



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Aplicación de la Proteómica y Metabolómica en
el área farmacéutica:
Desarrollo Farmacéutico y Terapias Farmacológicas**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADA EN FARMACIA

PRESENTA:

SILVIA DANIELA ALVA MORALES

ASESORA:

DRA. SANDRA DÍAZ BARRIGA ARCEO

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de México por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios profesionales y formar parte de la Licenciatura en Farmacia. Es un orgullo pertenecer a la Máxima Casa de Estudios de México.

A la FES-Cuautitlán, por permitirme adquirir experiencias y conocimientos para mi desarrollo académico y profesional los cuales forman parte indispensable de la persona que ahora soy.

A la Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo, por creer en mí y por apoyarme en todo momento de mi titulación. Gracias por brindarme todos sus conocimientos, le entrego mi eterno agradecimiento y admiración, su corazón es muy grande.

A Stefanie Gómez y James Leal por ser los mejores compañeros que tuve en la facultad, gracias por brindarme su apoyo, por los momentos llenos de risas y diversión y por permanecer siendo parte de mi vida aún en el transcurso de los años, los quiero mucho amigos.

A mis amigos Miguel Trejo, Christian Vázquez, Ángel Flores y Adriana Rodríguez por su apoyo y amistad, los quiero mucho.

A Eréndira Jiménez por su comprensión, cuidados y consejos que han contribuido a mi desarrollo durante este tiempo que llevamos de conocernos, muchas gracias por todo.

A Marisela Cano y Trinidad Domínguez por su gran apoyo para que culminará esta etapa de mi vida, muchas gracias por todo, los quiero mucho.

Dedicatorias

A mi prima Claudia Santes Morales por todos los momentos que pasamos juntas, en realidad siempre has sido una hermana para mí y sé que puedo contar contigo pase lo que pase.

A mi esposo Ricardo Domínguez por su amor y apoyo incondicional, gracias por confiar siempre en mí y por demostrarme que puedo lograr todo lo que me proponga sin olvidar ser una mejor persona cada día. Siempre dibujarás una sonrisa en mi rostro.

A mi bebe Xareni Ximena, agradezco a Dios porque hoy estás presente y por permitirme ser tú mamá, hoy comparto este logro contigo, así como todos los que están por llegar, no hay nada más bonito en esta vida que ser tu mamá.

A mi hermano Rafael Alva Morales, que me ha acompañado en todos los momentos de mi vida, gracias por cuidar de mí desde que era pequeña, por tus enseñanzas, cariño, paciencia y por hacerme reír tanto. Siempre serás mi mejor amigo.

A mi padre Rafael Alva Álvarez, por impulsarme a buscar mi superación personal y a cumplir mis metas, gracias por brindarme todo tu apoyo y amor siempre, por recordarme quien soy y lo que puedo lograr con todos mis esfuerzos y por guiarme durante todo este camino.

A mi madre Silvia Morales Jiménez, por brindarme las bases para ser una mejor persona y por recordarme siempre luchar por mis sueños. Te agradezco por todas tus enseñanzas, amor y valores que me inculcaste porque gracias a ti he logrado concluir este sueño. Siempre estás presente en mi mente y alma, eres la mejor mamá, algún día nos volveremos a abrazar.

Los amaré siempre.

Daniela Alva Morales.

Contenido

1. Introducción:.....	1
2. Objetivo General:.....	3
3. Generalidades	4
3.1 Antecedentes de las Ciencias Ómicas	4
3.2 Proteómica	9
3.2.1 Generalidades	9
3.2.2 Tecnologías proteómicas	11
3.3 Metabolómica.....	21
3.3.1 Generalidades	21
3.3.2 Tecnologías metabolómicas	23
3.4 Aplicaciones clínicas de la proteómica y metabolómica	26
3.4.1 Proteómica y metabolómica en las terapias farmacológicas	28
3.4.2 Aplicación de la proteómica y metabolómica en el tratamiento de enfermedades.	30
3.5 Desarrollo de fármacos.....	55
3.5.1 Descubrimiento y diseño del fármaco	56
3.5.2 Fase preclínica.....	58
3.5.3 Fase clínica	60
3.5.4 Impacto de la proteómica en el desarrollo de fármacos.....	64
3.5.5 La metabolómica en investigación y desarrollo de medicamentos	67
3.5.6 Productos biofarmacéuticos:.....	73
3.6 Aspectos Bioéticos	77
4. ANÁLISIS DE RESULTADOS	82
5. CONCLUSIONES.....	88
6. REFERENCIAS	89

Índice de Figuras

Figura 1. Cadena de doble hélice del ADN	5
Figura 2 Representación de la cascada ómica.....	6
Figura 3. Flujo de trabajo de los análisis proteómicos	11
Figura 4. Electroforesis 2D-DIGE.....	13
Figura 5. Técnica para identificación de proteínas utilizando LC-MS.. ..	15
Figura 6. Representación de un análisis con microarreglos de proteínas.....	17
Figura 7. Flujo de trabajo de identificación de proteínas con iTRAQ.....	18
Figura 8. Diagrama LC-MS.	24
Figura 9. Flujo de trabajo de análisis metabolómicos aplicando NMR	25
Figura 10. Comparación MBE Vs. MPP.	27
Figura 11. Representación de las múltiples mutaciones en el cáncer.	31
Figura 12. El efecto Warburg.....	36
Figura 13. Vías de señalización de la insulina.....	41
Figura 14. Regulación de las acciones de la Insulina	42
Figura 15. Vía de señalización de carbohidratos y aminoácidos.....	45
Figura 16. Perfil comparativo del proteoma durante la progresión de la EA.. ..	48
Figura 17. Agrupación de 11 proteínas alteradas en 3 regiones del cerebro con EA.	48
Figura 18. Etapas el desarrollo de fármacos.	56
Figura 19. Aplicaciones de la metabolómica en investigación farmacéutica.....	67
Figura 20. Producción de anticuerpos monoclonales.	75
Figura 21. Cuantificación de proteínas de cultivos celulares de mamíferos.....	77

Índice de Tablas

Tabla 1. Clasificación de la proteómica	10
Tabla 2. Ventajas y desventajas de las técnicas proteómicas	20
Tabla 3. Ventajas y desventajas de las técnicas metabolómicas	26
Tabla 4. Estudios de toxicidad aplicados en desarrollo farmacéutico.	60

Abreviaturas

Abreviatura	Significado
ADME	absorción, distribución, metabolismo y eliminación
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
BCAA	Aminoácidos de cadena ramificada
BPC	Buenas Prácticas Clínicas
BPF	Buenas Prácticas de Fabricación
BPL	Buenas Prácticas de Laboratorio
COFEPRIS	Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios
DM	Diabetes Mellitus
DM1	Diabetes Mellitus Tipo 1
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
EA	Enfermedad de Alzheimer
FDA	Food and Drug Administration
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
HPLC	Cromatografía de Líquidos de Alto Rendimiento
IR	Receptor de Insulina
ITRAQ	Etiquetado Isobárico Multiplexado Químico
LC	Cromatografía de Líquidos
LC-MS	Cromatografía de Líquidos acoplada a espectrometría de masas
LDH	Lactato Deshidrogenasa
mAbs	Anticuerpos monoclonales
MBE	Medicina Basada en Evidencias
MPP	Medicina Personalizada de Precisión

MS	Espectrometría de Masas
NMR	Resonancia Magnética Nuclear
SD	Síndrome de Down
SILAC	Etiquetado de isótopos estables por / con aminoácidos en cultivo celular
UPLC	Cromatografía Líquida de Ultra-Alta Resolución

1. Introducción:

En los últimos años las ciencias de la salud han tenido grandes avances que han ayudado al desarrollo de tecnologías para el descubrimiento de nuevos fármacos. Dentro de estas ciencias se encuentran las ciencias ómicas las cuales son disciplinas que explican las bases del funcionamiento bioquímico de un organismo a través de la caracterización y comparación de grupos de moléculas biológicas (Campos, 2019).

Cada ciencia ómica se centra en el estudio de una clase particular de biomoléculas: genómica (genes), lipidómica (lípidos), transcriptómica (ARNm), proteómica (proteínas) y metabolómica (metabolitos) (Puchades y Pineda, 2015).

La proteómica es el estudio a gran escala de las proteínas, incluida su estructura y función dentro de una célula, sistema u organismo. Mientras que el enfoque de la metabolómica consiste en identificar y determinar el conjunto de metabolitos en muestras biológicas (tejidos, células, fluidos u organismos) en condiciones normales en comparación con estados alterados causados por alguna enfermedad, tratamiento farmacológico o intervención dietética (Klassen y Tedesco, 2017).

El descubrimiento de estas ciencias ha facilitado el entendimiento de la causa de ciertas enfermedades y su aplicación en el área de la salud puede ser de gran ayuda para realizar diagnósticos en menor tiempo o para prevenir el desarrollo de alguna enfermedad; ya que con ellas es posible entender la red de moléculas y procesos biológicos involucrados en las actividades del organismo o de alguna enfermedad (Frigolet y Gutiérrez, 2017).

En el caso del área farmacéutica resultan útiles para realizar tratamientos personalizados ya que, a pesar de los avances significativos en el descubrimiento de fármacos, no todos los pacientes responden favorablemente a ellos. Con la aplicación de la proteómica y metabolómica se puede lograr que la terapia sea más eficaz, segura y asimismo una posible disminución de interacciones farmacológicas y reacciones adversas presentes durante un tratamiento. De igual manera tienen un enfoque en el desarrollo de medicamentos más específicos que podrán servir en el tratamiento de enfermedades que hasta el momento no presentan cura o para mejorar los tratamientos existentes.

Es importante que un Licenciado en Farmacia cuente con los conocimientos y habilidades en ciencias ómicas debido a que se espera un futuro prometedor y un sinergismo entre ellas y las ciencias farmacéuticas. Es entonces fundamental que el farmacéutico tenga acceso a suficiente información sobre el beneficio que tendrá en la salud de los pacientes la utilización en conjunto de estas ciencias y sobre todo que los conocimientos sean utilizados de manera ética y racional. Por dicho motivo en el presente proyecto se pretende realizar una recopilación de las aportaciones que han tenido la proteómica y la metabolómica en

las últimas décadas y sus aplicaciones dentro del área farmacéutica ya que al ser ciencias nuevas se encuentran en pleno auge y tienen un campo de aplicación ascendiente que contribuye a una mejor comprensión de la salud humana y de las enfermedades.

2. Objetivo General:

Realizar una Investigación sobre las aplicaciones que tiene la metabolómica y proteómica en el área farmacéutica mediante una recopilación de información bibliográfica, hemerográfica y electrónica para conocer el crecimiento y contribuciones que han tenido estas ciencias en el desarrollo de nuevos medicamentos y terapias farmacológicas.

3. Generalidades

3.1 Antecedentes de las Ciencias Ómicas

Las “ómicas” son las ciencias que permiten estudiar un gran número de moléculas, implicadas en el funcionamiento de un organismo. En las últimas décadas, el avance tecnológico ha permitido el estudio a gran escala de muchos genes, proteínas y metabolitos, permitiendo la creación de la genómica, proteómica, metabolómica, entre otras.

Anterior a estas ciencias surgieron diferentes conceptos que hoy en día son base para su entendimiento. En 1944, Oswald Avery, Colin MacLeod y MacLyn McCarty descubrieron que el ADN es el “principio de transformación” o material genético. Sin embargo, la comunidad científica de aquella época exigía más información sobre dicho material genético, por lo cual, diversos investigadores continuaron en la búsqueda de pruebas y fueron Alfred Hershey y Martha Chase en 1952 quienes demostraron definitivamente que el ADN es la molécula que guarda la información genética heredable.

Posteriormente en la gran revolución del siglo XX se enfocaron en resolver el enigma de la naturaleza del gen en una entidad química específica. Lo cual se resolvió en 1953 cuando Watson y Crick realizaron un ensayo sobre la doble hélice, investigación basada en la famosa fotografía 51, en la que Rosalind Franklin captura la estructura de la doble hélice del ácido desoxirribonucleico (ADN) mediante la difracción de rayos X, con esta fotografía fue posible el descubrimiento de la estructura del ADN, como molécula que contiene toda la información genética de los seres vivos. En este modelo, dos cadenas de polinucleótidos se enrollan una sobre otra para formar una estructura en doble hélice. Ambas cadenas se mantienen unidas por medio de enlaces de hidrógeno entre pares de bases. La adenina se enlaza con la timina, y la citosina con la guanina. La presencia de estos pares de bases significa que la secuencia de las dos cadenas no es idéntica sino complementaria (Watson, 2008).

