

La promesa de las redes metabólicas

Roger Guimerà y Marta Sales-Pardo

Nuevos enfoques nos permiten avanzar en la definición de un nuevo concepto de ruta metabólica, más general y mejor sustentado en la realidad sistémica del metabolismo. Pero todavía se tienen que desarrollar los métodos específicos que permitan extraer significado biológico a partir de la información disponible hoy.

En 1937, Hans Krebs identificó una serie de reacciones a través de las cuales los organismos aeróbicos generan energía mediante la oxidación del acetato; hoy conocemos este conjunto de reacciones como el *ciclo de Krebs*. A partir de aquel momento, uno de los grandes éxitos de la bioquímica celular fue descubrir las distintas rutas metabólicas que existen en las células. Desde entonces, también, el metabolismo se ha entendido como una concatenación de rutas más o menos lineales, estancas e independientes entre sí.

Esta visión ha hecho que el metabolismo se estudie durante décadas desde un punto de vista reduccionista, es decir, asumiendo que cada ruta puede ser investigada y comprendida independientemente de las otras. En general, los avances técnicos han permitido establecer en muchos casos la secuencia de reacciones que constituyen una ruta metabólica, aislar e identificar los enzimas que catalizan dichas reacciones e incluso reconstruir la ruta *in vitro* mediante experimentos con compuestos purificados.

► De rutas metabólicas a redes metabólicas

Con la llegada de las técnicas de alto rendimiento a finales del s. XX, se pudo obtener por primera vez información de la célula desde el punto de vista de sistema. La acumulación de datos sobre el fenotipo metabólico a nivel celular puso de manifiesto que pese a haber sido capa-

«En la red metabólica global, toda perturbación es susceptible de afectar al sistema completo.»

ces de identificar muchas rutas metabólicas, este conocimiento no era suficiente para poder explicar dicho fenotipo.¹

Una de las razones de este *fracaso* hay que buscarla precisamente en el enfoque reduccionista: el metabolismo no es una serie de rutas metabólicas lineales e independientes

entre ellas, sino una a red compleja de reacciones bioquímicas (fig. 1).

Contrariamente a la intuición generada por el enfoque de rutas metabólicas, en la red metabólica se necesitan muy pocas reacciones para obtener un metabolito cualquiera a partir de otro metabolito (asumiendo que existen todos los enzimas y reactivos necesarios). Por lo tanto, desde un punto de vista de sistema, las distintas rutas metabólicas están altamente interconectadas. Como consecuencia, la tarea de identificar sistemáticamente los mecanismos que producen un fenotipo determinado es una tarea prácticamente imposible si solo se tienen en cuenta la secuencia de reacciones (e incluso las reacciones colaterales) dentro de dicha ruta.²

De hecho, entender el metabolismo como una red compleja pone en entredicho la utilidad del concepto de *ruta metabólica*. El análisis topológico de las redes metabólicas muestra que el metabolismo se divide en grupos de metabolitos que en muchos casos no se corresponden con las rutas metabólicas clásicas. Teniendo en cuenta que cualquier perturbación

metabólica se extenderá por el sistema utilizando la red global de reacciones bioquímicas, ¿qué sentido tiene mirar el efecto de dicha perturbación dentro de una ruta metabólica concreta? Pese a la importancia histórica (y, en ciertos casos, práctica) del concepto de ruta metabólica, el cambio de enfoque requiere nuevos conceptos para describir el metabolismo a nivel de sistema.

► **Algunas consecuencias importantes del «metabolismo como red»**

Efectivamente, algunos aspectos del metabolismo solo pueden entenderse adecuadamente desde una perspectiva sistémica y de redes. Veamos un par de ejemplos.

Como hemos apuntado, desde una perspectiva de rutas metabólicas, una pequeña perturbación del metabolismo (por ejemplo, una mutación en un gen que codifica un enzima) quedaría circunscrita a la ruta en la que la perturbación tiene lugar. En la red metabólica global, sin embargo, toda perturbación es susceptible de afectar al sistema completo. Cabría pensar que, con cientos o miles de metabolitos, es poco probable que esto suceda; pero hay que tener en cuenta que la distancia media entre metabolitos en la red es de solo 8 pasos, es decir, que en promedio solo hacen falta 8 reacciones para transformar un metabolito en otro cualquiera.³ Con una distancia media tan corta, se entiende que la posibilidad de efectos sistémicos no es, ni mucho menos, remota.

