



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 6, diciembre 2007

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)

## Editorial

### ***Cumplimos cinco años***

Con la aparición, en diciembre de 2007, del número 3 del volumen 6 de QuímicaViva, cumplimos cinco años consecutivos en INTERNET. Durante este período, hemos publicado 15 números y un suplemento educativo. Contamos con la colaboración de científicos especialistas en diferentes ramas de la Medicina, la Biología y la Química, que lograron que QuímicaViva se convirtiera en una publicación seria y actualizada, que cuenta, además, con el valor agregado de publicarse en español y de brindar acceso gratuito a todos los artículos, que pueden bajarse en formato pdf. Sin dejar de mencionar que QViva se lee sin sobresaltos, puesto que no hay figuras que atraviesen la pantalla inesperadamente o ventanas que se abran para ofrecer productos en venta.

Hemos brindado al lector temas de ética, por ejemplo sobre la clonación, y opiniones de expertos en el ámbito de la educación, específicamente acerca del poco interés que muestran los jóvenes por el estudio de las ciencias exactas.

A fines del 2002 nos asomamos a la red global con incertidumbre, desconocíamos el tipo de público al que podría interesar QViva. Hoy, cinco años más tarde, seguimos sin conocerlo, pero, a pesar de ello, lo que sí sabemos es que tenemos muchos lectores. Cualquiera sea el significado que tenga registrar el ingreso de 277.129 visitantes distintos durante el año 2007, u otro tipo de mediciones, como el número de páginas visitadas o megabytes solicitados, hay un parámetro que está midiendo el interés por QViva, que es el porcentaje de lectores que añaden a sus favoritos la dirección del sitio de nuestra revista. Así, mientras que en diciembre de 2006 registramos un valor del 24,1%, en diciembre de este año ese valor se ha incrementado al 44,1%. Sin duda, el ingreso a

Redalyc (Red de revistas científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal) fue muy importante y significó la apertura de un amplio espectro de lectores, principalmente de México y España, a tal punto que su número ha superado a la cantidad de lectores argentinos durante los últimos meses del año.

Estamos muy satisfechos con los resultados y este interés masivo por QViva nos alienta a seguir en el mismo camino con la esperanza de recibir en un futuro próximo el aporte de un mayor número de contribuciones de trabajos originales, a pesar de la restricción que impone al libre albedrío el factor de impacto.

**Celia E.Coto**



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 6, diciembre 2007

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 6, diciembre 2007

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)

## **Opinión**

Ante la reciente creación en la Argentina de un Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva, a cargo del cual se ha nombrado a un científico reconocido que, además, tiene experiencia en gestión, los editores de la Revista QuímicaViva hemos invitado a reconocidos científicos y autoridades de la Universidad a brindar su opinión en relación a qué temas prioritarios debería encarar el nuevo Ministerio, o a que nos hagan llegar cualquier otro comentario que consideren pertinente. Contamos con los aportes de:

### ***Dr. Jorge Aliaga***

Decano de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

La creación de un Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva es auspiciosa y debe ser resaltada. Este hecho es relevante, en primer lugar, si el mismo se enmarca en un modelo económico que priorice el desarrollo endógeno de un modelo productivo basado en las Pymes. En cambio, sería sólo una nota de color si se enmarcara en los modelos económicos neoliberales que se aplicaron desde mediados de la década del 60. En segundo lugar, este nuevo ministerio debería constituir el inicio de una verdadera política de estado respecto de la ciencia y la tecnología; es decir, un proyecto que se aplique sostenidamente por veinte o treinta años, como sucede en el caso de Brasil, por ejemplo.

En ese contexto, es también positivo que la persona designada al frente del ministerio sea un científico con experiencia tanto en temas básicos como en transferencia e innovación y gestión, como lo es el doctor Lino Barañao.

En relación con las medidas que debería encarar el nuevo ministerio, quiero mencionar que el Consejo Universitario de Ciencias Exactas y Naturales (CUCEN), organismo conformado

por los decanos de Universidades Nacionales del área, ha elaborado un "Plan estratégico para el desarrollo de las carreras de grado, pos-grado y la investigación en Ciencias Exactas y Naturales en la República Argentina". El plan se propone como medida integradora y superadora de las iniciativas actualmente vigentes tendientes a aumentar la matrícula de las carreras de grado y pos-grado, fortalecer los planteles docentes, incrementar las tareas de investigación y desarrollar la transferencia y vinculación tecnológica, extensión y articulación del sistema académico-científico con el económico-social (ver [http://www.fcen.uba.ar/docs/cucen\\_plan\\_estragico.pdf](http://www.fcen.uba.ar/docs/cucen_plan_estragico.pdf)).

Este proyecto podría ser una buena base sobre la que se implemente la política general de mediano plazo para el sector universitario de ciencias exactas y naturales, dado que ya cuenta con el consenso de las universidades públicas.

Es también auspicioso que en sus primeras declaraciones el doctor Barañao haya anunciado un programa de infraestructura para el sector. Desde hace un par de años, venimos señalando que ésta es una de las falencias críticas de las políticas actuales.

Finalmente, es de desear que los fondos para impulsar estas iniciativas provengan del Tesoro Nacional. De esta manera, se evitará, por ejemplo, buena parte de los condicionamientos burocráticos que presentan en la actualidad los subsidios de la ANCyP.

***Dra. Lydia R. Galagovsky***

Departamento de Química Orgánica, y

Centro de Formación e Investigación en Enseñanza de las Ciencias.

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Universitaria, Pabellón II, 1428 Buenos Aires, Argentina.

En el siglo XXI, las sociedades pujantes que logren desarrollos sustentables y equitativos para su población deberán basar su crecimiento en un sistema de valores donde primen la solidaridad, la toma de conciencia sobre el cuidado del hábitat, y la optimización de los recursos naturales --renovables y no renovables--, de los recursos humanos --existentes y a formarse--, y de la infraestructura --existente y a construirse. Estos valores requieren de

amplios conocimientos por parte de sus ciudadanos, y, por lo tanto, es requisito la construcción de una cultura que valore el conocimiento.

El nivel de conocimiento científico-tecnológico y su desarrollo, tanto en aspectos básicos como aplicados, es y será de particular relevancia para la calidad de la inserción de nuestro país en el concierto de las naciones.

Tradicionalmente, la Argentina se ha caracterizado por un excelente nivel en la formación de recursos humanos en ciencia y tecnología; sin embargo, una oscilación pendular en las políticas científicas, o la falta de ellas, nos ha conducido durante las diferentes décadas del siglo XX a avances y retrocesos permanentes, con resultados siempre devastadores. Cohortes de científicos argentinos sufrieron el exilio, generalmente por motivos políticos, económicos y/o por falta de oportunidades de crecimiento individual.

La creación de un Ministerio de Ciencia y Tecnología genera la esperanza de que, al fin, se elaboren políticas coherentes, consistentes, coordinadas y sostenidas en el tiempo.

Nos debemos, como ciudadanos y como habitantes de este hermoso país, encontrar, generar, construir y desarrollar las vías y las estrategias, los organismos y los procedimientos más adecuados para nuestro desarrollo como sociedad.

No es momento de creer que sencillamente se puede cosechar o aprovechar un momento de aparente crecimiento económico –si se lo compara con indicadores de décadas previas--. Es tiempo de coordinar, desde una gestión eficiente y transparente, los recursos existentes; y es momento de sembrar y fomentar nuevas oportunidades y capacidades. El avance en educación, cultura, ciencia, tecnología, y salud requiere siempre inversión económica, ya que el beneficio del desarrollo en estas áreas no sólo se podrá medir en relación a finanzas, sino también en relación a la calidad de vida de la totalidad de los habitantes.

Las instituciones son un escenario y las personas que están a cargo de las mismas deben tener un perfil adecuado para cumplir con las exigencias y demandas de los representados. En esta ocasión es doblemente de buen augurio el hecho de que al frente del nuevo Ministerio estará el Dr. Lino Barañao, quien nos ha dado ya numerosas muestras de sus amplias capacidades académicas y de gestión.

Tenemos fe en que este será un punto de inflexión positivo en el largo camino del desarrollo de nuestra querida Argentina.

**Dr. Eduardo T. Cánepa**

Director del Departamento de Química Biológica.

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires.

La creación del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva es un hecho que no puede más que llenarnos de satisfacción y hacernos sentir un poco más optimistas con respecto al futuro de nuestro país. Entiendo que esta decisión significa el reconocimiento del desarrollo científico y tecnológico como una poderosa herramienta de progreso social y económico.

Por su comprobada capacidad científica y de gestión y por su demostrado compromiso social, la designación de Lino Barañao al frente de dicho ministerio, alienta aun más las expectativas de contar con una gestión positiva, alejada de la administración burocrática y dirigida hacia la búsqueda del bien común. Como director del Departamento de Química Biológica no puedo dejar de sentir un especial orgullo por ser Lino un docente “de toda la vida” de nuestro Departamento.

Evidentemente, la tarea que le aguarda, en un país que en general no le ha dado importancia a este sector y que pasó por varias etapas de verdadero oscurantismo, es enorme. Sin que signifique un orden de prioridades, una de las tareas que debería encarar el Ministro es apoyar una descentralización del sistema científico, organizado, actualmente, alrededor de 4 o 5 centros. La creación de centros especializados en el desarrollo regional y el estímulo a la radicación de científicos en dichos lugares constituirá, seguramente, un instrumento de progreso para las zonas de nuestro país con menor participación económica.

Considero indispensable el estímulo a la participación de la empresa privada en el desarrollo científico y tecnológico del país. La ciencia no puede ser una cuestión estatal exclusivamente. El sector privado debe acompañar este proceso y considerar el gasto en investigación y desarrollo, como una inversión prioritaria a mediano y largo plazo.

Ligado con los dos puntos planteados, es necesario que, a través de instrumentos adecuados como becas y subsidios, se aliente la investigación dirigida a la resolución de problemáticas nacionales y al desarrollo de tecnologías que agreguen valor agregado a nuestros productos.

Para que estas políticas puedan acercar resultados es necesario, en forma inmediata, un reequipamiento de los centros de investigación del país, sobre todo en las Universidades Nacionales y el incremento de los montos de los subsidios para investigación básica y aplicada de modo de otorgar a los grupos de trabajo de las herramientas necesarias para hacer investigación de calidad.

Finalmente, quisiera agregar que pensar en la ciencia y la tecnología como elemento de progreso y desarrollo, sólo es posible en un país con un proyecto educativo que alcance a toda la sociedad y enmarcado en un modelo de desarrollo y distribución justo y equitativo. Desde este punto de vista, soy menos optimista. La Argentina, como país de inclusión a través de la educación no existe más. Las últimas evaluaciones internacionales sobre formación de nuestros estudiantes en matemáticas, lengua, comprensión de textos y ciencia, coloca a nuestro país en los últimos lugares y en retroceso constante. No sólo esto, sino que se observa una segmentación entre aquellos provenientes de sectores de alto poder adquisitivo y aquellos del nivel económico inferior. Pensar, entonces, un desarrollo científico y tecnológico sobre estas bases es una fantasía, a menos que se lo diseñe para unos pocos. Espero que el Dr. Barañao, desde su cargo en el gabinete, promueva la ciencia y la técnica y que utilice toda su influencia para que esto se haga sobre bases educativas sólidas.

***Dra. Stella Maris González Cappa***

Profesora titular Consulta. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad de Buenos Aires.  
Investigadora Superior de CONICET.

La creación de un Ministerio de Ciencia y Técnica en el país es de por sí un hecho promisorio. Esto sugiere que hay voluntad política para considerar importante el desarrollo de la ciencia y de la técnica y querer impulsarlas.

El hecho de que se haya designado a un científico en el cargo de Ministro es también auspicioso. Más aún, se ha designado a un científico reconocido, que además tiene experiencia en la función administrativa del área, ya que el doctor Lino Barañao ha estado cumpliendo funciones en la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, en el ámbito de la ex-Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva.

En las declaraciones realizadas por Barañao, que aun son escasas, aparece el interés de brindar apoyo al desarrollo científico y tecnológico que pueda proporcionar valor agregado a la producción nacional, lo que proporcionará al país mayor competitividad. Y es bueno que esto se promueva con seriedad desde el estamento político.

Para su logro se requiere apoyo económico, que puede realizarse mediante la adjudicación de subsidios. En el ámbito de la Agencia hay antecedentes de este tipo de promoción, por ejemplo los PICTOS (Proyectos de investigación Científica y Tecnológica Orientados). Para ello, una empresa interesada en generar nuevos conocimientos en ciencia o en un desarrollo tecnológico se asocia a la Agencia para cofinanciarlo. Asimismo, existen otros mecanismos ya instaurados de apoyo al desarrollo científico-tecnológico. Lo que sí es importante es que el sistema que se utilice brinde igualdad de oportunidades a todos los posibles postulantes y se aplique sin excepción, independientemente de la modalidad (concursos con temática libre o licitaciones para el desarrollo de temas específicos para áreas de vacancia o aquellas que las autoridades consideren estratégicas).

Sin embargo, como investigadora universitaria que no ha trabajado específicamente en aspectos que apunten a la aplicación inmediata, me preocupa no haber escuchado aún al Ministro referirse a cómo se estimulará el amplísimo campo de la ciencia *no aplicada*. La libertad para seleccionar el tema de investigación permite actuar con mayor creatividad, y en ocasiones llegar por un camino no intencional al logro de un desarrollo aplicable. Esto no es novedoso y, sólo por citar un ejemplo reciente, es lo que pasó con César Milstein y el desarrollo de los anticuerpos monoclonales.

También el doctor Barañao lo sabe, y como él ha tenido que penar como todos nosotros para obtener el presupuesto necesario que le permitiera progresar en sus proyectos, estoy segura de que hará insignes esfuerzos por apoyar las diversas ramas de la ciencia con el propósito de alcanzar su desarrollo armónico. Por supuesto que esto requiere fondos



suficientes. Si queremos Ciencia y Técnica competitivas, las inversiones deben ser semejantes a las que se alcanzan en otros países, tanto en lo que se refiere al aporte del estado como del sector privado.

Para la Ciencia que no parte de una premisa de desarrollo aplicable, los subsidios provienen exclusiva, o casi exclusivamente, del Estado y de las Universidades. Para el desarrollo de Ciencia y Tecnología cuya finalidad sea la transferencia, el esfuerzo económico debería ser compartido con instituciones privadas.

Como científica, espero que el Ministro busque el equilibrio, y logre instrumentar herramientas para que, dentro de cuatro años, quienes depositamos en su figura nuestra esperanza, vislumbremos que se ha abierto un horizonte más promisorio para la Ciencia y la Tecnología en la Argentina.



