino que se considera una amplia gama de posiciones potenciales para el establecimiento de contactos. Este análisis implica la evaluación de grados de torsión, afinidad, fuerza de enlaces, distancia entre ellos y energía libre (**Pinzi & Rastelli, 2019**).

La drugabilidad se determina buscando condiciones óptimas para la formación del complejo proteína-ligando, favoreciendo siempre una menor energía libre. Este enfoque busca identificar las conformaciones moleculares más estables y efectivas para guiar el diseño de fármacos y la selección de candidatos terapéuticos.

Cabe destacar que la drugabilidad no solo depende de la interacción específica entre el ligando y la proteína, sino también de la capacidad del ligando para atravesar barreras biológicas y llegar al sitio de acción. Por lo tanto, la evaluación integral de la drugabilidad implica considerar factores farmacocinéticos y farmacodinámicos para garantizar la eficacia del compuesto en un contexto biológico más amplio (Li & Shah, 2017).

1.2. Objetivos

1.2.1 Objetivo General

- Identificar posibles dianas terapéuticas para la Enfermedad de Parkinson mediante la aplicación de métodos in silico.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Identificar dianas terapéuticas utilizando bases de datos biológicas.
- Comprobar la viabilidad de las dianas identificadas a través de programas bioinformáticos.
- Evaluar las propiedades fármaco-cinéticas de los posibles medicamentos que tienen efecto sobre las dianas.

CAPITULO II

METODOLOGÍA

2.1 Materiales y equipos

2.1.1 Materiales

2.1.1.1. Softwares, websites y bases de datos para bioinformática:

- MalaCards
- OMIM
- HARMONIZOME
- Orphanet
- Disgenet
- Gene Reviews
- Drugbank
- PreoteinPlus
- AlphaFold
- GeneCards
- Protein Data Bank
- Protein Data Bank in Europe Knowledge Base
- AutoDock Tools
- AutoDock Vina
- PyRx
- Avogadro
- Cytoscape (GeneMania)
- MTIOpenScreen
- QSARVega

2.1.2 Equipos

PC personal

2.2 Métodos

2.2.1 Selección Bibliográfica

La indagación se apoyó en recursos de información sobre enfermedades tales como MalaCards, KEGG, GeneCards, Disgenet, Orphanet, NCBI, PubMed, Scielo, y Nature. Se emplearon estas bases de datos para recopilar datos referentes a las bases moleculares de la enfermedad de Parkinson, con el objetivo de profundizar en la comprensión de las alteraciones y disfunciones que experimentan los genes involucrados en este proceso (**Gudmundsson et al., 2022**).

Además de utilizar estas fuentes, se llevó a cabo una revisión exhaustiva de la literatura científica disponible en PubMed y otras plataformas académicas, así como la exploración de bases de datos especializadas como Scielo y Nature. Esta estrategia de investigación permitió obtener una visión más completa y actualizada de las modificaciones moleculares relacionadas con la enfermedad de Parkinson.

Este enfoque integral, al incorporar diversas fuentes y revisar la literatura científica más reciente, contribuye a la robustez y relevancia de la investigación al proporcionar una base sólida de conocimientos moleculares sobre la enfermedad.

2.2.2. Obtención de genes

2.2.2.1 MalaCards

Dentro de los resultados obtenidos en la búsqueda de la enfermedad de Parkinson (EP), se identificó la entrada de la EP con mayor precisión para la enfermedad. En consecuencia, se optó por la entrada "Parkinson Disease Late-Onset", la cual presenta notables interacciones y congruencias la enfermedad de Parkinson en literatura. Es importante destacar que esta entrada aparte de ser la mejor puntuada es la más completa, con una puntuación de MIFTS de 82 y un score de 170491. Estos valores indican el nivel de información contenido en la entrada dentro de la base de datos.

Además de esta selección, se exploraron otras bases de datos relevantes, como GeneCards, KEGG, y PubMed, para obtener una visión más integral de las relaciones genéticas y moleculares asociadas a la enfermedad de Parkinson. Esta estrategia amplía la comprensión de la enfermedad al considerar múltiples fuentes de

información, facilitando una exploración más completa de las interacciones genéticas y moleculares vinculadas a la EP.

2.2.2.2 Harmonizome

La plataforma Harmonizome alberga bibliotecas de genes y bibliotecas relacionadas con enfermedades asociadas a genes. En este contexto, se optó por explorar la opción "gene set" con la entrada de la enfermedad de Parkinson EP en inglés: Parkinson Disease Late-Onset. A pesar de que la revisión de los resultados reveló cierta incompletitud de información en la base de datos, se procedió al análisis detallado de la entrada "Parkinson Late-Onset". Esta revisión gen por gen permitió evaluar las similitudes y congruencias con la revisión anterior en MalaCards.

La estrategia de comparar genes que comparten interacciones con buenas puntuaciones positivas en ambas bases de datos contribuyó a la selección de genes relevantes para un análisis posterior. Además de la información proporcionada por Harmonizome, se consultaron otras bases de datos y recursos relevantes, como GeneCards y PubMed, para enriquecer la comprensión de las relaciones genéticas y moleculares asociadas a la EP. Esta aproximación integral mejora la robustez de la investigación al considerar diversas fuentes de información y facilita un análisis más completo de los genes involucrados en la enfermedad de Parkinson.

2.2.2.3 OMIM

En respuesta a la limitación que presentó esta base de datos, se optó por seleccionar varias entradas con referencias a Parkinson Disease en general. Sin embargo, estas entradas solo constaban con genes individuales y muy bien determinados como el PINK1, PARK, SCNA y LRRK2.

Se evaluó la relevancia del gen LRRK2 en el contexto de futuras interacciones y congruencias con respecto a la EP. Para enriquecer esta revisión, se amplió la investigación mediante la consulta de otras bases de datos, incluyendo GeneCards y KEGG. Este enfoque permitió obtener una perspectiva más abarcadora de los genes y las vías moleculares vinculadas a la enfermedad de Parkinson. Como resultado, se

mejoró significativamente la comprensión de la participación genética en la enfermedad, facilitando una evaluación más completa y detallada de las conexiones moleculares relacionadas con el objetivo de estudio.

2.2.2.4. KEGG

La base de datos proporcionó conocimientos valiosos acerca de las rutas metabólicas relacionadas tanto con la enfermedad como con los genes involucrados en las cascadas que resultan en disfunciones y desregulaciones durante el proceso de acumulación de cuerpos de Levy en la masa negra en la EP. Aunque la ruta general de la enfermedad de Parkinson plantea un proceso complicado se delimitó a una región específica donde actúa directamente el gen LRRK2, además de que en dicha representación se ve una interacción clara en otros genes representativos en la EP.

2.2.2.5. Selección de los genes más relevantes

Con base en la evaluación del puntaje obtenido para cada gen a través de diversas bases de datos, y considerando la relación gen-enfermedad, así como la coherencia con otros genes y la información respaldada por la literatura, se procedió a la selección de los genes que se consideran de mayor relevancia en la enfermedad de Parkinson. Estos genes seleccionados se clasificaron en grupos según su disfunción y las relaciones identificadas.

Además de la información proporcionada, se exploraron las disfunciones específicas de estos genes para una comprensión más detallada. Entre las disfunciones destacadas se encuentran la desregulación en la actividad transcripcional y la activación de señalización descontrolada. Estas disfunciones ofrecen datos valiosos sobre los mecanismos moleculares que contribuyen al desarrollo y progresión de la enfermedad de Parkinson, proporcionando una base sólida para futuras investigaciones y enfoques terapéuticos.

2.2.3 Integración de los datos

Utilizando el software Cytoscape con el complemento GeneMania, especializado en la recopilación de genes, se creó una red biológica de interacciones con los genes seleccionados como representativos para la EP. Esta estrategia permitió establecer una hipótesis para identificar los principales genes a priorizar en la investigación.

Los pasos realizados fueron los siguientes:

- a. Se ingresaron los 50 genes en Cytoscape y se seleccionó el modo Homo sapiens.
- b. Generación de la red biológica de interacciones de genes gracias al plugin GeneMania dentro de Cytoscape.

Una vez generada la red de interacción, se evaluaron los genes con interacciones más fuertes, basándose en los nodos que los conformaban. Dado que la interacción no mostró un reconocimiento significativo de los genes expuestos y, a su vez, incluyó genes adicionales que, verificados bibliográficamente, estaban relacionados con enfermedades distintas a la EP se tomó en cuenta únicamente el gen más representativo en este caso el LRRK2 con posterior validación en la plataforma de STITCH al realizar la misma interacción de genes y obteniendo resultados similares. Este enfoque garantiza la priorización de genes con conexiones más relevantes en el contexto de la enfermedad de Parkinson para futuras investigaciones.

2.2.4 Validación de genes seleccionados

Se llevó a cabo una exploración en la base de datos de DrugBank utilizando los nombres y sinónimos respectivos de los genes. Esta búsqueda tuvo como objetivo identificar posibles opciones farmacológicas y ligandos asociados a cada gen. Se obtuvieron múltiples resultados que incluyeron fármacos disponibles, aquellos en fase de desarrollo y otros en etapa experimental.

No obstante, para el gen LRRK2, en su mayoría, no se conoce su función específica en el contexto de los fármacos identificados. Este vacío de conocimiento presenta una oportunidad significativa para contribuir a la identificación de nuevas dianas terapéuticas para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson. Este descubrimiento podría conducir a investigaciones más detalladas y a la eventual formulación de

estrategias terapéuticas más efectivas para abordar estas áreas aún poco conocidas en el tratamiento de la EP.

2.2.5 Prueba de viabilidad de dianas terapéuticas

Se empleó la plataforma ProteinPlus de para determinar la drugabilidad en los dominios de las proteínas objetivo. Esta herramienta permite mapear la proteína utilizando el código proporcionado por el Protein Data Bank (PDB). Después de ingresar el código de la molécula receptora, se optó por utilizar la herramienta DoGSiteScorer, una de las diversas opciones disponibles en ProteinPlus.

Los parámetros de DoGSiteScorer posibilitan la predicción de interacciones de las dianas con diversas moléculas, como ligandos y proteínas, así como interacciones mediante puentes de hidrógeno, todo dentro de un entorno de modelado tridimensional. Se procedió a evaluar el grado de drugabilidad y se seleccionó el sitio de unión mejor puntuado como el óptimo.

En una evaluación posterior, el gen LRRK2 analizado con DoGSiteScorer, exhibió la configuración más favorable para el segmento P_0, con una capacidad volumétrica de 1116,17 Å³, una profundidad de 1442,13 Å² y un potencial drugable de 0,8. Estos resultados proporcionan información valiosa sobre la posibilidad de diseñar compuestos terapéuticos específicos para el gen LRRK2 en el contexto de la drugabilidad de su estructura tridimensional.

2.2.6 Búsqueda de moléculas con posible interacción frente a las dianas

Utilizando AutoDockTools, se determinaron las coordenadas de la Box Grid, tanto en términos de dimensiones como en la ubicación espacial del sitio de unión, utilizando los residuos de aminoácidos específicos especificados por el mismo software. La Grid se posicionó dentro del área de dominio más probable para facilitar la interacción proteína-ligando. De este modo, se obtuvieron los siguientes valores para la Box Grid.

Dimensiones de la Grid Box LRRK2:

X= 96

Y=88

Z=64

Dimensión de localización espacial Grid Box LRRK2:

X= 162,675

Y= 201,021

Z= 195,446

2.2.7 Cribado Virtual

Con el propósito de mejorar los resultados del proceso de cribado utilizando Vina en MTIOpenScreen, se empleó la estructura tridimensional limpia y preparada con anterioridad. Este procedimiento incluyó la eliminación de residuos de átomos y aminoácidos no deseados, así como de moléculas de agua y posibles ligandos que podrían estar unidos a las proteínas cristalizadas descargadas del Protein Data Bank. Una vez que se cargó el archivo 7lht en formato .pdb en la plataforma web, se optó por seleccionar la opción de parámetros personalizados (Custom parameters) para introducir las coordenadas de aminoácidos del sitio de unión en términos de dimensiones y ubicación espacial. Estas coordenadas fueron previamente determinadas mediante la Grid Box en AutodockTools.

2.2.8 Análisis de la toxicidad de las moléculas

Se empleó el software Vega, especializado en modelos de Relación Cuantitativa Estructura-Actividad (QSAR), con el objetivo de evaluar la actividad biológica resultante una vez que se forma el complejo proteína-ligando. Estas evaluaciones fueron sometidas a filtros algorítmicos basados en análisis fisicoquímicos, estructura química y otros criterios. Posteriormente, se realizó una búsqueda de los códigos (SMILES) en la plataforma ZINC para determinar la aprobación de la posible diana terapéutica.

Finalmente, se llevó a cabo un análisis de las propiedades de cada ligando candidato destacando entre ellas la evaluación de mutagenicidad, hepatotoxicidad, Sensibilidad a la piel y carcinogénesis, y se verificaron dichas propiedades mediante la consulta de fuentes bibliográficas para confirmar la posible viabilidad de los fármacos obtenidos.

2.2.9 Docking Molecular gen LRRK2 y Losulazine

Se procedió a probar la interacción molecular entre la molecula LRRK2 y el mejor ligando seleccionado como diana objetivo Losulazine mediante el software PyRx el cual contiene funciones de AutoDockTools, en este proceso se utilizó tanto la proteína como el ligando limpio para obtener un aproximado de las interacciones resultanes del MTIOpenScreen con el fin de corroborar los valores de energía de unión que permitieron verificar la estabilidad de dicha interacción.

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión

3.1.1 Análisis de las bases de datos

La extracción de 34 genes de la plataforma Malacards sugirió como punto de inicio tomar las interacciones referentes que se analizan como “gen y enfermedad” y que comprometen de una u otra manera los genes propuestos por este sitio web como piezas fundamentales en la búsqueda de posibles dianas terapéuticas para tratar la enfermedad de Parkinson, por lo mismo se tiene un score que indica que varios estudios e investigaciones previos corroboran el protagonismo del gen LRRK2 en el desencadenamiento de esta enfermedad. Sin embargo, más allá de esta base de datos, investigaciones en la misma línea sugieren que hay más genes que pueden estar interactuando en las complicaciones que desencadenan la enfermedad de Parkinson (Domingos et al., 2019), lo que conllevó a una exhaustiva búsqueda por otras bases

de datos como OMIM, Harmonizome, KEGG, Orph, Genes Reviews y Disgenet con el fin de verificar estos datos, donde efectivamente varios de estos genes previamente obtenidos tenían relación directa o indirecta con la EP. Luego de un análisis para discernir los elementos necesarios para la presente investigación se seleccionó 24 genes que a priori pueden agruparse por tipos de disfunciones, esto con el fin de entender de mejor manera la interacción molecular que puedan tener estos. En la figura 1 las rutas metabólicas proporcionadas por el KEGG mostraron claramente que existe una intervención clave del gen LRRK2 para la acumulación de moléculas recicladas en la autofagia celular (**Greenbaum et al., 2013**).