Y otro ejemplo. Desde la perspectiva de rutas, el metabolismo se organiza alrededor de ciertos metabolitos notables: tenemos, por ejemplo, la glucólisis, cuyo metabolito «central» es la glucosa. Desde la óptica de redes, los metabolitos centrales no son necesariamente los que ocupan posiciones destacadas en alguna ruta en particular, sino aquellos que conectan una zona de la red con otra, los cuellos de botella sin los cuales los flujos a través de la red quedan interrumpidos o seriamente alterados. De acuerdo con esta visión, se ha demostrado que estos metabolitos que actúan de conectores (y que, a veces, son totalmente invisibles desde la perspectiva de rutas) están altamente conservados en organismos de todo tipo, y que a la práctica funcionan como puntos de control sistémico del metabolismo.^{4,5}

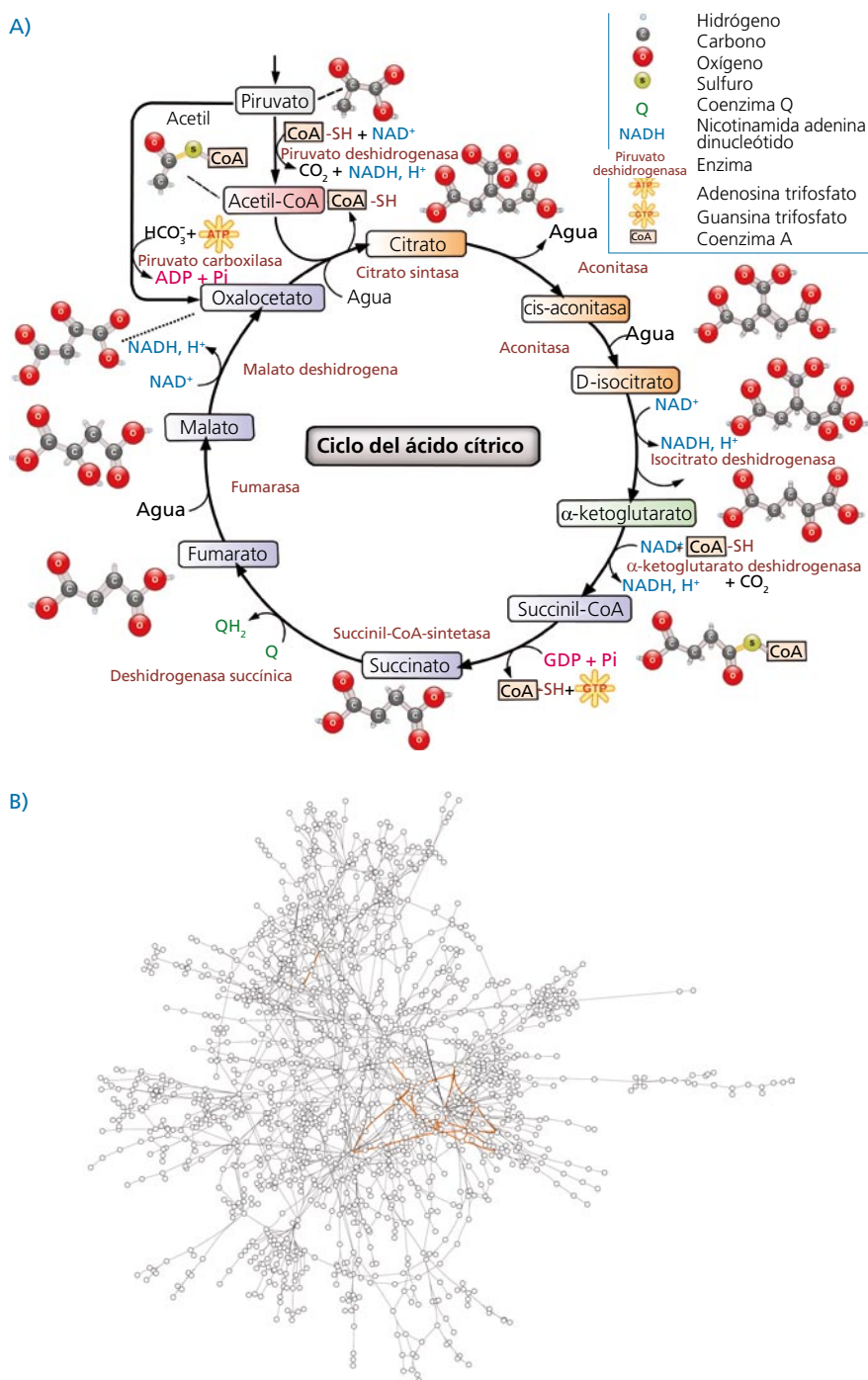


Figura 1. De rutas metabólicas a redes metabólicas

(A) El ciclo de Krebs, como suele representarse. (B) Reconstrucción del metabolismo humano completo. Cada nodo de la red representa un metabolito distinto, y dos metabolitos están conectados si existe una reacción que permita convertir el uno en el otro. Las reacciones que pertenecen al ciclo de Krebs están indicadas en color naranja.

► **Reconstrucciones metabólicas a nivel de genoma**

El estudio del metabolismo desde un punto de vista de sistema requiere, además de un cambio desde el punto de vista conceptual, un conocimiento exhaustivo de las transformaciones bioquímicas que se producen dentro de cada organismo. Gracias al estudio de las rutas

metabólicas durante el último siglo, disponemos de grandes cantidades de información sobre las reacciones bioquímicas que se producen en distintos organismos y sobre los enzimas que catalizan dichas reacciones. Sin embargo, tradicionalmente estos estudios se han centrado en organismos modelo, dejando el metabolismo de otras especies casi totalmente inexplorado.