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 6, diciembre 2007

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 6, diciembre 2007

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)

## **La retroalimentación de la ciencia y la cocina**

Por Ana Ortalli y Jimena Ricatti

**Instituto de Biología Celular y Neurociencias. Facultad de Medicina.**

**Universidad de Buenos Aires.**

[anaortalli@hotmail.com](mailto:anaortalli@hotmail.com)

[mjricatti@gmail.com](mailto:mjricatti@gmail.com)

### **Resumen**

*La cocina es el lugar de la casa donde los fenómenos físico-químicos ocurren con mayor frecuencia y donde las disecciones no dan asco ni miedo. Naturalmente, una mente curiosa no podrá evitar hacerse preguntas cuyas respuestas no siempre figuran en los libros de cocina o en las recetas de las revistas.*

*Uno de los atractivos de la ciencia es que a medida que más se investiga, más preguntas surgen. A su vez, uno de los atractivos de la cocina es ese halo de misterio y tradición que los cocineros han mantenido tan celosamente. ¿Es la ciencia tan incomprensible? ¿Es la cocina tan misteriosa?*

*El desafío es incluir sabrosas explicaciones científicas en los menús y hacer lugar en nuestras bibliotecas para esos estrictos libros de recetas.*

palabras clave: cocina, aperitivo, microorganismos, capsaicina, nociceptores, espumas, gelatinas.

**Science and Cooking Feedback.**

## **Abstract**

*The kitchen is the place where physico-chemical phenomena occur more frequently and where dissections aren't gross nor scary. Naturally, a curious mind can't help asking questions and their answers are not always found in cook- books and magazine recipes.*

*One of the main attractions of science is that the more you do research, the more questions you have. At the same time, one of the main attractions of cooking is that mystery hale and tradition that cooks have kept so secretly. Is science so incomprehensible? Is cooking so mysterious?*

*Our challenge is to include tasty scientific explanations in the menus and make room in our libraries to accomodate those accurate books of recipes.*

key words: cooking, appetizer, microorganisms, capsaicin, nociceptors, foams, gelatinases.

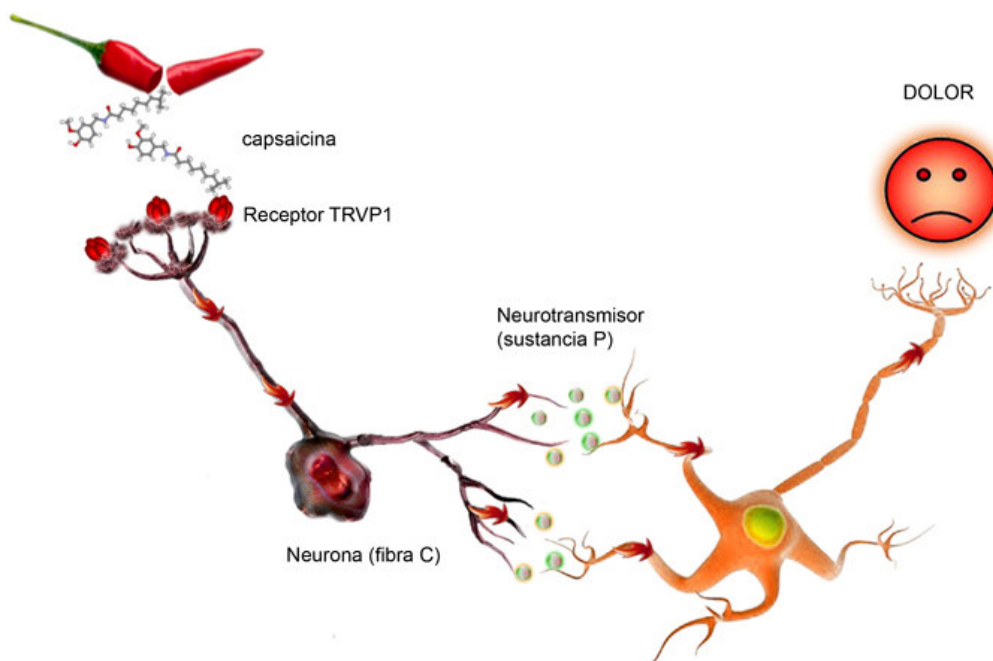
## **Introducción**

La incursión del científico en la cocina puede estar mal visto por los científicos y los cocineros más tradicionalistas. Sin embargo, la disección de un plato no tiene por qué significar su destrucción y, de hecho, los cocineros modernos la llaman deconstrucción.

Con el auge de la cocina molecular, las llamadas ciencias duras (como el queso reggianito) se adentran en este terreno desde adentro (como los gusanos o los hongos inyectados en los quesos). Sin embargo, la cocina, como la música, es un arte multifacética y requiere del conocimiento y manejo de muchos otros fenómenos además de los físico-químicos. Una cocina puede ser un excelente laboratorio de neurociencias, y el estudio de la fisiología del gusto y del olfato resulta indispensable e inevitable para entender la diferencia entre alimento y comida. La microbiología y la biotecnología llegan a la cocina en defensa de

los microorganismos y para desterrar de una vez por todas la idea paranoide de que fueron creados para estropearnos la vida. En el caso de las ciencias sociales, la cocina es una herramienta mucho más evidente. A través de las recetas se pueden reconstruir genealogías, migraciones, rituales y costumbres.

En esta oportunidad presentaremos un menú de curiosidades científico-culinarias.



## Aperitivos

Los brebajes de ingredientes que hoy en día conocemos como aperitivos, no son más que recetas familiares que con el tiempo pasaron de boca en boca, tradicionales protocolos de hierbas oscuramente maceradas en la bebida alcohólica que se tuviese más a mano. La historia de los aperitivos esta cargada de contenidos medicinales. Un ejemplo interesante es el del ajenojo cultivado en los monasterios, que revitalizó las bebidas espirituosas que habían perdido el sabor, dándole nuevas propiedades. Las oleadas de inmigrantes italianos que llegaron a nuestro país encontraron en el corazón de la república una panacea vegetal, lo cual

permitió que de alguna forma, la tradición del amargo y el vermouth perdurara. Hoy en día, dejando de lado las góndolas de los supermercados, con suerte, en algún restaurante de barrio podemos dejarnos llevar por las costumbres de la casa, y logremos degustar algún aperitivo casero.

El objetivo de servir un aperitivo, además de dar la bienvenida, es abrir el apetito de los comensales. Algunos estudios parecen confirmarlo. Según investigadores del Hospital Karolinska de Estocolmo, una cantidad moderada de alcohol podría inhibir indirectamente la secreción de leptinas (una hormona involucrada en la sensación de saciedad). Aún así, el efecto neto del alcohol sobre el apetito sería el resultado de la acción de mecanismos más complejos de acuerdo con los estudios de un grupo de investigadores de la Universidad de Sussex.

De todos modos, la mística que rodea a estos brebajes desdibuja el límite entre los mecanismos complejos y el efecto placebo. Sabemos que luego del aperitivo viene la comida. Y como buenos perros de Pavlov que somos los seres humanos, nuestros estómagos responden a otros estímulos sensoriales y comienzan a funcionar.

### **Entrada: picada de rancio abolengo**

La sola mención de alimentos en descomposición provoca asco. El asco no es sólo una reprobación voluntaria, suele estar acompañado de sensaciones y muecas, como un reflejo. Jamás osaríamos romper una cadena de frío. Nos lavamos las manos antes de cada comida. Las fechas de vencimiento en los envases nos atormentan cual espada de Damocles y hemos inventado reglas para decidir si un alimento que ha caído al piso es aún comestible.

Las posibilidades y preferencias nos permiten elegir en cierta medida lo que comemos, y aún así, seguimos eligiendo algunos alimentos que no están universalmente aceptados, o bien los rechazamos porque ponemos un freno cultural. No somos capaces de comer una manzana podrida, pero nos entregamos a un queso verdoso y mohoso. Los quesos son verdaderos medios de cultivo aptos para el crecimiento domesticado de hongos y bacterias. Muchos de estos microorganismos pueden ser inoculados dentro del queso, para darle un sabor y textura característicos, y dentro de estos podemos encontrar principalmente a los del

género *Penicillium*. Otros crecen naturalmente en el exterior, contribuyendo a la formación de la corteza. Con los embutidos ocurre algo similar, una vez que se coloca la mezcla de carnes y grasas dentro de la tripa, se cuelga en un lugar oscuro y húmedo, y son esas condiciones de estacionamiento las que permiten el crecimiento de la mufa.

Hasta este punto, cualquier argentino estaría sumamente conforme, pero si salimos de estas latitudes podemos encontrar alguna que otra rareza. En la región mexicana de Oaxaca, el maíz es atacado por un hongo, el Huitlacoché. El hongo crece dentro de los granos del maíz, degrada el almidón y lo convierte en un manjar dulce. En Islandia, se hacen embutidos a partir de tiburón. La diferencia está en que la carne se deja estacionar, por no decir pudrir, antes de la elaboración del chacinado. El resultado es una masa gelatinosa de sabor bastante intenso. Los inuit, en el ártico, tienen una receta similar para las aletas de foca. Los cocineros medievales dejaban pudrir las liebres al aire libre, antes de prepararlas como un plato...excepcional.

Por supuesto, hay cosas que para nuestra cultura siguen siendo un tabú gastronómico, y la sola idea de comer balut, la versión filipina del huevo embrionado de pollo, nos provocaría náuseas. Para algunas tribus del Amazonas, esta actividad es llanamente inmoral dado que es inconcebible alimentarse de algo que aún no ha nacido. ¿Cuál de estos dos tipos tabúes pesará más cuando hay hambre?

Este muestrario de bocados sugiere que la cocina es un testimonio del modo de vida, del lugar y sus recursos, del tiempo del que se dispone para la preparación y de la capacidad de previsión. Aún hay más información para exprimir de estos datos.

De acuerdo con algunos paleo-antropólogos, los primeros homínidos podrían haber sido carroñeros antes que cazadores. Se podría decir que el gusto por los sabores intensos sería mucho más ancestral de lo que pensamos.

Parecería ser que el aventurero gastronómico, cosmopolita, posmoderno y superado todavía tiene un largo camino por recorrer.

Ahora bien, nada mejor para bajar toda esta picada, alguna bebida natural y con un poco de alcohol, como la chicha peruana, algo oportunamente llamado "bajativo". La misma se prepara triturando granos de maíz germinados dentro la boca del barman de turno y usando la

amilasa salival como agente enzimático. Esta era la forma en la que comenzaba el proceso de fermentación.

### **Plato principal: Lomo a la capsaicina (10 x)**

El picante es un componente sensorial muy notorio. Sin embargo no ha adquirido el status de sabor y esto se debe a que la sensación que produce es, en realidad, dolor. Las sustancias picantes, como la capsaicina, activan nociceptores localizados en las terminaciones nerviosas libres de la lengua y en otras zonas también.

La capsaicina es una sustancia vainilloide que algunas plantas producen como metabolito secundario y es agonista del receptor TRPV1 (transient receptor potential vanilloid 1). Dentro de los agonistas endógenos encontramos el calor (como estímulo nocivo), los cannabinoides y los protones, entre otros.

Una vez activado el receptor, la información dolorosa llega al terminal de la neurona aferente, en donde se produce mayoritariamente la liberación de dos neurotransmisores, glutamato y sustancia P.

Como en toda historia de estímulo-respuesta, el picante tiene umbral de acción, saturación y desensibilización. Esta desensibilización es comúnmente conocida como acostumbramiento y cada vez se necesita una dosis mayor para lograr el mismo efecto. Sin embargo, para algunas personas puede ser adictivo. Estos extraordinarios individuos merecen el mote de fagomasoquistas y así es como decidimos denominarlos.

El fagomasoquismo podría caracterizarse por la preferencia desmedida por el dolor que producen los alimentos picantes. Los fagomasoquistas disfrutaban de comidas cada vez más picantes y por lo tanto más dolorosas. Si bien la desensibilización juega un papel muy importante en este comportamiento, no se puede descartar la necesidad de descubrir y desafiar los límites de la percepción. El componente sádico del fagomasoquista se manifiesta cuando el individuo hecha mano al especiero. En caso de ser víctimas de un fagomasoquista, se recomienda tener a mano mucho pan. No agua, no cerveza, sólo pan. ¿Acaso habrá surgido otra pregunta?

### **Postre: Gelatina de kiwi efímera con salsa de aire.**

La gelatina puede ser un alimento nutritivo, digerible y fácil de preparar. Sin embargo, después de un tiempo se pone bastante aburrido. Cuando llega el momento de experimentar con gelatina habrá que armarse de paciencia. Naturalmente, la primera idea es incorporar trozos de frutas. Pero como las bananas y manzanas también terminan aburriendo, hay que llevar la aventura un poco más allá. ¿Por qué no kiwi? La primera persona que intentó agregar kiwi a su gelatina se debe haber llevado el chasco de su vida. El resultado debe haber sido desalentador y confuso: trozos de kiwi flotando en el líquido viscoso como si el tiempo no hubiera transcurrido. Antes de revelar el misterio, digamos que la solución al problema era muy simple. Si el kiwi se hervía antes de mezclarlo con la gelatina, ésta se gelatinizaba. Resulta que el kiwi y otras frutas tienen un alto contenido de proteasas del tipo gelatinasas. En teoría, un quelante de calcio, que evita la activación de estas enzimas, tendría un efecto similar, pero no suena bien en el especiero.

El aire es un ingrediente muy utilizado en la cocina. Las espumas y su fragilidad aportan un toque extra a los platos y las bebidas. Nuestro viejo y querido sifón Drago, ha sido transformado por los chefs más vanguardistas para convertirse en un artilugio generador de espumas. Actualmente las hay de todo tipo, abarcando casi todo ser vivo, y ningún menú que se autoprocleme molecular puede dejar de tenerlas. Sin embargo, este plus estimula mucho más el tacto que el gusto. Las texturas de los alimentos (crocantes, gomosos, suaves o pegajosos) son tan importantes como los sabores.

¿O acaso es lo mismo una papa frita recién hecha que una recalentada al microondas?

La sobremesa siempre es un buen momento para la reflexión, y luego de este menú se nos puede ocurrir que, tal vez, debemos dejar de preguntarnos qué puede hacer la ciencia por la cocina y empezar a descubrir qué puede hacer la cocina por la ciencia.

### **Referencias**



Röjdmark S, Calissendorff J, Brismar K. Clin Endocrinol (Oxf). 2001 Nov; 55(5):639-47.

Yeomans MR, Hails NJ, Nesic JS. Behav Pharmacol. 1999 Mar;10(2):151-61.

Caterina, M.J., Schumacher, M.A., Tominaga, M., Rosen, T.A., Levine, J.D. & Julius, D. (1997). Nature, 389, 816–824.

