

La ventana de la metabolómica, vislumbrando el panorama de sus aplicaciones

David Rojo y Coral Barbas

El enfoque clínico de la metabolómica persigue tanto encontrar marcadores diagnósticos para una enfermedad o una respuesta a un tratamiento, como la comprensión de las bases bioquímicas de esas situaciones. Se revisan algunos ejemplos y trabajos clínicos en los que la metabolómica se aplica con éxito.

El pasado fin de siglo, del cual nos separan ya casi dos décadas, fue notorio entre otros aspectos por revolucionar la biología de sistemas –y, en general, las ciencias de la vida– con la aparición y subsiguiente expansión de la terminología «-ómica» (del inglés *-omics*, que significa «la totalidad de los individuos de un conjunto»). Hasta la fecha, esta tendencia ha dado lugar a la creación de más de cien neologismos para la familia -ómica, entre los que se incluyen genómica, proteómica y, más recientemente, metabolómica.

Se entiende y define el *metaboloma* como el conjunto de compuestos de bajo peso molecular (lo que excluye a las proteínas) sintetizados en un determinado momento por un sistema biológico, sea este una célula, tejido, fluido, órgano u organismo. Por ello, este es el nivel de la cascada funcional que mejor refleja el estado fisiológico, siendo no solo el más sensible a cualquier cambio, sea interno o externo, sino expresión última de estos, en tanto que los *metabolitos* son los auténticos agentes activos reguladores de la homeostasis. Sirva como medida de su relevancia

una cita de James Watson, uno de los descubridores de la estructura del DNA, quien, en una reciente entrevista, dijo: «Si yo tuviera que hacer ahora mismo un doctorado, lo haría en metabolómica».

Desde una procedencia puramente endógena a otra derivada de la alimentación o de la microbiota intestinal, la amplia panoplia que compone el metaboloma abarca orígenes dispares entre los que se incluyen la dieta, los fármacos e incluso el propio medio ambiente. Con semejante abanico de compuestos cuyas propiedades fisicoquímicas y rangos de concentraciones son tan diferentes, en general no se puede pretender medir «todos» los metabolitos de una muestra, sino más bien orientarse hacia un análisis diferencial que nos permita detectar los cambios en respuesta a un estímulo, sea este el desarrollo de una enfermedad, la efectividad o resistencia ante un tratamiento, los beneficios de una dieta, la delección de un gen, etc.

La gran ventaja de esta aproximación es el trabajar sin hipótesis previa, es decir, no se trata de medir nada cuyo conocimiento venga condicionado por un

a priori, sino de considerar a un tiempo todos los cambios posibles, y por eso esta óptica resulta extremadamente atractiva para realizar un descubrimiento. Pero descubrimiento de qué. Es en este punto cuando se manifiesta todo el potencial que ya ha demostrado poseer la metabolómica.

Ciertamente, la característica que mejor define el análisis metabolómico es su doble naturaleza holística en tanto que no solo se centra en todos los metabolitos diferencialmente expresados, como ya hemos dicho, sino que además este tipo de metodología admite casi cualquier matriz y se puede enfocar a multitud de casos de estudio. En definitiva, metabolómica se puede hacer de casi todo y a partir de aquí intentaremos ilustrar cuáles son algunas de sus aplicaciones en el campo biomédico a través de varios ejemplos tomados mayoritariamente de nuestros trabajos, no tanto por su relevancia sino por su conocimiento, pudiendo así hablar de ellos de primera mano. De este modo, al igual que Anna Maria, hermana de Salvador Dalí (fig. 1), nos asomamos a la ventana de la vida desde la perspectiva metabolómica en cuya mira-

da se cruzan las de los autores, quienes proponen este relato, y la de la propia metabólica, quién mira para observar «cómo está» un organismo a escala global, aunque quizá en ese proceso pueda perder algún detalle concreto.

En cuanto al enfoque clínico de la metabólica, tal como muestra la figura 2, resaltamos dos orientaciones: primero, la de la búsqueda de marcadores diagnósticos –bien de una enfermedad, bien de la respuesta/resistencia a un tratamiento– y segundo, la de la comprensión de las bases bioquímicas de dichas situaciones.