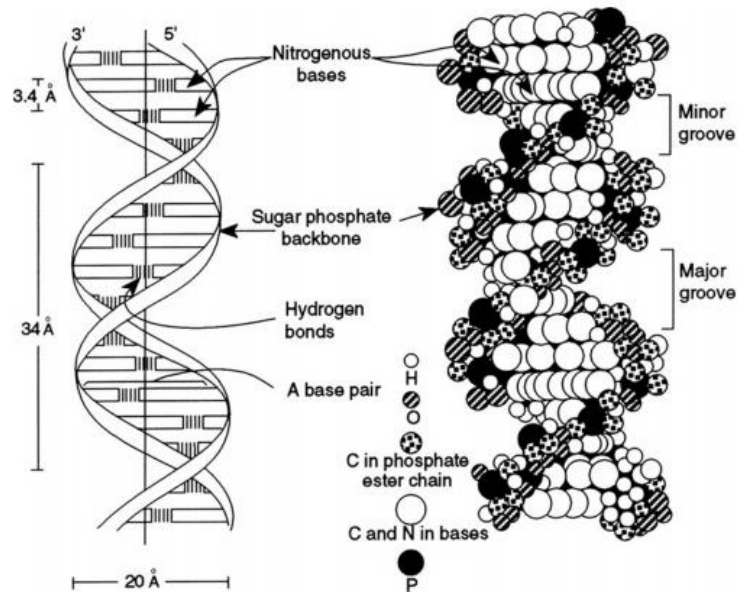


Figura 1. Cadena de doble hélice del ADN.
Obtenida de Hoy, 2019.

Años después a parte de la estructura del ADN se estableció a través del dogma central que la información del ADN fluye a ARN (ácido ribonucleico) y de éste a proteínas y que la transformación se logra mediante los procesos de replicación, transcripción y traducción del ADN.

En el año 1977 se logró decodificar o secuenciar por primera vez el ADN, lo cual quiere decir que se estableció el orden de los nucleótidos de un fragmento de ADN. Esto asentó los fundamentos para el análisis y secuenciación del genoma humano, que se concluyó en el año 2001.

El surgimiento de las ciencias ómicas comenzó con los avances en la secuenciación del ADN que dio lugar al nacimiento de la genómica, posteriormente surgieron avances tecnológicos de ARN, proteínas, lípidos, carbohidratos y metabolitos. En los años posteriores al surgimiento de estas disciplinas, el término “ómica” se ha adoptado en otras áreas científicas para denotar estudios realizados a gran escala en todo el genoma permitiendo la creación de la genómica y a su vez resulta en más de 1000 enfoques diferentes (Stagljär, 2016).

Las ciencias ómicas están dirigidas principalmente a la detección de genes (genómica), ARNm (transcriptómica), proteínas (proteómica) y metabolitos (metabolómica) en una muestra biológica específica (Bedia, 2018). Estas ciencias actualmente se aceptan como parte metodológica esencial de los sistemas biológicos y forman parte fundamental de la cascada ómica, que consiste en el acomodo de los procesos biológicos ascendentemente y que incluyen a las biomoléculas fundamentales de los procesos biológicos en una red biológica de genes, transcripciones, proteínas y metabolitos. Una representación de la cascada ómica se muestra en la figura 2.

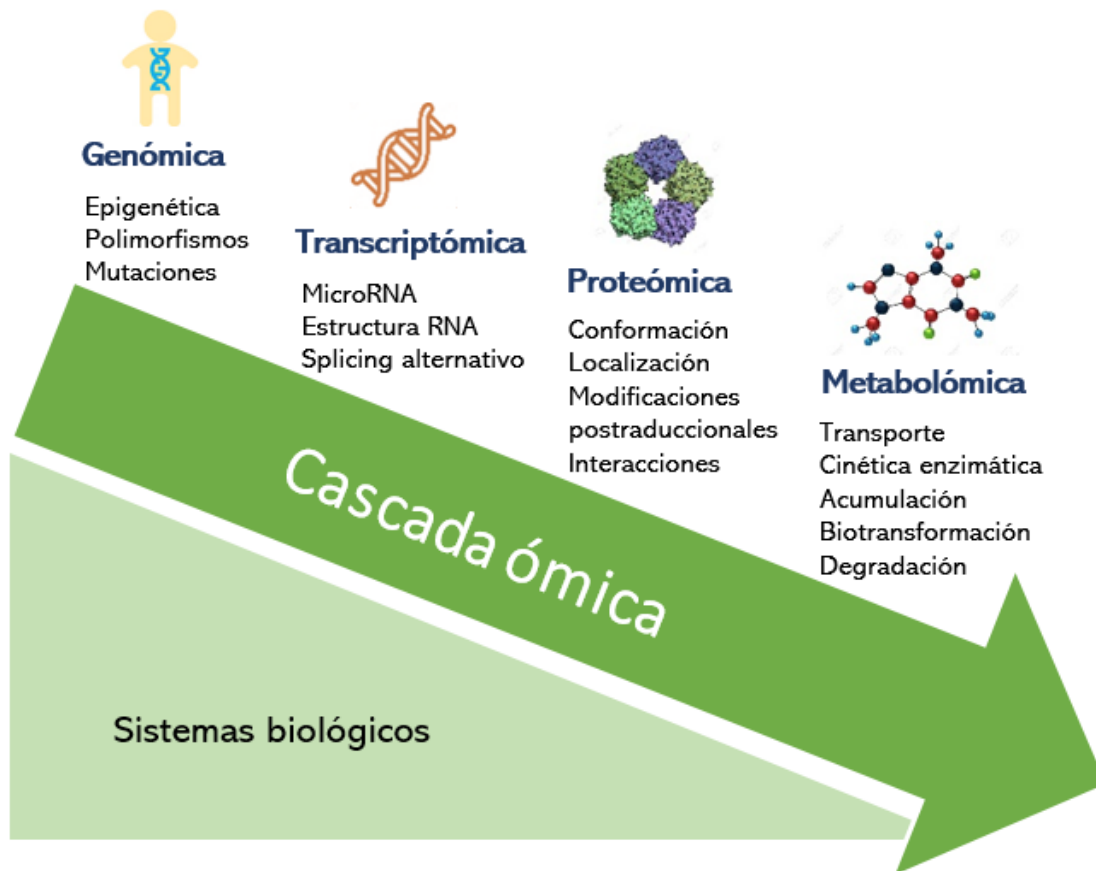


Figura 2 Representación de la cascada ómica.
Modificada de Bedia, 2018.

Las ciencias ómicas y las diferentes tecnologías para la interpretación de sus datos, en la actualidad han mostrado un gran desarrollo, por lo cual se ha invertido considerablemente en instalaciones para la investigación de las mismas y la aplicabilidad de estas tiene diversos campos ya que han impactado considerablemente en las ciencias de la vida y el medio ambiente y han generado importantes conocimientos para aumentar nuestra comprensión

en muchas áreas de investigación, como son en medicina, nutrición, farmacología y diseño de medicamentos.

El flujo de trabajo típico de los estudios ómicos presenta diversos pasos. La primera etapa es el diseño experimental, en el que el investigador, después de la formulación de la hipótesis molecular, evalúa diferentes aspectos como el tipo de muestra, el tamaño de esta, la replicación, los controles de calidad, los recursos analíticos disponibles, el costo, el tiempo y los recursos humanos. Todas estas condiciones experimentales tienen un claro impacto en el análisis de datos y los resultados (Bedia, 2018).

Posteriormente se realiza la obtención y preparación de muestras, seguido del análisis de éstas utilizando diversas tecnologías analíticas, dependiendo del campo ómico y los compuestos objetivo-estudiados. Una vez que se obtienen los datos experimentales, el siguiente punto es el análisis de datos para extraer información relevante que pueda ser aplicada en los estudios. Luego se evalúa la importancia de la información resultante y, finalmente, el investigador realiza una interpretación biológica de los resultados en el contexto del caso estudiado (Bedia, 2018).

Las técnicas analíticas que son esenciales para los análisis proteómicos y metabolómicos, así como para la interpretación de los resultados de estos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 1. Tecnologías analíticas utilizadas para la proteómica y metabolómica.

Basada en los datos de Kumar, et. al, 2014

Ciencia ómica	Tipo de técnica	Métodos/técnicas
	Técnicas de separación	Electroforesis Capilar
		Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)
		Cromatografía líquida de ultra eficacia (UPLC)
Proteómica	Técnicas de detección	Espectrometría de masas (MS)
	Combinación de técnicas	HPLC-MS
		UPLC-MS
	Técnicas de separación	Cromatografía de Gases (GC)
		Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)
		Cromatografía líquida de ultra eficacia (UPLC)
	Técnicas de detección	Resonancia magnética nuclear (NMR)
		Espectrometría de masas (MS)
	Metabolómica	Combinación de técnicas
HPLC-MS		
UPLC-MS		

Tanto la proteómica y metabolómica se diferencian entre sí por las técnicas establecidas y por los resultados obtenidos de cada estudio, sin embargo, es posible que durante una misma investigación se utilicen ambas ciencias ómicas para que juntas establezcan una visión más amplia tanto de la huella proteómica y metabolómica de cada individuo, así como de las interacciones que pudieran presentarse entre proteínas y metabolitos que impacten en la salud de los individuos.

3.2 Proteómica

3.2.1 Generalidades

La proteómica es el estudio y caracterización del proteoma, término acuñado por primera vez por Marc Wilkins en 1994, para describir el conjunto completo de proteínas expresadas por un genoma, célula, tejido u organismo (Hoofnagle y Bystrom, 2018).

El proteoma es un elemento altamente dinámico porque sus componentes varían según el tejido, la célula o el comportamiento celular estudiado, y estos, a su vez, pueden cambiar debido a alteraciones en su entorno, como situaciones de estrés, acción de fármacos, requerimientos energéticos o su estado fisiológico (normal o patológico) (Ballesté, 2018), es aquí donde la proteómica juega un papel fundamental ya que puede brindar la descripción del proteoma para la obtención de una imagen dinámica de todas las proteínas expresadas, en un momento dado y bajo ciertas condiciones concretas de tiempo y entorno.

Así mismo la proteómica proporciona información sobre la fosforilación de proteínas, tráfico de proteínas, localización de proteínas e interacción entre proteínas (Bedia, 2018) y trata de establecer la estructura, la actividad biológica y modo de acción de las proteínas.

Las proteínas son moléculas orgánicas complejas, formadas por aminoácidos dispuestos en largas filas o cadenas de polipéptidos mantenidas por enlaces peptídicos. Las proteínas se encuentran en todos los organismos vivos, conforman una gran proporción de las células y así mismo son los componentes principales de las vías metabólicas. Por lo tanto tienen diversas funciones, pueden ser enzimas que son necesarias para catalizar todas las reacciones metabólicas; receptores o canales iónicos importantes en el transporte de moléculas desde el exterior hacia el interior de la célula; proteínas estructurales que forman el tejido conectivo, músculos, huesos y la maquinaria de división celular; anticuerpos los cuales son la base del sistema inmune, y por último se pueden encontrar en los procesos macromoleculares con moléculas de ADN, ARN y carbohidratos (Littlechild, 2013).

Las proteínas contienen un amplio grupo de grupos funcionales, estos grupos incluyen alcoholes, tioles, ácidos carboxílicos, carboxiamidas, y una gran serie de grupos básicos. La mayoría de estos grupos son químicamente activos. Esta diversidad de grupos funcionales,

combinada en distintas secuencias es la responsable del amplio espectro de funciones de las proteínas (Berg, et. al, 2009), lo cual hace que la proteómica tenga un extenso campo de investigación, haciendo que, en diversos casos el análisis y caracterización de las proteínas resulte complejo debido a las combinaciones e interacciones de las proteínas. Para facilitar la comprensión de los datos generados la proteómica se ha clasificado de la siguiente manera:

**Tabla 1. Clasificación de la proteómica
Autoría propia.**

Proteómica	Proteómica funcional	Estudio y caracterización de un grupo de proteínas
		Identificación de la secuencia de proteínas
		Función de las proteínas
		Caracterización de proteínas
	Proteómica estructural	Mapa celular
		Interacciones proteína-proteína
		Localización subcelular
		Estructura de las proteínas
	Proteómica de expresión	Estudio cuantitativo de los patrones de expresión de proteínas
		Expresión proteica
		Descripción del proteoma
		Diagnóstico clínico

Independientemente de los objetivos del estudio, el enfoque de la proteómica debe contener los pasos secuenciales de flujo de trabajo. Dicho flujo se presenta en el siguiente diagrama:

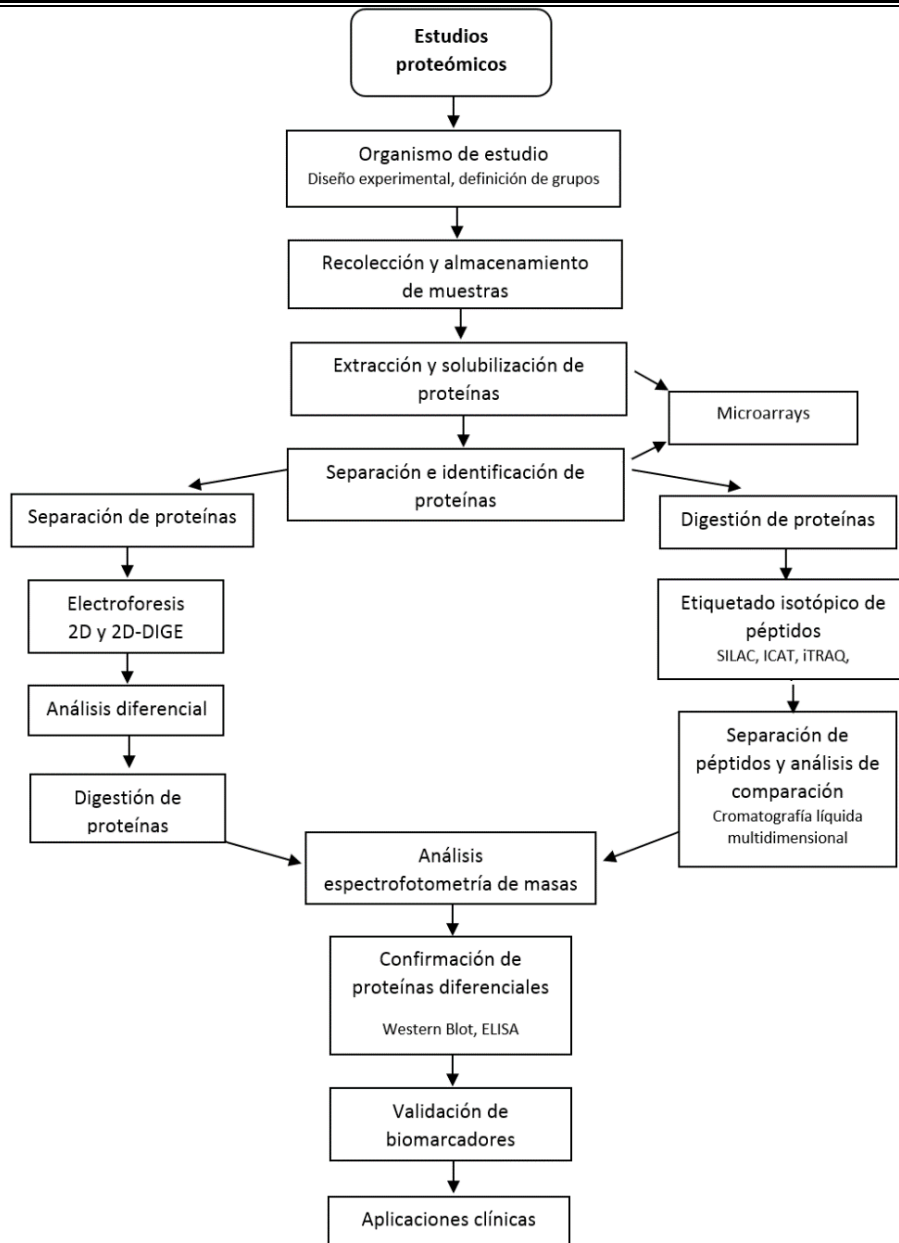


Figura 3. Flujo de trabajo de los análisis proteómicos. Modificado de Corrales y Odriozola, 2020.

3.2.2 Tecnologías proteómicas

3.2.2.1 Electroforesis en gel

La electroforesis es una técnica de separación de moléculas cargadas por migración bajo la influencia de un campo eléctrico. Las moléculas se separan en función de su carga eléctrica y migran hacia el cátodo o ánodo (electrodos - y +), en dependencia de una combinación de su carga, peso molecular y estructura tridimensional.

Para los estudios proteómicos generalmente se utiliza electroforesis en gel bidimensional (2D), cuya técnica clasifica a las proteínas de acuerdo con dos propiedades independientes que son su punto isoeléctrico y su peso molecular. Existen dos técnicas de electroforesis bidimensional: electroforesis en gel de poliacrilamida bidimensional (2D-PAGE) y electroforesis en gel bidimensional diferencial (2D-DIGE) comúnmente utilizados.

La electroforesis bidimensional 2D-PAGE permite separar hasta miles de proteínas en un solo experimento, y constituye actualmente el método más eficiente para la separación de mezclas muy complejas de proteínas. En la primera dimensión del gel, las proteínas se separan de acuerdo con su punto isoeléctrico (pI) a lo largo de un gradiente de pH usando tiras de gradiente de pH inmovilizado (IPG). En la segunda dimensión, las proteínas desnaturalizadas se separan de acuerdo con sus pesos moleculares usando electroforesis en gel de dodecilsulfato sódico-poliacrilamida (SDS-PAGE). Una vez que se aplica la carga, las proteínas migran de la tira al gel y se separan según su tamaño (Meleady, 2017). Las proteínas cargadas negativamente migrarán hacia el polo positivo (ánodo). Mientras que las moléculas cargadas positivamente migrarán hacia el polo negativo (cátodo). Finalmente, las proteínas se pueden visualizar y cuantificar mediante diferentes procedimientos de tinción, como: Coomassie, plata o fluorescencia y posteriormente se pueden identificar utilizando espectrometría de masas (MS, por sus siglas en inglés) (May, et. al, 2012).

La electroforesis 2D-DIGE es la técnica modificada de 2D-PAGE y representa un enfoque valioso para la proteómica ya que utiliza el etiquetado diferencial de muestras de proteínas con hasta tres etiquetas fluorescentes, por ello ofrece una mayor sensibilidad y reproducibilidad sobre los geles convencionales de 2D-PAGE para el análisis cuantitativo diferencial de la expresión de proteínas entre grupos experimentales (Pasquali, et. al, 2017). Este sistema permite la separación de dos o tres muestras de proteínas marcadas con fluorescencia (Cy2, Cy3 y Cy5) en el mismo gel, minimizando así la variación de gel a gel. Los colorantes fluorescentes DIGE (Cy2, Cy3 y Cy5) se combinan para masa y carga, pero poseen espectros de excitación y emisión distintos (Meleady, 2017).

En 2D-PAGE y 2D-DIGE, el área y la intensidad de las manchas indican los niveles de expresión de proteínas en la muestra. Esta medida se utiliza para comparar cuantitativamente los niveles de concentración de proteínas entre dos muestras diferentes. Además, la digestión en gel de proteínas con tripsina previene cualquier pérdida debido a la manipulación de la muestra y simplifica la identificación de proteínas, ya que los péptidos son más fáciles de analizar por MS que las proteínas (Shen, 2019).

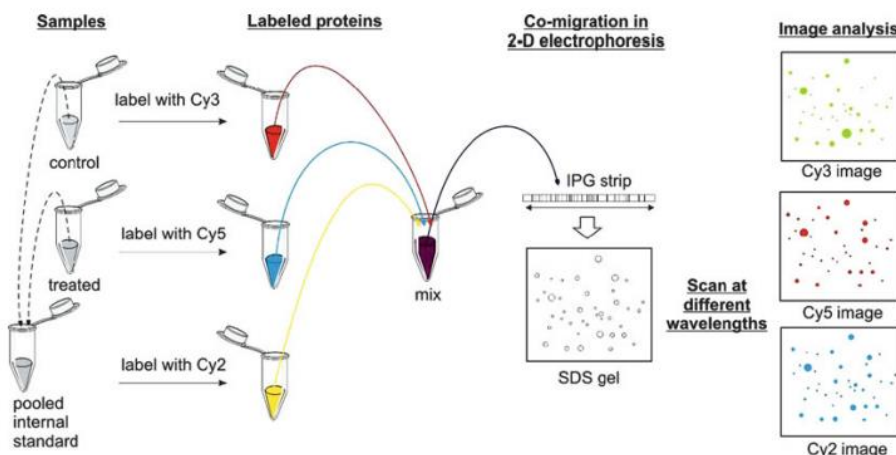


Figura 4. Electroforesis 2D-DIGE. Obtenida de Beckett, 2012.

3.2.2.2 Espectrometría de masas

Mediante la espectrometría de masas (MS, por sus siglas en inglés) es posible obtener información del peso molecular de los compuestos analizados lo cual ayudará a la identificación de la estructura química del mismo. Dicha información resulta de gran apoyo para la identificación de proteínas en los estudios proteómicos. A través de esta herramienta se puede obtener un análisis tanto cuantitativo y cualitativo de las proteínas.

La MS es la técnica clave en todos los análisis proteómicos. En un espectrómetro, primero se ionizan las muestras de proteínas y se producen iones en fase gaseosa, luego estos iones se separan de acuerdo con relación de masa a carga y finalmente los iones se detectan para la generación de datos de MS. Las tres partes principales de un espectrómetro de masas son la fuente de iones, el analizador de masas y el detector de iones (Yadav, et. al, 2018). La fuente de iones divide las muestras en iones, mientras que el analizador de masas clasifica los iones de acuerdo con sus masas aplicando campos electromagnéticos. El

detector mide el valor de una cantidad indicadora, lo que permite el cálculo de la abundancia de cada ion presente (Xu, et. al, 2012).

3.2.2.3 Cromatografía líquida

La Cromatografía líquida (LC) es una técnica que se emplea para separar y cuantificar los componentes de una mezcla de acuerdo con sus características químicas, como polaridad, pKa y peso molecular. En la LC los componentes de la mezcla se separan por la distribución y afinidad de los analitos entre una fase móvil y una estacionaria. Durante el proceso de cromatografía, la fase móvil transporta a los componentes a lo largo de la columna que contiene la fase estacionaria. A medida que la fase móvil fluye por la estacionaria, los analitos se distribuyen entre ambas fases, cada uno de ellos avanzará a lo largo del sistema con una velocidad que dependerá de su afinidad por cada una de las fases, finalizado el proceso se podrá visualizar la separación en los cromatogramas obtenidos, en donde se encontrarán los diferentes tiempos de retención de cada uno de los componentes de la mezcla.

Actualmente se suele utilizar más ampliamente la Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (HPLC, por sus siglas en inglés) en aplicaciones proteómicas y su uso está dirigido para separar complejos en fracciones menos complejas, lo que a menudo permite la identificación, cuantificación y purificación de los componentes individuales de la muestra (Xu, et. al, 2012).

Los componentes más importantes de un sistema HPLC incluyen una bomba para proporcionar la presión requerida para mover la fase móvil y el analito a través de la columna empaquetada, una fase estacionaria que separa los analitos de la mezcla y un detector del analito separado. La detección de analitos depende de la intensidad de las interacciones del analito con la fase estacionaria, la composición de los solventes utilizados como fase móvil y la velocidad de flujo de esta. El mismo fundamento es utilizado para la Cromatografía líquida de ultra alto rendimiento (UPLC, por sus siglas en inglés) la cual está dando como resultado un mayor uso dentro de la proteómica y otros campos, ya que aumentan la velocidad de separación de los componentes de una mezcla y mejoran la

sensibilidad y la resolución de las proteínas detectadas en los pasos posteriores (Xu, et. al, 2012).

Así mismo para obtener mayores resultados en la identificación y caracterización de las proteínas de forma masiva, la proteómica emplea la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS, HPLC-MS, UPLC-MS). De esta forma la mezcla compleja de proteínas (que puede llegar a englobar el proteoma completo de un tejido, célula u organelo) se digiere enzimáticamente, se separa mediante cromatografía líquida, normalmente HPLC y se analiza en un espectrómetro de masas acoplado en línea al cromatógrafo. Este tipo de combinación permite la identificación masiva de proteínas de forma rápida, automática, reproducible y con una cobertura y rango dinámico superiores (Gómez, 2017).

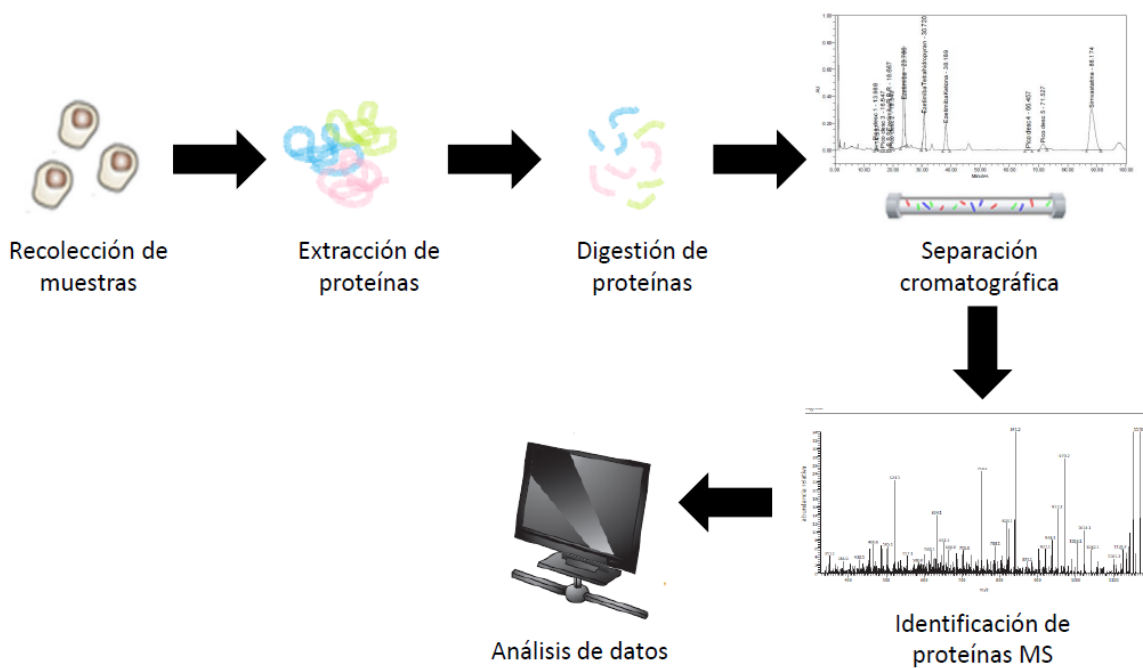


Figura 5. Técnica para identificación de proteínas utilizando LC-MS. Autoría propia.