Omenn GS: Neurochemistry and behavior in man (Medical Progress). West J Med 125:434-451, Dec 1976

Brain, SD & Cox, HM. Neuropeptides and their receptors: innovative science providing novel therapeutic targets. British Journal of Pharmacology (2006) 147, S202–S211



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 6, diciembre 2007

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 6, diciembre 2007

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)

## **Los esfingolípidos en la muerte y proliferación celular**

*N. Sterin-Speziale y F. Leocata Nieto*

*Cátedra de Biología Celular. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.*

*IQUIFIB-CONICET. Junín 956 1er piso. Ciudad Autónoma de Buenos Aires (C1113AAD).*

*E-mail: [speziale@ffyb.uba.ar](mailto:speziale@ffyb.uba.ar)*

Recibido: 22/12/07

Aceptado: 26/12/07

### **RESUMEN**

Los esfingolípidos tienen función crucial en la regulación de diversos procesos incluyendo el cáncer. Mientras la ceramida y la esfingosina inducen apoptosis y arresto del ciclo celular, la esfingosina 1-fosfato promueve la proliferación y supervivencia celular. El delicado equilibrio entre los niveles intracelulares de cada uno de estos esfingolípidos está controlado por las enzimas que los producen. La esfingosina cinasa es reguladora esencial de este balance ya que produce el metabolito pro-supervivencia esfingosina 1-fosfato y reduce el contenido de los metabolitos pro-apoptóticos. El gen que codifica a la enzima es un oncogen, y su RNA m está sobreexpresado en numerosos tumores y la actividad de la enzima disminuye en los tratamientos anti-cáncer. Estrategias para eliminar tumores por aumento del contenido de ceramida con bloqueo de la generación de esfingosina 1-fosfato puede tener un índice terapéutico favorable.

palabras clave: esfingolípidos; esfingosina; ceramida; esfingosina-1 fosfato.

## **Abstract**

Sphingolipid metabolites play critical functions in the regulation of a number of processes including cancer. Whereas ceramide and sphingosine mediate and trigger apoptosis or cell growth arrest, sphingosine 1-phosphate promotes proliferation and cell survival. The delicate equilibrium between the intracellular levels of each of these sphingolipids is controlled by the producing enzymes. Sphingosine 1-kinase is a crucial regulator of this balance because it produces the prosurvival sphingosine 1-phosphate, and reduces the content of proapoptotic sphingolipids. The gene was found to be of oncogenic nature, its mRNA is over-expressed in many tumors and the enzyme activity is decreased during anticancer treatments. Strategies to kill tumor cells by increasing their ceramide content while blocking sphingosine 1-phosphate generation should have a favorable therapeutic index.

key words: sphingolipids; ceramide; sphingosine; sphingosine 1-phosphate

## **Introducción**

Todas las células eucariotas están rodeadas por una membrana cuya base estructural es una bicapa lipídica. Su estructura química y función esencial en la permeabilidad celular fueron propuestas hace 100 años. En la actualidad se sabe que en células eucariotas la bicapa lipídica está formada por tres clases de lípidos, los glicerofosfolípidos, los esfingolípidos y los esteroides. Las propiedades bioquímicas y biofísicas de los mismos varían considerablemente e impactan en forma diferente en la función celular. Los progresos logrados en las últimas décadas en la dilucidación de los componentes de la bicapa lipídica, y recientemente, en la lipidómica, así como los avances en el entendimiento de las propiedades biofísicas de los lípidos, hizo necesario que se re-analizara el modelo de membrana el cual incluye la complejidad estructural y funcional de la bicapa lipídica y el papel que los lípidos específicos juegan en la definición de los procesos celulares. El clásico y simple esquema de membrana conteniendo una cabeza hidrofílica unida a dos cadenas de ácidos grasos, definitivamente no

justifica a la intrincada estructura de la bicapa lipídica de las membranas. El gran número de diferentes especies lipídicas que forman parte de la membrana, le otorga a esta estructura una gran complejidad estructural y funcional. Más aún, considerando que muchos de estos lípidos son biológicamente activos y que en su recambio disparan vías de señalización, hace necesario que el análisis combinado de estructura lipídica y función deben ser considerados al exponer modelos de estructura de membranas.

Durante muchos años, los lípidos fueron considerados componentes de las membranas biológicas con función exclusivamente estructural. Sin embargo, en los años recientes cada vez se hace más evidente que los lípidos se comportan como moléculas de señalización. Diversas moléculas derivadas de los fosfolípidos de membrana han sido descritas como lípidos de señalización. Entre ellas se cuentan: el diacilglicerol, el ácido araquidónico, los lisofosfolípidos, el ácido fosfatídico, el factor activador de plaquetas (PAF) y el fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfato (PIP<sub>3</sub>). Más recientemente, moléculas derivadas de los esfingolípidos de membrana han sido también consideradas moléculas de señalización. En este artículo nos referiremos específicamente a los **esfingolípidos** y su importancia funcional.

### **Los esfingolípidos**

Los esfingolípidos fueron así denominados por J.L.W. Thudichum, inspirado en las esfinges (Sphinx) de la mitología griega. Aparentemente, Thudichum usaba mucho de su tiempo libre pensando en las esfinges de la mitología griega y así llamó a los compuestos que había aislado en 1884, debido precisamente a la naturaleza enigmática de sus funciones. Debieron transcurrir 100 años hasta que se comenzara a entender las causas de las características enigmáticas de los esfingolípidos. La era de los esfingolípidos comenzó hace dos décadas, básicamente debido a dos descubrimientos fundamentales que galvanizaron a la comunidad científica. Primero, hoy se sabe que los esfingolípidos pueden actuar como primeros y segundos mensajeros en una variedad de vías de señalización, y segundo, tienen una función vital en la formación de microdominios de membrana denominados *rafts* lipídicos (1).

Como todos los lípidos de las membranas, los esfingolípidos son moléculas anfipáticas que tienen propiedades hidrofóbicas y también hidrofílicas. La región hidrofóbica consiste en una base esfingoidea de larga cadena a la cual se une por una unión amida un ácido graso. Desde el punto de vista bioquímico, los esfingolípidos son lípidos complejos que contienen un ácido graso en unión amida y una larga base esfingoidea. El término genérico base esfingoidea se refiere a una base 2-amino-1,3 dihidroxi alcano. La más común de estas bases es la esfingosina (4E-2-amino-1,3-dihidroxi-octadeceno). Las bases esfingoideas son precursoras y también productos finales del metabolismo intracelular de los esfingolípidos. El más simple de los esfingolípidos es la **ceramida** (2) la cual funciona como molécula clave en la señalización celular y como precursora de esfingolípidos más complejos. Contrariamente con lo que ocurre con los esfingolípidos más complejos que contienen regiones hidrofóbicas, tales como fosfato en el caso de la esfingosina 1 fosfato (S1P) y en la ceramida 1 fosfato, fosforilcolina en la esfingomielina, y residuos de azúcares en los glicoesfingolípidos, la ceramida tiene una región hidrofílica mínima constituida por dos grupos hidroxilo siendo por lo tanto una molécula altamente hidrofóbica.

El área mejor definida de la biología de los esfingolípidos es su metabolismo, ya que la mayoría de las vías de síntesis y degradación han sido determinadas y la mayoría de las enzimas han sido clonadas (3).

Existen dos rutas de entrada a la vía de los esfingolípidos y ambas convergen en la formación de ceramida, lo cual hace a esta molécula clave en la generación de otros esfingolípidos bioactivos. La primera ruta de entrada es la síntesis *de novo* (Figura 1A), donde la serina y el palmitoil CoA se condensan y, posteriormente, a través de una serie de reacciones se genera dihidro ceramida (producto biológicamente inactivo), la cual es desaturada formando **ceramida**. Una vez formada, la ceramida puede ser convertida en otros esfingolípidos bio-activos tales como esfingosina y esfingosina 1-fosfato (S1P) o bien formar esfingomielina y glicoesfingolípidos complejos. La depuración celular de todos los esfingolípidos requiere la transformación final en S1P. Por lo tanto, la actividad de la SK, enzima responsable de la fosforilación de esfingosina para formar S1P, inicia la única vía bioquímica degradativa de eliminación de ceramida de la célula. La degradación de S1P es mediada por la S1P liasa, y es el punto de salida de los esfingolípidos del pool celular general.

Así, cualquier esfingolípido deber ser convertido a S1P para luego poder ser hidrolizado por la liasa. Este mecanismo le otorga a la SK una importancia indirecta adicional, como herramienta de salida celular de todos los esfingolípidos.

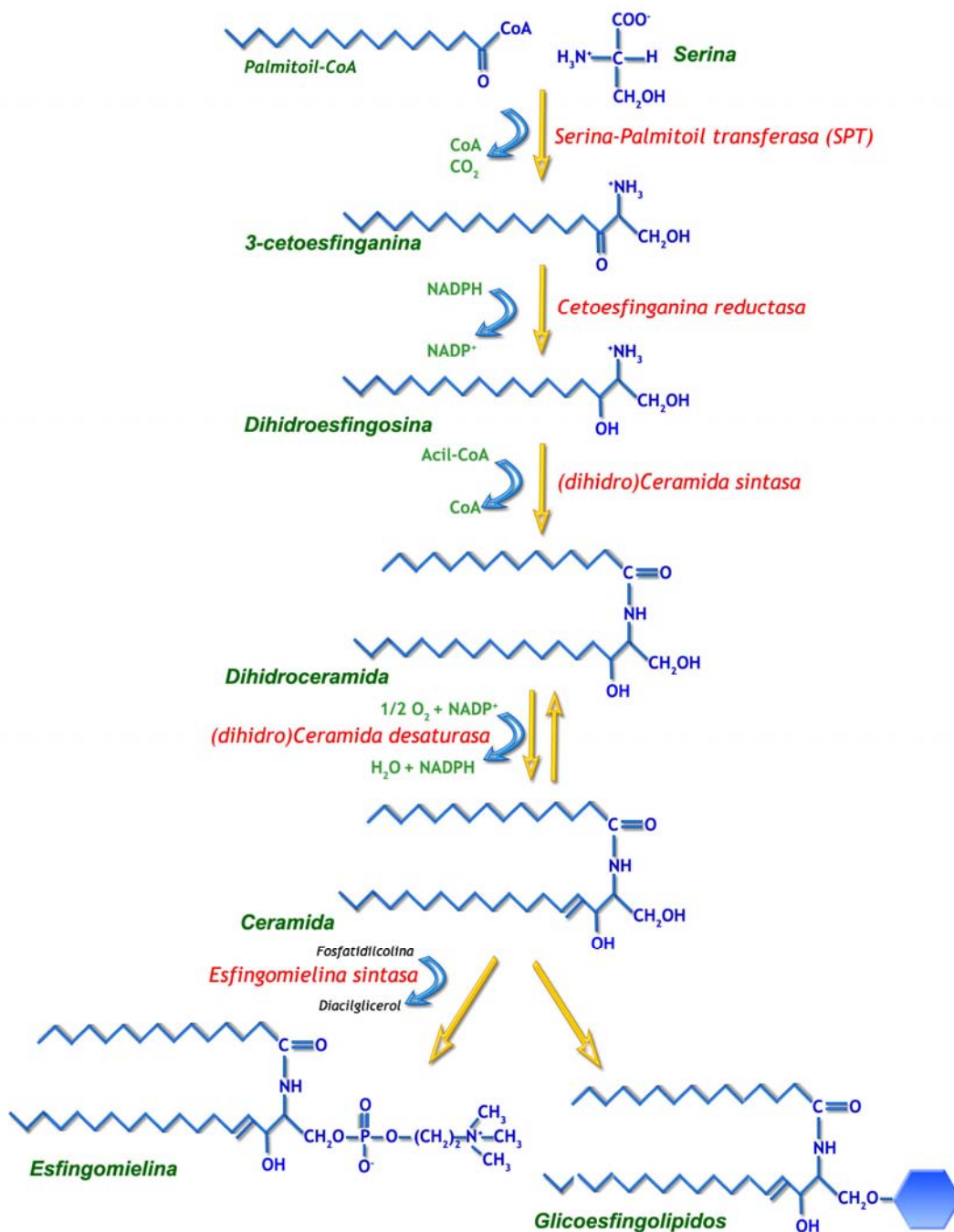


Figura 1 A. Síntesis de novo.

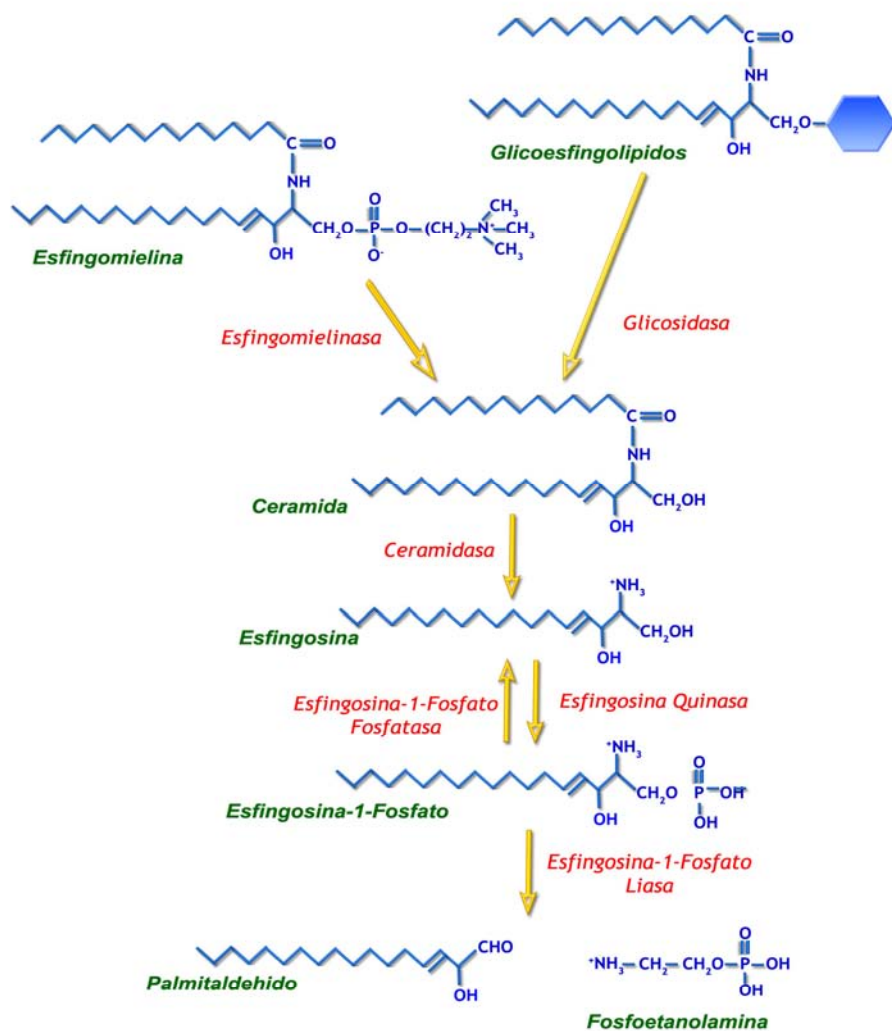


Figura 1B vía de reciclaje.

*Figura 1. El Metabolismo de los esfingolípidos. El metabolismo de los esfingolípidos se subdivide en dos vías metabólicas: la síntesis de novo (figura 1A) y la vía de reciclaje (figura 1B).*

La segunda ruta es la vía de reciclaje (figura 1B), que involucra la hidrólisis de esfingolípidos complejos (esfingomielina) por acción de esfingomielinasas. La degradación de los esfingolípidos complejos es gradual. En primer término se forma ceramida, la cual a su vez es hidrolizada por la acción de ceramidasas para formar esfingosina. La esfingosina a su vez sirve como sustrato de la esfingosina cinasa para formar S1P (1)

El metabolismo de los esfingolípidos es complejo y puede ser regulado en múltiples niveles, a través del control de la expresión de enzimas, modificaciones post-traduccionales y mecanismos alostéricos. Algunos de estos mecanismos son específicos del tipo celular, tanto para controlar el tipo de esfingolípido que se sintetiza durante distintas etapas del desarrollo o en respuesta a señales específicas.