► Búsqueda de biomarcadores

Quizá el aspecto de la metabólica que resulta más sugerente desde un enfoque clínico es la potencial identificación de nuevos biomarcadores que contribuyan a superar los actuales tests diagnósticos, mejorándolos en selectividad, especificidad e incluso permitiendo matizar entre fases de una enfermedad o su detección más temprana.

Tal es el caso de la búsqueda de marcadores de aneurisma de aorta abdominal,¹ patología asintomática que produce el ensanchamiento anormal de dicha arteria, que carece de marcadores diagnósticos y que cuando se detecta a tiempo tiene una fácil operación que de no llevarse a cabo puede llegar a producir la súbita rotura con muy mal pronóstico. Un estudio piloto ha demostrado que los perfiles de plasma se pueden diferenciar no solo dependiendo de si pertenecen a pacientes o controles, sino también en función del tamaño del aneurisma.

Por otro lado, la diabetes gestacional es otro caso de gran incidencia (entre el 10 y el 14 % de los embarazos) que supone un notable riesgo para la madre y el feto. En la actualidad se detecta en las semanas 22-24 de gestación con el test de glucosa oral, metodología bastante invasiva. En aras de su superación, se han identificado en plasma metabolitos,² capaces de diagnosticar la patología con un elevado grado de sensibilidad y selectividad, incluso mayor que el propio test y se está trabajando en la detección temprana.

En otros estudios también se ha aplicado la metabólica para la caracterización de marcadores de resorción ósea en el plasma de buceadores profesionales,³ lo

cual permitiría indicar la necesidad de interrumpir la actividad tras un análisis de rutina, sin dejar de mencionar trabajos en matrices menos usuales como el exhalado de pacientes intubados para el estudio de los patógenos de las vías respiratorias.⁴ Respecto a la búsqueda de marcadores para la estratificación hay muchos ejemplos en distintas patologías, especialmente las oncológicas tales como el cáncer de vejiga, que hasta la fecha resulta de difícil distinción.⁵ Por otro lado



Figura 1. Salvador Dalí, *Figura en una ventana*, 1925, Museo Nacional Centro de Arte Reina Sofía (Madrid). Al igual que Anna María, hermana de Salvador, la metabólica mira por su ventana en un lienzo que, en palabras de Rafael Santos Torroella, es «un prodigio en su maestría al combinar los espacios ocupados y los espacios vacíos, haciéndolos equivalentes en sus valores compositivos [...]»

también se han detectado marcadores que clasifican a los pacientes en apnea del sueño⁶ e incluso la pancreatitis aguda se ha podido diferenciar de otras enfermedades relacionadas en pacientes que acuden a una unidad de urgencias.⁷

Estos, que entre cientos son solo algunos ejemplos, llevan a una pregunta: ¿por qué mayoritariamente no han llegado a la clínica? La respuesta es muy sencilla, pues, para que un marcador llegue a poder usarse en el trabajo de rutina requiere su validación en miles de individuos y ese paso de la investigación, que necesita grandes recursos, no se ha dado

hasta ahora, quedando los estudios en un *screening* preliminar basado en algunas decenas de individuos. En la actualidad, algunas grandes convocatorias europeas están apostando por la validación y desarrollo del *kits* diagnósticos, lo que sin duda lograría la traslación real de estos resultados.

► Búsqueda de rutas alteradas en una patología

Este aspecto representa la investigación básica desde la perspectiva metabólica, observando los cambios que se producen en un organismo con el efecto de una patología para así generar hipótesis sobre su origen, si este todavía no es conocido.

Así, se han estudiado la hipertensión pulmonar en un modelo de cerdo⁸ o la aterosclerosis y su relación con un aumento en la resistencia insulínica.⁹ Este estudio en concreto puso de manifiesto que, más allá de la conocida asociación entre diabetes y enfermedad cardiovascular (y eliminados del conjunto muestral los individuos diabéticos), la situación metabólica de los pacientes con aterosclerosis indicaba una aumentada resistencia insulínica, lo cual puede conducir a plantear un cambio en su tratamiento.