3.2.2.4 Microarreglos de proteínas

La caracterización del proteoma puede ser un proceso complejo ya que las proteínas que lo componen presentan muchas características y niveles de expresión diferentes, además de que la misma proteína en diversos casos puede presentar isoformas o modificaciones postraduccionales que varían en su función, localización y/o estructura subcelular. Esta

complejidad inherente constituye un desafío para la caracterización del proteoma. Los microarreglos de proteínas puede ser una herramienta importante para la identificación de proteínas ya que actualmente se han convertido en una herramienta para la medicina personalizada, descubrimiento de biomarcadores y nuevos fármacos (Fernández, et.al, 2019).

La tecnología de microarreglos de proteínas proporciona una plataforma utilizada para la caracterización de miles de proteínas de manera muy paralela. Los microarreglos de proteínas tienen amplias aplicaciones en el estudio de las interacciones entre proteínas y ligandos, así como en sus funciones y actividades (Liu, et. al, 2019a).

En su forma más simple, los microarreglos se pueden considerar como herramientas de laboratorio en chip que consisten en múltiples biomoléculas diferentes como anticuerpos, que se inmovilizan en ubicaciones direccionables espacialmente en una superficie (portaobjetos) y que pueden funcionar como sondas discretas en ensayos posteriores, altamente miniaturizados y multiplexados (Duarte y Blackburn, 2017). La disposición de sondas de captura sobre el soporte, incubación de muestras y detección óptica de la unión del analito son el concepto general de un microarreglo.

Se pueden diferenciar dos tipos de microarreglos dependiendo de la molécula inmovilizada. En el primer tipo, miles de objetivos potenciales se inmovilizan en el portaobjetos y luego se incuban con una muestra que contiene de una a miles de moléculas. Esta tecnología se aplica para identificar anticuerpos en los fluidos corporales de los pacientes (Abel, et. al, 2014).

El segundo tipo de microarreglo se conoce como de fase inversa, en el cual, en lugar de inmovilizar objetivos potenciales, miles de muestras se inmovilizan en una superficie y se incuban con una molécula objetivo potencial. Usando este método, cientos de muestras de tejidos diferentes se pueden inmovilizar en el portaobjetos e incubar un objetivo especial para diferenciar el tejido enfermo del tejido sano o para determinar el estado de progresión de un tipo de cáncer específico, también este tipo de microarreglo es muy adecuado para el descubrimiento de fármacos (Abel, et. al, 2014) ya que se pueden inmovilizar diferentes

muestras e incubarlas con el fármaco de estudio para observar cómo interacciona con las mismas.

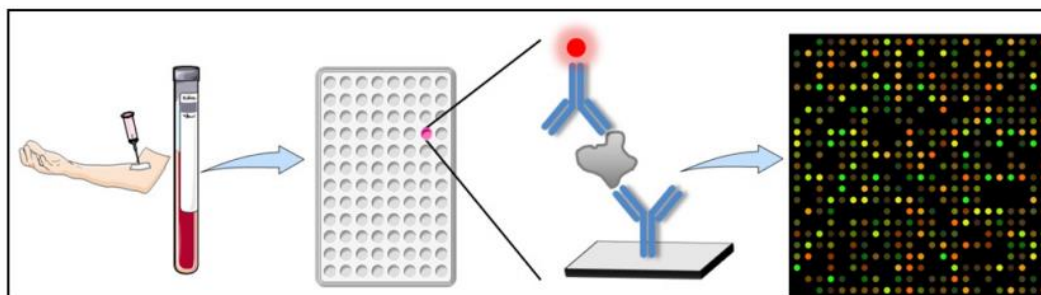


Figura 6. Representación de un análisis con microarreglos de proteínas. Obtenida de Abel, et. al, 2014.

3.2.2.5 Etiquetado isotópico de péptidos

La espectrometría de masas cuantitativa de proteínas proporciona una gran comprensión de la abundancia y función de las proteínas, pero algunas características moleculares relacionadas con la dinámica de las proteínas no se obtienen tan fácilmente (Terzi y Cambridge, 2017). Por ello se han desarrollado diversas técnicas más avanzadas que pueden adaptarse fácilmente a los estudios proteómicos, estas estrategias principalmente son técnicas de etiquetado isotópico o isobárico, que luego pueden diferenciarse mediante análisis de MS. Los métodos de etiquetado (SILAC, ICAT e iTRAQ) se usan generalmente para comparar niveles de abundancia de proteínas o péptidos entre muestras (Husi y Albalat, 2014).

Las técnicas cuantitativas mediante etiquetado utilizan compuestos isotópicos para un posterior análisis mediante MS, obteniendo una cuantificación relativa. El etiquetado de las proteínas puede efectuarse durante el crecimiento celular o una vez realizada la extracción de estas (Quero, et. al, 2016).

iTRAQ (multiplexed isobaric tagging chemistry: etiquetado isobárico multiplexado químico) representa una técnica que se utiliza para cuantificar las proteínas de muestras biológicas, en ella se utilizan reactivos isobáricos para marcar las aminas primarias de los péptidos y proteínas. Los reactivos iTRAQ generalmente consisten en un grupo de N-metilpiperinaza, un grupo de equilibrio y un grupo éster de N-hidroxisuccinimida que es reactivo con las

aminas primarias de péptidos. Una vez que se marcan las muestras se realizan técnicas de separación de proteínas y finalmente se analizan mediante espectrometría de masas.

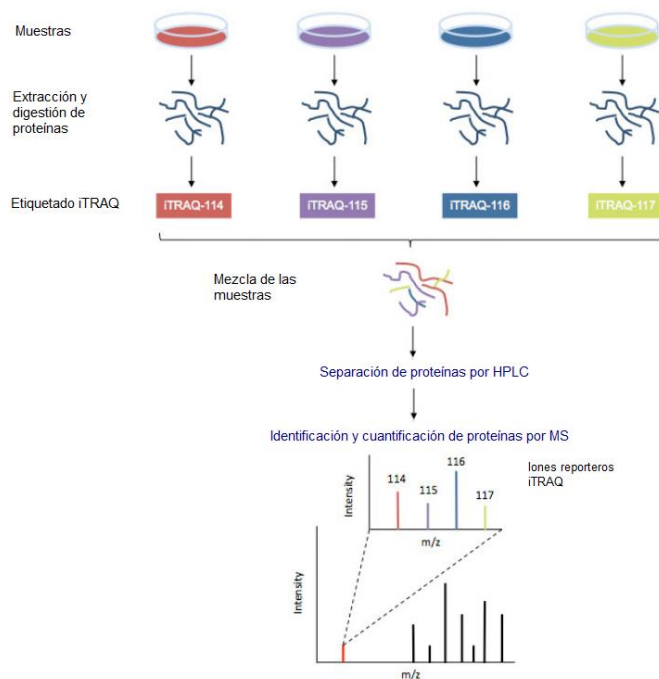


Figura 7. Flujo de trabajo de identificación de proteínas con iTRAQ
Modificada de Creative proteomics, 2019.

ICAT (isotope coded affinity tagging: marcaje por afinidad con codificación isotópica), en donde se utiliza el marcaje químico diferencial de las cisteínas de las proteínas. En general se estima que tan solo el 10% de los péptidos de un proteoma tienen cisteína. Debido a que los residuos de cisteína no están presentes en todas las proteínas, esta metodología no da como resultado un etiquetado global y, por lo tanto, es un enfoque intrínseco para reducir la complejidad de la muestra (Husi y Albalat, 2014).

SILAC (stable isotope labeling by/with amino acids in cell culture: Etiquetado de isótopos estables por / con aminoácidos en cultivo celular) es una técnica de cuantificación mediante etiquetado que se basa en la incorporación de diferentes aminoácidos marcados con isótopos que se han agregado al medio de crecimiento y se incorporaron durante la síntesis normal de proteínas en células cultivadas. El etiquetado da como resultado una diferencia de masa específica en todos los péptidos que contienen los aminoácidos SILAC. La comparación de las intensidades de señal por MS de los péptidos marcados

diferencialmente de dos o más poblaciones celulares permite la cuantificación relativa de las proteínas de las que se derivaron esos péptidos. SILAC es un enfoque simple y poderoso para la proteómica cuantitativa basada en MS y puede proporcionar una cuantificación relativa precisa sin necesidad de derivatización química adicional o manipulación excesiva de la muestra (Lanucara y Eyers, 2011).

Las técnicas de cuantificación mediante marcaje tienen ciertas limitaciones, como es el incremento de la complejidad en la preparación de la muestra (por el tratamiento independiente de la muestra), la necesidad de una gran concentración de ésta, los costos elevados de los reactivos, marcajes incompletos que distorsionan el resultado y la necesidad de software específico para la cuantificación (Quero, et. al, 2016).

3.2.2.6 Técnicas para confirmación de proteínas

Las técnicas para confirmación de proteínas generalmente se realizan para validar las proteínas encontradas en las investigaciones, comúnmente se realizan en las últimas etapas del flujo de trabajo, y diversos estudios pueden o no aplicarlas, esto dependerá del enfoque de cada investigador. Comúnmente se utilizan técnicas como Western Blot y ELISA para brindar una mayor sensibilidad a los resultados.

Western Blot o Inmunoblot es una técnica utilizada para la identificación de una proteína específica en una muestra biológica, lo cual se logra mediante la utilización de un anticuerpo que reconoce y se une a un epítipo único de la proteína de interés (Gómez, et. al, 2017). Mientras que ELISA, es un ensayo de bioquímica analítica conocido como ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas, ELISA es un ensayo sensible y específico utilizado para la detección y el análisis cuantitativo o cualitativo de un analito sin la necesidad de equipos sofisticados o costosos. El analito puede ser cualquier sustancia, ya sea una proteína específica o una mezcla más compleja de más de una proteína (Konstantinou, 2017).

En los análisis proteómicos es importante seleccionar las técnicas adecuadas dependiendo del enfoque y objetivo del estudio, en la tabla 2 se muestra un resumen de las ventajas y desventajas de las técnicas proteómicas que podrían ayudar a enfocar cada una de las investigaciones para la identificación y cuantificación de proteínas.

Tabla 2. Ventajas y desventajas de las técnicas proteómicas.
Modificada de Quero, et. al, 2016.

Técnicas proteómicas	Ventajas	Desventajas
Electroforesis 2D-PAGE	<ul style="list-style-type: none"> • Separación de 3,000 a 5,000 proteínas • Alta resolución • Fácil identificación y secuenciación de biomarcadores • Detección de las isoformas de una proteína 	<ul style="list-style-type: none"> • Requiere cantidades considerables de proteína • Limitación para proteínas de baja abundancia e hidrofóbicas • Solapamiento de proteínas • Falta de automatización, laboriosa • Limitación en el número de experimentos
Electroforesis 2D-DIGE	<ul style="list-style-type: none"> • Cuantificación relativa entre 2 muestras • Ausencia de diferencias inter-ensayo • Reducción de la cantidad de proteínas 	<ul style="list-style-type: none"> • Elevado coste de los fluoróforos
LC-MS/libre de etiquetado	<ul style="list-style-type: none"> • Requiere poca cantidad de proteína • Proceso automatizado • Multidimensional • Elevada sensibilidad y resolución • Posibilidad de cuantificación • Número ilimitado de experimentos • Reducción de costes por ausencia de marcaje • Menor manipulación de la muestra 	<ul style="list-style-type: none"> • Sensible a contaminantes • Baja identificación de proteínas poco abundantes • Menor precisión en la cuantificación respecto con marcaje
Microarreglos de proteínas	<ul style="list-style-type: none"> • Caracterización de miles de proteínas de manera muy paralela • Se pueden analizar varios ensayos con una única muestra • Poco tiempo de análisis • Análisis reproducibles 	<ul style="list-style-type: none"> • Costo elevado en la adquisición de equipamiento • Incompatibilidades entre los equipamientos
LC-MS/etiquetado (ICAT, iTRAQ, SILAC)	<ul style="list-style-type: none"> • Requiere poca cantidad de proteína • Proceso automatizado • Multidimensional • Elevada sensibilidad y resolución • Elevada precisión en la cuantificación 	<ul style="list-style-type: none"> • Limitación en el número de experimentos • Elevado coste de isótopos y péptidos sintéticos • Mayor manipulación de la muestra

3.3 Metabolómica

3.3.1 Generalidades

La metabolómica es uno de los últimos escalones de la cascada ómica, forma parte de la biología de sistemas y se refiere al estudio cuantitativo de todos los metabolitos en los seres vivos y sus cambios temporales causados por diferentes factores exógenos como endógenos, tales como la edad, el sexo, la raza, exposición a fármacos, influencia ambiental, nutrición, estilo de vida, genética o la presencia de enfermedades.