La obtención de 50 genes de la plataforma Malacards condujo la investigación hacia las interacciones catalogadas como "gen y enfermedad", explorando genes fundamentales según este sitio web en la búsqueda de posibles blancos terapéuticos para la enfermedad de Parkinson. Este enfoque se respalda con un puntaje de score que refleja la aceptación y validación de estudios previos, es así que se confirma la importancia del gen LRRK2 en el inicio y desarrollo de esta enfermedad (**Zhang et al., 2018**). No obstante, más allá de esta base de datos, investigaciones similares indican la presencia de más genes que podrían estar implicados en las complicaciones que desembocan en la EP. Esto motivó una búsqueda minuciosa en otras bases de datos como OMIM, Harmonizome, KEGG, Orph, Genes Reviews y Disgenet para verificar estos datos. En efecto, varios de los genes obtenidos anteriormente presentaban conexiones directas o indirectas con la EP.

Luego de un análisis para identificar los elementos esenciales de la investigación, se eligieron 23 genes que, en principio, podrían clasificarse según tipos de disfunciones. Este enfoque busca mejorar la comprensión de posibles interacciones moleculares entre estos genes. Las rutas metabólicas proporcionadas por KEGG, representadas en la Figura 1, dejaron en claro la intervención crucial del gen LRRK2 en la función mitocondrial y la regulación del estrés oxidativo que da como resultado un buen o mal desempeño de la vía apoptótica celular y disfunción de la autofagia (**Pajarillo et al., 2019**).

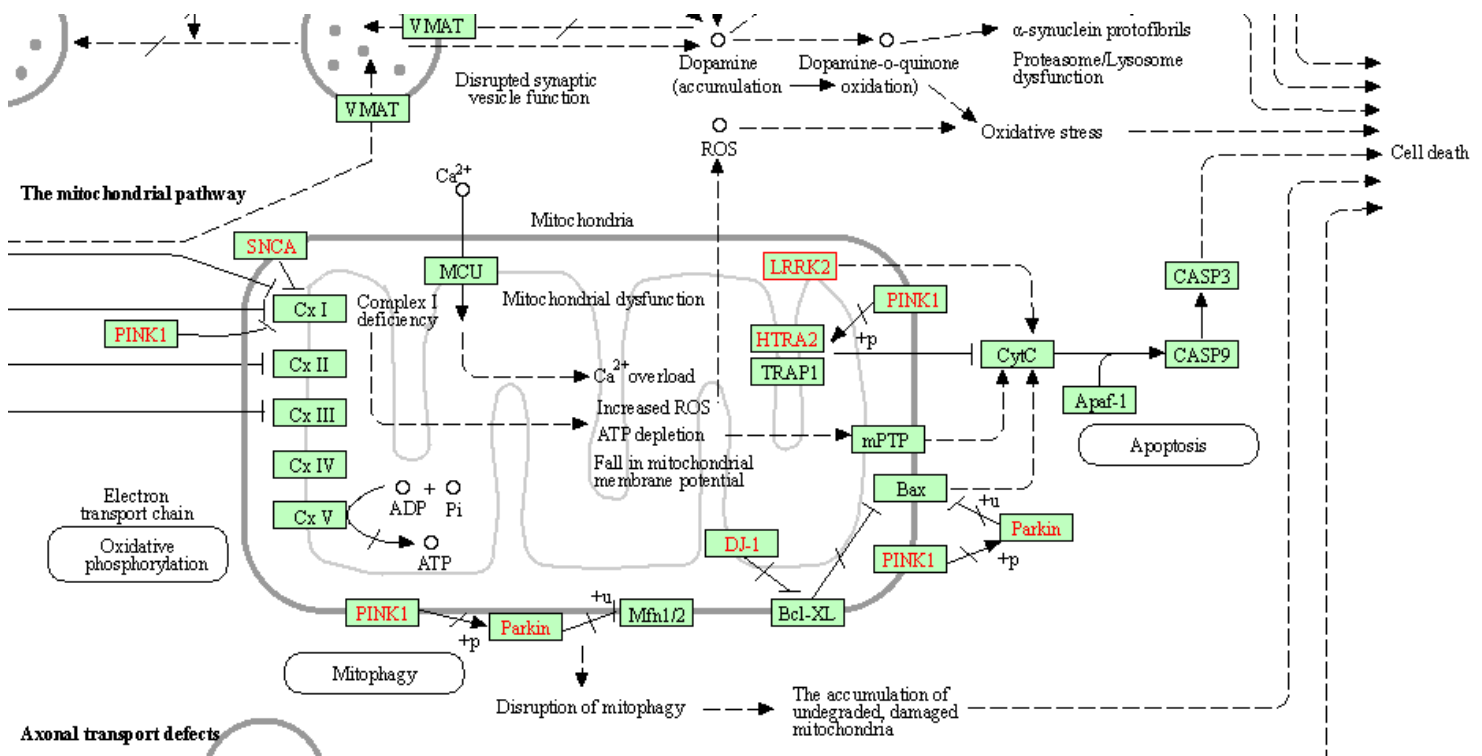


Figura 1. Ruta de reciclaje celular (Apoptosis) mediada por el gen LRRK2

Tabla 1. Genes relacionados al desarrollo de la Enfermedad de Parkinson obtenido de las bases de datos.

#	Genes	PROTEINA	DISFUNCIÓN	DATABASE				
				MalaCards	OMIM	Harmonizome	KEGG	Orph
1	MAPT	Microtubule Associated Protein Tau	involucrado en la falla del establecimiento y mantenimiento de la polaridad neuronal	1097,57	si	1,4142	si	si
2	GBA1	Glucosylceramidase Beta 1	deficiencia en la enzima glucocerebrosidasa	1096,46	si	1,63	si	si
3	GLUD2	Glutamate Dehydrogenase 2	regulación del metabolismo del glutamato.	1054,38	si	1,8583	si	si
4	ATXN2	Ataxin 2	conduce a la producción de una proteína ataxina-2 con una repetición anormalmente larga de glutamina.	688,93	si	2,44	no	si

5	TBP	TATA-Box Binding Protein	regulación de la transcripción génica en las células	682,97	no	2,855	no	si
6	ATXN8OS	ATXN8 Opposite Strand LncRNA	expansión anormal de una secuencia de repetición de trinucleótidos (CTG)	679,33	no	2,789	no	no
7	ADH1C	Alcohol Dehydrogenase 1C (Class I), Gamma Polypeptide	regulación anormal de una enzima llamada alcohol deshidrogenasa clase I,	658,5	no	no	no	no
8	NR4A2	Nuclear Receptor Subfamily 4 Group A Member 2	regulación de la expresión génica en las neuronas dopaminérgicas	523,1	no	no	no	no
9	LRRK2	Leucine Rich Repeat Kinase 2	afectación a la vía de señalización celular y la regulación de otros procesos celulares, como la autofagia	454,36	si	1,878	no	no
10	LOC106627981	GBA Recombination Region	Probablemente patógeno	425	no	no	no	si
11	DNAJC13	DnaJ Heat Shock Protein Family	fallo en el tráfico intracelular y la endocitosis mediada por receptores, procesos que son esenciales para la regulación del	414,1	no	0,861	no	si

		(Hsp40) Member C13	tráfico de vesículas y la eliminación de componentes celulares no deseados.					
12	VPS13C	Vacuolar Protein Sorting 13 Homolog C	disfunción en la regulación de las vesículas y los procesos de transporte intracelular	413,43	no	no	no	no
13	MT-ND1	Mitochondrially Encoded NADH:Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit 1	disminución en la actividad de la subunidad 1 del complejo I, lo que afecta la capacidad de la mitocondria para generar ATP a través de la fosforilación oxidativa	411,24	si	no	no	si
14	MIR133B	MicroRNA 133b	regulación de la expresión de genes relacionados con el desarrollo muscular y la función cardíaca	405,83	no	2,485	no	si
15	PSAP	Prosaposin	acumulación anormal de glucolípidos en las células.	405,57	si	no	no	no
16	RFC1	Replication Factor C Subunit 1	disfunción en la proteína RFC que forma parte del complejo de reparación de ADN.	400	no	no	no	no
17	MIR433	MicroRNA 433	Asociado al parkinson	355,63	no	no	no	no

18	PRKN	Parkin RBR E3 Ubiquitin Protein Ligase	regulación de la degradación de proteínas y la eliminación de mitocondrias dañadas	328,04	no	2,9457	no	si
19	SNCAIP	Synuclein Alpha Interacting Protein	mayor tendencia de la alfa-sinucleína a formar agregados anormales en el cerebro, conocidos como cuerpos de Lewy,	122,67	no	no	no	no
20	PARK10	Parkinson Disease 10 (Susceptibility)	Asociado al parkinson	50	no	no	no	no
21	PARK12	Parkinson Disease 12 (Susceptibility)	Asociado al parkinson	50	no	no	no	no
22	PARK16	Parkinson Disease 16 (Susceptibility)	Asociado al parkinson	50	no	no	no	no
23	PARK 21	Parkinson Disease 21	Asociado al parkinson	50	no	no	no	no
24	NEAT1	Nuclear Paraspeckle Assembly Transcript 1	regulación de la expresión génica	155,31	no	no	no	no

25	PINK1-AS	PINK1 Antisense RNA	Asociado al parkinson	155,04	no	no	no	no
26	MAPT-AS1	MAPT Antisense RNA 1	regulación de la expresión génica en la región del gen MAPT	154,94	no	no	no	no
27	UCHL1-DT	UCHL1 Divergent Transcript	Asociado al parkinson	154,9	no	no	no	no
28	LINC01262	Long Intergenic Non-Protein Coding RNA 1262	Asociado al parkinson	154,83	no	no	no	no
29	SNHG12	Small Nucleolar RNA Host Gene 1	regulación de la expresión génica y en una variedad de procesos celulares	154,8	no	no	no	no
30	HOTAIR	HOX Transcript Antisense RNA	cáncer de mama y en el cáncer de colon	154,61	no	no	no	no
31	MALAT1	Metastasis Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1	promoción de la metástasis y el crecimiento tumoral	153,53	no	no	no	no

32	PCA3	Prostate Cancer Associated 3	asociado con el cáncer de próstata	153,12	no	no	no	no
33	DPY19L2P2	DPY19L2 Pseudogene 2	involucrado en la síntesis y el mantenimiento de los espermatozoides	150	no	no	no	no
34	H19	H19 Imprinted Maternally Expressed Transcript	regulación de la homeostasis de la glucosa y la diabetes tipo 2	150	no	no	no	no
35	LINC01734	Long Intergenic Non-Protein Coding RNA 1734	no asociado con enfermedades específicas o disfunciones moleculares conocidas	150	no	no	no	no
36	MIR4422HG	MIR4422 Host Gene	no asociado con enfermedades específicas o disfunciones moleculares conocidas	150	no	no	no	no
37	RNU1-1	RNA, U1 Small Nuclear 1	eliminación de los intrones en el proceso de maduración del ARN	150	no	no	no	no
38	SCOC-AS1	SCOC Antisense RNA 1	no asociado con enfermedades específicas o disfunciones moleculares conocidas	150	no	no	no	no

39	ATXN3	Ataxin 3	expansión anormal de una repetición de trinucleótidos, específicamente la repetición de CAG en el gen ATXN3.	31,8	no	no	no	no
40	DNAJB6	DnaJ Heat Shock Protein Family (Hsp40) Member B6	fallo en mantener la integridad de las proteínas musculares y evita que se agreguen en estructuras anormales	30,46	no	no	no	no
41	SNCAIP	Synuclein Alpha	acumulación y agregación anormal de la proteína alfa-sinucleína en el cerebro	29,52	no	no	no	no
42	TNK2	Tyrosine Kinase Non Receptor 2	disfunción molecular en la actividad de esta quinasa y, en consecuencia, afectar su capacidad para regular la señalización celular.	28,61	no	no	no	no
43	PINK1	PTEN Induced Kinase 1	regulación de la función mitocondrial en las células	27,62	no	no	no	no
44	PARK7	Parkinsonism Associated Deglycase	las células son más susceptibles al daño causado por el estrés oxidativo.	27,35	no	no	no	no

45	SLC6A3	Solute Carrier Family 6 Member 3	isfunción molecular que afecta la función del transportador de dopamina	25,77	no	no	no	no
46	TH	Tyrosine Hydroxylase	disminución en la producción de neurotransmisores como la dopamina	25,75	no	no	no	no
47	ATXN8	Ataxin 8	expansión anormal de una repetición de nucleótidos, específicamente la repetición CTG.	25	no	no	no	no
48	LOC108663987	Ataxin 3 Repeat Instability Region	no asociado con enfermedades específicas o disfunciones moleculares conocidas	25	no	no	no	no
49	LOC108663996	TATA-Box Binding Protein Repeat Instability Region	no asociado con enfermedades específicas o disfunciones moleculares conocidas	25	no	no	no	no
50	MAOB	Monoamine Oxidase B	regulación de los niveles de neurotransmisores en el cerebro	24,49	no	no	no	no

Tabla 2. Genes élite seleccionados para la creación de la red biológica de interacción por Cytoscape con el plugin GENEMANIA

#	Genes	PROTEINA	DISFUNCIÓN
1	MAPT	Microtubule Associated Protein Tau	involucrado en la falla del establecimiento y mantenimiento de la polaridad neuronal
2	GBA1	Glucosylceramidase Beta 1	deficiencia en la enzima glucocerebrosidasa
3	GLUD2	Glutamate Dehydrogenase 2	regulación del metabolismo del glutamato.
4	ATXN2	Ataxin 2	conduce a la producción de una proteína ataxina-2 con una repetición anormalmente larga de glutamina.
5	TBP	TATA-Box Binding Protein	regulación de la transcripción génica en las células

6	ATXN8OS	ATXN8 Opposite Strand LncRNA	expansión anormal de una secuencia de repetición de trinucleótidos (CTG)
7	ADH1C	Alcohol Dehydrogenase 1C (Class I), Gamma Polypeptide	regulación anormal de una enzima llamada alcohol deshidrogenasa clase I,
8	NR4A2	Nuclear Receptor Subfamily 4 Group A Member 2	regulación de la expresión génica en las neuronas dopaminérgicas
9	LRRK2	Leucine Rich Repeat Kinase 2	afectación a la vía de señalización celular y la regulación de otros procesos celulares, como la autofagia
10	LOC106627981	GBA Recombination Region	Probablemente patógeno
11	DNAJC13	DnaJ Heat Shock Protein Family (Hsp40) Member C13	fallo en el tráfico intracelular y la endocitosis mediada por receptores, procesos que son esenciales para la regulación del tráfico de vesículas y la eliminación de componentes celulares no deseados.
12	VPS13C	Vacuolar Protein Sorting 13 Homolog C	disfunción en la regulación de las vesículas y los procesos de transporte intracelular
13	MT-ND1	Mitochondrially Encoded NADH:Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit 1	disminución en la actividad de la subunidad 1 del complejo I, lo que afecta la capacidad de la mitocondria para generar ATP a través de la fosforilación oxidativa

14	MIR133B	MicroRNA 133b	regulación de la expresión de genes relacionados con el desarrollo muscular y la función cardíaca
15	PSAP	Prosaposin	acumulación anormal de glucolípidos en las células.
16	RFC1	Replication Factor C Subunit 1	disfunción en la proteína RFC que forma parte del complejo de reparación de ADN.
17	MIR433	MicroRNA 433	Asociado al parkinson
18	PRKN	Parkin RBR E3 Ubiquitin Protein Ligase	regulación de la degradación de proteínas y la eliminación de mitocondrias dañadas
19	SNCAIP	Synuclein Alpha Interacting Protein	mayor tendencia de la alfa-sinucleína a formar agregados anormales en el cerebro, conocidos como cuerpos de Lewy,
20	PARK10	Parkinson Disease 10 (Susceptibility)	Asociado al parkinson
21	PARK12	Parkinson Disease 12 (Susceptibility)	Asociado al parkinson

Los registros contenidos en la tabla 1 revelan la presencia de 50 genes que comparten una asociación con la disfunción previamente identificada. Sin embargo, numerosas de estas similitudes se encuentran en fases tempranas de investigación y demandan múltiples etapas de estudio para validar su relación con la potencial manifestación de la enfermedad de Parkinson (Hatano et al., 2014). Algunas de estas similitudes aún no han sido sometidas a análisis experimental, registros clínicos o historiales, aunque existen simulaciones y predicciones.

