

POR QUÉ FUNCIONAN LAS DIETAS RICAS EN PROTEÍNAS

Las dietas ricas en proteínas son sustancias. Un estudio reciente (Duraffourd, C. et al. *Cell* 150, 377–388, 2012) propone un mecanismo que muestra que los péptidos derivados de proteínas de la dieta actúan como antagonistas de unos receptores situados en las neuronas de la pared de la vena portal (receptores MORs), y dan como resultado una señal en el cerebro que promueve la gluconeogénesis en el intestino, lo que actúa como una señal que reduce la ingesta de alimentos.

Se usaron ratas a las que se les había inactivado los nervios aferentes del intestino, y el resultado fue la ausencia de inducción de las enzimas gluconeogénicas en una dieta rica en proteínas, indicando que la comunicación intestino-cerebro está implicada en la regulación del apetito en dietas proteicas.

Las pruebas demuestran que los MORs están implicados en esa conexión, ya que aparece una sobreexpresión de éstos en el intestino delgado de humanos, al igual que en el de ratas. Por otro lado es curioso que los agonistas y antagonistas de MOR aumentan y disminuyen, respectivamente, tras la ingesta. Sin embargo, no lo hacen en ratas con la vena portal denervada.

Entonces, la pregunta es si una dieta rica en proteínas induce un antagonismo de MOR.

Las proteínas de la dieta se digieren en oligopéptidos, y la digestión proteolítica o una selección de oligopéptidos en la vena portal, incrementan la actividad de la glucosa-6-fosfatasa en el intestino.

Recientemente, se ha descubierto que los oligopéptidos o la digestión proteolítica induce la actividad de las enzimas gluconeogénicas en ratones de tipo silvestre pero no en ratones carentes de MOR. Además, a diferencia de los silvestres, los carentes de MOR no reducen su ingesta de alimento después de cambiar de una dieta enriquecida con almidón a una rica en proteínas. Por otro lado, los ratones silvestres con un antagonista de MOR reducen la ingesta de alimento en un 15%, y este efecto no ocurre con un ratón mutante deficitario de enzimas gluconeogénicas intestinales.

Así, el antagonismo de MORs intestinales por alimentos proteicos produce activación

de las vías intestino-cerebro e induce la gluconeogénesis intestinal, un proceso que subyace al hecho de que esta dieta rica en proteínas alimentarias satisfaga el apetito.

Eva Punzón Fernández
ITH

LA PROTEÍNA MDM4; NUEVA DIANA TERAPÉUTICA PARA EL MELANOMA

Recientemente, ha sido publicado un importante hallazgo que supone un gran avance en la comprensión y tratamiento del melanoma (*Nature Medicine*, 2012; DOI: 10.1038/nm.2863). Las vías de señalización que conducen a un melanocito a su inmortalización (conversión en célula tumoral) han sido muy estudiadas aunque de momento, no del todo comprendidas. La importante proteína supresora de tumores p53 (encargada de supervisar el estado de la célula y desencadenar señales proapoptóticas en caso que sea necesario) se encuentra mutada y su función comprometida en un número importante de tumores, en el caso del melanoma esto no es así, imposibilitando el tratamiento dirigido a recuperar su actividad. Sin embargo, el trabajo de Gembarska y colaboradores resalta el papel de la proteína MDM4 que se encarga de inhibir la función de p53 (tiene, por lo tanto, actividad oncogénica promoviendo la supervivencia de las células tumorogénicas) y que está sobreexpresada en el 65% de los melanomas humanos. La sobreexpresión de esta proteína en melanocitos de ratón aceleró la formación de melanomas agresivos y la terapia con fármacos que inhiben el complejo MDM4-p53 restauró la muerte celular dependiente de p53. Además esta terapia puede ser utilizada con quimioterápicos siendo el resultado de su combinación un efecto sinérgico en los efectos citotóxicos observados.

Este nuevo abordaje que restablece la función de p53 abre una nueva alternativa a los pacientes que no responden al tratamiento convencional o los que han adquirido una resistencia al mismo. MDM4 se convierte, por todo ello, en una prometedora diana contra la que diseñar fármacos selectivos y seguros que mejoren el pronóstico de los pacientes con esta enfermedad.

Marcos Maroto
ITH

REVIRTIENDO LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON

Actualmente no existen tratamientos efectivos para la enfermedad de Huntington (EH), un trastorno neurodegenerativo hereditario en el que la expresión de la proteína huntingtina (HTT) mutada conduce a una degeneración progresiva de las funciones motora y cognitiva. La mayoría de las investigaciones con enfoques terapéuticos que tratan de suprimir la síntesis de HTT mutante se han dirigido principalmente al cuerpo estriado, la región del cerebro que es más vulnerable a la toxicidad mediada por HTT mutante, pero recientes evidencias sugieren que puede ser necesario dirigirse a múltiples regiones del cerebro para conseguir una terapia eficaz. Recientemente, Kordasiewicz y colaboradores muestran que la infusión transitoria de oligonucleótidos antisentido de cadena simple (OAS) en el sistema nervioso central de los modelos de ratón de EH conduce a una supresión generalizada de la síntesis de HTT en el cerebro, dando lugar a una mejora continuada en la función motora y comportamiento.