Los metabolitos son moléculas pequeñas presentes en las células, tejidos, órganos y líquidos biológicos y pueden ser lípidos, carbohidratos, péptidos pequeños, aminoácidos y vitaminas (Troisi, 2019), los cuales se encuentran formando los bloques de construcción de genes, transcripciones de ácido ribonucleico y proteínas. Los metabolitos impulsan las funciones celulares esenciales, como la producción y el almacenamiento de energía, la transducción de señales y la apoptosis.

Debido a que los metabolitos pueden tener una amplia gama de funciones en la célula y el organismo, existe una motivación creciente para determinar mejor sus funciones específicas, así como para comprender sus funciones fisiológicas (Johnson, et. al, 2016). Esto se puede hacer implementando varios enfoques metabolómicos para identificar metabolitos y vías metabólicas que están asociadas con fenotipos. Lo cual proporcionará información sobre la suma total de todos los procesos metabólicos, incluidos el anabolismo y el catabolismo, y los procesos celulares relacionados, como la absorción, la distribución y desintoxicación, transducción de señales y regulación. La metabolómica da una imagen directa de la actividad de la célula y el estado del entorno que la rodea en diversas condiciones que reflejan la salud, la enfermedad y los efectos de los fármacos y los factores ambientales (Kumar, et. al, 2014).

La comparación de los metabolitos presentes en una persona sana y enferma genera información sobre los cambios que ocurren en el metabolismo y modificaciones de las rutas metabólicas indispensables para el funcionamiento adecuado de los procesos celulares. Los

metabolitos se pueden mapear y analizar dentro de las rutas metabólicas para relacionar los metabolitos entre sí, y dentro de las rutas biológicas interconectadas, proporcionando objetivos potenciales para futuros estudios con diferentes enfoques (Johnson, et. al, 2016).

En un organismo sano, las vías metabólicas deben estar reguladas cuidadosamente para que se lleven a cabo todas las reacciones que le dan vida al cuerpo humano. La producción de energía y productos intermedios deben ser suficientes para satisfacer las necesidades de cada célula en particular, y también los requerimientos energéticos se deben ajustar debidamente para evitar consecuencias en la homeostasis del organismo, la cual puede verse comprometida por la presencia de alguna enfermedad, lo que lleva a un deterioro funcional y una falla en las funciones celulares.

Gracias a la metabolómica, se han identificado diversos metabolitos para el diagnóstico de varias enfermedades cardiovasculares, como la presión arterial alta, insuficiencia cardíaca, enfermedad coronaria, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esquizofrenia, cáncer de ovario y de mama (Kumar, et. al, 2014). Así mismo los estudios metabolómicos pueden enfocarse en los campos de la fisiología, medicina, genómica funcional, farmacología, toxicología y nutrición.

Existen dos principales enfoques para los estudios metabolómicos, enfoque no dirigido cuyo objetivo es medir el rango más amplio de metabolitos presentes en una muestra extraída sin tener conocimiento previo del metaboloma, y el enfoque dirigido que se utiliza para monitorear las rutas específicas o metabolitos de elección (Astarita, et. al, 2019), este enfoque proporciona una mayor sensibilidad y selectividad que la metabolómica no dirigida.

En ambos enfoques se utilizan tecnologías de metabolómica basadas en dos plataformas analíticas principales: la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (NMR por sus siglas en inglés) y la MS, esta última generalmente se combina con tecnologías de separación cromatográfica. En el campo del desarrollo de fármacos, se utilizan ampliamente cuatro tecnologías: NRM, la combinación de cromatografía líquida con espectrometría de masas (LC-MS o HPLC-MS), cromatografía líquida de ultra rendimiento combinada con

espectrometría de masas (UPLC-MS) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) (Amberg, et. al, 2017).

3.3.2 Tecnologías metabolómicas

Debido a la complejidad de los metabolitos y de sus diversas propiedades, ninguna plataforma analítica sola puede aplicarse para la detección de los metabolitos en una muestra biológica. El uso combinado de enfoques analíticos instrumentales modernos facilita encontrar los resultados ideales en metabolómica y es beneficioso para detectar los metabolitos que no se pueden encontrar mediante técnicas de análisis individual. La combinación de las técnicas permite la separación, detección y cuantificación de metabolitos y rutas metabólicas relacionadas (Zhang, et al., 2012)

3.3.2.1 Cromatografía acoplada a Espectrometría de masas

La espectrometría de masas basada en metabolómica es una plataforma analítica que proporciona una alta sensibilidad y reproducibilidad. A través de ella se puede obtener el peso molecular de los metabolitos presentes en las muestras para su posterior identificación. Al igual que en la proteómica, se pueden utilizar técnicas de separación utilizando cromatografía líquida o cromatografía de gases. Sin embargo, como miles de iones pueden estar presentes en los experimentos metabólicos, la separación cromatográfica antes de ingresar al espectrómetro de masas minimiza la supresión de la señal y permite una mayor sensibilidad y, al proporcionar un identificador de tiempo de retención, puede ayudar aún más a la identificación del metabolito (Johnson, et. al, 2016).

Los análisis no dirigidos son más efectivos cuando se implementan en un espectrofotómetro de masas de alta resolución, para facilitar la caracterización estructural de los metabolitos. Su principal ventaja es que ofrece un medio imparcial para examinar la relación entre metabolitos interconectados de múltiples vías. Dependiendo del pH, el disolvente, la química de columna y la técnica de ionización utilizada, la metabolómica no dirigida puede proporcionar una evaluación detallada de los metabolitos en una muestra, revelando una amplia gama de clases de metabolitos (Johnson, et. al, 2016).

Para que la identificación de los metabolitos sea eficiente por MS, los análisis metabolómicos se apoyan de las técnicas cromatográfica para separar los metabolitos presentes en las muestras de acuerdo con sus características fisicoquímicas y a la afinidad con las fases móviles y estacionarias. Se suelen realizar análisis por GC, HPLC y UPLC acoplados a MS los cuales han contribuido significativamente a la metabolómica. En la Figura 9 se muestra cómo se acopla un sistema HPLC a un espectrómetro de masas para el análisis metabolómico.

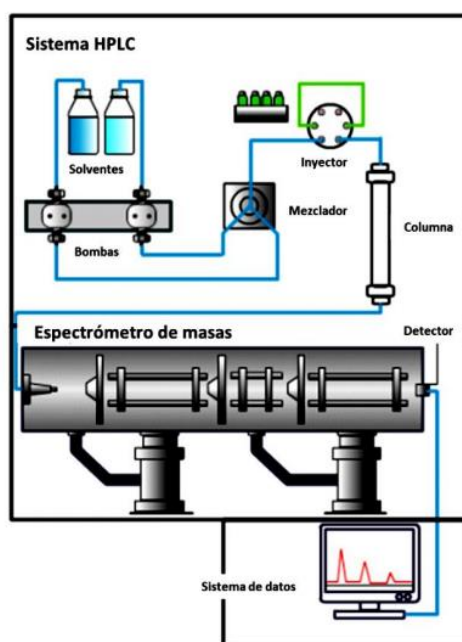


Figura 8. Diagrama LC-MS. Obtenida de Saavedra, et. al, 2015.

3.3.2.2 Resonancia Magnética Nuclear

La espectrofotometría de Resonancia Magnética Nuclear (NMR, por sus siglas en inglés) es una técnica que ha sido utilizada ampliamente en los estudios metabolómicos. El objetivo de su utilización es obtener una visión más completa y precisa de todo el metaboloma. Con la NMR es posible estudiar el perfil de metabolitos más abundantes en una muestra biológica y así mismo se puede obtener información estructural importante sobre metabolitos desconocidos (Leenders y Frédérich, 2015).

Una de las principales ventajas de la NRM es su capacidad para proporcionar una imagen metabólica rápida de la muestra con un pretratamiento mínimo, no es destructiva y las muestras pueden investigarse varias veces.

La NRM investiga una muestra a escala atómica. La muestra se coloca en un campo magnético estático, y los núcleos atómicos del metabolito son excitados por una radiación electromagnética de una fuente pulsada a una frecuencia dada (la "frecuencia de resonancia"). Cuando se apaga la radiación, los núcleos regresan ("se relajan") al estado fundamental emitiendo una onda electromagnética característica, que se registra. La transformación de esta señal produce la traza clásica del dominio de frecuencia. La posición (el "cambio químico") de cada línea (la "resonancia") en un espectro depende del entorno del núcleo correspondiente, y los parámetros que caracterizan esa línea (frecuencia, división, ancho de línea y amplitud) pueden usarse para determinar la estructura molecular, la conformación y la dinámica de la molécula (Paris, et. al, 2018).

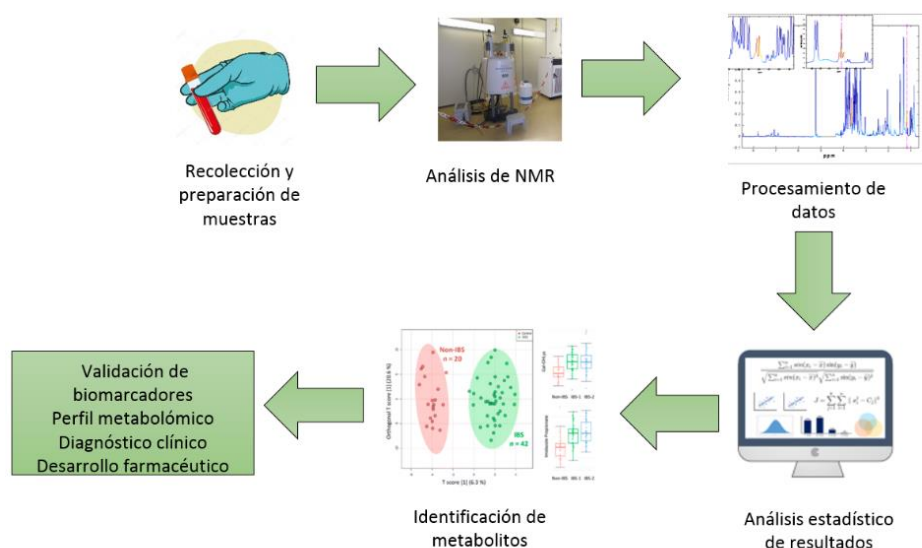


Figura 9. Flujo de trabajo de análisis metabólicos aplicando NMR. Autoría propia.

Las ventajas y desventajas de los análisis metabolómicos se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 3. Ventajas y desventajas de las técnicas metabolómicas
Modificada de Yanes, 2015.

Técnicas metabolómicas	Ventajas	Desventajas
GC-MS	<ul style="list-style-type: none"> Alta reproducibilidad y sensibilidad analítica Facilidad en la identificación de metabolitos 	<ul style="list-style-type: none"> Solo aplicable a compuestos volátiles y térmicamente estables
LC-MS	<ul style="list-style-type: none"> Ofrece muchas variantes cromatográficas (HPLC, UPLC) Gran cobertura de metabolitos detectados Alta sensibilidad 	<ul style="list-style-type: none"> Importantes requerimientos bioinformáticos para el análisis de datos La identificación de metabolitos no es directa
NMR	<ul style="list-style-type: none"> Altamente cuantitativa y reproducible Mínima preparación de la muestra 	<ul style="list-style-type: none"> Poca sensibilidad

3.4 Aplicaciones clínicas de la proteómica y metabolómica

Actualmente las terapias farmacológicas de los pacientes resultan no ser satisfactorias en la mayoría de los casos, ya que no se obtienen los resultados esperados en la salud de la población.