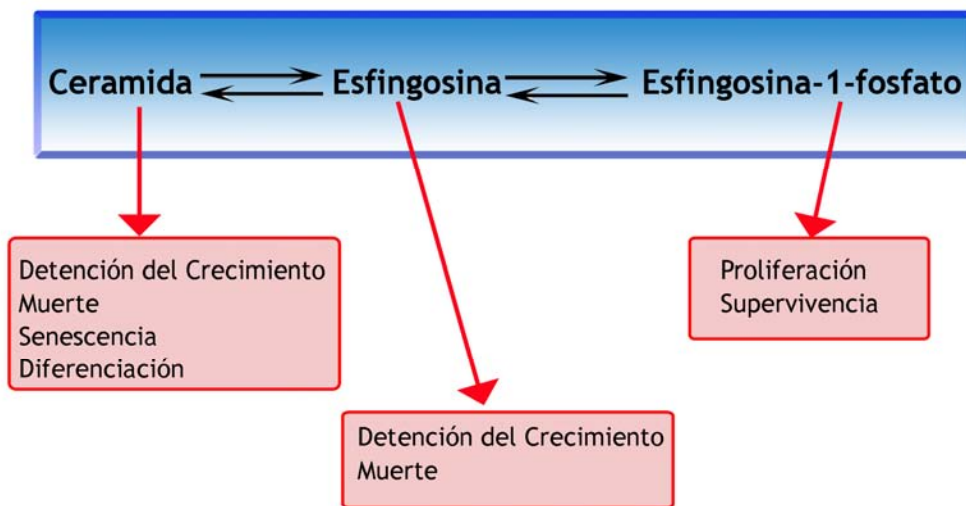
Parte de la razón de la reciente explosión de interés en la biología de los esfingolípidos es el papel que estos lípidos tiene en la señalización intracelular, particularmente la ceramida, la esfingosina y la esfingosina-1-fosfato. En la última década quedó firmemente establecida la importancia de la ceramida, la esfingosina y la S1P en el control del destino celular. La ceramida está implicada en los procesos de diferenciación, senescencia y muerte celular. La S1P en cambio, promueve la supervivencia y proliferación celular. Los efectos antagónicos de estos mediadores esfingolipídicos dio origen al concepto de bióstato ceramida / S1P y se postuló que es la relación de sus concentraciones y no el valor absoluto de cada una de ellas la que determina el destino celular (4) (Figura 2).

### **La muerte celular**

El conocimiento actual sobre la muerte celular, nos muestra que los mecanismos por los cuales las células mueren, son tan complejos como aquellos por los cuales las células



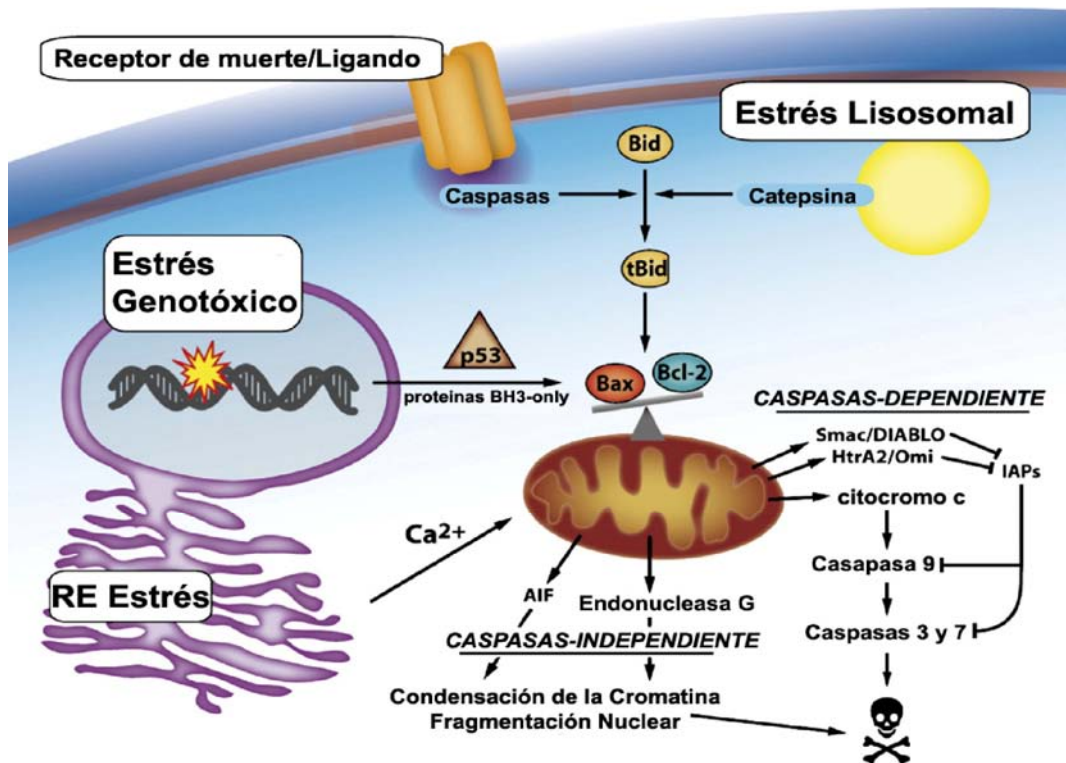
sobreviven. En todas las formas fisiológicas de muerte, ésta es el resultado de una serie de procesos programados que obedecen a vías bioquímicas específicas, de allí el nombre de muerte celular programada (MCP) conocida como **apoptosis**. Los caminos bioquímicos que conducen a la muerte celular programada son complejos e involucran a diversos protagonistas.



**Figura 2.** El reóstato de esfingolípidos. Dado que Ceramide, Esfingosina y Esfingosina-1-fosfato son metabolitos interconvertibles entre sí, se postuló que la relación entre sus concentraciones, y no el valor absoluto de cada una de ellas, es la que determina el destino celular.

En el proceso de muerte celular se pueden distinguir tres etapas diferenciadas: la etapa de iniciación, la etapa de determinación o compromiso de muerte y la etapa de ejecución. La **etapa de iniciación** se cumple en o en la proximidad del compartimento celular donde es inducido el estrés (figura 3). Por ejemplo, la pérdida de homeostasis del  $\text{Ca}^{++}$  en el retículo endoplásmico inicia la muerte celular mediada por  $\text{Ca}^{++}$ ; el estrés por genotóxicos en el núcleo, induce aumento de los niveles de la proteína p53 e inicia la vía de muerte celular activada por la proteína p53; la alteración de la membrana lisosomal, produce la liberación de proteasas lisosomales involucradas en la muerte celular programada; la activación de receptores de muerte a nivel de membrana plasmática inicia la vía de muerte e involucra la posterior activación de más de una organela intracelular.

Una vez que la señal de muerte es detectada por sensores específicos, se activa la vía bioquímica de muerte, que eventualmente puede converger en la etapa de **compromiso de muerte**, determinación, o de no retorno, la cual generalmente ocurre a nivel de las mitocondrias (4).



**Figura 3.** Vías múltiples de estrés celular, conducen a la permeabilización de la membrana externa mitocondrial y a la apoptosis. Los genotóxicos activan a la p53, y a las proteínas BH3, Noxa y Puma que promueven la permeabilidad de la membrana mitocondrial externa y la liberación de factores de muerte. La catepsina es liberada durante el estrés lisosomal y produce liberación de la proteína Bid, la cual trasloca a la mitocondria y promueve la permeabilización de la membrana externa. El estrés del retículo endoplásmico puede manifestar desregulación de la homeostasis del  $Ca^{++}$  y subsecuentemente promover acumulación de  $Ca^{++}$  en la mitocondria, llevando a la permeabilidad de la membrana mitocondrial externa. Finalmente, la activación de receptores de muerte puede llevar a diversas

*vías que involucran disfunción lisosomal, degradación de la proteína Bid inducida por caspasa 8, alteración mitocondrial y activación de caspasas ejecutoras*

Una vez que la señal de muerte es ubicada en la mitocondria, la organela incurre en importantes cambios. Un cambio prominente es la permeabilización de la membrana mitocondrial. La permeabilización de la membrana externa de la mitocondria causa la liberación al citosol de numerosas proteínas que se encuentran en el espacio formado por la membrana externa e interna de la mitocondria. La más estudiada de estas proteínas es el citocromo *c*, el cual induce la dimerización de la proteína adaptadora APAF-1, la cual a su vez activa a la caspasa 9, una cisteína proteasa clave en la vía mitocondrial de muerte celular. La caspasa 9, a su vez activa a las caspasas 3 y 7, iniciando de esta manera la **etapa de ejecución**. Las caspasas 3 y 7 degradan proteínas que son vitales para el funcionamiento normal de las células. Otra proteína liberada al citosol desde las mitocondrias es la proteína Smac /Diablo, la cual se une e inhibe a proteínas celulares inhibitoras de la apoptosis, conocidas como IAPs . Normalmente las IAPs protegen a las caspasas de ser activadas en forma errática en el estado de supervivencia celular. Siguiendo a la liberación del citocromo *c* y la proteína Smac, las células desarrollan diversos eventos propios de la muerte celular por apoptosis. El más prominente es la condensación morfológica de la cromatina, la degradación de la poli-(ADP-ribosa) polimerasa (PARP), y la externalización bioquímica de la fosfatidilserina, fosfolípido ubicado normalmente en la hemicapa interna de la bicapa lipídica de la membrana celular. Es importante hacer notar que tanto la activación de la caspasa 9, como la exposición de la fosfatidilserina en la hemicapa externa de la membrana celular, son procesos que requieren ATP, y que, la pérdida de ATP puede desviar a la vía de muerte celular por apoptosis a la forma de muerte por necrosis (5).

Existen formas alternativas de muerte por apoptosis que son independientes de caspasas. En ese caso, una vez producida la permeabilización de la membrana externa mitocondrial, un factor inductor de apoptosis, conocido como AIF y una endonucleasa G, traslocan desde la mitocondria al núcleo e inducen apoptosis del tipo muerte celular programada, llamada así porque causan pérdida de cromatina condensada en forma

independiente de caspasas (6). La proteína HtrA2/omi también es liberada de la mitocondria y tiene un papel dual en la muerte celular, uno dependiente de su habilidad de inactivar IAPs y causar muerte celular programada dependiente de caspasas y otra debido a su actividad de serina proteasa (7).

Considerando que las mitocondrias juegan un papel esencial en la muerte celular, no es sorprendente que las células hayan desarrollado una familia de proteínas que tengan por función controlar a estas organelas en la supervivencia versus el estado de muerte. Estas proteínas constituyen la familia de proteínas Bcl-2. En la familia Bcl-2 se distinguen tres tipos diferentes de proteínas: i) los factores de supervivencia Bcl-2, son anti-apoptóticas e incluyen a las proteínas Bcl-2 y Bcl-x<sub>L</sub>, además de otras proteínas menos caracterizadas; ii) los factores de muerte, son proteínas tipo Bax, pro apoptóticas, incluyen a las proteínas Bax y Bak; y iii) las llamadas sólo BH3 (BH3-only), que incluyen a las proteínas Noxa, Puma, Bid, Bad y Bik (8). El sitio de acción más caracterizado de estas proteínas es la propia mitocondria, aunque en la actualidad se comenzó a proponer a otras organelas como sitios de acción.

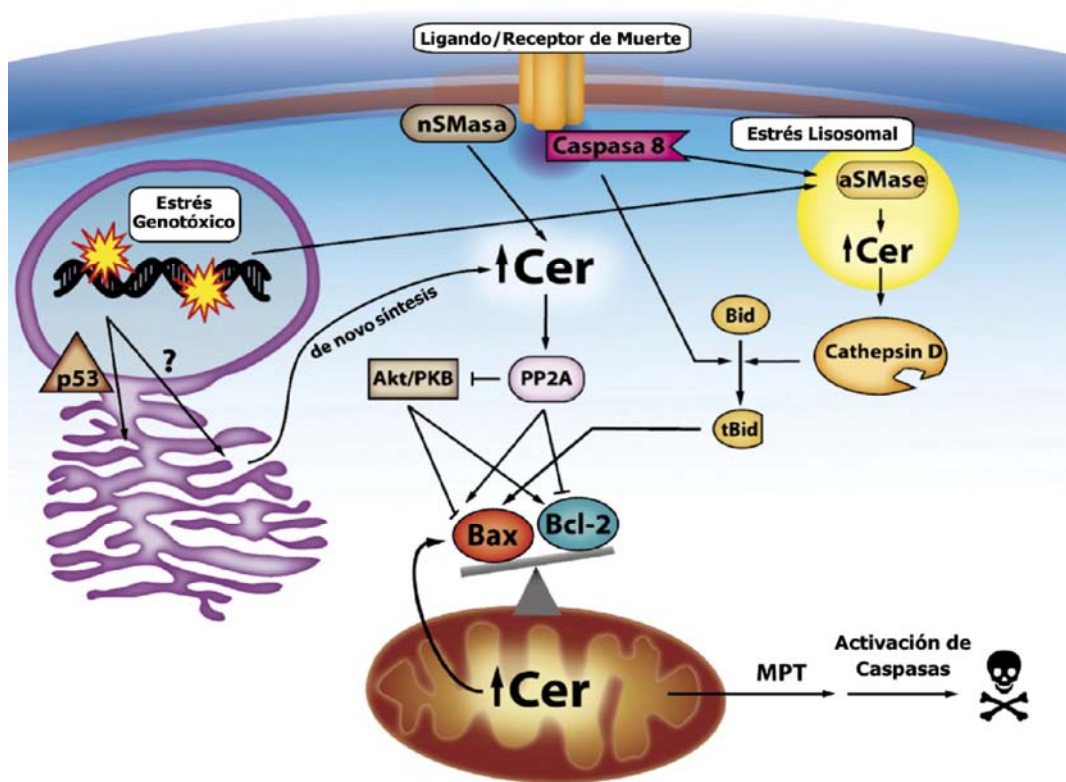
Las proteínas del tipo Bcl-2 mantienen la integridad mitocondrial. Son consideradas guardianas de estas organelas. En efecto, la sobre-expresión de las proteínas Bcl-2 y Bcl-x<sub>L</sub>, rescata a las células de la muerte inducida por estímulos que normalmente conducen a la inducción de la permeabilidad de la membrana mitocondrial. Las proteínas del tipo Bax y "BH 3-only", comprometen a la función mitocondrial y básicamente median los efectos de diversos inductores de muerte celular que causan permeabilidad de la membrana mitocondrial externa. Por lo tanto, la integridad de la mitocondria, consecuentemente la supervivencia celular, depende del balance crítico entre los miembros pro-apoptóticos y anti-apoptóticos de la familia Bcl-2. Es importante hacer notar que las proteínas Bcl-2 no sólo son actores principales en la apoptosis, sino también en la forma alternativa de muerte celular programada donde ocurre permeabilización de la membrana mitocondrial externa.