► Farmacometa-bolómica

Precisamente en la terapéutica, la información generada en metabólica permite tanto definir la diana para un medicamento como elucidar su mecanismo de acción/resistencia. Sirva como ejemplo un estudio en la línea de lo que se considera medicina personalizada; en él se evaluaron la mitomicina C y la rapamicina en el tratamiento de un cáncer de páncreas específico.¹⁰ Este ensayo permitió explicar por qué, aunque la terapia combinada de ambos medicamentos parecía la prescripción adecuada, a la vista de las modificaciones genéticas encontradas en el tumor solo la terapia con mitomicina C ofrecía resultados, pues la rapamicina reactivaba rutas que la mitomicina interrumpía contrarrestando su acción en lugar de complementarla.

Otra muestra al respecto son los trabajos realizados en leishmaniasis, una de las enfermedades más graves que afecta principalmente a países en vías de desarrollo, cuyo tratamiento más clásico son las sales de antimonio y que, tras más de

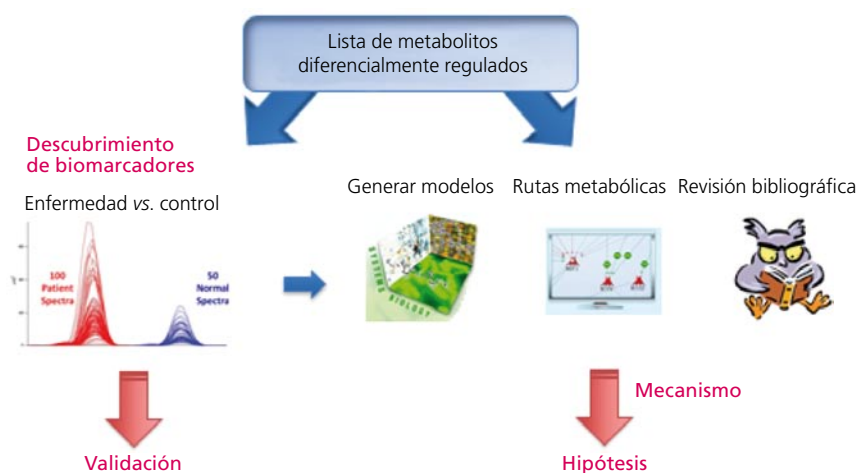


Figura 2. Principales objetivos de la metabolómica desde una perspectiva clínica

60 años de uso en clínica, todavía hoy son inciertos los motivos por los que se generan resistencias.¹¹

Asimismo, han sido objeto de estudio la ketamina como tratamiento para trastornos bipolares,¹² descubriendo marcadores asociados a la respuesta o no de los pacientes, o el impacto producido por los antibióticos sobre la microbiota intestinal, habiéndose conseguido en este último caso una muy sugerente integración multimétrica.

► Nutrimetabolómica

Continuando con el desarrollo de la vertiente clínica, el efecto de los alimentos en la salud es una continua preocupación, y en ese sentido varios estudios han utilizado las herramientas metabolómicas para identificar marcadores específicos de consumo de determinados alimentos, lo que valida los cuestionarios nutricionales, o para evaluar extractos con potencial nutraceutico en humanos.

► Microbiota bacteriana

En otro orden de cosas y quizás en un campo más novedoso, actualmente se ha abierto una nueva ventana al análisis de la microbiota intestinal desde la concepción de esta como «órgano extra» metabólicamente activo. Así se han publicado

trabajos que evalúan el efecto sobre la misma de trastornos tales como una enfermedad autoinmune, la obesidad o la diarrea, demostrándose que el impacto ejercido se produce solo en el nivel metabólico al no alterarse la arquitectura taxonómica de las especies que componen la microbiota, única de cada individuo.