Hasta la fecha, el principal fenómeno impulsor de la EP es la alfa-sinucleína que es una proteína que se encuentra comúnmente en el cerebro (Simpson et al., 2022). Su función exacta no se comprende completamente, pero se cree que está involucrada en la regulación de la liberación de neurotransmisores en las sinapsis, que son las conexiones entre las células nerviosas. La alfa-sinucleína normalmente se presenta en forma soluble en las células cerebrales (Trinh et al., 2018).

En la enfermedad de Parkinson, la alfa-sinucleína experimenta cambios anormales, lo que lleva a la formación de agregados proteicos llamados cuerpos de Lewy. Estos cuerpos de Lewy se acumulan en las células nerviosas, especialmente en las regiones del cerebro responsables del control del movimiento (Simpson et al., 2022). La acumulación de estos agregados se asocia con el daño y la muerte de las células nerviosas, lo que contribuye a los síntomas motores característicos de la enfermedad de Parkinson (Somme et al., 2015).

Adicionalmente, se ha reconocido la importancia del gen LRRK2 en este proceso y aunque no se comprenda en su totalidad su función es un candidato idóneo para la investigación debido a la disponibilidad de sus estructuras y algunas investigaciones paralelas. Por otro lado, la carencia de datos validados acerca de genes como ARXN2, TBP, ADH1C, VPS13C y MT-ND1 podría aportar de manera errónea la identificación de futuros blancos objetivos por ese motivo se excluyó su inclusión en el estudio.

3.1.2. Análisis de la integración de datos

Las disfunciones clave vinculadas al desarrollo del Parkinson se enfocan en la alteración de la regulación en procesos celulares como la autofagia la cual es mecanismo de reciclaje celular. Principalmente, estas alteraciones se manifiestan en el

proceso celular que se encarga de la eliminación de componentes celulares dañados o no deseados, incluyendo proteínas mal plegadas (Saunders-Pullman et al., 2018). Se ha sugerido que las mutaciones en el gen LRRK2 pueden interferir con la función normal de la autofagia, lo que podría resultar en la acumulación de proteínas mal plegadas en las neuronas, contribuyendo a la degeneración neuronal en la enfermedad de Parkinson (Nazish et al., 2021). Los análisis efectuados mediante Cytoscape, que investigan la interacción en la red biológica, evidenciaron una disminución inesperada en la presencia de los genes resaltados inicialmente, así como la aparición de otros genes que, según la literatura y experimentos, tienen una conexión limitada con el inicio de la EP (Jin et al., 2019). Sin embargo, los resultados señalan la existencia de interacciones sólidas en las áreas nodales en las que coincide el gen elite LRRK2.

Tabla 3. Interacción de genes en la aparición del Parkinson en Cytoscape con Genemania

gene name	log score	score
MT-ND1	-3,22E+00	9.999.999.999.999.960
ASAH1	-24.160.371.788.620.900	8.927.469.705.825.840
GBA	-1.544.450.881.177.220	8.568.905.443.229.170
VPS13C	-761.143.081.524.087	9.267.102.699.660.110
PPARGC1A	-32.536.879.987.303.200	3.863.147.196.909.260
RIC1	-30.034.098.767.350.400	49.617.589.716.599.400
PRKN	-43.095.677.585.640.400	6.498.870.009.767.080
UBE2L3	-3.562.082.507.282.020	28.379.662.279.107.300
PARK7	-43.531.821.913.482.300	6.470.587.278.443.150
NR4A2	-24.685.018.679.310.300	7.812.577.274.901.090
TNK2	-21.606.134.821.489.000	8.056.858.729.672.380

TCEAL1	-3.515.576.482.164.770	2.973.065.881.837.230
LRRK2	-4.329.692.503.661.390	6.485.804.351.092.580
SNCAIP	-39.543.925.338.883.700	6.733.841.879.902.260
PSAP	-2.923.785.398.233.600	7.464.859.078.400.350
DNAJC13	-11.200.391.141.336.100	8.940.407.605.305.410
MAOA	-3.004.047.585.669.650	4.958.595.822.323.840
UBE2G1	-34.346.399.986.173.800	32.237.013.512.628.900
SH3GL2	-3.399.171.957.938.500	334.009.158.759.937
ADH4	-3.387.071.440.134.820	3.380.753.946.966.840
GPR37	-26.410.087.526.639.900	712.893.199.813.791
GLUD2	-14.611.192.361.530.700	8.640.609.889.427.110
VCP	-3.559.726.226.423.840	2.844.661.157.879.850
ATXN3	-30.523.171.146.178.600	7.369.525.942.436.530
ALDH1A1	-3.590.342.976.044.900	27.588.866.480.080.400
SLC6A3	-36.454.956.769.316.000	694.509.409.909.932
SYN1	-3.208.342.859.214.480	40.423.545.304.433.000
SNCA	-31.056.121.187.450.600	447.970.890.271.403
MAOB	-15.640.307.962.416.100	8.552.144.013.874.900
RGP1	-30.810.255.135.786.000	4.591.214.896.620.090
ATXN2	-3.326.155.971.876.680	7.170.457.755.978.750
ADH1A	-3.285.702.183.226.430	3.741.430.417.065.810
SLC18A2	-3.189.029.932.949.860	41.211.829.792.708.100

RFC1	-3.782.872.151.493.960	6.850.337.203.457.470
VPS52	-3.150.127.274.635.150	42.846.673.225.290.000
ADH1C	-32.937.964.802.377.000	7.193.698.575.534.020
ADH1B	-2.696.807.297.253.650	6.742.042.285.434.540
TH	-2.716.298.066.031.460	7.621.363.467.165.540
DDC	-26.739.510.951.710.900	6.897.914.301.865.950
DNAJB6	-21.471.028.453.290.600	8.067.751.415.592.150
TBP	-8.053.702.843.748.560	4.469.224.075.324.100
PINK1	-2.118.867.983.069.110	8.090.562.789.233.970
MAPT	-4.266.317.147.579.480	652.703.889.178.722

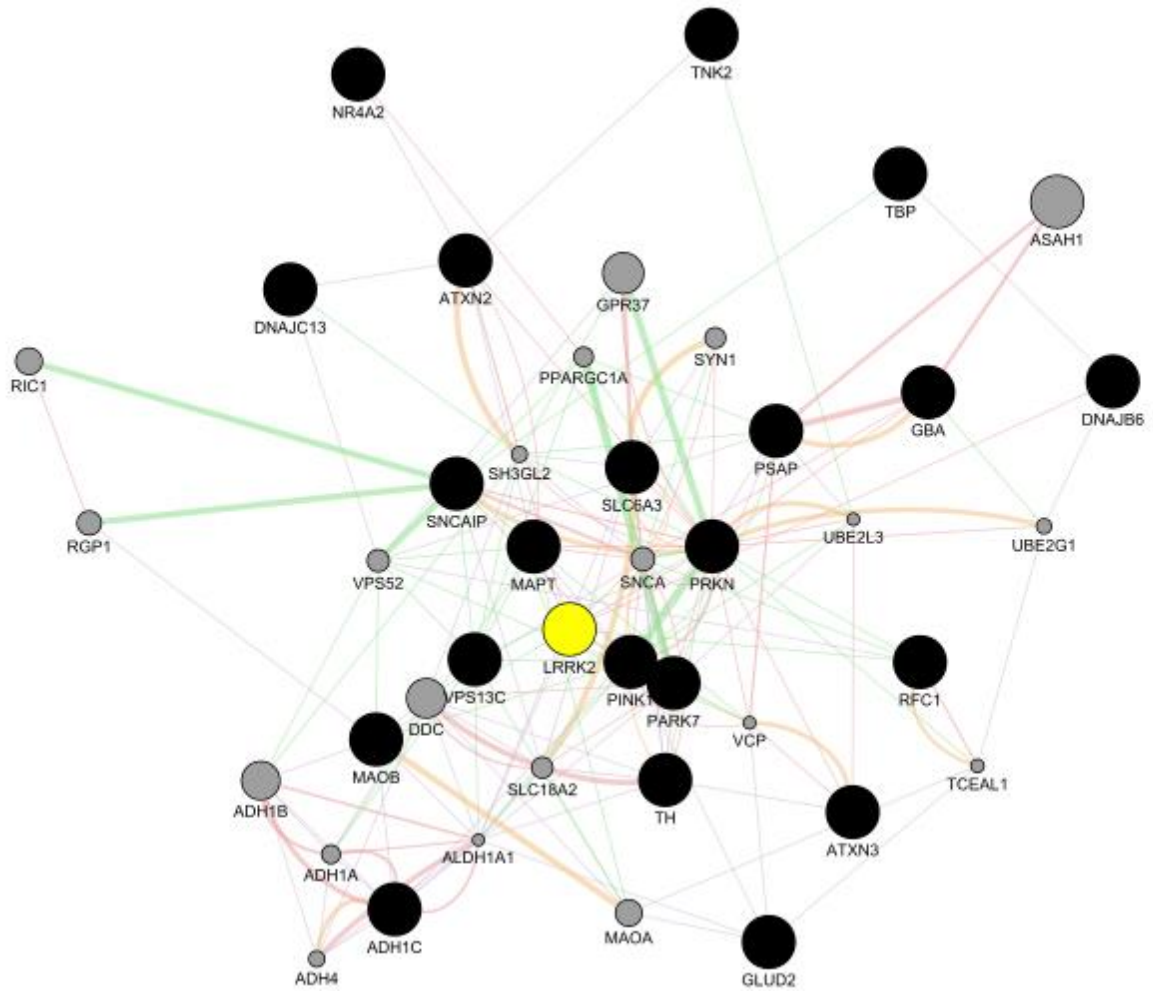


Figura 2. Interacción molecular gen LRRK2 por Cytoscape

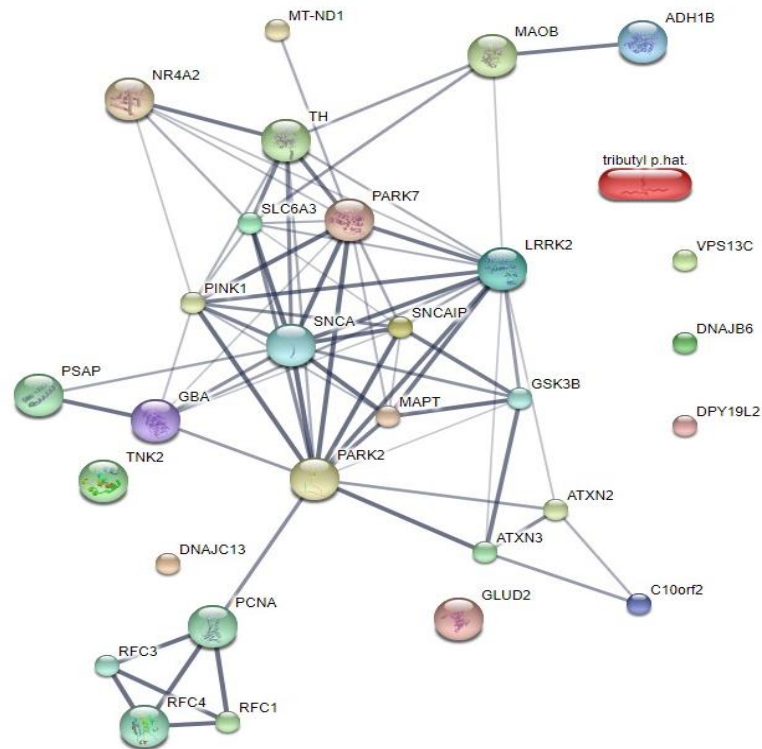


Figura 3. Interacción de genes por STITCH

Los resultados de la interacción entre los genes objetivo muestran adiciones nuevas de genes por GeneMANIA de manera que se produjeron 43 nodos y 183 aristas en la red biológica. Se destaca una cantidad significativa de conexiones en la región del gen objetivo LRRK2, lo cual se confirma con la presencia de 12 conexiones mientras que en la plataforma STICH se obtuvo 14 conexiones de ahí que se establece la importancia de la vía de reciclaje celular mediado por el gen LRRK2, considerado esencial debido a su participación en la génesis de la EP, especialmente cuando se presenta la mutación conocida como G2019S y otras que conducen siempre a la disfunción de regulación en procesos similares (**Somme et al., 2015**).

La mutación G2019S del gen LRRK2 es una alteración genética asociada con el desarrollo de la enfermedad de Parkinson. El gen LRRK2 (Leucine-Rich Repeat Kinase 2) codifica una proteína llamada dardarina que tiene funciones en la regulación de la actividad neuronal y otras vías celulares (**Trinh et al., 2014**). La mutación G2019S es una sustitución puntual específica en la secuencia del gen, donde la glicina (G) en la posición 2019 es reemplazada por serina (S) (**Somme et al., 2015**). Esta mutación es una de las mutaciones genéticas más comunes y bien estudiadas relacionadas con la enfermedad de Parkinson hereditaria. Se estima que la presencia de la mutación G2019S en el gen LRRK2 aumenta el riesgo de desarrollar la enfermedad de Parkinson (**Simpson et al., 2022b**). Sin embargo, no todas las personas que heredan esta mutación desarrollan la enfermedad, y su penetrancia (la probabilidad de que la mutación conduzca a la enfermedad) puede variar. Además, esta mutación no es exclusiva de los casos familiares de Parkinson, sino que también se ha identificado en algunos casos esporádicos de la enfermedad (**Moreira-Júnior et al., 2022**).