La vía de muerte por apoptosis, ha sido clásicamente descrita como vía de muerte intrínseca o extrínseca. La vía intrínseca significa que la señal de muerte es generada en el interior de la célula, tal como es en el caso de la muerte celular producida por el estrés genotóxico. La vía extrínseca, por otro lado, indica que la señal de muerte es generada por la unión de un ligando de muerte a su receptor de la superficie de la membrana, con posterior

activación de la cascada de apoptosis. La permeabilización de la membrana mitocondrial externa es esencial para el desarrollo de la vía intrínseca de muerte celular. En los casos en que los ligandos se unen a sus receptores de muerte, la muerte celular puede proceder en forma independiente de la mitocondria, por activación directa de las caspasas ejecutoras. Finalmente, la vía extrínseca puede conectar a la vía intrínseca de muerte celular programada, haciendo de la mitocondria y las proteínas Bcl-2 protagonistas clave también en la vía de muerte celular programada iniciada por activación de receptores de muerte.

### La ceramida y la muerte celular

La ceramida tiene una importancia fundamental, como mediadora de la respuesta al estrés en las células eucariotas (Figura 4) (9).



**Figura 4.** La ceramida es la mediadora central de diversas vías apoptóticas. El estrés por genotóxicos, induce acumulación de ceramida. La señalización a través de los lisosomas

*induce el aumento del nivel de ceramida por activación de esfingomielinasa ácida. La ceramida puede activar directamente a la catepsina D la cual posteriormente, degrada y activa a la proteína Bid. Otra proteína blanco de la ceramida es la fosfatasa PP2A, la cual regula negativamente la vía de supervivencia Akt / PKB. Ambas PP2A y la Akt / PKB regulan la relación Bax / Bcl-2; si la PP2A prevalece como ocurre en presencia de ceramida, Bax prevalece sobre Bcl-2 y la mitocondria se permeabiliza. La activación de los receptores de muerte conduce a la formación de ceramida vía activación de la esfingomielina neutra y la degradación de la proteína Bid inducida por caspasa 8. Los lisosomas pueden también ser activados corriente abajo de los receptores de muerte y ambas señales convergen en la permeabilización de la membrana mitocondrial externa. Además, la generación de ceramida por hidrólisis de esfingomielina mitocondrial resulta en la traslocación de la proteína Bax y finalmente se produce permeabilización de la membrana mitocondrial externa.*

La acumulación de ceramida puede ocurrir fundamentalmente por la activación de la síntesis *de novo* o por la activación de la hidrólisis de esfingomielina (vía de reciclaje). Algunos agentes externos, tales como la irradiación, activan múltiples vías de acumulación de la ceramida (10).

Los efectos de la ceramida son pleiotrópicos, pero en la mayoría de los casos inhibidores de la proliferación celular. La molécula de ceramida está implicada en la diferenciación celular, arresto del ciclo celular, apoptosis y senescencia en diversos tipos celulares. La ceramida induce arresto del ciclo celular mediante diversos mecanismos tales como. la inducción de la defosforilación de la proteína del retinoblastoma Rb (11), la activación del inhibidor de la cinasa dependiente de ciclina p21 (12), y la inhibición de la cinasa dependiente de ciclina CDK2 (13). Niveles elevados de la concentración de ceramida también se encuentran presentes en la senescencia. El fenotipo senescente es atribuido a fallas en la vía fosfolipasa C /proteína cinasa C, enzimas que son inhibidas por ceramida (14).

El papel de la ceramida más estudiado es su función como molécula pro-apoptótica. La acumulación de ceramida que sigue al tratamiento de células con agentes pro-apoptóticos constituye una evidencia de su implicancia en la respuesta biológica a estos agentes (10).

Debido al efecto inductor de apoptosis, es que a la ceramida se la denomina **lípidio supresor de tumores** (15).

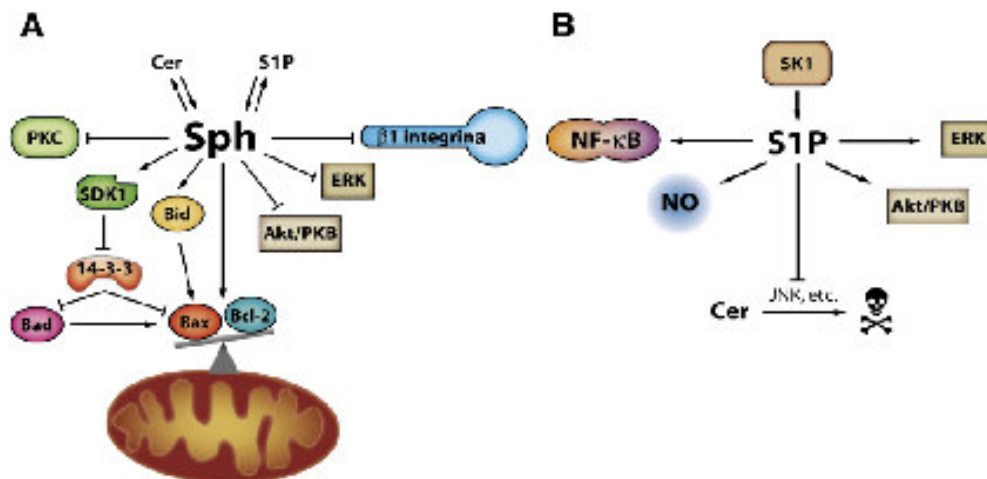
Se trató de definir el papel específico de la ceramida en la inducción de la apoptosis en tumores. Se encontró que la proteína p53, las proteínas de la familia Bcl-2 y diversos tipos de proteasas son componentes clave de la respuesta del tumor al estrés y que la ceramida se encuentra relacionada a cada una de estas proteínas mediadoras. Diversos estudios, reportaron la existencia de asociaciones variables entre estas proteínas y la ceramida, sugiriendo que diferentes células presentan redes diferentes de interacción que operan de diferente manera según el tipo celular y su condición metabólica (figura 4).

La ceramida tiene un papel adicional en la muerte celular programada Tipo II, por autofagia. La ceramida regula positivamente a los genes autofágicos BNIP3 y Beclin-1 y los inhibidores de la síntesis *de novo* de ceramida atenúan la inducción de la autofagia producida por Tamoxifen en células de cáncer humano de mama (16). Consecuentemente, el concepto de que la ceramida se comporta como un mediador de diversas formas de muerte celular programada fue ganando prestigio.

### **La esfingosina y la muerte celular**

La esfingosina induce muerte celular en forma independiente de la ceramida (figura 5). Los mecanismos por los cuales la esfingosina dirige a la célula hacia la muerte programada son múltiples y en algunos casos coinciden con las vías de muerte inducidas por ceramida. Ambos esfingolípidos inducen apoptosis en células U937 de leucemia humana monoblástica. La letalidad asociada a ceramida involucra una fuerte activación de la vía de las JNK y débil inhibición de la vía de las ERK. La esfingosina en cambio, induce la muerte debido a una débil estimulación de la vía JNK y una fuerte inhibición de la vía ERK (17). La esfingosina también puede inhibir a la vía Akt / PKB, y la sobre-expresión de la Akt constitutivamente activada por miristoilación rescata a las células de la muerte inducida por esfingosina. La muerte celular inducida por esfingosina es dependiente de caspasas. La esfingosina puede inducir, activación por clivaje de la proteína pro-apoptótica Bid, liberación del citocromo c, la posterior activación de las caspasas ejecutoras 3 y 7, y la degradación de la enzima PARP. Adicionalmente las esfingosina puede reducir la expresión de las principales proteínas guardianas de las

mitocondrias, las proteínas anti-apoptóticas Bcl-2 y Bcl-x<sub>L</sub>. La muerte celular inducida por esfingosina ocurre aún en condiciones de sobre-expresión de la proteína Bcl-2 e involucra el clivaje de la proteína pro-apoptótica Bax y su posterior asociación con Bcl-2 (18).



**Figura 5.** La esfingosina y la esfingosina-1-fosfato en la apoptosis (S1P). (A) la esfingosina media la muerte celular a través de la inhibición de los factores de supervivencia PKC y Akt/PKB via SDK1., la cual produce activación de la proteína Bax a través de la inhibición por fosforilación de la proteína 14-3-3. (B) La S1P inhibe la apoptosis por activación de los factores de supervivencia Akt/PKB, NF-κB, ERK y NO

La esfingosina es reguladora endógena negativa de la actividad de la PKC. Esta acción biológica de la esfingosina es la que permitió definir a la esfingosina como lípido bio-activo. Recientemente se describió a una proteína cinasa dependiente de esfingosina, (SDK1). Entre los sustratos de la SDK1 se encuentra la proteína 14-3-3. Es sabido que la fosforilación de la proteína 14-3-3 está asociada con la liberación de las proteínas pro-apoptóticas Bax y Bad, permitiendo que ejerzan su efecto de muerte celular (figura 5)

#### La esfingosina cinasa (SK1), la S1P y la muerte celular

Es de particular importancia en la biología de los esfingolípidos las funciones antagónicas que ejercen la ceramida y la esfingosina por un lado y la esfingosina 1-



fosfato(S1P) por el otro, en una gran variedad de tipos celulares. La ceramida y la esfingosina median la muerte celular, inducen arresto del ciclo celular y diferenciación celular, mientras que la S1P promueve proliferación celular, supervivencia, e inhibición de la apoptosis. Como se mencionó en párrafos precedentes, estos efectos antagónicos dieron origen a lo que se dio en llamar **bióstato esfingolipídico**, el cual propone que los niveles relativos de estos lípidos son determinantes del destino celular (4).

Una de las primeras observaciones que permitieron definir el efecto proliferativo de la S1P fue la habilidad del suero fetal bovino y del PDGF de inducir proliferación celular a través de la activación de la SK y se propuso a la S1P como **segundo mensajero** (19). Diversos estímulos proliferativos activan a la vía SK / S1P. Además, la sobre-expresión de la SK1 induce disminución de los niveles de ceramida y esfingosina y aumenta los niveles de S1P. Esta conversión de esfingolípidos está asociada con la proliferación celular, la inducción de la transición G1- S, y el aumento de la síntesis de DNA (20). La importancia biológica de la SK y de su producto de reacción la S1P proviene de diversos estudios que demostraron que estos mediadores atenúan la muerte celular y el efecto inhibitorio de la proliferación causado por diversos agentes inductores de estrés. El trabajo clave que consolidó el concepto de bióstato esfingolipídico fue el que reportó que la S1P puede inhibir la muerte celular programada inducida por ceramida (21). El efecto de diversos agentes de muerte que aumentan la formación de ceramida en las células, se encuentra significativamente atenuado cuando la SK es estimulada por un agonista o por la sobre-expresión de la enzima.

El mecanismo por el cual la SK y la S1P ejercen sus efectos proliferativos y de supervivencia, involucra a diversos protagonistas clave en el proceso de supervivencia y proliferación celular (figura 3 B), tales como el NF- $\kappa$ B y otros factores de supervivencia como el NO, ERK y Akt.

La sobre-expresión de SK inhibe la vía apoptótica tal como fue demostrado en células de leucemia, donde la S1P inhibe la liberación mitocondrial de factores apoptóticos, causada por privación de suero, anti Fas, ceramida o TNF (22)

La SK fosforila a la esfingosina generando S1P, consecuentemente es reguladora crucial del balance ceramida-esfingosina / S1P. Este hecho convierte a la SK en enzima clave del metabolismo de los esfingolípidos. Por cumplir una función dual modulando los niveles de

ceramida y de S1P, no sólo produce el mensajero pro-proliferativo, anti-apoptótico S1P sino que disminuye los niveles intracelulares del mensajero pro-apoptótico ceramida.

### **El metabolismo de los esfingolípidos en el cáncer**

Evidencias recientes que muestran alteraciones en los niveles de metabolitos esfingolipídicos biológicamente activos y de enzimas del metabolismo de los esfingolípidos en el cáncer, indican un papel crucial de esta vía metabólica en la patogénesis y progresión de esta enfermedad. En pacientes con astrocitoma maligno se ha demostrado la existencia de una correlación inversa entre los niveles de ceramida y el grado de progresión maligna y severidad de pronóstico (23). Bajo contenido de ceramida endógena se ha demostrado en tumores de ovario si se lo compara con tejido normal, Más aún, los tumores de ovario presentaron acumulación anormal del precursor inactivo dihidro ceramida (24). Adicionalmente, los niveles de la proteína SK1 y de su RNAm se encontraron significativamente aumentados en tumores primarios de cáncer de pulmón, colon, mama, estómago, útero y riñón si se lo compara con tejido normal adyacente (25). Estos datos indican que en estos tumores el metabolismo de la ceramida debiera estar favoreciendo la formación de S1P.

La ceramida, es la molécula central del metabolismo de los esfingolípidos, es la mediadora de la apoptosis en respuesta a una amplia variedad de tratamientos anti-cáncer a través de un aumento de la síntesis *de novo* o por hidrólisis de esfingomielina de membrana (26) Tanto la quimioterapia como la radioterapia producen un aumento en los niveles de ceramida que anteceden a la primera manifestación bioquímica de apoptosis.

### **La esfingosina cinasa -1 (SK1) es un oncogen y se encuentra sobreactivada en el cáncer**

Los trabajos pioneros de Xia y col. aportaron fuertes evidencias demostrando que la SK1 es un oncogen. En el mismo sentido del modelo clásico de transformación celular, se demostró que fibroblastos que tienen super expresada a la SK1 presentan un fenotipo de células transformadas en cultivo y capacidad para formar tumores en ratones (27). Posteriormente se encontró que los niveles de RNAm de SK1 son significativamente superiores en diversos tipos de tumores (cerebro, mama, colon, pulmón ovario, estómago, útero, riñón,

recto e intestino delgado) en comparación con tejido normal. (25). La expresión elevada del RNAm de SK1 fue posteriormente confirmada por inmunohistoquímica para SK1 en carcinomas de pulmón a células grandes comparadas con tejido adyacente normal (28). La SK1 se encontró también super expresada en cáncer de colon inducido por carcinógenos en ratón. Es de interés destacar que la expresión de SK1 depende del estadio del tumor. Un bajo porcentaje de adenomas de colon muestran SK1 sobre expresada mientras que los adenocarcinomas de colon muestran intensa inmunomarcación. Básicamente estos resultados sugirieron que la SK1 puede jugar un importante papel en la carcinogénesis de colon y sugiere su posible uso como biomarcador de malignidad del cáncer de colon. Asimismo, la SK1 podría ser un blanco para el desarrollo de estrategias terapéuticas contra el desarrollo del cáncer de colon (29). Van Brocklyn y col (30) publicaron un trabajo donde demostraron correlación entre el nivel de expresión de la SK1 y la supervivencia de pacientes con astrocitoma grado 4.