Pero... volvamos a nuestro mirador de la playa, al de Anna Maria, pues, aunque lo que se ha dicho sea mucho más de lo que podría decirse, no deja por ello de ser una panorámica de nuestro paisaje, el de la metabolómica y su prometedor potencial que ya es algo real, tangible y cuyos resultados comienzan a tener un traslado efectivo a la clínica. #

David Rojo y Coral Barbas

CENTRO DE METABOLÓMICA Y BIOANÁLISIS (CEMBIO)
FACULTAD DE FARMACIA,
UNIVERSIDAD CEU SAN PABLO
CAMPUS MONTEPRÍNCIPE, MADRID

► Bibliografía

- Ciborowski M., Teul J., Martin-Ventura J.L., Egidio J., Barbas C.: Metabolomics with LC-QTOF-MS permits the prediction of disease stage in aortic abdominal aneurysm based on plasma metabolic fingerprint. *PLoS One* 2012; 7: e31982.
- Dudzik D., Zorawski M., Skotnicki M., Zarzycki W., Kozłowska G., Bibik-Malinowska K. *et al.*: Metabolic fingerprint of Gestational Diabetes Mellitus. *J Proteomics* 2014; 103: 57-71.
- Ciborowski M., Javier Rupérez F., Martínez-Alcázar M.P., Angulo S., Radziwon P., Olszanski R. *et al.*: Metabolomic approach with LC-MS reveals significant effect of pressure on diver's plasma. *J Proteome Res* 2010; 9: 4131-7.
- Fowler S.J., Basanta-Sánchez M., Xu Y., Goodacre R, Dark PM: Surveillance for lower airway pathogens in mechanically ventilated patients by metabolomic analysis of exhaled breath: a case-control study. *Thorax* 2015; 70: 320-5.
- Alberice J.V., Amaral A.F., Armitage E.G., Lorente J.A., Algaba F, Carrilho E. *et al.*: Searching for urine biomarkers of bladder cancer recurrence using a liquid chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis-mass spectrometry metabolomics approach. *J Chromatogr A* 2013; 1318: 163-70.
- Ferrarini A., Rupérez F.J., Erazo M., Martínez M.P., Villar-Álvarez F, Peces-Barba G. *et al.*: Fingerprinting-based metabolomic approach with LC-MS to sleep apnea and hypopnea syndrome: a pilot study. *Electrophoresis* 2013; 34: 2873-81.
- Villaseñor A., Kinross J.M., Li J.V., Penney N., Barton R.H., Nicholson J.K. *et al.*: 1H NMR global metabolic phenotyping of acute pancreatitis in the emergency unit. *J Proteome Res* 2014; 13: 5362-75.
- Bujak R., García-Álvarez A., Rupérez F.J., Nuño-Ayala M., García A., Ruiz-Cabello J. *et al.*: Metabolomics reveals metabolite changes in acute pulmonary embolism. *J Proteome Res* 2014; 13: 805-16.
- Ciborowski M., Martin-Ventura J.L., Meilhac O., Michel J.B., Rupérez F.J., Tuñón J. *et al.*: Metabolites secreted by human atherothrombotic aneurysms revealed through a metabolomic approach. *J Proteome Res* 2011; 10: 1374-82.
- Navarrete A., Armitage E.G., Musteanu M., García A., Mastrangelo A., Bujak R. *et al.*: Metabolomic evaluation of Mitomycin C and rapamycin in a personalized treatment of pancreatic cancer. *Pharmacol Res Perspect* 2014; 2: e00067.
- Rojo D., Canuto G.A.B., Castilho-Martins E.A., Tavares M.F.M., Barbas C., López-González Á. *et al.*: A Multiplatform Metabolomic Approach to the Basis of Antimonial Action and Resistance in *Leishmania infantum*. *PLoS ONE* 2015; 10: e0130675.
- Villaseñor A., Ramamoorthy A., Silva dos Santos M., Lorenzo M.P., Laje G., Zarate C. *et al.*: A pilot study of plasma metabolomic patterns from patients treated with ketamine for bipolar depression: evidence for a response-related difference in mitochondrial networks. *Br J Pharmacol* 2014; 171: 2230-42.