Afortunadamente, el desarrollo de técnicas rápidas y eficientes de secuenciación de DNA a inicios del siglo XXI han permitido la obtención de reconstrucciones metabólicas a nivel de genoma de una manera sistemática para gran cantidad de organismos. En líneas generales, estas reconstrucciones metabólicas se obtienen del siguiente modo. Dado el genoma de una especie, primero se identifican aquellos genes que codifican enzimas, ya sea porque son enzimas ya conocidos o, en la mayoría de los casos, por ortología con genes que codifican enzimas en otras especies. A estos enzimas putativos se les asocia una función catalítica idéntica a la que realiza el enzima ortólogo y se asume que cataliza exactamente las mismas reacciones que el enzima ortólogo. Después de este proceso se obtiene un primer borrador del metabolismo de la especie. Una de las dificultades más importantes en este proceso es que a menudo hay reacciones químicas que «faltan», es decir, que ciertas cadenas de transformaciones bioquímicas no están completas. Afortunadamente, existen métodos computacionales que permiten solucionar esta falta de información con solvencia, aunque a menudo es conveniente validar dichas reconstrucciones a través de experimentos para así obtener reconstrucciones metabólicas de gran fiabilidad.⁶

De la validación experimental de algunas de estas reconstrucciones se desprende que, aunque la reconstrucción metabólica a partir del genoma no es perfecta, en general es lo suficientemente completa como para predecir fenotipos metabólicos, con métodos como el análisis de balance de flujos (FBA, del inglés *flux balance analysis*).⁷

Gracias a estos avances, actualmente disponemos de reconstrucciones del metabolismo para un amplio abanico de especies. Por medio de distintas iniciativas públicas y privadas esta información está disponible de manera comprensiva en distintas bases de datos como KEGG, EcoCyc, BioCyc o Recon 2. Dichas bases ofrecen mapas completos del metabolismo que incluyen diversas capas de información: genética, enzimática, molecular, etc.⁸

La existencia de reconstrucciones metabólicas a escala genómica de organismos en todos los reinos de la naturaleza, jun-

to con el desarrollo de métodos computacionales para estudiar el fenotipo metabólico, ha ampliado significativamente el horizonte de posibilidades para entender el metabolismo no solo a nivel de organismo y de la respuesta de este a perturbaciones externas sino también a escala evolutiva, ya que posibilita la comparación entre organismos.