#### **La SK1 actúa como sensor durante la terapia anticáncer**

Basados en el conocimiento general de que la ceramida es un mediador de la apoptosis, fallas en la generación de ceramida han sido relacionadas con células tumorales resistentes (26). Líneas celulares radio y quimio resistentes no generan ceramida luego de la radio o quimioterapia (31,32), defecto que puede ser subsanado mediante tratamiento con ceramidas permeables. Es interesante hacer notar que originalmente se estableció una correlación entre la actividad de la SK1 y la resistencia a la irradiación en células de cáncer de próstata (33). Con el objeto de establecer el papel de la SK1 como indicador de la sensibilidad o resistencia tumoral, se estudió el efecto de un inhibidor de la topoisomerasa (camptotesina) y de un agente antimicrotúbulo como el docetaxel en células de cáncer de próstata humano y se determinó la relación existente entre la actividad de SK1, la subsiguiente relación ceramida /S1P y la supervivencia celular (34). La inhibición de la SK1 y la elevación de la relación ceramida / S1P fue observada sólo en líneas celulares sensibles al tratamiento. Los resultados fueron confirmados en experimentos en ratones *nude*. El docetaxel, indujo mayor inhibición de la SphK1 y mayor elevación de la relación ceramida / S1P que la camptotecina, y esto fue acompañado por la presencia de tumores de menor tamaño y menor presencia de metástasis.

Estos resultados fueron las primeras demostraciones de la SK1 como sensor de quimioterapia (34). El mecanismo de inhibición de la SK1 durante la apoptosis es desconocido.

La conversión metabólica de ceramida en S1P puede cambiar una célula cancerosa de un estado apoptótico a una célula en estado proliferativo o sobreviviente. De esta manera el metabolismo de los esfingolípidos pueden ser vistos como un flujo dinámico en el cual, un aumento en los niveles de ceramida podrían llevar a un aumento en los niveles de S1P, en caso en que la SK1 no se encuentre inhibida. La generación de ceramida en si misma no es suficiente para mediar exitosamente la apoptosis sin la inhibición de enzima de supervivencia SK1.

### **La sobreexpresión de SK1 protege contra los tratamientos anticáncer**

El papel estratégico de la SK1 en la regulación de la apoptosis en células cancerosas inducida por agentes quimioterapéuticos, está sustentada por experimentos que demostraron que la sobreexpresión de la enzima inhibe la muerte celular inducida por: antraciclinas en células MCF7 de cáncer de mama (35), doxorubicina y etopósido en células HL-60 de leucemia mieloide aguda (36) y camptotecina y docetaxel en células PC-3 y LNCaP de cáncer de próstata (37). Existen múltiples evidencias de que la sobreexpresión de SK1 puede evitar la apoptosis, dirigiendo el balance ceramida / S1P hacia la formación de S1P (37). El aumento de la actividad de SK1 reduce los niveles de ceramida por direccionamiento hacia la síntesis de S1P, la cual, es sabido, frustra la maquinaria apoptótica a nivel pre-mitocondrial, a través de la inhibición de la liberación del citocromo c (38). Más aún, se ha demostrado, que la super expresión de SK1 inhibe la liberación de citocromo c inducida por drogas quimioterapéuticas (36). Usando un modelo ortotópico para cáncer de próstata, Pchejetski y col demostraron recientemente que animales inyectados con células PC-3 de cáncer de próstata que sobreexpresan SK1, desarrollan tumores de mayor tamaño y mayor resistencia al tratamiento con docetaxel (37).

### **¿La inhibición de la SK1 puede constituir una terapia para el cáncer?**

Considerando dos hechos básicos tales como: i) que la actividad de SK1 es regulada negativamente por tratamientos inductores de apoptosis sólo en células sensibles a la terapia y ii) que la expresión aumentada de la SK1, protege de la apoptosis inducida por agentes quimioterapéuticos o irradiación debido a que dirige el metabolismo de los esfingolípidos hacia la formación de S1P, nos podríamos preguntar si la inhibición de la SK1 podría tener interés terapéutico.

Experimentos recientes en los que se usó el RNA de interferencia específico para la SK1 (iRNA-SK1) mostraron apoptosis de células de tumores mamarios (35), glioblastoma (30), tumor de próstata (34) como así también en leucemias (36). El efecto proapoptótico del iRNA-SK1 reflejado en la activación de caspasas ejecutoras y liberación de citocromo c (35, 36), se encuentra asociado a un aumento en los niveles de ceramida o esfingosina, ambos mediadores esfingolípidicos que, es sabido, preceden a la vía mitocondrial de apoptosis (22, 37).

Durante las dos últimas décadas, diversos compuestos farmacológicos que inhiben a la SK1 han sido sintetizados o aislados de fuentes naturales, principalmente hongos. Los compuestos más comúnmente utilizados son los derivados de la esfingosina, la DL-*threo*-dihidroesfingosina y la dimetilesfingosina, los cuales son potentes inhibidores competitivos de SK1 purificada (38). Ambos agentes inducen inhibición de la proliferación celular y causan apoptosis en diversas células tumorales tales como, células de leucemia mieloide aguda (22), de leucemia mieloide crónica (39), de leucemia linfoide aguda (37, 22), de carcinoma de cuello de útero (40), de feocromocitoma (41), de adenocarcinoma de próstata (42), de cáncer gástrico (43), de cáncer de pulmón (44), de cáncer de colon (43,44), de melanoma (44), de carcinoma epidemoideo (43, 44), de hepatoma (45), de neuroblastoma (46) y de adenocarcinoma de mama (47). Es interesante hacer notar que ambas bases esfingoideas pueden potenciar la muerte celular inducida por una terapia anticáncer o bien vencer la resistencia a la radiación o a la quimio resistencia en leucemia mieloide aguda (22) o tumores sólidos tales como adenocarcinoma de mama (48), adenocarcinoma de próstata (42,48), carcinoma de cuello de útero (40), adenocarcinoma gástrico (49), neuroblastoma, melanoma, y tumores de pulmón, colon o pancreático (48).

La dimetilesfingosina ha sido usada con éxito en ensayos preclínicos en modelos animales. Por ejemplo, se demostró que su administración inhibe en forma dosis dependiente,

el crecimiento *in vivo* de carcinoma de pulmón y carcinoma gástrico en ratones atímicos (44) y disminuye severamente la metástasis de melanoma en ratón. El efecto inhibitorio del crecimiento tumoral de la dimetilsfingosina también se observó en las células KB-2 de carcinoma de cuello de útero resistentes a la quimioterapia (40).

La L-*threo*-dihidroesfingosina, otro derivado de la base esfingoidea conocido como *Safingol*, con propiedades inhibitorias de la actividad de SK1 (50), ha alcanzado la fase 1 de evaluación clínica. La administración de *Safingol* aisladamente o en combinación con doxorubicina, ha demostrado ser no tóxica y no altera la farmacocinética de las drogas anticáncer (51).

Realizando un análisis de diferentes compuestos sintéticos, French y col (25) han identificado una serie de inhibidores selectivos para SK1 en comparación con otras enzimas implicadas en el metabolismo de lípidos tales como fosfatidilinositol 3 cinasa, o PKC. Entre estos compuestos, el 2-(*p*-hidroxianilino)-4-(*p*-clorofenil)tiazol fue el compuesto aislado más selectivo ( $IC_{50} = 0,5 \mu\text{mol/l}$  para la actividad de SK1), y demostró tener fuerte citotoxicidad en células T<sub>24</sub> de carcinoma de vejiga, en células MCF-7 de cáncer de mama, en células MCF-7/VP que son resistentes a diversas drogas anticáncer debido a la sobre expresión del transportador de proteínas MRP1 y en células NC1/ADR, una línea celular resistente a diversas drogas anticáncer debido a la sobre expresión del transportador de drogas P-glicoproteína. Más recientemente, se demostró que el 2-(*p*-hidroxianilino)-4-(*p*-clorofenil)tiazol indujo muerte en células LNCaP (andrógeno sensibles) y células PC-3 (hormono resistentes) de cáncer de próstata humano, independientemente de la condición de la proteína p53. El efecto de la droga se debe a inclinar el bióstato ceramida / S1P hacia la ceramida (27). El efecto de una variante sintética del inhibidor fue ensayado en ratones con tumores en crecimiento. Los tumores de los animales tratados con el inhibidor mostraron un crecimiento entre 50 y 85 % menor que los tumores de los animales no tratados.

En la actualidad, se han aislado diversos productos naturales de bacterias marinas y hongos con capacidad de inhibir la actividad de la SK. Entre ellos el F-12509 aislado del discomicete *Trichopezizela barbata*, induce inhibición de la SK1, resultando en disminución de la biosíntesis de S1P concomitante con un acumulación de ceramida en células HL-60 (quimio sensibles) como así también en células HL-60 / VP16 (quimio resistentes) que sobreexpresan

los transportadores MRP1 y MDR1, respectivamente A concentraciones  $\mu$ molares, el inhibidor F-12509<sup>a</sup> dispara la apoptosis en células HL-60 independientemente de la situación del transportador MDR, a través de la activación de la vía mitocondrial, demostrado por la liberación al citosol de citocromo *c* y de la proteína SMAC /Diablo seguido de la inactivación por degradación del inhibidor de apoptosis (36).

Colectivamente, los resultados de numerosos estudios avalan fuertemente que estrategias para matar células tumorales a través de la inhibición de la SK1 son válidas y pueden tener importante impacto terapéutico. Efectivamente, no sólo la actividad oncogénica de SK se encuentra está sobre estimulada en muchos tumores, convirtiendo a esta enzima en blanco terapéutico, sino que también su inhibición, al inducir aumento de los niveles de ceramida y por evitar su conversión en S1P, podría tornar un tumor quimio resistente en quimio sensible y sensible a la radiación.

## REFERENCIAS

1. Futerman AH and Hannun YA, 2004. The complex life of simple sphingolipids. *EMBO reports* 5:777-782
2. Merry AH, 2002. De Novo Sphingolipid Biosynthesis: A Necessary, but Dangerous, Pathway. *J.Biol Chem* 277: 25843-25846
3. Hannun YA and Luberto C, 2004. Lipid metabolism: ceramide transfer protein adds a new dimension. *Curr Biol* 14:R163-R165
4. Maceyka M, Payne SG, Milstein S, Spiegel S, 2002. Sphingosine kinase, sphingosine-1-phosphate, and apoptosis. *Biochim Biophys Acta* 1585: 193-205.
5. Ferri KF, Kroemer G, 2001. Organelle-specific initiation of cell death pathways. *Nat.Cell Biol.* 3:E255-E26.
6. Nicotera P, Melino G, 2004. Regulation of the apoptosis-necrosis switch. *Oncogene* 23:2757-2763
7. Hahn HP, Pnag M, He J, Hernandez JD, Yang RY, Li LY, Wang X, Liu FT, Braum LJ, 2004. Galectin-1 induces nuclear translocation of endonuclease G in caspase- and cytochrome *c*-independent T cell death. *Cell Death Differ* 11: 1277-1286

8. Hegde R, Srinivasula SM, Zhang Z, Wasel R, Mukattash R, Cilenti L, DuBois G, Lazebnik Y, Zrvos AS, Fernandez-Alnemri T, Alnemri ES, 2002. Identification of Omi/HtrA2 as a Mitochondrial Apoptotic Serine Protease That Disrupts Inhibitor of Apoptosis Protein-Caspase Interaction. *J Biol Chem* 277:432-438
9. Borner C, 2003. The Bcl-2 protein family: sensors and checkpoints for life-or-death decisions. *Mol Immunol* 39: 615-648.
10. Hannum YA, 1996. Functions of Ceramide in Coordinating Cellular Responses to Stress. *Science* 274: 1855-1859.
11. Radin NS, 2003. Killing tumours by ceramide-induced apoptosis: a critique of available drugs. *Biochem J* 371: 243-256.
12. Lee LY, Leonhardt LM, Obeid LM, 1998. Cell-cycle-dependent changes in ceramide levels preceding retinoblastoma protein dephosphorylation in G2/M. *Biochem J.* 334: 457-461.
13. Dbaibo GS, Pushkareva MY, Jayadev S, Schwarz JK, Horowitz JM, Obeid LM, Hannum YA, 1995. Retinoblastoma Gene Product as a Downstream Target for a Ceramide-Dependent Pathway of Growth Arrest. *Pro Nat Acad Sci USA* 92: 1347-1351.
14. Uchida Y, Nardo AD, Collins V, Elías PM, Oyeran WM, 2003. De novo ceramide synthesis participates in the ultraviolet B irradiation-induced apoptosis in undifferentiated cultured human keratinocytes. *J Dermatol* 120: 662-669.
15. Lee JY, Hannun YA, Obeid LM, 1996. Ceramide Inactivates Cellular Protein Kinase **Ca**. *J Biol Chem* 271: 13169-13174.
16. Hannun YA, 1997. Sphingolipid second messengers: tumor suppressor lipids. *Adv Exp Med Biol* 400A: 305-312.
17. Daido S, Kanzawa A, Yamamoto A, Takeuchi H, Kondo Y, Kondo S, 2004. Pivotal Role of the Cell Death Factor BNIP3 in Ceramide-Induced Autophagic Cell Death in Malignant Glioma Cells. *Cancer Res* 64: 4286-4293.
18. Jarvis WD, Fomari FA, Auer KL, Freemerman AJ, Szabo E, Birrer MJ, Jhonson CR, Barbour SE, Dent P, Grant S, 1997. Coordinate Regulation of Stress- and Mitogen-Activated Protein Kinases in the Apoptotic Actions of Ceramide and Sphingosine. *Mol Pharmacol* 52: 935-947.



19. Isogai C, Murate K, Tamiya-Koizumi K, Yoshida S, Ito T, Nagai H, Kinoshita T, Kagami Y, Hotta T, Hamaguchi M, Saito H, 1998. Analysis of bax protein in sphingosine-induced apoptosis in the human leukemic cell line TF1 and its bcl-2 transfectants. *Exp Hematol* 26: 1118-1125.
20. Olivera A, Spiegel S, 1993. Sphingosine-1-phosphate as second messenger in cell proliferation induced by PDGF and FCS mitogens. *Nature* 365: 557-560.
21. Olivera A, Kohama T, Etsall L, Nava V, Cuvillier O, Poulton S, Spiegel S, 1999. Sphingosine Kinase Expression Increases Intracellular Sphingosine-1-phosphate and Promotes Cell Growth and Survival. *J Cell Biol* 147: 545-558.
22. Cuvillier O, Pirianov G, Kleuser B, Vanek OA, Coso O, Gutkind S, Spiegel S, 1996. Suppression of ceramide-mediated programmed cell death by sphingosine-1-phosphate. *Nature* 381: 800-803.
23. Cuvillier O, Levade T, 2001. Sphingosine 1-phosphate antagonizes apoptosis of human leukemia Ogresmen B, Hannum YA, 2004. Biologically active sphingolipids in cancer pathogenesis and treatment. *Nat Rev Cancer* 4: 604-616.
24. Cuvillier O, Levade T, 2001. Sphingosine 1-phosphate antagonizes apoptosis of human leukemia cells by inhibiting release of cytochrome *c* and Smac/DIABLO from mitochondria. *Blood* 98: 2828-2836.
25. Riboni L, 2002. Ceramide levels are inversely associated with malignant progression of human glial tumors. *Glia* 39: 105-113.
26. Rylova SN, Somova OG, Dyallovitskaya EV, 1998. Comparative investigation of sphingoid bases and fatty acids in ceramides and sphingomyelins from human ovarian malignant tumors and normal ovary. *Biochemistry (Moscow)* 63: 1057-1060.
27. French K, Schrecengost RS, Lee BD, Zhuang Y, Smith SN, Eberly JL, 2003. Discovery and Evaluation of Inhibitors of Human Sphingosine Kinase. *Cancer Res* 63: 5962-5969.
28. Xia P, Gamble JR, Wang L, Pitson SM, Moretti PA, Wattenberg BW, 2000. An oncogenic role of sphingosine kinase. *Curr Biol* 10; 1527-1530.