Una de las prácticas clínicas comúnmente utilizadas para el tratamiento de los pacientes es la medicina basada en evidencias o conocida como MBE, por sus siglas en inglés (evidence-based medicine) cuyo proceso consiste en la búsqueda de evidencias que proporcionen información sobre la enfermedad para tomar la mejor decisión en la aplicación del tratamiento. Sin embargo, ello resulta en un enfoque fallido del tratamiento ya que no se toman en cuenta los factores intrínsecos y extrínsecos de cada persona por lo cual hay una constante modificación del tratamiento terapéutico, que puede desencadenar en mayores reacciones adversas o interacciones farmacológicas en el paciente.

Para que las terapias medicamentosas se puedan beneficiar es importante considerar los factores genéticos, fisiológicos, metabólicos y proteómicos del individuo a tratar, con ello se puede garantizar una terapia personalizada y dirigida incorporando las técnicas ómicas

para la prevención, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad. En algunas especialidades médicas como la oncología al amparo de estas nuevas tecnologías se está desarrollando lo que se ha venido a llamar medicina personalizada de precisión (MPP) (De la Figueroa y Sánchez, 2018) o mejor conocida como medicina personalizada.

La MPP, se trata de un enfoque emergente sobre la prevención y el tratamiento de las enfermedades que considera la variabilidad individual determinada por el medio ambiente, los estilos de vida, los genes y las proteínas de cada persona (De la Figueroa y Sánchez, 2018).

El objetivo principal de la MPP es contribuir en la prevención, diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las enfermedades de cada individuo. Este enfoque tendrá mayores beneficios en la salud del paciente en comparación con la MBE, ya que desde un inicio se brindará la atención y tratamiento adecuado considerando las características del organismo de cada persona.

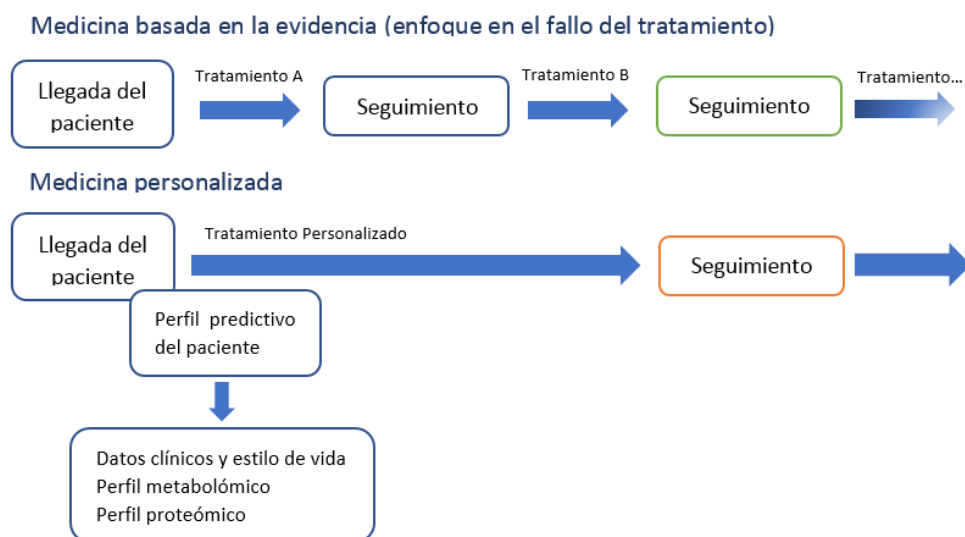


Figura 10. Comparación MBE Vs. MPP. Elaborada en base a De la Figueroa y Sánchez, 2018.

La proteómica y metabólica en los últimos años han demostrado ser de gran utilidad en la práctica clínica contribuyendo en la salud de los pacientes directa e indirectamente y pueden servir de gran utilidad en la MPP. Ambas son disciplinas que se encuentran en pleno

desarrollo y cada día a través de la investigación surgen nuevas aplicaciones que contribuirán aún más en las terapias de los pacientes.

A través de la proteómica y metabolómica se han desarrollado nuevas terapias enfocadas en la MPP, lo cual ha brindado una mejora en la calidad de vida del paciente al establecerse una terapia específica acorde a su historial clínico, estilo de vida, perfiles proteómicos y metabolómicos ya que la salud y la enfermedad del paciente se estudian óptimamente desde una perspectiva de sistemas.

Si lo miramos con una cierta perspectiva este afán de personalizar la atención a los pacientes viene de lejos, ya Hipócrates, en uno de sus aforismos decía: “Es más importante conocer al paciente que tiene una enfermedad que la enfermedad que tiene el paciente” (De la Figueroa y Sánchez, 2018) por lo cual a través de las herramientas proteómicas y metabolómicas se puede llegar a conocer al paciente. Y ciertamente en muchos casos, el conocimiento de la composición química del organismo puede brindar una detección más rápida de la enfermedad y una terapia dirigida más eficaz lo que conllevará a una mejora drásticamente en la salud de los pacientes y en muchos casos la supervivencia de éste.

A continuación, se describirán brevemente las aportaciones clínicas que han tenido estas ciencias, incluyendo su utilización para el seguimiento de las terapias medicamentosas, diagnóstico de enfermedades y poniendo especial énfasis en su aporte en diversos tipos de Cáncer, Diabetes, Alzheimer y Trisomía 21.

3.4.1 Proteómica y metabolómica en las terapias farmacológicas

Principalmente la proteómica y metabolómica pueden beneficiar las terapias farmacológicas gracias al uso de biomarcadores que reflejan la información sobre el estado de salud de la persona que se analiza y permiten identificar las proteínas y metabolitos asociados con la patología en cuestión.

Los biomarcadores son biomoléculas que se determinan en un tejido o fluido corporal para definir una enfermedad a nivel molecular (Ballesté, 2018). Se han definido como "una característica que se mide y evalúa objetivamente como un indicador de procesos

biológicos normales, procesos patogénicos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica" (Scalbert y Ferrari, 2020).

Los biomarcadores pueden ser mutaciones o niveles de un gen, una proteína, un ARN, ARNmi, una molécula metabólica o un conjunto de varias de ellas. En este último caso, se trataría de un perfil de biomarcadores, es decir, marcadores para asignar a cada paciente la terapia más adecuada (Carnero, 2019).

En un entorno clínico, tanto los biomarcadores proteicos y metabólicos pueden usarse para el diagnóstico temprano, clasificación y estratificación de la enfermedad, pronóstico, monitoreo del paciente y medicina personalizada (Wilson, et. al, 2015). El uso de biomarcadores mejora la confiabilidad del diagnóstico y asegura que los pacientes reciban tratamientos efectivos y seguros (Scalbert y Ferrari, 2020).

A través de la proteómica se pueden determinar cuáles proteínas se encuentran relacionadas con alguna enfermedad, debido a la ausencia o sobreexpresión de estas que pueden conllevar al desarrollo de diversas patologías y que pueden servir como biomarcadores potenciales.

Los biomarcadores de proteínas ideales para la rutina clínica son aquellos que se pueden detectar en el suero ya que este contiene información sobre el proteoma, que potencialmente refleja lo que ocurre en cada tejido del cuerpo (Ballesté, 2018). Sin embargo, la proteómica no se limita a la obtención de estos biomarcadores, existen diversas muestras biológicas utilizadas en la práctica clínica, tales como el líquido cefalorraquídeo, la orina, saliva, lágrimas, células sanguíneas o muestras de tejido sólido.

Por otra parte, muchos biomarcadores utilizados para el diagnóstico de enfermedades son metabolitos de bajo peso molecular ya que estas moléculas forman parte esencial de los procesos biológicos y es mediante el estudio de la concentración de los metabolitos presentes en el organismo que se pueden generar patrones o perfiles metabólicos. Comparando los perfiles metabólicos de organismos sanos y enfermos se pueden identificar aquellos metabolitos que pueden actuar como indicadores del proceso biológico que está experimentando el organismo o del riesgo de padecer determinadas enfermedades.

La metabolómica desempeña un papel importante para seguir el estado de salud del individuo aportando información sobre los metabolitos presentes en el organismo de los pacientes y por lo tanto tiene el potencial de proporcionar biomarcadores de diagnóstico para la detección y el pronóstico de enfermedades, y la predicción de la eficacia y seguridad de las intervenciones farmacéuticas. La metabolómica también puede proporcionar información sobre los mecanismos bioquímicos de las enfermedades y la modulación por fármacos (Ramateur y Berger, 2013).

En la práctica clínica, se han utilizado durante décadas una cantidad muy limitada de metabolitos pequeños, como glucosa, colesterol, creatinina, urea, etc., para evaluar la condición (pre) enfermedad de un individuo (Ramateur y Berger, 2013). Sin embargo, la meta de la metabolómica es encontrar mayor cantidad de metabolitos para que exista un campo más amplio de enfermedades con las que se pueda interactuar.

Comprender los procesos moleculares de las enfermedades a través de estas ciencias ómicas ayudará a que las terapias medicamentos sean más efectivas y por lo tanto se tendrá un mayor impacto en la salud de la población.

3.4.2 Aplicación de la proteómica y metabolómica en el tratamiento de enfermedades

3.4.2.1 Proteómica y Metabolómica en el cáncer:

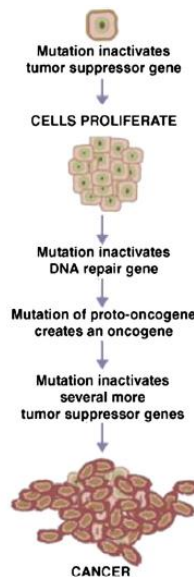
El cáncer es una de las enfermedades de mayor mortalidad en la actualidad. Según la OMS el cáncer es un proceso de crecimiento y diseminación incontrolado de células. Puede aparecer prácticamente en cualquier lugar del cuerpo. El tumor suele invadir el tejido circundante y puede provocar metástasis en puntos distantes del organismo (Murshed, 2019).

El cáncer es considerado actualmente una enfermedad genética dada la evidencia de las mutaciones que se producen en el ADN. En el cáncer se llevan a cabo una serie de cambios genéticos que involucran división celular, inestabilidad genética, apoptosis, invasión local y distante y evasión del sistema inmune del cuerpo, lo que lleva a cambios fundamentales de las propiedades normales de las células y tejidos (Murshed, 2019).

Los mecanismos que pueden conducir a alteraciones en los genes pueden ser genéticos, errores producidos en la división celular o inducidos por exposición a sustancias que dañan el ADN, como son ciertas sustancias químicas, exposición a radiaciones, etc. o epigenéticos, por alteraciones en las enzimas o sustratos de estas.

Existen dos clases de genes relevantes que son afectados por estos mecanismos, los protooncogenes, cuyas mutaciones en ellos pueden hacer que se conviertan en oncogenes, los cuales pueden favorecer el crecimiento y/o la invasividad tumoral; y los genes supresores de tumores, que limitan el crecimiento tumoral. La importancia de estos dos grupos de genes radica en su papel de control de la carcinogénesis a través de la reparación del ADN y la apoptosis o “muerte celular programada” (Lozano, 2017).

El desarrollo de las células tumorales es un proceso conocido como carcinogénesis el cual consta de múltiples etapas que involucra el inicio, progresión y metástasis del cáncer. En la siguiente figura se muestra el mecanismo que describe el desarrollo de la metástasis tumoral cuando las células malignas viajan desde el tumor primario a un órgano diferente y crean tumores adicionales (Murshed, 2019).



*Figura 11. Representación de las múltiples mutaciones en el cáncer
Obtenida de Murshed, 2019.*

Los tejidos cancerosos y los fluidos corporales como la sangre (suero y plasma), los fluidos de los senos y la saliva transportan diversas proteínas potenciales, ADN, ARN y metabolitos que proporcionan la visión para detectar alteraciones celulares (Khurshid, et. al, 2018). Aplicando los perfiles proteómicos y metabolómicos de un paciente se pueden desarrollar planes de tratamiento y garantizar la mayor probabilidad de remisión de la enfermedad, así mismo los biomarcadores detectados en las alteraciones celulares pueden ser clave para la temprana detección y pronóstico adecuado del cáncer ya que con ellos se pueden comprender las bases moleculares del inicio, la progresión y el tratamiento eficaz del cáncer, es aquí donde se resalta el papel de la proteómica y metabolómica con la identificación de biomarcadores únicos.

La proteómica ha demostrado que se puede extraer y proporcionar información útil sobre la biología del cáncer, científica y clínicamente ya que las proteínas son posiblemente las biomoléculas que gobiernan funcionalmente los procesos celulares. La posibilidad de cuantificar sistemática y simultáneamente la abundancia de proteínas posiciona estratégicamente a la proteómica para rastrear alteraciones en múltiples vías y mecanismos que impulsan la transformación del fenotipo maligno (Tan, et. al, 2012).

El desarrollo de técnicas de proteómica ha permitido el análisis confiable de proteomas complejos, lo que lleva a la identificación y cuantificación de miles de proteínas en células, tejidos y sueros de diferentes tipos de cáncer, lo cual ayuda a conocer los mecanismos moleculares de las células malignas y el microambiente tumoral en pacientes con cáncer. La proteómica ha brindado información útil sobre las perturbaciones de las vías de señalización dentro de las células tumorales, lo que permite encontrar nuevos objetivos para la acción del fármaco, posibles biomarcadores de diagnóstico e indicadores pronósticos del resultado y la respuesta a la terapia (Toss, et. al, 2013).