Usando OAS que comprenden un oligonucleótido 20-ero fosforotioato modificado que es complementario al ARNm de la HTT humana, los autores primero demostraron que la infusión de estos OAS durante 2 semanas en el ventrículo lateral derecho del ratón BACHD, modelo de EH, suprimió la expresión de HTT mutante de forma dosis-dependiente hasta 12 semanas después del tratamiento. Por otra parte, los OAS se distribuyeron a las neuronas de la mayoría de las regiones del cerebro, incluyendo la corteza frontal, el cuerpo estriado, el tálamo, mesencéfalo, tronco cerebral y cerebelo.

A continuación, investigaron los efectos de este régimen de tratamiento en los ratones YAC128 y BACHD, modelos de EH. En los dos modelos el tratamiento con OAS dio lugar a mejoras en la actividad motora y en la coordinación, y conductas como la hipoactividad y la ansiedad fueron mejoradas hasta niveles similares a ratones de tipo salvaje (no transgénicos). En particular, para los ratones BACHD (que fueron controlados durante 6 meses más que a los YAC128), los déficits motores fueron mejorados hasta los 15 meses de edad, lo que supone 9 meses después del fin del tratamiento y más de 5 meses después de que los niveles de expresión de HTT mutante volvieran a los niveles previos al tratamiento. Esto indica que los efectos beneficiosos de la infusión de OAS sobre los síntomas motores duran más que los efectos de la supresión de HTT. Es importante destacar que cuando los niveles de HTT normal se redujeron en un 75% en ratones no transgénicos no se observaron cambios en la función motora, lo que demuestra que la supresión de HTT normal provocada por los OAS es bien tolerada.

Por último, la infusión intratecal en monos Rhesus durante 21 días de un OAS que es complementario a las HTT de mono Rhesus y humana mostró que los OAS fueron distribuidos a las neuronas de regiones cerebrales más periventriculares y laterales. La expresión de HTT fue suprimida de manera significativa inmediatamente después de la infusión y se mantuvo suprimida durante 4 semanas después de finalizar el tratamiento.

Los autores sugieren que este es un enfoque clínicamente viable para el tratamiento de la EH, ya que una disminución transitoria en la síntesis de HTT podría conducir a un efecto de larga duración en los pacientes.

Enrique Calvo Gallardo
ITH

HACIA UN DISEÑO VERDADERAMENTE RACIONAL DE FÁRMACOS MULTIDIANA

O de fármacos “sucios”, si se es un escéptico de estos abordajes. La comunidad científica dedicada a la I+D de fármacos antineoplásicos, antiinfecciosos o contra enfermedades neurodegenerativas sigue debatiendo si los fármacos capaces de actuar sobre varias dianas son mejores que aquellos que solo lo hacen de forma selectiva, y generalmente más potente, sobre una; o si es mejor la terapia de combinación de dos fármacos selectivos que la administración de uno solo multipotente. La discusión no va a terminar (afortunadamente, así es como suele avanzar la ciencia) pero existen avances científicos en la línea de solventar los defectos encontrados en las terapias multidiana.

Tal es el caso del trabajo publicado hace unos meses en *Nature* (*Nature* 486, 80-85, 2012), que hace unos días el director de esta revista puso en mi mesa y me pidió que resumiera para reseñarlo en AFT. Lo primero que me sorprendió es ver donde estaba publicado. Son muy escasos los artículos de Química Médica y Cribado Farmacológico publicados en la más famosa revista científica del mundo. Hace ya algún tiempo, escribí por una red social a la revista *Nature Chemistry*: “You scarcely publish papers about MedChem topics. Why?”. A lo que me contestaron: “We can only publish from what we have submitted to us. We don't get much... is there all that much more in JACS/ANgew?”. Vamos, que ellos no tienen la culpa si nadie se los envía, comparándome con lo que tampoco aparece en dos revistas de gran prestigio de química. Sin embargo, cuando terminé de leer el artículo del que voy a hablar, no solo comprendí por qué aparecía en la revista insignia *Nature*, sino también qué es lo que debemos hacer los químicos médicos para poder tener trabajos de esta calidad e impacto.

Los investigadores dirigidos por Arvin C. Dar, de la Universidad de California en San Francisco y Tirtha K. Das, del Hospital Monte Sinaí de Nueva York, trabajan en el desarrollo de nuevos inhibidores de enzimas tirosina cinasa para el tratamiento de varios tipos de cáncer, entre los que se encuentra la neoplasia endocrina múltiple del tipo 2, causante de varios tipos de carcinomas que afectan a glándulas endocrinas.