29. Johnson KR, Jhonson KY, Crellin HG, Ogretmen B, Boylan AM, Harley RA, 2005. Immunohistochemical Distribution of Sphingosine Kinase 1 in Normal and Tumor Lung Tissue. *J Histochem Cytochem* 53: 1159-1166.
30. Kawamon T, Osta W, Jhonson KR, Pettus BJ, Bielawski J, Tanaka T, 2006. Sphingosine kinase 1 is up-regulated in colon carcinogenesis. *FASEB J* 20: 386-388.
31. Vanbrocklyn JR, Jackson CA, Pearl DK, Kotur MS, Snyder PJ, Prior TW, 2005. Sphingosine kinase-1 expression correlates with poor survival of patients with glioblastoma multiforme: roles of sphingosine kinase isoforms in growth of glioblastoma cell lines. *J Neuropathol Exp Neurol* 64: 695-705.
32. Bruno AP, Laurent G, Averbeck D, Demur G, Bonnet J, Bettaieb A, 1998. Lack of ceramide generation in TF-1 human myeloid leukemic cells resistant to ionizing radiation. *Cell Death Diff.* 5: 172-182
33. Itoh M, Kitano T, Watanabe M, Kondo T, Yabu T, Taguchi Y, 2003. Possible Role of Ceramide as an Indicator of Chemoresistance: Decrease of the Ceramide Content via Activation of Glucosylceramide Synthase and Sphingomyelin Synthase in Chemoresistant Leukemia. *Clin Cancer Res* 9: 415-123.
34. Michael JM, Lavin MF, Watters DJ, 1997. Resistance to Radiation-induced Apoptosis in Burkitt's Lymphoma Cells Is Associated with Defective Ceramide Signalling. *Cancer Res* 57: 1270-1275.
35. Pchejetski D, Golzio M, Bonhoure E, Calvet D, Dourmec N, Garcia V, 2005. Sphingosine Kinase-1 as a Chemotherapy Sensor in Prostate Adenocarcinoma Cell and Mouse Models. *Cancer Res* 65: 11667-11675.
36. Taha TA, Kitatani K, El-Alwani M, Bielawski J, Hannun YA, Obeid LM, 2006. Loss of sphingosine kinase-1 activates the intrinsic pathway of programmed cell death: modulation of sphingolipid levels and the induction of apoptosis. *FASEB J.* 20: 482-484.
37. Bonhoure E, Pchejetski D, Aquali N, Morjani H, Levade Y, Kohama T, Cuvillier O, 2004. Overcoming MDR-associated chemoresistance in HL-60 acute myeloid leukemia cells by targeting shingosine kinase-1. *Leukemia* 20: 95-102

38. Cuvillier O, Edsall L, Spiegel S, 2000. Involvement of Sphingosine in Mitochondria-dependent Fas-induced Apoptosis of Type II Jurkat T Cells. *J Biol Chem* 275:15691-15700.
39. Olivera A, Kohama T, Tu Z, Milstein S, Spiegel S, 1998. Purification and Characterization of Rat Kidney Sphingosine Kinase. *J Biol Chem* 273: 12576-12583.
40. Jendiroba DB, Klostergaard J, Keyhani A, Pagliano L, Freireich EJ, 2002. Effective cytotoxicity against human leukemias and chemotherapy-resistant leukemia cell lines by N,N-dimethylsphingosine. *Leuk Res* 26:301-310.
41. Shirahama T, Sweeney EA, Sakakura C, Singhal AK, Nishiyama K, Akishama S, 1997. In vitro and in vivo induction of apoptosis by sphingosine and N, N-dimethylsphingosine in human epidermoid carcinoma KB-3-1 and its multidrug-resistant cells. *Clin Cancer Res* 3:257-264.
42. Edsall LC, Cuvillier O, Twitty S, Spiegel S, 2001. Sphingosine kinase expression regulates apoptosis and caspase activation in PC12 cells. *J Neurochem* 76: 1573-1584.
43. Nava VE, Cuvillier O, Edsall LC, Kimura K, Milstein S, Gelman EP, 2000. Sphingosine Enhances Apoptosis of Radiation-resistant Prostate Cancer Cells. *Cancer Res* 60: 4468-4474.
44. Sweeney EA, Sakakura C, Shirahama T, Masamune A, Ohta H, Hakomori S, 1996. Sphingosine and its methylated derivative N,N-dimethylsphingosine (DMS) induce apoptosis in a variety of human cancer cell lines. *Int J Cancer* 66: 558-366.
45. Endo K, Igarashi Y, Nisar M, Zhou OH, Hakomori S, 1991. Cell Membrane Signaling as Target in Cancer Therapy: Inhibitory Effect of N,N-Dimethyl and N,N,N-Trimethyl Sphingosine Derivatives on *in Vitro* and *in Vivo* Growth of Human Tumor Cells in Nude Mice. *Cancer Res* 51: 1613-1618.
46. Hung WC, Chang HC, Chuang LY, 1999. Activation of caspase-3-like proteases in apoptosis induced by sphingosine and other long-chain bases in Hep3B hepatoma cells. *Biochem J* 338: 161-168
47. Tavarini S, Colombaioni L, García-Gil M, 2000. Sphingomyelinase metabolites control survival and apoptotic death in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Neurosci Lett* 285: 185-188.

48. Nava VE, Hobson JP, Murthy S, Milstein S, Spiegel S, 2002. Sphingosine kinase type 1 promotes estrogen-dependent tumorigenesis of breast cancer MCF-7 cells. *Exp Cell Res* 281: 115-127.
49. Maurer BJ, Melton L, Bilups C, Cabot MC, Reynolds CP, 2000. Synergistic Cytotoxicity in Solid Tumor Cell Lines Between *N*-(4-Hydroxyphenyl)retinamide and Modulators of Ceramide Metabolism. *J Natl Cancer Inst* 92: 1897-1909.
50. Schwartz GK, Haimovitz-Friedman A, Dhupar SK, Ehleiter D, Maslak P, Lai L, 1995. Potentiation of Apoptosis by Treatment With the Protein Kinase C-Specific Inhibitor Safingol in Mitomycin C-Treated Gastric Cancer Cells. *J Natl Cancer Inst* 87: 1394-1399.
51. Banno Y, Kato M, Hara A, Nozawa Y, 1998. Evidence for the presence of multiple forms of Sph kinase in human platelets. *Biochem J* 335: 301-304.
52. Schwartz GK, Ward D, Saltz L, Casper ES, Spiess T, Mullen E, 1997. A pilot clinical/pharmacological study of the protein kinase C-specific inhibitor safingol alone and in combination with doxorubicin. *Clin Cancer Res* 3. 537-543.



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 6, diciembre 2007

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 6, diciembre 2007

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)

## **Diseño racional de drogas: en busca de la droga ideal**

**Esteban L. Ravaschino**

Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
Universidad de Buenos Aires. Intendente Güiraldes 2160 - Ciudad Universitaria - C1428EGA  
[estebanr@qo.fcen.uba.ar](mailto:estebanr@qo.fcen.uba.ar)

Recibido: 20/12/07

Aceptado: 26/12/07

### **Resumen**

En este trabajo se presenta una breve reseña de los orígenes del descubrimiento de drogas y de la química medicinal. Asimismo, se analizan las estrategias modernas para la búsqueda de nuevas drogas y el desarrollo del diseño racional como resultado del conocimiento adquirido en distintas áreas de la ciencia y tecnología actuales.

### **Abstract**

Rational drug design: searching for the ideal drug

This work briefly summarizes the origin of drug discovery and Medicinal Chemistry. Also, modern strategies for new drug finding are analyzed, as well as development of rational drug design as a result of acquired knowledge in several science and technology areas.

### **Palabras clave**

Química medicinal – diseño racional – blanco molecular – screening

### **Key Words**

Medicinal Chemistry – Rational drug design – molecular target – drug screening

### **Química Medicinal**

La química medicinal surgió como especialidad durante las últimas décadas del siglo pasado y concierne, según la definición oficial de la IUPAC, al "descubrimiento, desarrollo, identificación e interpretación del modo de acción de un compuesto biológicamente activo al nivel molecular. El interés está puesto principalmente en la droga, aunque también concierne a la química medicinal el estudio, identificación y síntesis de productos metabólicos de drogas y compuestos relacionados". Sin embargo, el nacimiento de la especialidad tiene un origen más lejano: la medicina se ha valido de la química desde los tiempos más remotos o, al menos, desde que la alquimia se transformó en química. El puntapié inicial lo dio el farmacéutico francés Charles Louis Cadet de Gassicourt, quien, en la edición inaugural del *Bulletin de Pharmacie* (1809), sugirió que el uso de preparaciones complejas debía ser abolido en favor del de sustancias puras, las cuales deberían ser estudiadas y clasificadas debidamente. Así fue cómo, de la mano del desarrollo de la química orgánica, se aislaron los primeros principios activos a partir de plantas, entre 1815 y 1820.

## Descubrimiento

Una vez que se hubo establecido que la actividad biológica de cualquier extracto vegetal, animal o mineral era causada en todos los casos por una sustancia química, el proceso de aislamiento, purificación e identificación de dicho principio activo se convirtió en fuente de descubrimiento de numerosas drogas desde el siglo XIX hasta la actualidad. Ya en 1805 Friedrich Serturmer aisló morfina a partir de opio, identificándola como el compuesto responsable de la acción de dicha planta. Otros alcaloides, actualmente muy conocidos, como la cafeína, la codeína, la atropina y la papaverina, entre otros, fueron aislados entre 1819 y 1848. Sin embargo, no fue hasta 1870 en que la primera estructura química de un alcaloide (coniína) fue elucidada por Schiff. Otros ejemplos de drogas extraídas de la naturaleza son la gramicidina, primer antibiótico extraído de bacterias del suelo; la insulina, purificada de extractos pancreáticos animales; y el ácido salicílico, analgésico extraído por primera vez de la corteza del sauce, y antecesor de la muy exitosa aspirina (ácido acetilsalicílico).

De esta forma fue como, hacia fines del siglo XIX, los avances en los conocimientos en química orgánica abrieron nuevas posibilidades para la búsqueda de compuestos biológicamente activos. El conocimiento de la estructura química de los principios activos aislados de plantas y el desarrollo de la síntesis orgánica permitieron a los químicos realizar búsquedas sistemáticas de compuestos con una actividad determinada. Obteniendo sintéticamente dichos compuestos cuya estructura se basaba en el conocimiento de la actividad de una molécula conocida, proveniente de una fuente natural, se encararon los primeros trabajos de búsqueda sistemática. Esto era, sin ir más lejos, el comienzo del estudio de relaciones de estructura-actividad, hoy conocido como SAR (*structure-activity relationship*).

Cabe destacar en este punto la contribución de la industria farmacéutica con su mayor capacidad de inversión y de mano de obra que la académica para este tipo de proyectos. Podemos citar como un ejemplo importante la modificación extensiva de rifamicinas, metabolitos

naturales de la bacteria *Amycolatopsis mediterranei*, llevada a cabo por los laboratorios Lepetit, que llevó al descubrimiento de la rifampicina en 1967.

Otra fuente de descubrimiento muy importante es el azar, que no puede ser menospreciado, ya que representa a la abrumadora mayoría de los descubrimientos de drogas a lo largo del siglo XX. Además de la muy conocida historia de la penicilina, descubierta por Alexander Fleming en 1928, existen numerosos ejemplos, como el caso del Librium®, descubierto por Leo Sternbach. Éste, mientras trabajaba en la síntesis de benzodiazepinas para la farmoquímica Hoffmann-La Roche, “redescubrió” un compuesto sobre el que había estado trabajando, y el cual, tras haber sido abandonado por un largo tiempo, había sufrido un reordenamiento en su estructura química dando lugar a un potente tranquilizante. El cisplatino, un potente antitumoral, fue descubierto en 1965 por un grupo de biofísicos mientras estudiaban el efecto del pasaje de corriente eléctrica por cultivos de *Escherichia coli*. Los investigadores observaron que este compuesto (*cis*-diaminodicloroplatino), que se formaba a partir de los electrodos de platino, inhibía la división celular en dichos cultivos. De la misma manera, la actividad antidepresiva del litio fue descubierta cuando se lo incorporó como contra-anión del urato para mejorar la solubilidad en agua del ácido úrico mientras se estudiaba el metabolismo de dicho ácido en maniáticos depresivos. Los edulcorantes –la sacarina, el ciclamato y el aspartamo– fueron descubiertos accidentalmente por químicos que probaron su gusto al tocarse la boca o fumar un cigarrillo luego de haberse ensuciado las manos con estos compuestos. En fin, la lista de casualidades y descubrimientos es bien larga.

### **Evolución en el descubrimiento de drogas**

A medida que avanzaba el siglo XX se fueron desarrollando áreas nuevas de investigación, como la biología molecular, la simulación asistida por computación y los métodos espectroscópicos. Todas estas áreas proveyeron herramientas extremadamente útiles para la búsqueda de nuevos compuestos y fueron llevando la química medicinal hacia un terreno cada



vez más racional, en donde se fue invirtiendo la estrategia de la búsqueda. Es decir, se pasó de encontrar una acción farmacológica a compuestos conocidos, a buscar o diseñar compuestos nuevos a partir de una acción farmacológica deseada.

### **Estrategias modernas para la búsqueda de drogas**

Dentro de las estrategias modernas para la búsqueda de nuevas drogas, existen distintas aproximaciones. Éstas se pueden clasificar evaluando el grado de azar que incorporan. Así, a ambos extremos de esta clasificación se sitúan, por un lado, los métodos basados en el *screening* de bibliotecas de compuestos, en que la estrategia de búsqueda está basada exclusivamente en el azar, y por el otro, el diseño racional de drogas, en donde existe un conocimiento del blanco al nivel molecular y cada elemento en el diseño de la droga está fundamentado. Por supuesto, hay una gama de estrategias intermedias basadas en mayor o menor medida en el azar.

En el primer caso se intenta aumentar las probabilidades de éxito mediante el uso de un gran número de ensayos de evaluación del compuesto químico. Esto puede hacerse de dos maneras que implican algunas diferencias conceptuales. La primera es definir un experimento modelo para ensayar cierta actividad biológica buscada, sobre una extensa biblioteca de compuestos. El problema se centra, en este caso, en cómo obtener una biblioteca de compuestos originales lo suficientemente grande como para tener una probabilidad de acierto no despreciable. La solución aparentemente definitiva a este problema llegó en los años 90 junto con la síntesis combinatoria. Aunque, si bien esta herramienta hizo posible la generación de bibliotecas inmensas de compuestos originales, posee una falencia intrínseca, que es la limitada diversidad estructural, sujeta al tipo de reacciones aplicables. Es decir que, aunque es posible generar una gran cantidad de moléculas distintas al aplicar una serie de reacciones sobre distintos sustratos, al mismo tiempo, esa secuencia limita el tipo de estructura obtenido, y por ende, las probabilidades de encontrar nuevas estructuras activas en el modelo biológico utilizado.