3.1.3 Análisis de la validación de los genes seleccionados

Se ha examinado varios de los genes propuestos para la investigación, y algunos de ellos han sido objeto de estudios en los cuales se identificaron fármacos asociados a diversas enfermedades que podrían tener un papel en su tratamiento. Por lo tanto, se llevó a cabo una búsqueda minuciosa en la base de datos Drugbank y Duglib además de otras plataformas para confirmar la presencia de estas dianas. La Tabla 4 presenta

los genes objetivo seleccionados junto con los posibles fármacos asociados, así como sus acciones terapéuticas en la enfermedad de Parkinson.

Tabla 4. Fármacos existentes y potenciales para la Enfermedad de Parkinson.

#	Genes	Fármacos asociados al gen	Diana	Aplica en EP
1	MAPT	8	Si	Si
2	GBA1	1	Si	Si
3	GLUD2	2 probables	Si	No
4	ATXN2	-	No	-
5	TBP	-	No	-
6	ATXN8OS	1	Si	No
7	ADH1C	1	No	No
8	NR4A2	-	No	-
9	LRRK2	1 probable	Si	Si
10	LOC106627981	-	No	-
11	DNAJC13	-	No	-
12	VPS13C	-	No	-
13	MT-ND1	-	No	-
14	MIR133B	-	No	-
15	PSAP	-	No	-
16	RFC1	-	No	-
17	MIR433	-	No	-
18	PRKN	probable	No	No
19	SNCAIP	-	No	-
20	PARK10	-	No	-
21	PARK12	-	No	-
22	PARK16	probable	No	Si
23	PARK 21	-	No	-

La Tabla 4 detalla diversos fármacos y ligandos identificados como posibles tratamientos para la enfermedad de Parkinson. No obstante, muchos de estos compuestos se utilizan en diferentes tipos de tratamientos, lo que señala una falta de especialización en la investigación científica y, en ocasiones, no logran superar las validaciones necesarias al encontrarse en fases experimentales. Algunos de estos fármacos, clasificados como ligandos, se proponen para realizar interacciones moleculares mediante Docking Molecular y análisis algorítmico, lo que proporciona una forma pertinente de contrastar con los resultados del cribado virtual mencionado posteriormente.

Adicionalmente, fármacos identificados, como Fostamatinib, son utilizados en el tratamiento de trombocitopenias. Un ejemplo común podría ser el Tavalisse de 100mg comercialmente se encuentra bajo ese nombre y en presentación de tabletas, sin embargo, es el único que se está investigando para vincular su acción farmacológica en interacción con el gen LRRK2 (Bussel et al., 2018).

3.1.4 Prueba de viabilidad de las dianas terapéuticas

Se llevó a cabo una evaluación para identificar una posible zona de respuesta a los fármacos. El objetivo fue descubrir las cavidades más propicias donde un ligando podría encajar, alterando así la estructura y función del gen durante la codificación de sus proteínas. Por lo tanto, se llevó a cabo la búsqueda del modelo tridimensional 7LHT en el Protein Data Bank y mediante secuenciación genómica, asegurando así una aproximación lo más precisa posible al objetivo. A partir de esta información, se procesó el archivo PDB del gen LRKK2 en ChimeraX para eliminar toda presencia de residuos de aminoácidos, moléculas de agua y, sobre todo, pequeños ligandos que podrían haber interactuado previamente. Finalmente, utilizando DoGSiteScorer, se evaluó la aptitud para el tratamiento farmacológico de la estructura del gen LRRK2 en una sola cadena.

Tabla 5. Cavidades puntuadas con probabilidad drugable del gen LRRK2.

Nombre	Volumen Å³	Surface Å²	Drug Score
P_0	1116,17	1442,13	0,8
P_1	809,54	1206,71	0,77
P_10	309,15	521,37	0,63
P_11	304,83	476,66	0,59
P_12	296,93	406,92	0,51
P_13	292,97	428,93	0,5
P_14	285,06	462,78	0,65

En la Tabla 5 se visualizan los tres principales sitios drugables considerados adecuados para una posible interacción mediante técnicas de docking o búsqueda por cribado en MTIOpenScreen. En una escala que varía de 0 a 1, se estableció una consideración clave: el puntaje de drogas no debe ser inferior a 5. Con base en este criterio, se determinó que el pocket_0 era el sitio drugable más óptimo. Este análisis se basó en la observación de que la estructura exhibe una cavidad volumétrica de 1192.96 Angstroms cúbicos y una superficie de 1489.14 Angstroms cuadrados. Por ende, este sitio drugable se seleccionó para los análisis, ya que la drugabilidad está directamente vinculada al espacio de la cavidad. Es el punto ideal donde posibles dianas pueden interactuar y ofrecer una opción de estudio para intervenir de alguna u otra manera en los procesos de reciclaje celular o vía apoptótica intrínseca. La Figura 4 presenta la estructura modificada del gen LRRK2, identificada como 7LHT en PBD y ajustada a una sola cadena para su evaluación en el DoGSiteScorer.

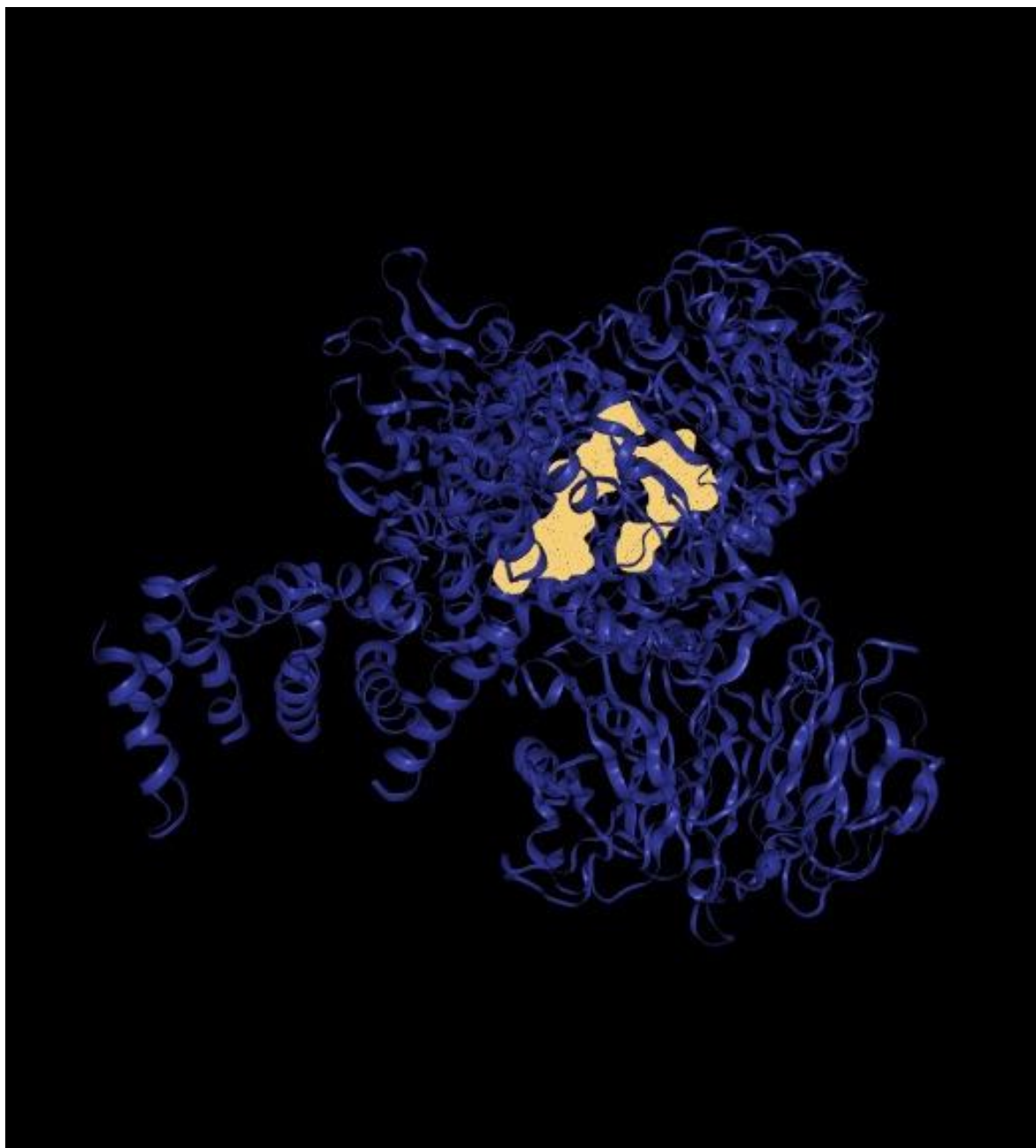


Figura 4. Pocket_0 de la probabilidad mayormente drugable de LRRK2 (Leucine-Rich Repeat Kinase 2)

3.1.5 Análisis del cribado virtual con MTiOpenScreen

En el análisis para identificar posibles objetivos terapéuticos utilizando la plataforma MTiOpenScreen, se configuró el sistema con base en la estructura tridimensional en formato PDB del gen LRRK2. Posteriormente se escogió una librería comercial de fármacos o ligandos, Drug-lib. Además, la plataforma ofrece la capacidad de dirigir el objetivo de ataque mediante coordenadas de la GRID-BOX. Afortunadamente, estas coordenadas fueron determinadas utilizando los residuos de aminoácidos que presentó la pocket_0 durante la evaluación inicial del DogSite Scorer. Posteriormente, estas coordenadas fueron insertadas a la plataforma para ajustar el ataque de dianas con parámetros específicos con el fin de justificar o descartar la posible unión cerca del sitio Ala1950 que bibliográficamente se entiende como región bisagra para un ligando.

Los resultados obtenidos en el cribado de MTiOpenScreen abarcan más de mil ensayos de ligandos y fármacos mediante el docking molecular. Por lo tanto, los primeros 100 resultados fueron arbitrariamente analizados y reorganizados en función de la energía de afinidad, que indica la posibilidad de interacción, con valores que oscilan entre -12,2 y $-10,1 \frac{kg}{mol}$. Sin embargo, para un análisis más riguroso, se seleccionaron las interacciones con energías comprendidas entre -12,2 y $-10,6 \frac{kg}{mol}$, con el objetivo de evaluar las propiedades potenciales debido a su estabilidad de unión y para llevar a cabo un análisis subsiguiente de toxicidad.

En la Tabla 6 se presentan los resultados de los fármacos más destacados como candidatos a dianas terapéuticas, destacándose por su notable estabilidad energética.

Tabla 6. Fármacos con mejor energía de afinidad, posibles dianas terapéuticas para la EP.

Compound	Model	Energia	nRot	SMILES CODE
Bolazine	ZINC000008214506	-12,2	3	<chem>C[C@@H]1C[C@@]2(C)[C@@H](CC[C@H]3[C@@H]4CC[C@H](O)[C@@]4(C)CC[C@@H]32)C/C1=N\N=C1/C[C@@H]2CC[C@H]3[C@@H]4CC[C@H](O)[C@@]4(C)CC[C@@H]3[C@@]2(C)C[C@H]1C</chem>
Mk3207	ZINC000043203371	-11,8	4	<chem>O=C(CN1C(=O)C2(CCCC2)NC[C@H]1c1cc(F)cc(F)c1)Nc1ccc2c(c1)C[C@@]1(C2)C(=O)Nc2ncccc21</chem>
Abamectin-component-b1a	ZINC000306147034	-11,8	11	<chem>CC[C@H](C)[C@@H]1O[C@]2(C=C[C@@H]1C)C[C@H]1C[C@@H](CC=C(C)[C@@H](O[C@@H]3C[C@H](OC)[C@H](O[C@@H]4C[C@H](OC)[C@H](O)[C@H](C)O4)[C@H](C)O3)[C@H](C)C=CC=C3CO[C@@H]4[C@H](O)C(C)=C[C@@H](C(=O)O1)[C@@]34O)O2</chem>
R428	ZINC000051951668	-11,5	5	<chem>Nc1nc(Nc2ccc3c(c2)CC[C@H](N2CCCC2)CC3)nn1-c1cc2c(nn1)-c1cccc1CCC2</chem>
Mk3207	ZINC000103760981	11,5	4	<chem>O=C(CN1C(=O)C2(CCCC2)NC[C@@H]1c1cc(F)cc(F)c1)Nc1ccc2c(c1)C[C@@]1(C2)C(=O)Nc2ncccc21</chem>

Uk432097	ZINC000095539256	-11,5	16	<chem>CCNC(=O)[C@H]1O[C@@H](n2cnc3c(NCC(c4ccccc4)c4ccccc4)nc(C(=O)NCCNC(=O)NC4CCN(c5ccccc5)CC4)nc32)[C@H](O)[C@@H]1O</chem>
Mk3207	ZINC000103760978	-11,4	4	<chem>O=C(CN1C(=O)C2(CCCC2)NC[C@H]1c1cc(F)cc(F)c1)Nc1ccc2c(c1)C[C@]1(C2)C(=O)Nc2ncccc21</chem>
Velpatasvir	ZINC000504665931	-11,3	13	<chem>COC[C@@H]1C[C@H](c2ncc(-c3ccc4c(c3)COc3cc5c(ccc6nc([C@@H]7CC[C@H](C)N7C(=O)[C@H](NC(=O)OC)C(C)C)[nH]c65)cc3-4)[nH]2)N(C(=O)[C@@H](NC(=O)OC)c2ccccc2)C1</chem>
Dihydroergotamine	ZINC000003978005	-11,3	5	<chem>CN1C[C@H](C(=O)N[C@]2(C)O[C@@]3(O)[C@@H]4CCCN4C(=O)[C@H](Cc4ccccc4)N3C2=O)C[C@@H]2c3ccccc4[nH]cc(c34)C[C@H]21</chem>
Hesperidin	ZINC000100204061	11,2	15	<chem>COc1ccc([C@@H]2CC(=O)c3c(O)cc(O[C@@H]4O[C@H](CO[C@@H]5O[C@@H](C)[C@H](O)[C@@H](O)[C@H]5O)[C@@H](O)[C@@H](O)[C@@H]4O)cc3O2)cc1O</chem>
Velpatasvir	ZINC000504665932	11,2	13	<chem>COC[C@@H]1C[C@H](c2ncc(-c3ccc4c(c3)COc3cc5c(ccc6nc([C@@H]7CC[C@H](C)N7C(=O)[C@@H](NC(=O)OC)C(C)C)[nH]c65)cc3-4)[nH]2)N(C(=O)[C@@H](NC(=O)OC)c2ccccc2)C1</chem>