► La integración de la metabolómica y otras ciencias ómicas

El avance de la genómica, transcriptómica y la proteómica de alto rendimiento ha permitido avances en estas áreas que no se pueden comparar con los avances, más modestos, de la metabolómica. Las técnicas actuales nos permiten secuenciar genomas enteros y cuantificar el nivel de RNAm o proteínas en una muestra con precisión. Sin embargo, no podemos cuantificar la concentración de cualquier metabolito en una muestra (de manera no dirigida). Y, sin embargo, el fenotipo de un organismo viene en última instancia determinado por la concentración de metabolitos, más que de genes, RNA o proteínas.

Los avances que permitirán obtener el metaboloma completo de un organismo tardarán años en llegar, por lo que, a corto plazo, la información que obtendremos sobre la concentración de metabolitos en una muestra seguirá siendo parcial. Afortunadamente, las reconstrucciones metabólicas disponibles en las bases de datos nos permiten integrar los datos de metabolómica con los resultados obtenidos a través de las otras ciencias ómicas más maduras.

En concreto, a través de las reconstrucciones metabólicas podemos construir una red de relaciones en que dos metabolitos están relacionados si hay al menos una reacción que transforma un metabolito en el otro. En esta red, los enzimas ejercen el papel de conexiones entre metabolitos. Este tipo de representación facilita la integración de datos de metabolómica y proteómica cuantitativa, ya que permite representar en una sola red dos tipos de información. Esta representación también permite incorporar metodologías desarrolladas dentro del área de las redes complejas para cuantificar de

manera más comprensiva el estado metabólico del sistema.

Evidentemente, el análisis consistente de datos procedentes de diferentes fuentes (metabolómica, proteómica e incluso otras capas) desde un enfoque de red compleja no es trivial. Todavía se tienen que desarrollar los métodos específicos que permitan extraer significado biológico a partir de la información disponible. Sin embargo, este tipo de enfoques abre la puerta al estudio de zonas del metabolismo que se ven simultáneamente alteradas (a nivel de metabolitos y enzimas) y por lo tanto a avanzar en la definición de un nuevo concepto de ruta metabólica, más general y mejor sustentado en la realidad sistémica del metabolismo. #

.....

Roger Guimerà

INSTITUCIÓ CATALANA DE RECERCA
I ESTUDIS AVANÇATS (ICREA),
BARCELONA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA
QUÍMICA, UNIVERSITAT ROVIRA
I VIRGILI, TARRAGONA

Marta Sales-Pardo

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA
QUÍMICA, UNIVERSITAT ROVIRA
I VIRGILI, TARRAGONA

► Bibliografía

- 1 Bruggeman F.J., Westerhoff H.V.: The nature of systems biology. *Trends Microbiol* 2007; 15: 45-50.
- 2 Alon U.: *An Introduction to Systems Biology: Design Principles of Biological Circuits*. Chapman & Hall/CRC Mathematical and Computational Biology, 2006.
- 3 Arita M.: The metabolic world of *Escherichia coli* is not small. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101 (6): 1543-7.
- 4 Guimerà R, Amaral L.A.N.: Functional cartography of complex metabolic networks. *Nature* 2005; 433: 895-900.
- 5 Guimerà R., Sales-Pardo M., Amaral L.A.N.: A network-based method for target selection in metabolic networks. *Bioinformatics* 2007; 23: 1616-22.
- 6 Véase <http://blog.theseed.org/servers/>.
- 7 Palsson B.Ø.: *Systems Biology: Properties of reconstructed networks*. Nueva York: Cambridge University Press, 2006.
- 8 Thiele I., Palsson B.Ø.: A protocol for generating a high-quality genome-scale metabolic reconstruction. *Nature Protocols* 2010; 5: 93-121.