Para este tipo de cáncer existen varios inhibidores de tirosina cinasa en clínica, como puede ser el sorafenib. Sin embargo, la existencia de gran cantidad de enzimas tirosina cinasa implicadas en rutas fisiológicas impide que el tratamiento con estos fármacos carezca de efectos secundarios no deseados. No solo eso, sino que el oncogén mutante implicado, el receptor acoplado a tirosina cinasa RET, actúa directamente sobre una cascada de enzimas tirosina cinasa implicadas en la red de señalización celular, tanto en proliferación del cáncer como en rutas no patogénicas. Para solventar estos problemas, los autores de este trabajo diseñaron un complejo protocolo de cribado de decenas de compuestos análogos de adenosina sobre una pléyade de enzimas tirosina cinasa, con un modelo *in vivo* fácil de interpretar y asistiéndose de métodos computacionales de modelización molecular, con el fin de llevar a cabo estudios de las relaciones estructura-actividad encontradas y predecir la actividad de potenciales derivados.

Merece especial atención el modelo *in vivo* utilizado, la mosca *Drosophila*, que permite la observación de la proliferación del tumor en tejido epitelial de ala, ojos y patas, a la vez que la evaluación de la viabilidad de los individuos expuestos tanto a la mutación pro-oncogénica, como a los fármacos estudiados. Así, la caracterización del perfil antineoplásico de los compuestos se basa tanto en la reducción de estructuras aberrantes como en la supervivencia de las moscas, monitorizando su paso desde el estadio embrionario hasta el de adulto, pasando por las formas larva y pupa. A modo de ejemplo, el fármaco cabeza de serie, sorafenib, fue capaz de rescatar varios animales en la edad adulta, pero no incrementó la proporción de moscas que llegaron al estado de pupa, lo que indicaba que el sorafenib presentaba algo de eficacia, a la par que toxicidad en las dosis óptimas. Por tanto, hay que subrayar como uno de los puntos destacados del trabajo que permite una evaluación *in vivo* del índice terapéutico de forma rápida y precisa.

A partir del mejor de los derivados primeramente sintetizados, AD57, se optimizó la estructura para potenciar la eficacia antitumoral y reducir la toxicidad. Se llevaron a cabo experimentos *in vitro* para comprobar la inhibición de las diferentes familias de

enzimas cinasas por varios miembros de la familia de compuestos, haciendo hincapié en aquellas que son reclutadas por el receptor acoplado a proteína tirosina cinasa RET. Es este punto el más destacado de trabajo, ya que significa lo que se ha venido a denominar la validación de la diana.

En los textos más prestigiosos dedicados a la I+D de fármacos, la validación de la diana aparece como el primer paso para una correcta investigación. Se debe demostrar qué receptor, enzima u otras proteínas son necesarias para mitigar cierto proceso patológico, sin afectar a otras rutas fisiológicas. En el caso de la intervención sobre la red de señalización celular regulado por enzimas cinasas, este proceso es mucho más prioritario, teniendo en cuenta la complejidad de las ubicuas implicaciones de estas enzimas. Por tanto, sabiendo como inhibe cada compuesto las enzimas tirosina cinasas activadas por RET y en qué resulta su administración a cada individuo (supervivencia, actividad antitumoral, toxicidad...), se pudo diseñar un esquema predictivo de qué enzimas habría que inhibir para aumentar la eficacia de los fármacos (dianas) así como qué enzimas habría que evitar su inhibición para evitar la aparición de fenómenos de toxicidad (antidianas).

Con este esquema y con la ayuda de técnicas computacionales para ayudar a diseñar inhibidores más potentes, se optimizó la estructura del compuesto líder, lo que llevó a la síntesis de AD80 y AD81 con mejor índice terapéutico (mayor eficacia, toxicidad a dosis mucho más elevadas), siendo confirmada su actividad en cultivos de células cancerígenas humanas.

En resumen, este artículo de investigación viene a defender la estrategia multidiana para ciertos tipos de patologías. Pero también lleva implícita una crítica, en cuanto que no es posible llevar a buen término un estudio de I+D de fármacos si no se define precisamente qué ruta metabólica queremos afectar y cuales no, demostrando que la intervención farmacológica sobre unas dianas y no sobre otras, conlleva el beneficio que se busca. Deberíamos empezar por preguntarnos si la batería de modelos experimentales que estos autores nos presentan, con cultivos de líneas cancerígenas humanas, modelos transgénicos *in vivo* que expresan oncogenes humanos, entre otros, aparece en muchos otros artículos de investigación sobre fármacos multidiana. Desafortunadamente, no es así. Y todo ello asistido, que no cautivado, por una correcta utilización de las técnicas computacionales.

Cristóbal de los Ríos Salgado
ITH