Hesperidin	ZINC000095568264	11,1	15	<chem>COc1ccc([C@@H]2CC(=O)c3c(O)cc(O[C@@H]4O[C@@H](CO[C@@H]5O[C@@H]H)(C)[C@H](O)[C@@H](O)[C@H]5O)[C@@H](O)[C@H](O)[C@H]4O)cc3O2)cc1O</chem>
R428	ZINC000051951669	11,1	5	<chem>Nc1nc(Nc2ccc3c(c2)CC[C@@H](N2CCCC2)CC3)nn1-c1cc2c(nn1)-c1cccc1CCC2</chem>
Metergotamine	ZINC000072266819	-11	5	<chem>CN1C[C@H](C(=O)N[C@]2(C)O[C@@]3(O)[C@@H]4CCCN4C(=O)[C@H](Cc4ccc4)N3C2=O)C=C2c3cccc4c3c(cn4C)C[C@H]21</chem>
Disogluside	ZINC000008214547	-11	7	<chem>C[C@H]1[C@H]2[C@H](C[C@H]3[C@@H]4CC=C5C[C@@H](O[C@@H]6O[C@H](CO)[C@@H](O)[C@H](O)[C@H]6O)CC[C@]5(C)[C@H]4CC[C@@]32C)O[C@]12CC[C@@H](C)CO2</chem>
Dihydroergocristine	ZINC000095862766	-11	6	<chem>CC(C)[C@@]1(NC(=O)[C@@H]2C[C@H]3c4cccc5[nH]cc(c45)C[C@H]3N(C)C2)O[C@@]2(O)[C@@H]3CCCN3C(=O)[C@H](Cc3cccc3)N2C1=O</chem>
Hesperidin	ZINC000038144571	-10,9	15	<chem>COc1ccc([C@@H]2CC(=O)c3c(O)cc(O[C@@H]4O[C@H](CO[C@@H]5O[C@@H](C)[C@H](O)[C@H](O)[C@H]5O)[C@@H](O)[C@@H](O)[C@@H]4O)cc3O2)cc1O</chem>
Hesperidin	ZINC000008680007	-10,9	15	<chem>COc1ccc([C@@H]2CC(=O)c3c(O)cc(O[C@@H]4O[C@H](CO[C@@H]5O[C@@H](C)[C@H](O)[C@H](O)[C@H]5O)[C@@H](O)[C@H](O)[C@@H]4O)cc3O2)cc1O</chem>

Golvatinib	ZINC000043195317	-10,8	8	<chem>CN1CCN(C2CCN(C(=O)Nc3cc(Oc4ccc(NC(=O)C5(C(=O)Nc6ccc(F)cc6)CC5)c(F)c4)ccn3)CC2)CC1</chem>
Ergotamine	ZINC000052955754	-10,8	5	<chem>CN1C[C@H](C(=O)N[C@]2(C)O[C@@]3(O)[C@@H]4CCCN4C(=O)[C@H](Cc4ccc4)N3C2=O)C=C2c3cccc4[nH]cc(c34)C[C@H]21</chem>
Proscillaridin	ZINC000008214665	-10,8	7	<chem>C[C@@H]1O[C@@H](O[C@@H]2C=C3CC[C@@H]4[C@H](CC[C@]5(C)[C@@H](c6ccc(=O)oc6)CC[C@]45O)[C@@]3(C)CC2)[C@H](O)[C@H](O)[C@H]1O</chem>
Hesperidin	ZINC000238924080	-10,8	15	<chem>COc1ccc([C@@H]2CC(=O)c3c(O)cc(O[C@@H]4O[C@H](CO[C@@H]5O[C@H](C)[C@H](O)[C@H](O)[C@@H]5O)[C@H](O)[C@H](O)[C@H]4O)cc3O2)cc1O</chem>
Cortisuzol	ZINC000004215464	-10,8	9	<chem>CC1=C[C@H]2[C@@H]3C[C@@H](C)[C@](O)(C(=O)COC(=O)c4cccc(S(=O)(=O)O)c4)[C@@]3(C)C[C@H](O)[C@@H]2[C@@]2(C)Cc3cnn(-c4cccc4)c3C=C12</chem>
Abamectin-component-b1a	ZINC000306147035	-10,8	11	<chem>CC[C@H](C)[C@@H]1O[C@]2(C=C[C@@H]1C)C[C@H]1C[C@@H](CC=C(C)[C@H](O[C@@H]3C[C@H](OC)[C@H](O[C@@H]4C[C@H](OC)[C@H](O)[C@H](C)O4)[C@H](C)O3)[C@H](C)C=CC=C3CO[C@@H]4[C@H](O)C(C)=C[C@@H](C(=O)O1)[C@]34O)O2</chem>
Venetoclax	ZINC000150338755	-10,8	13	<chem>CC1(C)CCC(CN2CCN(c3ccc(C(=O)NS(=O)(=O)c4ccc(NCC5CCOCC5)c([N+](=O)[O-])c4)c(Oc4cnc5[nH]ccc5c4)c3)CC2)=C(c2ccc(Cl)cc2)C1</chem>

Rimegepant	ZINC000068267814	-10,8	5	<chem>N[C@@H]1c2ccnc2[C@H](OC(=O)N2CCC(n3c(=O)[nH]c4ncccc43)CC2)CC[C@H]1c1cccc(F)c1F</chem>
Mk3207	ZINC000103760984	-10,8	4	<chem>O=C(CN1C(=O)C2(CCCC2)NC[C@@H]1c1cc(F)cc(F)c1)Nc1ccc2c(c1)C[C@]1(C2)C(=O)Nc2ncccc21</chem>
Proscillaridin	ZINC000306121902	-10,8	7	<chem>C[C@@H]1O[C@H](O[C@@H]2C=C3CC[C@H]4[C@H](CC[C@]5(C)[C@@H](c6ccc(=O)oc6)CC[C@]45O)[C@@]3(C)CC2)[C@H](O)[C@H](O)[C@H]1O</chem>
Hesperidin	ZINC000008680006	-10,8	15	<chem>COc1ccc([C@@H]2CC(=O)c3c(O)cc(O[C@@H]4O[C@H](CO[C@@H]5O[C@H](C)[C@H](O)[C@H](O)[C@@H]5O)[C@H](O)[C@H](O)[C@@H]4O)cc3O2)cc1O</chem>
Hesperidin	ZINC000085340597	-10,7	15	<chem>COc1ccc([C@@H]2CC(=O)c3c(O)cc(O[C@@H]4O[C@H](CO[C@@H]5O[C@H](C)[C@H](O)[C@@H](O)[C@@H]5O)[C@H](O)[C@H](O)[C@@H]4O)cc3O2)cc1O</chem>
Teniposide	ZINC000003831507	-10,7	9	<chem>COc1cc([C@H]2c3cc4c(cc3[C@H](O[C@H]3O[C@H]5CO[C@H](c6cccs6)O[C@@H]5)[C@@H](O)[C@H]3O)[C@H]3COC(=O)[C@H]23)OCO4)cc(OC)c1O</chem>
Dihydroergocristine	ZINC000003947497	-10,7	6	<chem>CC(C)[C@]1(NC(=O)[C@@H]2C[C@@H]3c4cccc5[nH]cc(c45)C[C@@H]3N(C)C2)O[C@@]2(O)[C@H]3CCCN3C(=O)[C@H](Cc3ccccc3)N2C1=O</chem>
Proscillaridin	ZINC000257355131	-10,7	7	<chem>C[C@@H]1O[C@@H](O[C@@H]2C=C3CC[C@H]4[C@@H](CC[C@@]5(C)[C@@H](c6ccc(=O)oc6)CC[C@]45O)[C@@]3(C)CC2)[C@H](O)[C@H](O)[C@H]1O</chem>

Hesperidin	ZINC000253499897	-10,7	15	<chem>COc1ccc([C@@H]2CC(=O)c3c(O)cc(O[C@@H]4O[C@@H](CO[C@@H]5O[C@@H](C)[C@@H](O)[C@@H](O)[C@@H]5O)[C@@H](O)[C@@H](O)[C@@H]4O)cc3O2)cc1O</chem>
Dihydroergocristine	ZINC000003947494	-10,7	6	<chem>CC(C)[C@@]1(NC(=O)[C@@H]2C[C@@H]3c4cccc5[nH]cc(c45)C[C@@H]3N(C)C2)O[C@@]2(O)[C@@H]3CCCN3C(=O)[C@@H](Cc3cccc3)N2C1=O</chem>
Ditercalinium	ZINC000004215707	-10,7	9	<chem>COc1ccc2[nH]c3ccc4cc[n+](CCN5CCC(C6CCN(CC[n+]7ccc8ccc9[nH]c%10ccc(OC)c%10c9c8c7)CC6)CC5)cc4c3c2c1</chem>
Hesperidin	ZINC000252008995	-10,7	15	<chem>COc1ccc([C@H]2CC(=O)c3c(O)cc(O[C@@H]4O[C@@H](CO[C@@H]5O[C@@H](C)[C@@H](O)[C@@H](O)[C@@H]5O)[C@@H](O)[C@@H](O)[C@@H]4O)cc3O2)cc1O</chem>
Telcagepant	ZINC000028827350	-10,7	5	<chem>O=C(N[C@@H]1CC[C@@H](c2cccc(F)c2F)CN(CC(F)(F)F)C1=O)N1CCC(n2c(=O)[nH]c3ncccc32)CC1</chem>
Teniposide	ZINC000003831506	-10,7	9	<chem>COc1cc([C@@H]2c3cc4c(cc3[C@@H](O[C@@H]3O[C@@H]5CO[C@@H](c6cccs6)O[C@@H]5[C@@H](O)[C@@H]3O)[C@@H]3COC(=O)[C@@H]23)OCO4)cc(OC)c1O</chem>
Fiduxosin	ZINC000029747110	-10,6	7	<chem>COc1cccc2c1[C@@H]1CN(CCCc3c(O)nc4c(sc5ncc(-c6cccc6)nc54)c3=O)C[C@@H]1CO2</chem>
Losulazine	ZINC000004216779	-10,6	6	<chem>O=C(c1ccc(Nc2ccnc3cc(C(F)(F)F)ccc23)cc1)N1CCN(S(=O)(=O)c2ccc(F)cc2)CC1</chem>

Ubrogепant	ZINC000095598454	-10,6	5	<chem>C[C@@H]1[C@H](c2ccccc2)C[C@H](NC(=O)c2cnc3c(c2)C[C@@]2(C3)C(=O)Nc3ncccc32)C(=O)N1CC(F)(F)F</chem>
Hesperidin	ZINC000103938990	-10,6	15	<chem>COc1ccc([C@@H]2CC(=O)c3c(O)cc(O[C@@H]4O[C@H](CO[C@@H]5O[C@@H](C)[C@H](O)[C@H](O)[C@@H]5O)[C@@H](O)[C@H](O)[C@@H]4O)cc3O2)cc1O</chem>
Amg-900	ZINC000043208325	-10,6	7	<chem>Cc1csc(-c2nnc(Nc3ccc(Oc4ncccc4-c4ccnc(N)n4)cc3)c3ccccc23)c1</chem>
Irinotecan	ZINC000001612996	-10,6	6	<chem>CCc1c2c(nc3ccc(OC(=O)N4CCC(N5CCCCC5)CC4)cc13)-c1cc3c(c(=O)n1C2)COC(=O)[C@]3(O)CC</chem>
Teniposide	ZINC000004099009	-10,6	9	<chem>COc1cc([C@@H]2c3cc4c(cc3[C@@H](O[C@@H]3O[C@@H]5CO[C@@H](c6cccs6)O[C@H]5[C@H](O)[C@H]3O)[C@H]3COC(=O)[C@H]23)OCO4)cc(OC)c1O</chem>
Teniposide	ZINC000077313309	-10,6	9	<chem>COc1cc([C@@H]2c3cc4c(cc3[C@@H](O[C@@H]3O[C@@H]5CO[C@@H](c6cccs6)O[C@H]5[C@H](O)[C@H]3O)[C@@H]3COC(=O)[C@@H]23)OCO4)cc(OC)c1O</chem>
Teniposide	ZINC000003831508	-10,6	9	<chem>COc1cc([C@@H]2c3cc4c(cc3[C@@H](O[C@@H]3O[C@H]5CO[C@@H](c6cccs6)O[C@@H]5[C@@H](O)[C@H]3O)[C@H]3COC(=O)[C@H]23)OCO4)cc(OC)c1O</chem>

3.1.6 Análisis de la toxicidad de las moléculas

El análisis del paquete QSAR-VEGA in Silico se realizó mediante la agrupación de los ligandos con mejores puntajes, entre estos se obtuvo 5 grupos y se corrió el programa con parámetros de interés a evaluar como: Mutagenicidad, Desempeño toxico, Carcinogenicidad, Intoxicación aguda, Sensibilidad de piel, Aberración cromosómica, Ensayo in vitro, Efectos en receptores estrógeno, andrógeno y tiroideo, Disrupción endocrina, Clasificación de Cramer y Hepatotoxicidad.

Tabla 7. Interpretaciones de datos






Elemento	Interpretación
	Seguro
	Intermedio
	Peligroso
	Muy peligroso
	Sin predicción
*	Poco confiable
**	Medianamente confiable
***	Muy confiable
Exp Data	Pruebas experimentales

Tabla 8. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -13,2 a -11,6 kcal/mol Grupo 1

Parámetro	Fármacos de -13,2 a -11,6 kcal/mol											
	Bolazine		Mk3207		Abamectin-component-b1a		R428		Mk3207		Uk432097	
	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad
Mutagenicity		*		**		***		*		**		**
Devel toxicity		*		*		*		*		*		*
Carcinogenicity		**		**		***		*		**		*
Acute Toxicity		N		N		N		N		N		N
Skin Sensitization		*		*		*		*		*		*
Chrom aberration		**		*		*		*		*		*
In vitro M		*		*		*		*		*		*
E R-m effect		*		***	Exp Data			*		***		***
Thyroid R A effect		***		**		***		*		**		***
Skin Irritation		*		*		*		*		*		*
Cramer Classif		N		N		N		N		N		*
Hepatotoxicity		**		***		**		*		***		**

Tabla 9. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -11,4 a 11 kcal/mol Grupo 2

Parámetros	Fármacos de -11,4 a -11kcal/mol																			
	Mk3207		Velpatasvir		Dihydroergotamine		Hesperidin		Velpatasvir		Hesperidin		R428		Metergotamine		Disogluside		Dihydroergocristine	
	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad
Mutagenicity		**		*		*	Exp Data	***		*	Exp Data	***		*		*		***		*
Devel toxicity		*		*		*		***		*		***		*		*		*		*
Carcinogenicity		**		**		*		**		**		**		*		*		**		*
Acute Toxicity		N		N		*		*		N		*		N		*		N		Exp Data
Skin Sensitization		*		*		*		*		*		*		*		*		*		*
Chrom aberration		*		**		*		**		**		**		*		*		**		*
In vitro M		*		**		*		***		**		***		*		*		*		*
E R-m effect		***		*		**		*		***		*		*		*		***		**
Thyroid R A effect		**		***		*	Exp Data	***		***	Exp Data	***		*		*		***		*
Skin Irritation		*		*		*		*		*		*		*		*		*		*
Cramer Classif		N		N		N		N		N		N		N		N		N		N
Hepatotoxicity		***		**	Exp Data	***	Exp Data	***		**	Exp Data	***		*		***		*		***

Tabla 10. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -10,9 a -10,8kcal/mol Grupo 3