La proteómica se puede considerar como una parte integral de la terapia para el cáncer ya que:

1. Se utilizan biomarcadores de proteínas para detectar pacientes en la etapa inicial,
2. Sus resultados sirven para el monitoreo de la respuesta de los tumores a la terapia,

-
3. Conduce a comprender la patogénesis del cáncer y cómo se pueden mejorar o diseñar nuevas terapias
 4. Aborda las diferencias de todo el proteoma en el perfil del oncoproteoma y compara los tejidos tumorales con los controles de sujetos sanos

Con el objetivo de obtener una comprensión completa de los determinantes moleculares que impulsan el cáncer gástrico, muchos estudios han adoptado cada vez más tecnologías proteómicas avanzadas que pueden ayudar a identificar biomarcadores de proteínas y dilucidar los mecanismos moleculares del cáncer gástrico (Kang, et. al, 2016).

Algunos biomarcadores candidatos a metástasis de cáncer gástrico se han identificado mediante proteómica cuantitativa. Un estudio comparó líneas celulares de cáncer gástrico metastásico y no metastásico utilizando electroforesis 2D y MS. Los autores descubrieron que la proteína caldesmon estaba regulada negativamente en líneas celulares derivadas de metástasis, lo que fue confirmado por un análisis adicional de siete líneas celulares de cáncer gástrico. En este estudio, la eliminación de caldesmon en las células de cáncer gástrico conduce a un aumento en la migración e invasión celular, mientras que la regulación positiva de caldesmon resultó en una disminución en el fenotipo. Este trabajo ha resultado en la identificación y verificación de caldesmon como un objetivo potencial involucrado en la metástasis de cáncer gástrico (Hou, et. al, 2013).

El caldesmon es una proteína de unión a actina y miosina implicada en la regulación de las interacciones de actomiosina en el músculo liso y las células no musculares (podría actuar como un puente entre los filamentos de miosina y actina). Estimula la unión a la actina de la tropomiosina, lo que aumenta la estabilización de la estructura del filamento de actina. También juega un papel esencial durante la mitosis celular y la protección del receptor. Actualmente se están realizando más estudios funcionales para establecer el papel exacto de la pérdida de caldesmon en la metástasis de cáncer gástrico (Hou, et. al, 2013).

El enfoque de la proteómica en el estudio del cáncer de mama también ha progresado y arrojado resultados prometedores con aplicaciones diagnósticas y terapéuticas. Se obtuvo un ejemplo de enfoques combinados *in vitro* e *in vivo* que implican un análisis profundo de

líneas celulares de cáncer de mama cultivadas a partir de tumores de etapas definidas de cáncer de mama (Sallam, 2015). El objetivo del estudio fue identificar biomarcadores moleculares y procesos celulares característicos de etapas específicas en el proceso de transformación en lugar de una línea celular particular o un paciente individual (Geiger, et. al, 2012).

Se incluyeron 2 a 3 líneas celulares de cada etapa, derivadas de los tumores de diferentes pacientes con cáncer que no fueron tratados previamente. Se cuantificó el proteoma de cada una de las líneas celulares a través de un análisis proteómico basado en SILAC. Los niveles de expresión de proteínas involucradas en muchas funciones celulares básicas, tales como procesos metabólicos, expresión de proteínas y adhesión celular, cambiaron drásticamente, reflejando las pronunciadas diferencias celulares entre las células. Los perfiles proteómicos globales, así como las proteínas características en las líneas celulares y los tejidos, reflejan el colapso general de la arquitectura tisular normal, que es una característica conocida del desarrollo de carcinomas. Los cambios más dramáticos en las proteínas de adhesión se producen entre las células tumorales en estadio II y estadio III, destacando su importancia para el desprendimiento de las células tumorales del tejido original. Se mostró una regulación aumentada de integrina $\alpha 6$ en células derivadas de metástasis de derrame pleural. Este resultado concuerda con estudios previos que muestran sobreexpresión de integrina $\alpha 6$ en sitios metastásicos de cánceres de mama (Geiger, et. al, 2012).

Además, otra forma de comprender el surgimiento del cáncer es a través de la medición del metaboloma. La metabolómica es la nueva ciencia próxima en el campo de las ómicas con el potencial de aumentar aún más nuestro conocimiento de la biología del cáncer (Claudino, et. al, 2012). Actualmente el cáncer se cataloga cada vez más como un trastorno metabólico, debido a que una de las principales características de las células tumorales malignas es que su metabolismo energético se encuentra alterado, ya que en los tumores cancerígenos se llevan a cabo diferentes reacciones metabólicas para la producción de la energía necesaria para el crecimiento y proliferación de las células malignas. El

entendimiento de los cambios metabólicos que ocurren en esta enfermedad, pueden ser clave para un mejor diagnóstico y tratamiento del cáncer.

En 1942 el investigador Otto Warburg descubrió que las células cancerígenas metabolizan la glucosa de manera distinta a las células normales, su teoría actualmente es conocida como el efecto Warburg. Dicha teoría indica que en la mayoría de los tumores el metabolismo está dirigido hacia la glucólisis, a través de la captación de glucosa y la producción de lactato aun en presencia de altos niveles de oxígeno.

En células normales, en presencia de suficiente oxígeno, la glucosa se procesa por una serie de reacciones que incluyen al ciclo de Krebs, fosforilación oxidativa, transporte de electrones y la quimiosmosis, generando 36 moléculas de ATP (38 si se incluyen 2 ATP producidos en la glucólisis) por cada molécula de glucosa. Por el contrario, en condiciones bajas de oxígeno el producto final de la glucólisis es el lactato, el cual es generado por la reducción de piruvato por la enzima lactato deshidrogenasa (LDH), este proceso se conoce como glucólisis anaeróbica en donde se obtienen 2 moléculas de ATP.

Sin embargo, este mecanismo no ocurre en las células cancerosas. Se ha demostrado que estas células producen altos niveles de lactato derivado de la glucosa, independientemente de la disponibilidad de oxígeno, lo cual se conoce como glucólisis aerobia, que es la vía dominante que utilizan las células tumorales para la obtención de energía.

En las células cancerosas la LDH cataliza la conversión de piruvato a L-Lactato en lugar de que el piruvato entre al ciclo de Krebs y se obtenga la energía a través de la fosforilación oxidativa. Aunque esta ruta metabólica no es tan eficiente como la fosforilación oxidativa en la generación de ATP, es un medio mucho más rápido de producción de ATP, necesario para soportar múltiples divisiones celulares y es capaz de cubrir las demandas energéticas de los tumores. Así mismo a través de la glucólisis se obtienen numerosos compuestos metabólicos necesarios para la síntesis de macromoléculas, como la ribosa de los ácidos nucleicos, que resultan importantes para mantener la elevada tasa proliferativa que caracteriza a las células tumorales (Vernieri, et. al, 2016).

La conversión de glucosa a L-lactato tiene varios inconvenientes, como la alteración de niveles de LDH que dirige la formación de especies reactivas de oxígeno. El medio extracelular se acidifica porque la célula expulsa ácido láctico del interior de las células, en lugar de ser oxidado en la mitocondria, lo que promueve factores de respuesta a la inflamación, que atrae macrófagos (células que degradan material celular), los cuales secretan sustancias que promueven el desarrollo celular y metástasis (Liu, et. al, 2019b).

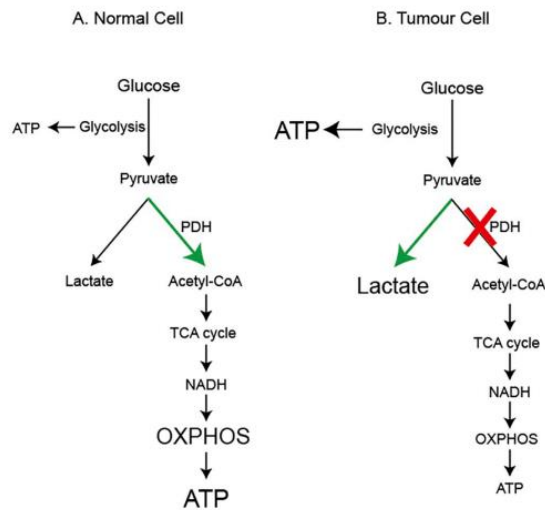


Figura 12. El efecto Warburg.

A. En las células normales, la glucosa se metaboliza a piruvato a través de la glucólisis. Algunos piruvatos se convierten en lactato, pero la mayoría se dirige al ciclo TCA a través de acetil-CoA. El ciclo TCA genera NADH, que dona electrones a la cadena de transporte de electrones mitocondrial para que OXPHOS pueda progresar. B. En las células tumorales, el perfil metabólico cambia de OXPHOS a glucólisis aeróbica, conocido como el efecto Warburg. ATP: trifosfato de adenosina; PDH: piruvato deshidrogenasa; Acetil-CoA: acetil coenzima A; Ciclo TCA: ciclo del ácido tricarbóxico; NADH: nicotinamida adenina dinucleótido; OXPHOS: fosforilación oxidativa. Obtenida de Liu, et. al, 2019b.

Debido a los efectos metabólicos a medida que el ciclo de las células avanza durante la transformación neoplásica y la posterior proliferación, o mediante una respuesta inflamatoria o inmunológica a la neoplasia maligna, los metabolitos que se forman como subproductos de la actividad celular difieren de los que se encuentran en el recambio celular normal y no maligno (McCartney, et. al, 2018). La aplicación de la metabolómica a través de los perfiles de metabolitos dará a conocer la presencia de metabolitos malignos y será posible la confirmación de la enfermedad permitiendo desarrollar inhibidores de estos para disminuir el crecimiento celular.

Al mismo tiempo, una comparación de los perfiles metabólicos de las células enfermas y sanas brinda la posibilidad de establecer puntos en la red metabólica que son importantes para las células enfermas pero que son menos relevantes para células sanas en un organismo. Con este enfoque se espera que los efectos secundarios se reduzcan al hacer un tratamiento más efectivo y dirigido (Cuperlovic-Culf, et. al, 2012).

Por otra parte, la metabolómica también se ha aplicado para la prevención, diagnóstico temprano, estadificación, caracterización tumoral y tratamiento de los diversos tipos de cáncer incluidos cáncer de mama, de pulmón, pancreático, hígado, y próstata, así mismo puede servir para predecir biomarcadores de respuesta.

El objetivo de los estudios de diagnóstico es caracterizar la proliferación descontrolada de las células a través de los cambios de los metabolitos presentes en el organismo de los pacientes enfermos. Varios estudios han demostrado que las regiones específicas de los espectros de NRM pueden diferir entre pacientes con cáncer y pacientes sanos.

En un experimento se descubrió que la sarcosina puede ser un metabolito de interés para el cáncer de próstata, ya que permite la discriminación de las condiciones benignas de la próstata del carcinoma invasivo y no invasivo, ya que el derribo de la enzima que produce sarcosina (glicina N-metil-transferasa) perjudicó la invasividad celular del cáncer, lo que apunta posible objetivo terapéutico, determinado directamente por las mediciones de la metabolómica. Así mismo se ha detectado que la glicina-N-metil-transferasa puede funcionar como un gen susceptible a tumores con posible aplicación como objetivo terapéutico y posible marcador de progresión maligna y en el cáncer de próstata (Cuperlovic-Culf, et. al, 2012).

Respecto al cáncer de pulmón la aplicación de la metabolómica comenzó alrededor del año 2000. Estos estudios han demostrado que existen diferencias en el metaboloma entre los pacientes con cáncer de pulmón y el grupo de control, y se han descubierto gradualmente algunos biomarcadores confiables y posibles vías metabólicas biológicas para el diagnóstico de cáncer de pulmón (Tang, et. al, 2019). Se ha demostrado que entre los biomarcadores se encuentran los involucrados con la biosíntesis de valina (Val), leucina (Leu) e isoleucina (Ile);

metabolismo de alanina (Ala), aspartato (Asp) y glutamato (Glu); y vías de metabolismo de glicina (Gly), serina (Ser) y treonina (Thr), respectivamente (Tang, et. al, 2019).