La segunda opción, que intenta subsanar el problema de la diversidad estructural, es el *screening* de compuestos naturales aprovechando la diversidad que ofrece la naturaleza, y aún más, la pureza estereoquímica de los productos naturales. Obviamente, el aislamiento, purificación y caracterización de productos naturales implica un largo trabajo por cada estructura nueva. Esto hace que este tipo de bibliotecas sean mucho más reducidas en número que las generadas por síntesis combinatoria. Por otro lado, las posibilidades de acierto pueden aumentar si lo que se busca no es un efecto específico sino una nueva droga con alguna actividad biológica importante. Ésta es una motivación común en la industria farmacéutica a fin de introducir nuevas drogas al mercado, aunque también lo es en el ámbito académico. Muchos grupos de investigación dedican sus esfuerzos a aislar, purificar e identificar nuevas y complejas estructuras químicas, ya sea porque pertenecen a una familia química que posee cierto tipo de actividad biológica general o porque se espera encontrar nuevos compuestos especulando con que posean alguna actividad relacionada con la fuente natural o con su entorno. En definitiva, en esta aproximación se diseña con mayor cuidado una serie de experimentos para evaluar distintos compuestos por lo que el incremento en las probabilidades de acierto viene dado por un mayor número de ensayos para la evaluación de las potenciales actividades biológicas.

En el caso de contar con muy buenos recursos financieros, es posible encarar la máxima expresión de este tipo de aproximaciones, lo que se conoce como "*High-throughput screening*". Con la ayuda de la robótica se puede realizar el *screening* de una gran biblioteca de compuestos sobre unos 40 o 50 ensayos. El problema de alimentar un sistema de ensayos con gran cantidad de compuestos se puede resolver utilizando extractos de productos naturales, los cuales se purifican y caracterizan sólo en el caso de encontrar actividad, sin embargo, la química combinatoria sigue siendo la mayor fuente de compuestos en este caso, con la consecuente limitación de la diversidad estructural, antes mencionada.

En general, este tipo de estrategias tiene su origen en la necesidad de hallar una droga efectiva en el corto plazo. Urgencias de esta clase pueden darse por razones tan disímiles como la necesidad de paliar una nueva enfermedad de rápida expansión o introducir una nueva droga en el mercado para lograr mayor competitividad.

En el camino entre lo puramente azaroso y lo puramente racional se encuentran estrategias "intermedias", con un conjunto de compuestos son mucho más limitado, ya que se toma como referencia una droga modelo de actividad ya conocida y se estudia el efecto que tienen distintas modificaciones sobre su estructura. Esta aproximación no es de las más modernas, conceptualmente hablando, pues ya hemos visto que su implementación comenzó en la primera mitad del siglo pasado. Sin embargo, ha ido incorporando elementos de la química y la biología modernas y ha mantenido su vigencia, siendo, de hecho, la práctica más común ya que posee la mejor relación entre probabilidad de éxito y costo. La parte racional radica en el conocimiento de que el efecto terapéutico de una droga está estrechamente relacionado con su estructura química. De esta manera, pequeñas variaciones en la estructura suponen cambios en la potencia de la droga, lo que garantizan, en general, una actividad distinta de cero, y, en caso de éxito, una actividad mayor. La incorporación del azar se da por las variaciones que se realizan sobre la estructura. Aquí es donde se puede modular el factor azar haciendo más o menos racionalmente dichos cambios. Generalmente, se reconoce una parte de la estructura que se cree necesaria para que la droga sea activa, conocida como farmacóforo. Fuera de este farmacóforo, las modificaciones pueden tener un carácter racional, como variar la lipofilicidad con fines farmacocinéticos, o eliminar grupos lábiles o reactivos.

Evidentemente, la posibilidad de realizar modificaciones elegidas racionalmente está íntimamente relacionada con el conocimiento del mecanismo de acción de la droga. Sin embargo, en la década del 60 surgió una nueva aproximación en la que se intentaba prever qué cambio era necesario realizar sobre una estructura líder sin conocer necesariamente su acción al nivel molecular. El problema se abordó desde un punto de vista bastante original que consiste en cuantificar las propiedades fisicoquímicas de las moléculas en cuestión mediante diversos parámetros, para poder encontrar correlaciones numéricas entre la estructura y la actividad biológica. Esta técnica se conoce como QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship), y los parámetros que se intenta relacionar están basados tanto en propiedades vinculadas a que las interacciones entre la droga y su receptor, como en propiedades relacionadas con la absorción, la distribución, el metabolismo y la excreción (ADME) de la droga. De hecho, los trabajos

iniciales se centraron en correlacionar el coeficiente de partición octanol/agua ( $\log P$ ) con la actividad medida, ya que se especulaba con que esta propiedad, estrechamente relacionada con los fenómenos de transporte, incidía en una gran medida en dicha actividad. En la actualidad existe una gran cantidad de parámetros relacionados a distintas propiedades fisicoquímicas, sin embargo, el objetivo sigue siendo el de evaluar correctamente la incidencia de cada uno de ellos con relación a la actividad biológica esperada, a fin de desarrollar un modelo matemático que pueda predecir cuantitativamente el cambio en la actividad con relación a los cambios en la estructura.

Finalmente, no podemos obviar la contribución de la informática a la búsqueda de drogas nuevas. Es innegable que la capacidad de cálculo a la que se accede por medio de una computadora facilita notablemente o, mejor dicho, hace posible el procesamiento de enormes cantidades de datos como los obtenidos en experimentos tipo "*high throughput*". También es cierto que facilita el desarrollo de modelos de predicción con múltiples parámetros en QSAR, pero la contribución más interesante es, probablemente, la que hace a través del modelado molecular.

El concepto de predicción de propiedades fisicoquímicas de las moléculas nació junto con la mecánica cuántica, sin embargo, la aplicación de las aproximaciones a las ecuaciones correspondientes a sistemas más complejos que la molécula de hidrógeno se hace impracticable sin la ayuda del cálculo computacional. Tal es el requerimiento matemático para calcular los estados de energía de las moléculas más simples. Recién en la década de 1970 comenzó a vislumbrarse la posibilidad de procesar en tiempos razonables los volúmenes de cálculo correspondientes a la predicción de los niveles de energía de moléculas simples. Es sabido que el desarrollo de la informática se produjo de manera exponencial desde su inicio, y hoy en día brinda herramientas de predicción valiosísimas para el químico medicinal en cuanto a la posibilidad de predecir la forma en el espacio tridimensional y otras propiedades importantes como el potencial electrostático o la capacidad de formar uniones no covalentes con un receptor. Obviamente, toda esta información carece de sentido sin el conocimiento del receptor a nivel molecular, ya sea una enzima, una proteína, o una determinada secuencia de ADN o ARN. La

biología molecular provee las herramientas necesarias para el estudio del receptor en cuestión. Por ejemplo, si el blanco molecular seleccionado es una enzima que se desea inhibir, la técnica de clonación y expresión en una bacteria o levadura facilita los medios para su obtención en grandes cantidades. También provee herramientas para el estudio estructural y funcional del receptor. Volviendo al ejemplo de la enzima, es posible, mediante manipulación genética, producir la inactivación por mutación dirigida (cambiar un aminoácido en particular), biosintetizar parcialmente la enzima para estudiar la actividad de ciertas subunidades independientemente, etc.

### **Diseño racional**

Los avances mencionados más arriba fueron delineando la estrategia para la búsqueda racional de nuevas drogas. Esta estrategia se puede resumir en los siguientes puntos:

#### **1. Identificación del blanco molecular (enzima, proteína, receptor, etc.)**

#### **2. Validación del blanco molecular.**

La validación consta de la comprobación experimental de que el blanco molecular elegido es un objetivo válido para el tratamiento del mal en cuestión. Esta demostración se lleva a cabo, en general, con el apoyo de técnicas de biología molecular. Como ensayo característico podemos mencionar el *knock-down* genético, tomando como ejemplo una infección parasitaria. Si se sospecha que existe una enzima imprescindible para la supervivencia del parásito, se pueden inactivar los genes que codifican para esta enzima y, evaluar la viabilidad de este organismo con déficit de la misma. Como complemento se pueden realizar experimentos de recuperación, es decir, agregar externamente el metabolito sintetizado por la enzima en cuestión para ver si se compensa la falta del mismo por el déficit de la enzima.

### **3. Búsqueda de una molécula líder.**

Ésta puede llevarse a cabo mediante un diseño basado en la estructura tridimensional del receptor, si es que existe información al respecto. En caso contrario, el método más común es basarse en la estructura del sustrato natural y hacer un estudio SAR para identificar el farmacóforo.

### **4. Optimización del compuesto líder.**

Una vez identificado el farmacóforo se ajusta la estructura para optimizar las propiedades ADME, a la vez que se estudia la toxicidad y mutagenicidad de los compuestos sintetizados.

### **5. Estudios preclínicos y clínicos.**

### **6. Aprobación de la droga por la entidad regulatoria correspondiente (p. ej. FDA en EE.UU.)**

Siguiendo aproximadamente los pasos mencionados antes es que hacia la década del 90 comenzaron a aparecer las primeras drogas producto del diseño racional. Se puede contar como primer ejemplo al antihipertensivo Captopril (Squibb). El diseño de esta droga estuvo basado en la estructura tridimensional de la Carbopeptidasa A. Luego de hallar la droga líder succinilprolina, las mejoras hechas en su estructura, basadas en el conocimiento de la estructura tridimensional del sitio activo de la enzima, llevaron al inhibidor Captopril, 30.000 veces más potente. Los inhibidores de proteasa de HIV-1 saquinavir, indinavir, ritonavir y nelfinavir hicieron su aparición en el mercado a mediados de la década del 90. Todos ellos fueron diseñados exclusivamente sobre la base de estructuras tridimensionales. Existen muchos otros ejemplos de inhibidores diseñados sobre la base de la estructura tridimensional de las proteínas. Se han encontrado, de esta manera, inhibidores de aldosa reductasa, cisteínproteasa, HIV proteasa, proteína quinasa, transcriptasa reversa y purina nucleósido fosforilasa, entre otras. En otros casos, a falta de datos estructurales precisos, se ha utilizado el diseño tridimensional

basado en el ligando. Ejemplo de ello es el desarrollo de Devazepide (Merck & Co.), un antagonista de la hormona peptídica Colecitokinina (CCK). Los químicos de Merck reconocieron en el antagonista de CCK asperlicina (aislado del hongo *Aspergillus alliaceus*,  $IC_{50} = 1,4$  mM) estructuras parciales de benzodiazepinas y triptófano. Sintetizando análogos de esta droga que contuvieran dichas estructuras llegaron al Devazepide ( $IC_{50} = 80$  pM), 10.000 veces más potente.

## Conclusiones

Ciertamente, todas las etapas concernientes al diseño racional de drogas involucran múltiples disciplinas. Idealmente, un grupo de investigación debería estar integrado por profesionales que dominen las diversas áreas del conocimiento, como la química orgánica, la fisicoquímica, la espectroscopia, la biología molecular, la química biológica, la virología, la parasitología, la medicina, entre otras. Es decir, para encarar el proceso completo de la búsqueda racional se necesitaría, en principio, un grupo de investigación interdisciplinario que pudiera abarcar todo el espectro de conocimiento necesario.

Sin ninguna duda, resulta apasionante pensar en la posibilidad de identificar un blanco molecular asociado a alguna enfermedad, estudiarlo en detalle y a partir de esa información diseñar y sintetizar una droga. Sin embargo, según lo dicho anteriormente, resulta difícil llevar a cabo todo este proceso en un único laboratorio. Existen, claro está, casos en que estas limitaciones, mayormente económicas, no lo son tanto. Por ejemplo, en la industria farmacéutica, las grandes empresas multinacionales cuentan con los recursos suficientes como para afrontar los gastos de sueldos de profesionales altamente capacitados y los más diversos instrumentos que van desde espectrómetros de resonancia magnética nuclear y difractómetros de rayos X, pasando por potentes computadoras, hasta costosos *kits* de ensayos biológicos y equipos automatizados. Dentro del ámbito académico, existen grupos multidisciplinarios que pueden contar con subsidios del orden del millón de dólares y abarcar desde la síntesis de nuevos

compuestos hasta la clonación, expresión y purificación de enzimas, pasando por el diseño asistido por computadora y diversas espectroscopías. Obviamente, las últimas etapas, es decir, los estudios preclínicos y clínicos, se reservan para drogas con muy serias posibilidades de ser comercializadas, por lo que a partir de estas etapas, casi invariablemente, aparece la inversión de la industria farmacéutica.

En nuestro país, los grupos de investigación son muy homogéneos en cuanto a disciplinas, por lo que pensar en encarar un proyecto de química medicinal parece bastante desacertado. Aún así, la colaboración entre grupos suele ser la solución a este problema. Nuestro sistema científico posee los conocimientos y el equipamiento necesarios para llevar a cabo proyectos de diseño racional, principalmente basados en la colaboración entre grupos, siempre y cuando esa colaboración responda a un objetivo común y no se dé como prestación de servicios entre grupos. En el último caso, el interés puede decaer y la pérdida de fluidez en el intercambio de resultados puede llevar al fracaso del proyecto.

La formación de grupos multidisciplinarios puede resultar muy provechosa a la hora de encarar proyectos de química medicinal, redundando en una mayor fluidez en la investigación. Por otro lado, el diseño racional de drogas se presenta como una de las formas más avanzadas y lógicas en la búsqueda de nuevas drogas, y es, al mismo tiempo, la estrategia con mayores perspectivas a futuro. Si bien hallar la droga ideal por diseño es una utopía, el hecho de que se apunte desde el inicio del diseño a buscar drogas que actúen en blancos moleculares específicos aumenta las posibilidades de encontrar drogas selectivas y, por lo tanto, seguras.

## **Bibliografía**

[www.iupac.org](http://www.iupac.org)

Sternbach LH *Agents Actions*, 1972, 2, 193-6.



Kubinyi, H. Diseño racional de drogas. FCEyN, UBA. 19-24 de noviembre de 2001.

Kubinyi, H. J Recept Signal Transduct Res. 1999, 19, 15-39.

Wermuth, C.G., Ed. The practice of medicinal chemistry. Academic Press, London, 2003.

Fairlamb, A. H. Future Prospects for the Chemotherapy of Chagas. Facultad de Medicina, UBA.  
19-20 abril 1999.

Tesis doctoral "Diseño y síntesis de inhibidores del camino biosintético de tripanotiona" E. L. Ravaschino, 26 de marzo de 2007, F.C.E.yN., Universidad de Buenos Aires.



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 6, diciembre 2007

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)