Parametros	Fármacos de -10,9 a -10,8Kcal/mol																							
	Hesperidin		Golvatinib		Ergotamine		Proscillaridin		Hesperidin		Cortisuzol		Abamectin-component-b1a		Venetoclax		Rimegepant		Mk3207		Proscillaridin		Hesperidin	
	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad
Mutagenicity	ED	***		**		*		*	ED	***		*		***		*		*		**		*	ED	***
Devel toxicity		***		*		*		*		***		*		*		*		*		*		*		***
Carcinogenicity		**		***		*		*		**		*		***		*		*		**		*		**
Acute Toxicity		*		N		*		N		*		N		N		N		N		N		N		*
Skin Sensitization		*		*		*		*		*		*		*		*		*		*		*		*
Chrom aberration		**		*		*		*		**		*		*		**		*		*		*		**
In vitro M		***		**		*		**		***		*		*		**		*		*		**		*
E R-m effect		*		***		**		***		*		***		ED		***		***		***		***		*
Thyroid R A effect	ED	***		*		*		ED	***	ED	***		***		***		*		**		ED	***	ED	***
Skin Irritation		*		*		*		*		*		*		*		*		*		*		*		*
Cramer Classif		N		N		N		N		N		N		N		N		N		N		N		N

Hepatotoxicity *** * ED *** N ED *** ** ** ** *** *** N ED ***

Tabla 11. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -11,5 kcal/mol Grupo 4

Parámetros	Fármacos de 10,7 kcal/mol																			
	Hesperidin		Teniposide		Dihydroergocristine		Proscillaridin		Hesperidin		Dihydroergocristine		Ditercalinium		Hesperidin		Telcagepant		Teniposide	
	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad
Mutagenicity	Exp Data	***	Exp Data	***		*		*	Exp Data	***		*		*	Exp Data	***		*	Exp Data	***
Devel toxicity		***		*		*		*		***		*		*		***		*		*
Carcinogenicity		**		**		*		*		**		*		*		**		*		**
Acute Toxicity		*		**	Exp Data	***		N		*	Exp Data	*		N		*		N		**
Skin Sensitization		*		*		*		*		*		*		*		*		*		*
Chrom aberration		**		*		*		*		**		*		**		**		*		*
In vitro M		***		*		*		**		***		*		**		***		*		*
E R-m effect		*		*		**		***		*		**		***		*		***		*

Thyroid R A effect	Exp Data	***		***		*	Exp Data	***	Exp Data	***		*		***	Exp Data	***		***		***
Skin Irritation		*		*		*		*		*		*		*		*		*		*
Cramer Classif		N		N		N		N		N		N		N		N		N		N
Hepatotoxicity	Exp Data	***		*		***		N		Exp Data	***		***		Exp Data	***		**		*

Tabla 12. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -11,5 a -10,6 kcal/mol Grupo 5

Parametros	Fármacos de -11,5 a -10,6 kcal/mol																			
	Fiduxosin		Losulazine		Ubrogepant		Hesperidin		Amg-900		Irinotecan		Teniposide		Teniposide		Teniposide			
	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad		
Mutagenicity		*		*		*	Exp Data	***		*		**	Exp Data	**	Exp Data	**	Exp Data	**	Exp Data	**
Devel toxicity		*		*		*		***		*		*		*		*		*		*
Carcinogenicity		*		**		**		**		*		*		**		**		**		**
Acute Toxicity		N		N		N		N		N	Exp Data	*		**		**		**		**
Skin Sensitization		*		*		*		*		*		*		*		*		*		*
Chrom aberration		*		*		*		**		*		*		*		*		*		*
In vitro M		*		*		**		***		*		**		*		*		*		*
E R-m effect		*		*		***		*		*		*		*		*		*		*
Thyroid R A effect		*		***		***	Exp Data	***		***		*		***		***		***		***
Skin Irritation		*		*		*		*		*		*		*		*		*		*
Cramer Classif		N		N		N		N		N		N		N		N		N		N
Hepatotoxicity		*		***		***	Exp Data	***		*		*		*		*		*		*

Los resultados evidencian que la mayor parte de ligandos obtenidos a través del cribado virtual tiene un potencial mayormente tóxico. Aunque la falta de datos experimentales no permite afirmaciones definitivas puesto que estos análisis son modelados matemáticos mas no experimentales salvo el caso de los marcados como (Exp Data) donde se puede afirmar o descartar la validez de las pruebas QSAR, por otro lado es importante señalar que los análisis advierten una alta probabilidad de que estas moléculas interfieran con funciones moleculares, conduciendo a posibles complicaciones y disfunciones a nivel celular al atacar a otros órganos (**Jin et al., 2019**). Esta complicación es un factor al que siempre se enfrentan los científicos al desarrollar dianas terapéuticas debido a que los ligandos pueden experimentar cambios estructurales y dirigirse otros sitios para poder combinarse con otras proteínas. No obstante, se ha identificado un grupo selecto de posibles dianas terapéuticas para la enfermedad de Parkinson, basándose en un índice de fiabilidad que evalúa ciertas interacciones y el asertividad de que ese resultado no cambio demasiado con el tiempo, además de considerar el nivel más seguro previsto que se encarga de determinar el pronóstico del daño a futuro.

Las dianas propuestas para un tratamiento potencial de la enfermedad de Parkinson incluyen Mk3207 con una energía de -11,5 kcal/mol, Dihydroergotamine con -11,3 kcal/mol, Golvatinib con -10,8 kcal/mol y Losulazine con -11,6 kcal/mol, hay que considerar que una energía de unión (binding energy) más negativa generalmente indica una unión más fuerte y favorable (**Costa et al., 2018**). Se ha descartado aquellos fármacos con un mayor potencial perjudicial para la salud basándose en aquellos que no presentan resultados de predicciones o a su vez no cuentan con la suficiente fiabilidad para considerarse aptos. Aunque se ha tenido precaución en la selección de estos medicamentos, se destaca la consideración de que ninguno de ellos presente una potencial complicación a nivel neuronal, cerebral y nervioso ya que podría provocar efectos negativos en los procesos celulares de la masa negra y eso es lo primordialmente evitable en esta investigación.

No obstante, esta propuesta de dianas terapéuticas para la EP representa un avance significativo hacia investigaciones y ensayos futuros. Estos estudios son importantes para impulsar la investigación de terapias con nuevas dianas que mejoren sus propiedades farmacocinéticas dentro del cuerpo, así como el cuidado con todos los

sistemas y órganos del cuerpo humano de las personas que padecen la enfermedad de Parkinson.

Tabla 14. Posibles dianas terapéuticas encontrados para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.

#	Fármaco	Estado	Aplicaciones	Aplicación
1	Mk3207	-11,5	Tratamiento	Trastornos de la migraña
2	Dihydroergotamine	-11,3	Tratamiento	Migraña c/s aura
3	Golvatinib	-11,4	Tratamiento	Carcinoma Hepatoceleular
4	Telcagepant	-10,7	Desarrollo	Inducción de vasodilatación
5	Losulazine	-10,6	Investigación	Alterar la función neurogénica simpática periférica

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

Se investigó gran variedad de dianas terapéuticas para la enfermedad de Parkinson, principalmente basándose en la regulación de los procesos de reciclaje celular y pliegues de membrana donde el mayor responsable es el gen LRRK2 y de las cuales las investigaciones señalan no ser un objetivo claro de investigación para el desarrollo de fármacos contra la enfermedad de Parkinson. La propuesta de genes diana de esta investigación representa una oportunidad muy grande para realizar estudios posteriores a nivel experimental en sentido de la patología, toxicidad con el fin de dar un tratamiento más efectivo y con un menor riesgo de daño, etc.

Se determinó que 50 posibles genes estaban involucrados en la aparición de la enfermedad de Parkinson, mediante MalaCards, OMIM, KEGG y otras plataformas de relacion gen-enfermedad, sin embargo a pesar de tener bien determinado entre la comunidad científica sobre los fármacos aplicados en este tipo de enfermedad no se han dilucidado aun tratamientos puntuales y eficientes para el gen LRRK2 en concreto, por lo mismo se descartó a los genes cuyos datos refieren de otro tipo de

complicaciones que no encajan con el modelo de interacción que produzca la EP como TBP, ATXN8OS, ADH1C, NR4A2, LRRK2, LOC106627981, DNAJC13, VPS13C, MT-ND1, MIR133B, PSAP, RFC1, MIR433, PRKN, SNCAIP, PARK12, NEAT1, LINC01262, SNHG12, HOTAIR, MALAT1, PCA3, DPY19L2P2, H19, LINC01734, MIR4422HG. No obstante, independientemente de la enfermedad a la que refieren en estos momentos no es de extrañarse que en un futuro estos puedan ser más estudiados a fondo y demuestren relación contundente con la enfermedad objetivo de esta investigación.

La viabilidad de las estructuras cristalográficas se identificó mediante predicciones de pockets en la plataforma Protein Plus con el plugin integrado DoGSiteScorer mediante la obtención de los formatos .pdb provenientes de Protein Data Bank, todo este proceso enfocado al gen LRRK2 que presentó excelentes condiciones para interacción ligando-proteína.

El uso de las herramientas y plataformas bioinformáticas permitió encontrar potenciales dianas terapéuticas gracias a las interacciones moleculares, datos experimentales, cristalización de estructuras, cribado virtual, análisis de toxicidad y docking molecular, este penúltimo sirvió para reducir el número de candidatos solo 5 posibles dianas con la mayor efectividad en el tratamiento.

4.2 Recomendaciones

La eficacia de los principios activos de los fármacos utilizados en tratamientos actuales, independientemente de su aplicación, requiere estudios y experimentos a largo plazo. Esto es aún más crucial cuando se trata de modelados matemáticos y predicciones mediante química computacional. Aunque el análisis computacional complejo representa una oportunidad, se sugiere el uso de diversos softwares, como GOLD, OEDocking TK o NovaDock, además de AutoDockTools y PyRx. A pesar de que algunos de estos programas no son de código abierto, presentan mejoras sustanciales en modelos y algoritmos para el docking molecular.

Las herramientas de modelado y docking molecular emplean diferentes sistemas, algoritmos y parámetros, lo que puede generar incompatibilidades al comparar ensayos

bioinformáticos con estudios previos. Por tanto, se recomienda investigar las pautas de manejo de estas herramientas al cambiar a otras plataformas y softwares para optimizar la búsqueda de objetivos terapéuticos.

MTiOpenScreen utiliza la interacción molecular para prever tridimensionalmente la unión entre ligando y proteína, lo cual es valioso. Sin embargo, se aconseja obtener modelos cristalizados de los fármacos generados por MTiOpenScreen para realizar el docking molecular y comparar fuerzas de unión y posiciones de ligación. En investigaciones se sugiere realizar al menos 1000 interacciones, ya que los resultados raramente se repiten, a menos que se utilice el mismo algoritmo, lo cual podría sesgar hacia un solo resultado y no permitiría explorar las consecuencias de alterar posiciones y configuraciones espaciales de los ligandos.

Las cadenas moleculares en las estructuras cristalizadas, ya sea del PDB u otras plataformas, a menudo contienen residuos y fragmentos de moléculas no deseadas o ligandos, algunos susceptibles a cambios considerables al trabajar como monómeros o dímeros. Por lo tanto, se aconseja un análisis bioinformático exhaustivo, considerando la limpieza y preparación del modelo para eliminar impurezas que puedan interferir en la búsqueda de objetivos terapéuticos mediante cribados virtuales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Armstrong, M. J., & Okun, M. S. (2020). Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease. *JAMA*, 323(6), 548. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.22360>
- Balestrino, R., & Schapira, A. H. V. (2020). Parkinson disease. *European Journal of Neurology*, 27(1), 27–42. <https://doi.org/10.1111/ene.14108>
- Bussel, J., Arnold, D. M., Grossbard, E., Mayer, J., Trelinski, J., Homenda, W., Hellmann, A., Windyga, J., Sivcheva, L., Khalafallah, A. A., Zaja, F., Cooper, N., Markovtsov, V., Zayed, H., & Duliege, A. (2018). Fostamatinib for the treatment of adult persistent and chronic immune thrombocytopenia: Results of two phase 3, randomized, placebo-controlled trials. *American Journal of Hematology*, 93(7), 921–930. <https://doi.org/10.1002/ajh.25125>
- Chen, G., Seukep, A. J., & Guo, M. (2020). Recent Advances in Molecular Docking for the Research and Discovery of Potential Marine Drugs. *Marine Drugs*, 18(11), 545. <https://doi.org/10.3390/md18110545>
- Costa, M. F. B. N. A. da, Reisdorfer, E., Kempfer, S. S., Fernandes, G. C. M., Porporatti, A. L., & Canto, G. D. L. (2018). Diagnostic validity of biomarkers in Parkinson's Disease: systematic review and meta-analysis. *Revista Brasileira de Enfermagem*, 71(6), 3074–3083. <https://doi.org/10.1590/0034-7167-2017-0822>
- Di Fonzo, A., Rohé, C. F., Ferreira, J., Chien, H. F., Vacca, L., Stocchi, F., Guedes, L., Fabrizio, E., Manfredi, M., Vanacore, N., Goldwurm, S., Breedveld, G., Sampaio, C., Meco, G., Barbosa, E., Oostra, B. A., & Bonifati, V. (2005). A frequent LRRK2 gene mutation associated with autosomal dominant Parkinson's disease. *The Lancet*, 365(9457), 412–415. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)17829-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)17829-5)
- Domingos, S., Duarte, T., Saraiva, L., Guedes, R. C., & Moreira, R. (2019). Targeting leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) for the treatment of Parkinson's disease. *Future Medicinal Chemistry*, 11(15), 1953–1977. <https://doi.org/10.4155/fmc-2018-0484>

- Fernández-Pajarín, G., Sesar, Á., Jiménez-Martín, I., Ares, B., & Castro, A. (2023). Evolución y tratamiento de la fase avanzada de una serie de pacientes con enfermedad de Parkinson LRRK2. *Neurología*, 38(5), 350–356. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2020.06.020>
- Gimeno, A., Ojeda-Montes, M., Tomás-Hernández, S., Cereto-Massagué, A., Beltrán-Debón, R., Mulero, M., Pujadas, G., & Garcia-Vallvé, S. (2019). The Light and Dark Sides of Virtual Screening: What Is There to Know? *International Journal of Molecular Sciences*, 20(6), 1375. <https://doi.org/10.3390/ijms20061375>
- Greenbaum, L., Israeli-Korn, S. D., Cohen, O. S., Elinx-Benizri, S., Yahalom, G., Kozlova, E., Strauss, H., Molshatzki, N., Inzelberg, R., Spiegelmann, R., Israel, Z., & Hassin-Baer, S. (2013). The LRRK2 G2019S mutation status does not affect the outcome of subthalamic stimulation in patients with Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, 19(11), 1053–1056. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2013.07.005>
- Gudmundsson, S., Singer-Berk, M., Watts, N. A., Phu, W., Goodrich, J. K., Solomonson, M., Rehm, H. L., MacArthur, D. G., & O'Donnell-Luria, A. (2022). Variant interpretation using population databases: Lessons from gnomAD. *Human Mutation*, 43(8), 1012–1030. <https://doi.org/10.1002/humu.24309>
- Hatano, T., Funayama, M., Kubo, S., Mata, I. F., Oji, Y., Mori, A., Zabetian, C. P., Waldherr, S. M., Yoshino, H., Oyama, G., Shimo, Y., Fujimoto, K., Oshima, H., Kunii, Y., Yabe, H., Mizuno, Y., & Hattori, N. (2014). Identification of a Japanese family with LRRK2 p.R1441G-related Parkinson's disease. *Neurobiology of Aging*, 35(11), 2656.e17-2656.e23. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.05.025>
- Jin, H., Kanthasamy, A., Anantharam, V., & Kanthasamy, A. G. (2019). Biomarkers of Parkinson's Disease. In *Biomarkers in Toxicology* (pp. 895–909). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814655-2.00050-5>
- Lee, J.-W., & Cannon, J. R. (2015). LRRK2 mutations and neurotoxicant susceptibility. *Experimental Biology and Medicine*, 240(6), 752–759. <https://doi.org/10.1177/1535370215579162>

- Li, Q., & Shah, S. (2017). *Structure-Based Virtual Screening* (pp. 111–124).
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6783-4_5
- Lunati, A., Lesage, S., & Brice, A. (2018). The genetic landscape of Parkinson's disease. *Revue Neurologique*, *174*(9), 628–643.
<https://doi.org/10.1016/j.neurol.2018.08.004>
- Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer Aided-Drug Design*, *7*(2), 146–157.
<https://doi.org/10.2174/157340911795677602>
- Moreira-Júnior, R., Souza, R., de Carvalho, J., Bergamini, J., & Brunialti-Godard, A. (2022). Possible association between the *lrrk2* gene and anxiety behavior: a systematic literature review. *Journal of Neurogenetics*, *36*(4), 98–107.
<https://doi.org/10.1080/01677063.2022.2144293>
- Morris, G. M., & Lim-Wilby, M. (2008). *Molecular Docking* (pp. 365–382).
https://doi.org/10.1007/978-1-59745-177-2_19
- Muda, K., Bertinetti, D., Gesellchen, F., Hermann, J. S., von Zweyendorf, F., Geerlof, A., Jacob, A., Ueffing, M., Gloeckner, C. J., & Herberg, F. W. (2014). Parkinson-related LRRK2 mutation R1441C/G/H impairs PKA phosphorylation of LRRK2 and disrupts its interaction with 14-3-3. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(1). <https://doi.org/10.1073/pnas.1312701111>
- Nagarajan, N., Chellam, J., & Kannan, R. R. (2018). Exploring the functional impact of mutational drift in LRRK2 gene and identification of specific inhibitors for the treatment of Parkinson disease. *Journal of Cellular Biochemistry*, *119*(6), 4878–4889. <https://doi.org/10.1002/jcb.26703>
- Nazish, I., Arber, C., Piers, T. M., Warner, T. T., Hardy, J. A., Lewis, P. A., Pocock, J. M., & Bandopadhyay, R. (2021). Abrogation of LRRK2 dependent Rab10 phosphorylation with TLR4 activation and alterations in evoked cytokine release in immune cells. *Neurochemistry International*, *147*, 105070.
<https://doi.org/10.1016/j.neuint.2021.105070>

- Osborne, J. A., Botkin, R., Colon-Semenza, C., DeAngelis, T. R., Gallardo, O. G., Kosakowski, H., Martello, J., Pradhan, S., Rafferty, M., Readinger, J. L., Whitt, A. L., & Ellis, T. D. (2022). Physical Therapist Management of Parkinson Disease: A Clinical Practice Guideline From the American Physical Therapy Association. *Physical Therapy*, *102*(4). <https://doi.org/10.1093/ptj/pzab302>
- Pajarillo, E., Rizzor, A., Lee, J., Aschner, M., & Lee, E. (2019). The role of posttranslational modifications of α -synuclein and LRRK2 in Parkinson's disease: Potential contributions of environmental factors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, *1865*(8), 1992–2000. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.11.017>
- Pinzi, L., & Rastelli, G. (2019). Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(18), 4331. <https://doi.org/10.3390/ijms20184331>
- Radder, D. L. M., Lgia Silva de Lima, A., Domingos, J., Keus, S. H. J., van Nimwegen, M., Bloem, B. R., & de Vries, N. M. (2020). Physiotherapy in Parkinson's Disease: A Meta-Analysis of Present Treatment Modalities. *Neurorehabilitation and Neural Repair*, *34*(10), 871–880. <https://doi.org/10.1177/1545968320952799>
- Rizek, P., Kumar, N., & Jog, M. S. (2016). An update on the diagnosis and treatment of Parkinson disease. *Canadian Medical Association Journal*, *188*(16), 1157–1165. <https://doi.org/10.1503/cmaj.151179>
- Saunders-Pullman, R., Mirelman, A., Alcalay, R. N., Wang, C., Ortega, R. A., Raymond, D., Mejia-Santana, H., Orbe-Reilly, M., Johannes, B. A., Thaler, A., Ozelius, L., Orr-Urtreger, A., Marder, K. S., Giladi, N., & Bressman, S. B. (2018a). Progression in the *LRRK2* -Associated Parkinson Disease Population. *JAMA Neurology*, *75*(3), 312. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.4019>
- Saunders-Pullman, R., Mirelman, A., Alcalay, R. N., Wang, C., Ortega, R. A., Raymond, D., Mejia-Santana, H., Orbe-Reilly, M., Johannes, B. A., Thaler, A., Ozelius, L., Orr-Urtreger, A., Marder, K. S., Giladi, N., & Bressman, S. B.

- (2018b). Progression in the *LRRK2* -Associated Parkinson Disease Population. *JAMA Neurology*, 75(3), 312. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.4019>
- Silakari, O., & Singh, P. K. (2021). Chapter 1 - Fundamentals of molecular modeling. In O. Silakari & P. K. Singh (Eds.), *Concepts and Experimental Protocols of Modelling and Informatics in Drug Design* (pp. 1–27). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820546-4.00001-5>
- Simon, D. K., Tanner, C. M., & Brundin, P. (2020). Parkinson Disease Epidemiology, Pathology, Genetics, and Pathophysiology. *Clinics in Geriatric Medicine*, 36(1), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2019.08.002>
- Simpson, C., Vinikoor-Imler, L., Nassan, F. L., Shirvan, J., Lally, C., Dam, T., & Maserejian, N. (2022a). Prevalence of ten *LRRK2* variants in Parkinson's disease: A comprehensive review. *Parkinsonism & Related Disorders*, 98, 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2022.05.012>
- Simpson, C., Vinikoor-Imler, L., Nassan, F. L., Shirvan, J., Lally, C., Dam, T., & Maserejian, N. (2022b). Prevalence of ten *LRRK2* variants in Parkinson's disease: A comprehensive review. *Parkinsonism & Related Disorders*, 98, 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2022.05.012>
- Somme, J. H., Molano Salazar, A., Gonzalez, A., Tijero, B., Berganzo, K., Lezcano, E., Fernandez Martinez, M., Zarranz, J. J., & Gómez-Esteban, J. C. (2015). Cognitive and behavioral symptoms in Parkinson's disease patients with the G2019S and R1441G mutations of the *LRRK2* gene. *Parkinsonism & Related Disorders*, 21(5), 494–499. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2015.02.019>
- Stoker, T. B., & Greenland, J. C. (Eds.). (2018). *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects*. Codon Publications. <https://doi.org/10.15586/codonpublications.parkinsonsdisease.2018>
- Tan, S., Lu, R., Yao, D., Wang, J., Gao, P., Xie, G., Liu, H., & Yao, X. (2023). Identification of *LRRK2* Inhibitors through Computational Drug Repurposing. *ACS Chemical Neuroscience*, 14(3), 481–493. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.2c00672>

- Torres, P. H. M., Sodero, A. C. R., Jofily, P., & Silva-Jr, F. P. (2019). Key Topics in Molecular Docking for Drug Design. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 4574. <https://doi.org/10.3390/ijms20184574>
- Trinh, J., Amouri, R., Duda, J. E., Morley, J. F., Read, M., Donald, A., Vilariño-Güell, C., Thompson, C., Szu Tu, C., Gustavsson, E. K., Ben Sassi, S., Hentati, E., Zouari, M., Farhat, E., Nabli, F., Hentati, F., & Farrer, M. J. (2014). A comparative study of Parkinson's disease and leucine-rich repeat kinase 2 p.G2019S parkinsonism. *Neurobiology of Aging*, 35(5), 1125–1131. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.11.015>
- Trinh, J., Zeldenrust, F. M. J., Huang, J., Kasten, M., Schaake, S., Petkovic, S., Madoev, H., Grünewald, A., Almuammar, S., König, I. R., Lill, C. M., Lohmann, K., Klein, C., & Marras, C. (2018). Genotype-phenotype relations for the Parkinson's disease genes SNCA, LRRK2, VPS35: MDSGene systematic review. *Movement Disorders*, 33(12), 1857–1870. <https://doi.org/10.1002/mds.27527>
- Váradi, C. (2020). Clinical Features of Parkinson's Disease: The Evolution of Critical Symptoms. *Biology*, 9(5), 103. <https://doi.org/10.3390/biology9050103>
- Zhang, J.-R., Jin, H., Li, K., Mao, C.-J., Yang, Y.-P., Wang, F., Gu, C.-C., Zhang, H.-J., Chen, J., & Liu, C.-F. (2018). Genetic analysis of LRRK2 in Parkinson's disease in Han Chinese population. *Neurobiology of Aging*, 72, 187.e5-187.e10. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2018.06.036>

ANEXOS

Search results for parkinson
Showing 25 of 4,288 hits for parkinson

#	Family	MCID	Name	MIFTS	Score
1	P	PRK057	Parkinson Disease_Late-Onset	82	170.491
2	P	PRK039	Parkinsonism	57	85.854
3	P	WLF001	Wolff-Parkinson-White Syndrome	61	59.371
4	C	PRK089	Parkinson Disease 2_Autosomal Recessive Juvenile	50	52.514
5	P	AMY027	Amyotrophic Lateral Sclerosis-Parkinsonism/dementia Complex 1	59	50.969
6	C	PRK092	Parkinson Disease 6_Autosomal Recessive Early-Onset	49	46.951
7	C	PRK085	Parkinson Disease 1_Autosomal Dominant	52	46.315
8	C	PRK071	Parkinson Disease 1d_Autosomal Recessive	48	45.592
9	C	PRK091	Parkinson Disease 4_Autosomal Dominant	42	41.937
10	C	PRK021	Parkinson Disease 7_Autosomal Recessive Early-Onset	43	40.111
11	P	DMN002	Dementia	72	39.289
12	C	PRK093	Parkinson Disease 8_Autosomal Dominant	45	39.139
13	P	DYS064	Dystonia 3_Torsion_X-Linked	53	38.143
14	C	PRK090	Parkinson Disease 3_Autosomal Dominant	38	36.673
15	P	PRK105	Parkinsonism-Dystonia 1_Infantile-Onset	38	36.614
16	C	PRK086	Parkinson Disease 15_Autosomal Recessive Early-Onset	55	36.192
17	P	MVM001	Movement Disorder	62	35.576
18	C	PRK081	Parkinson Disease 19a_Juvenile-Onset	30	35.409
19	P	TRM003	Tremor	53	35.244
20	C	PRK098	Parkinson Disease 5_Autosomal Dominant	27	34.547

Anexo 1. Búsqueda de genes elite de la enfermedad de Parkinson en MalaCards

Search: 'parkinson'
Results: 359 entries. Show 100 | Download As | < First | < Previous | Next > | Last >

- # 605909. PARKINSON DISEASE 6, AUTOSOMAL RECESSIVE EARLY-ONSET; PARK6
PARKINSON DISEASE 6, LATE-ONSET, SUSCEPTIBILITY TO, INCLUDED
Cytogenetic location: 1p36.12
Matching terms: parkinson
► Phenotype-Gen Relationships ► Phenotypic Series ► ICD+ ► Links
- # 168601. PARKINSON DISEASE 1, AUTOSOMAL DOMINANT; PARK1
ATYPICAL PARKINSON DISEASE, INCLUDED
Cytogenetic location: 4q22.1
Matching terms: parkinson
► Phenotype-Gen Relationships ► Phenotypic Series ► ICD+ ► Links
- # 605543. PARKINSON DISEASE 4, AUTOSOMAL DOMINANT; PARK4
Cytogenetic location: 4q22.1
Matching terms: parkinson
► Phenotype-Gen Relationships ► Phenotypic Series ► ICD+ ► Links
- # 600116. PARKINSON DISEASE 2, AUTOSOMAL RECESSIVE JUVENILE; PARK2
Cytogenetic location: 6q26
Matching terms: parkinson
► Phenotype-Gen Relationships ► Phenotypic Series ► ICD+ ► Links
- # 615528. PARKINSON DISEASE 19A, JUVENILE-ONSET; PARK19A
PARKINSON DISEASE 19B, EARLY-ONSET, INCLUDED; PARK19B, INCLUDED
Cytogenetic locations: 1p31.3,
Matching terms: parkinson
► Phenotype-Gen Relationships ► Phenotypic Series ► ICD+ ► Links
- % 602404. PARKINSON DISEASE 3, AUTOSOMAL DOMINANT; PARK3
Cytogenetic location: 2p13. Genomic coordinates (GRCh38): 2:68,400,001-74,800,000

Anexo 2. Investigaciones previas relacionadas a la EP con el soporte de genes elite

Harmonizome 3.0 All LRRK2 Q

SEARCH DOWNLOAD VISUALIZE PREDICT API MOBILE ABOUT

Filters: **Gene** **Gene Set**

Results for "LRRK2": 1 gene, 12 gene sets

Show entries Filter

LRRK2 *Gene*
leucine-rich repeat kinase 2
 This gene is a member of the leucine-rich repeat kinase family and encodes a protein with an ankyrin repeat region, a leucine-rich repeat (LRR) domain, a kinase domain, a DFG-like motif, a RAS domain, a GTPase domain, a MLK-like domain, and a WD40 domain. The protein is present largely in the cytoplasm but also associates with the mitochondrial outer membrane. Mutations in this gene have been associated with Parkinson disease-8. [provided by RefSeq, Jul 2008]

lrrk2 *Gene Set*
 From *GeneRIF Biological Term Annotations*
 genes co-occurring with the biological term **lrrk2** in literature-supported statements describing functions of genes from the GeneRIF Biological Term Annotations dataset.

LRRK2 *Gene Set*
 From *KEA Substrates of Kinases*
 substrates of the kinase LRRK2 from the curated KEA Substrates of Kinases dataset.

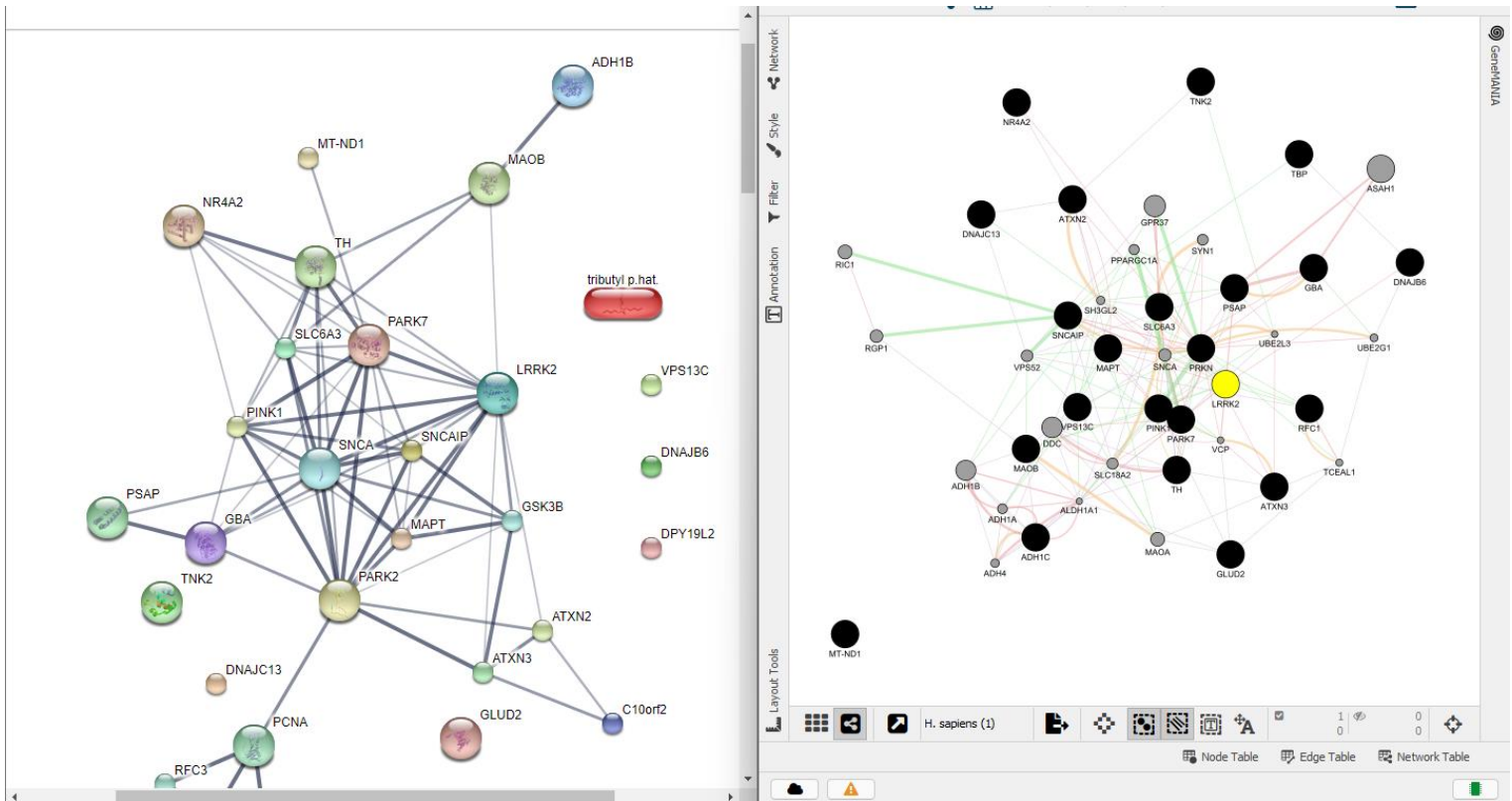
LRRK2 *Gene Set*
 From *Pathway Commons Protein-Protein Interactions*
 interacting proteins for LRRK2 from the Pathway Commons Protein-Protein Interactions dataset.

LRRK2 *Gene Set*
 From *PhosphoSitePlus Substrates of Kinases*
 substrates of the kinase LRRK2 from the curated PhosphoSitePlus Substrates of Kinases dataset.

LRRK2 *Gene Set*
 From *Kinase Library Serine Threonine Kinome Atlas*
 substrates of the kinase LRRK2 from the Kinase Library Serine Threonine Kinome Atlas dataset.

HSP90-CDC37-LRRK2 complex *Gene Set*

Anexo 3. Análisis de genes de la EP en Harmonizome Gene Set.



Anexo 4. Red de interacción biológica en STITCH y Cytoscape para la EP, gen LRRK2 con varias interacciones

[Data Library (beta)]: explore data packages specific to your use case and the included tables. Discover More!

DRUGBANK Online Explore Data Library Academic Downloads Interaction Checker GET MORE LOG IN

Drugs

50. Varela I, Tarpey P, Kaine K, Huang D, Ong CK, Stephens H, Davies H, Jones D, Liu MC, Teague J, Bignell G, Butler A, Cho J, Dalgleish GL, Galappaththige U, Greenman C, Hardy C, Jia M, Latimer C, Lau KW, Marshall J, McLaren S, Menzies A, Mudie L, Stebbings L, Largaespada DA, Wessels LF, Richard S, Kahnoski RJ, Anema J, Tuveson DA, Perez-Mancera PA, Mustonen V, Fischer A, Adams DJ, Rust A, Chan-on W, Subimerb C, Dykema K, Furge K, Campbell PJ, Teh BT, Stratton MR, Futreal PA: Exome sequencing identifies frequent mutation of the SWI/SNF complex gene PBRM1 in renal carcinoma. *Nature*. 2011 Jan 27;469(7331):539-42. doi: 10.1038/nature09639. Epub 2011 Jan 19. [Article]

51. Bardin S, Lesage S, Brice A, Carr J: Genetic characteristics of leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) associated Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2011 Aug;17(7):501-8. doi: 10.1016/j.parkreldis.2010.11.008. [Article]

52. Rubio JP, Topp S, Warren L, St-Jean PL, Wegmann D, Keszner D, Novembre J, Shen J, Fraser D, Aponte J, Nangle K, Cardon LR, Ehm MG, Chissoe SL, Whittaker JC, Nelson MR, Mooser VE: Deep sequencing of the LRRK2 gene in 14,002 individuals reveals evidence of purifying selection and independent origin of the p.Arg1628Pro mutation in Europe. *Hum Mutat*. 2012 Jul;33(7):1087-98. doi: 10.1002/humu.22075. Epub 2012 Apr 4. [Article]

53. Kilarski LL, Pearson JR, Newsday V, Majounie E, Knipe MD, Mirbahadudin A, Chimney PF, Burn DJ, Clarke CE, Marion MH, Levetzwaite AJ, Nicholl DJ, Wood NW, Morrison KE, Williams-Gray CH, Evans JR, Sawcer SJ, Barker RA, Wickremaratne MM, Ben-Shlomo Y, Williams NM, Morris HR: Systematic review and UK-based study of PARK2 (parkin), PINK1, PARK7 (DJ-1) and LRRK2 in early-onset Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2012 Oct;27(12):1522-9. doi: 10.1002/mds.25132. Epub 2012 Sep 6. [Article]

DRUG RELATIONS

Drug Relations Show 10 entries Search

DRUGBANK ID	NAME	DRUG GROUP	PHARMACOLOGICAL ACTION?	ACTIONS	DETAILS
DB12010	Fostamanib	approved, investigational	unknown	Inhibitor	Details

Showing 1 to 1 of 1 entries

Downloads Learn More Support About

Anexo 5. Validación de posibles fármacos disponibles para LRRK2 (Fostamanib).

RCSB PDB Deposit Search Visualize Analyze Download Learn About Documentation Careers COVID-19 MyPDB Contact us

PDB-101 PDB PDB-DataResource NAKB wwPDB Foundation PDB-Dev

Structure Summary Structure Annotations Experiment Sequence Genome Versions

Biological Assembly 1

7LHT

Structure of the LRRK2 dimer

PDB DOI: <https://doi.org/10.2210/pdb7LHT/pdb> EM Map EMD-23350: EMD EMDataResource

Classification: TRANSFERASE, HYDROLASE

Organism(s): Homo sapiens

Expression System: Homo sapiens

Mutation(s): Yes

Deposited: 2021-01-26 Released: 2021-06-16

Deposition Author(s): Myasnikov A, Zhu H, Hixson P, Xie B, Yu K, Pitre A, Peng J, Sun J

Funding Organization(s): National Institutes of Health/National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIH/NIAAA)

Experimental Data Snapshot

Method: ELECTRON MICROSCOPY

Resolution: 3.50 Å

Aggregation State: PARTICLE

Reconstruction Method: SINGLE PARTICLE

wwPDB Validation

Metric	Percentile Ranks	Value
Clashscore	12	12
Ramachandran outliers	10	10
Sidechain outliers	0.3%	0.3%

Explore in 3D: Structure | Sequence Annotations | Electron Density | Validation Report | Ligand Interaction (ATP)

Global Symmetry: Cyclic - C2 (Explore in 3D)

Global Stoichiometry: Homo 2-mer - A2

Find Similar Assemblies

Biological assembly 1 assigned by authors.

This is version 1.1 of the entry. See complete history.

Anexo 6. Bosquejo de cristalografía tridimensional gen LRRK2.

No Ligands! Sorry

pockets¹ - solely based on the 3D structure of the protein - and splits them into subpockets. Check the help pages for DogSiteScorer and its REST API and the video tutorial for further information.

Result
Click on the plus to see your selected parameters:

Show 25 entries

Name	Volume Å ³	Surface Å ²	Drug Score	Simple Score	Additional Information
P_0	1116.17	1442.13	0.8	0.59	Click here to show/hide
P_1	809.54	1206.71	0.77	0.51	Click here to show/hide
P_10	309.15	521.37	0.63	0.15	Click here to show/hide
P_11	304.83	476.66	0.59	0.12	Click here to show/hide
P_12	296.93	406.92	0.51	0.14	Click here to show/hide
P_13	292.97	428.93	0.5	0.08	Click here to show/hide
P_14	285.06	462.78	0.65	0.12	Click here to show/hide
P_15	269.97	411.86	0.53	0.02	Click here

Representation options: Protein: Cartoon, Ligand: 1 Ligand
Surface options: Surface: Off, Color: White
Viewer options: Background: Black, Mouse behavior: Default
More options: Screenshot, Resolution, View, Reset

Anexo 7. Prueba DogSiteScorer de identificación de pockets con mayor drugabilidad.

RPBS (guest) set email sign-in activate sign-out refresh workspace

Welcome Forms Data Bookmarks Jobs Tutorials

Overview <https://moby2.rpbs.univ-paris-diderot.fr/data/jobs/MTiOpenScreen/X08679277640104>

<https://moby2.rpbs.univ-paris-diderot.fr/data/jobs/MTiOpenScreen/X08679277640104>

get help back to form remove job download

job progress report

```
[00:43:22] ... sorting results
10% 20% 30% 40% 50% 60% 70% 80% 90% 100%
10% 20% 30% 40% 50% 60% 70% 80% 90% 100%
10% 20% 30% 40% 50% 60% 70% 80% 90% 100%
10% 20% 30% 40% 50% 60% 70% 80% 90% 100%
10% 20% 30% 40% 50% 60% 70% 80% 90% 100%
[00:43:01] ... cleaning up
[00:43:31] 5/5 formatting output
[00:43:31] finished
```

Results

Table with 1600 best ligands (HTML)

output.table.html

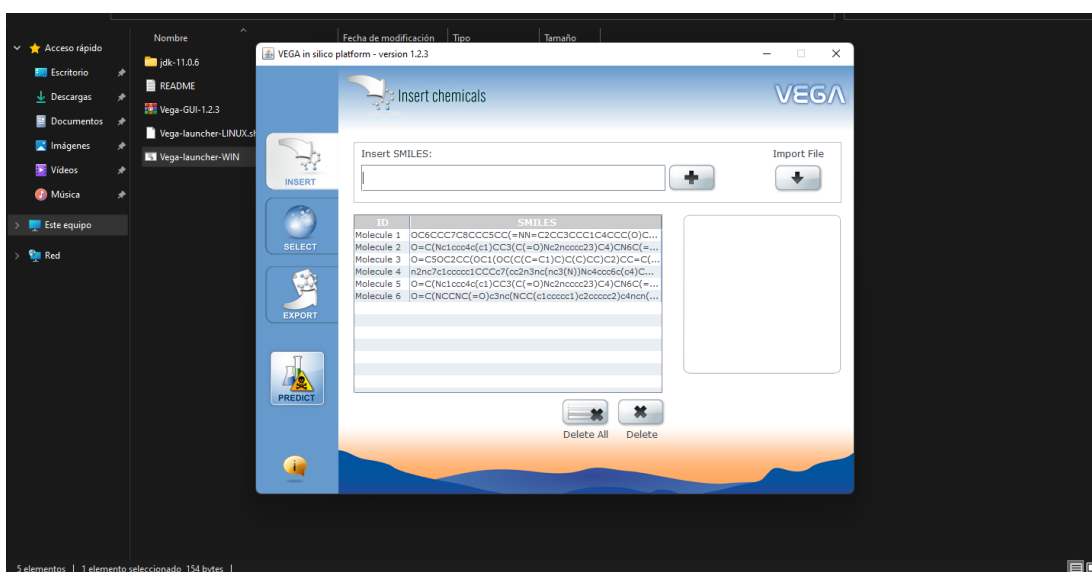
Show 100 entries

Compound	Model ID	Energy	nRot
Bolazine_ZINC000008214506	1	-12.2	3
Mk3207_ZINC000043203371	1	-11.8	4

Anexo 8. Cribado virtual con MTiOpeenScreen, espera de ligandos encontrados con las cordenas de aminoácidos para el gen LRRK2.



Anexo 9. Interacción Molecular tridimensional por MtiOpenScreen



Anexo 10. VEGA in silico para evaluación de toxicidad de dianas probables para tratamiento de la EP.

PyRx - Virtual Screening Tool
File Edit View Help

Navigator

Molecules AutoDock TVTK Mayavi

7ht_modificado_limpio
Losulazine
7ht_modificado_limpio_Losulazine

3D Scene 2D Plots Documents Tables

Controls

Vina Wizard AutoDock Wizard Open Babel Python Shell Logger

Start Here Select Molecules Run Vina Analyze Results

View: No filter Results: All 9 items

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD u
7ht_modificado_limpio_Losulazine	-10.6	1	6.026	8.009
7ht_modificado_limpio_Losulazine	-10.2	2	4.106	12.685
7ht_modificado_limpio_Losulazine	-10.1	3	6.176	10.943
7ht_modificado_limpio_Losulazine	-10.0	4	1.784	2.788
7ht_modificado_limpio_Losulazine	-9.8	5	3.862	4.85

Anexo 11. Docking Molecular con PyRx entre gen LRRK2 y diana propuesta ligando Losulazine.