Estudios previos han informado que la concentración de Val, Ile y Leu en pacientes con cáncer de pulmón es mayor que la de los controles sanos. La valina es un aminoácido esencial involucrado en muchos procesos metabólicos y también es un aminoácido glucogénico para biosintetizar macromoléculas como las proteínas y los lípidos, que son esenciales para el crecimiento de las células cancerosas. Esta puede ser la razón por la cual la valina exhibió mayor contenido en los grupos de casos que en los controles. Los tres aminoácidos esenciales (Val, Ile y Leu), conocidos como aminoácidos de cadena ramificada (BCAA), están involucrados en el estrés, la energía y el metabolismo muscular con diferentes vías metabólicas. Los BCAA están involucrados en varios tipos de cáncer que regulan diversas vías de señalización, como la síntesis de proteínas, la síntesis de lípidos, el crecimiento celular y la autofagia (Tang, et. al, 2019). Así mismo la L-glutamina es esencial para la proliferación y supervivencia de las células cancerosas y participa en la síntesis del metabolismo, proteínas, lípidos y nucleótidos.

La aplicación de la metabolómica también ha generado datos acerca del descubrimiento de “oncometabolitos” los cuales son metabolitos endógenos y su acumulación inicia o sostiene el crecimiento tumoral y la metástasis. El primer oncometabolito que se descubrió fue el 2-hidroxi-glutarato (2-HG), un metabolito natural que se encuentra en altas concentraciones en los gliomas. Este compuesto parece alterar indirectamente los patrones de metilación de histonas, lo que finalmente conduce a la tumorigénesis (Wishart, 2016).

El fumarato, un metabolito producido como parte de la función normal del ciclo de Krebs en las mitocondrias, también se ha propuesto como un posible oncometabolito cuando está presente en altas concentraciones (Yang, et. al, 2012). El fumarato se acumula como resultado de mutaciones en la hidratasa de fumarato. Se ha demostrado que las células y los tumores deficientes en fumarato hidratasa acumulan fumarato a niveles muy altos con múltiples consecuencias, incluida la activación de vías oncogénicas. Aunque el fumarato se indica como un oncometabolito, es decir, una molécula promotora de tumores, en algunos

ejemplos su presencia parece ser citoprotectora. Se ha informado que el fumarato es citoprotector después del daño al ADN y altamente elevado después del daño por radiación. Los roles opuestos podrían depender de las concentraciones exactas o la compartimentación celular.

El Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos de América, los científicos, los médicos y la industria ya están en camino de expandir el uso de la metabolómica para la evaluación de la eficacia terapéutica de los medicamentos. Se ha propuesto que los intermediarios del metabolismo de los fosfolípidos de colina son un posible biomarcador para la evaluación y el monitoreo de la eficacia terapéutica de varios medicamentos contra el cáncer (Kumar, et. al, 2014).

3.4.2.2 Proteómica y Metabolómica en Diabetes Mellitus

La diabetes mellitus (DM) se ha convertido en una de las epidemias de salud pública más alarmantes del siglo XXI, con un estimado de 552 millones de personas en todo el mundo con diabetes para 2030, y 398 millones de personas serán consideradas en alto riesgo de desarrollar la enfermedad (Lam, et. al, 2019).

La DM es un trastorno metabólico caracterizado por una pérdida total o parcial de la secreción de insulina y / o resistencia a la acción de la insulina que conduce a un estado crónico de hiperglucemia en la sangre. La DM puede tener etiología múltiple y casi inevitablemente implica alguna forma de desregulación en el metabolismo de carbohidratos, grasas y / o proteínas (Habtemariam, 2019).

Esta enfermedad se clasifica en diabetes mellitus tipo 1 (DM1) y diabetes mellitus tipo 2 (DM2). La DM1 ocurre cuando el cuerpo no puede producir insulina debido a la destrucción de las células productoras de insulina en el páncreas. La DM2 es la forma más frecuente de diabetes en adultos, que representan del 90% al 95% de los casos en todo el mundo. Se caracteriza por una deficiencia relativa en la secreción de insulina de las células β pancreáticas y una disminución de la capacidad de respuesta de los tejidos a la acción normal de la insulina (es decir, resistencia a la insulina). Ambas clasificaciones están asociadas con períodos de hiperglucemia crónica, que contribuyen a complicaciones micro

y macrovasculares como retinopatía, nefropatía, neuropatía, enfermedad cardiovascular, enfermedad vascular periférica y accidente cerebrovascular (Lam, et. al, 2019).

Debido a que los efectos clínicos de esta enfermedad son perjudiciales en el estado de salud de los pacientes es necesario detectar nuevas perspectivas para ayudar en el control de los niveles de glucosa en los pacientes con esta enfermedad.

Las vías de señalización de la insulina, pueden ser clave para la comprensión y tratamiento de la enfermedad, ya que en ella se involucran diversas proteínas y metabolitos que forman parte fundamental para la cascada de reacciones indispensables en el funcionamiento de la insulina en el organismo.

La insulina es una hormona liberada por las células beta de los islotes pancreáticos de Langerhans, su presencia afecta de manera directa o indirecta a la función de prácticamente todos los tejidos en el cuerpo, provocando una notable variedad de respuestas biológicas; su principal función es regular la cantidad de glucosa en sangre, favoreciendo la entrada y almacenamiento de este nutriente en músculo y tejido adiposo en donde promueve su conversión a glucógeno y triglicéridos, respectivamente, inhibiendo al mismo tiempo su degradación. Además, en el hígado inhibe la gluconeogénesis, la glucogenólisis y la cetogénesis, y promueve la síntesis de proteínas principalmente en el músculo (Gutiérrez, et. al, 2017). Así mismo regula el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas y promueve la división y el crecimiento celular a través de sus efectos mitogénicos (Olivares y Arellano, 2008). El entendimiento de estas funciones es fundamental ya que si llega a ocurrir una falla en las funciones de esta hormona se puede desencadenar el surgimiento de resistencia a la insulina, obesidad y DM2.

Las acciones biológicas de la insulina se inician cuando se une con su receptor (IR), una glucoproteína integral de membrana, el cual está formado por dos subunidades alfa y beta. La subunidad alfa contiene el sitio de unión a la insulina, esta unión genera cambios conformacionales que inducen su activación catalítica y la autofosforilación de varios residuos. Los residuos autofosforilados son reconocidos por diferentes proteínas adaptadoras, entre las que se incluyen miembros de la familia del sustrato del receptor de

insulina (IRS), de los cuales el IRS-1 y el IRS-2 constituyen los dos principales sustratos e intermediarios más comunes en la etapa inicial de propagación de la señal de insulina. El IRS actúa como una molécula adaptadora que organiza la formación de complejos moleculares y desencadena cascadas de señalización intracelular (Gutiérrez, et. al, 2017).

Las dos vías de señalización por las cuales la insulina ejerce sus funciones son las siguientes:

- Vía de la fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K/Akt): Principal mecanismo por el cual la insulina ejerce sus funciones en el metabolismo de glucosa y de lípidos.
- Vía de las cinasas activadas por mitógeno/Ras (MAPK/Ras): Responsable de la regulación de la expresión genética y los efectos mitogénicos asociados a la insulina

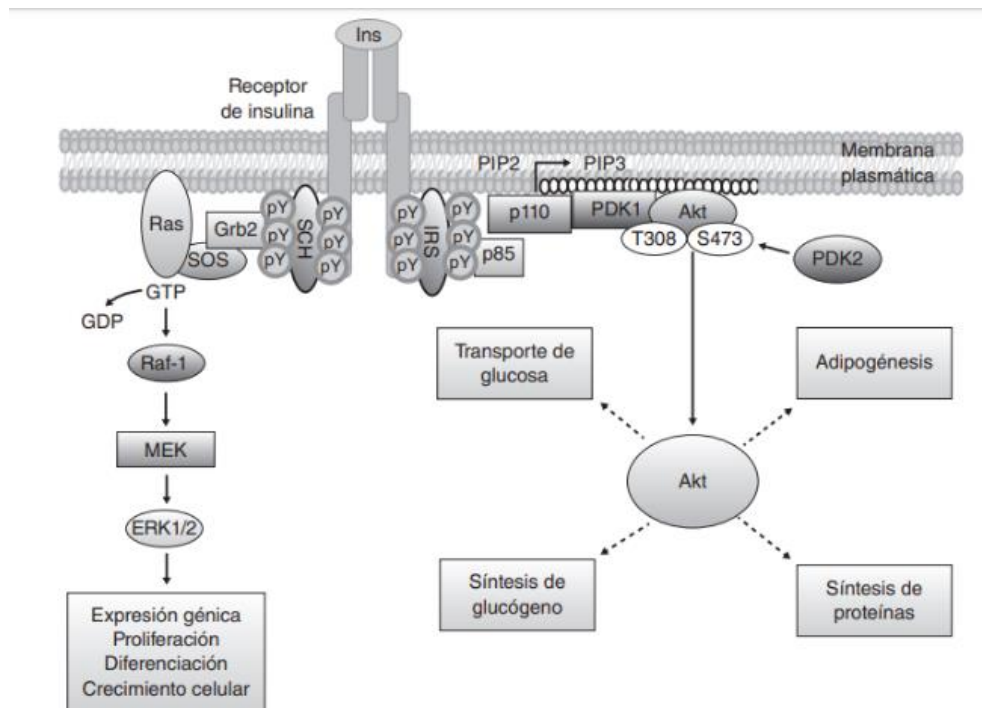


Figura 13. Vías de señalización de la insulina. A través de estas vías la insulina puede ejercer sus funciones en el transporte de glucosa, síntesis de glucógeno y de proteínas, adipogénesis, expresión génica, proliferación y crecimiento celular. Obtenida de Gutiérrez, et. al, 2017.

Para que la insulina ejerza un adecuado funcionamiento en sus acciones metabólicas, promotoras del crecimiento y proliferación celular, deben regularse sus acciones de manera precisa. Las acciones metabólicas y promotoras del crecimiento y proliferación celulares de la insulina son reguladas a través de mecanismos de autorregulación (regulación

homóloga), en donde las enzimas activadas por la propia vía inhiben la actividad de proteínas claves de la señalización de la insulina. Adicionalmente, existen mecanismos moleculares homeostáticos, no relacionados con los activados por la insulina, que pueden inhibir también la señalización de esta hormona (regulación heteróloga). Ambos mecanismos son de suma importancia, ya que mantienen el estado de homeostasis celular, definiendo la duración y el alcance de la señal y las acciones de la insulina. Se han identificado diferentes mecanismos de regulación homeostática a nivel del receptor, del IRS y de proteínas localizadas río abajo de ambas, entre las que se encuentran PI3K, Akt o GLUT-4 (Gutiérrez, et. al, 2017).

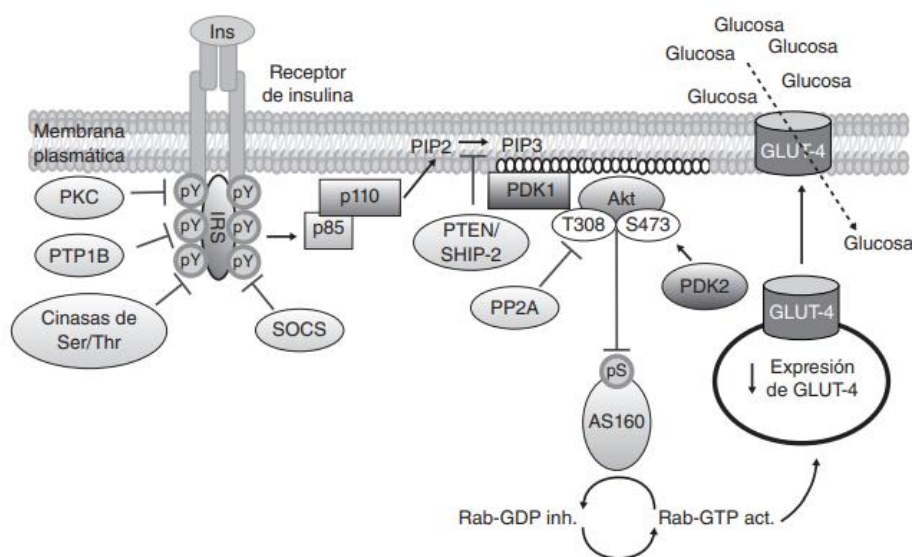


Figura 14. Regulación de las acciones de la Insulina

A través de los perfiles proteómicos y metabolómicos se pueden dirigir estudios para detectar si se encuentra alguna alteración en los procesos de las vías de señalización y regulación de la insulina que pudieran provocar la DM2. La investigación en esta enfermedad es realmente amplia ya que las reacciones involucradas en la resistencia a la insulina y la acumulación de glucosa en sangre son extensas.

Como se muestra en la Figura 14 en la regulación de la insulina, existe un participante conocido como PTEN (fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato 3-fosfatasa), esta molécula es un regulador negativo de la vía PI3K/Akt, lo que lo hace un modulador importante de la

señalización de insulina. En los principales órganos diana de la insulina, principalmente el hígado, los músculos y las grasas, la deficiencia de PTEN afecta el metabolismo de la glucosa y produce resistencia a la insulina, lo que sugiere que el PTEN juega un papel importante en la acción de la insulina y puede ser considerado como biomarcador en un futuro (Gutiérrez, et. al, 2017).

Por otra parte, un estudio realizado en México detectó diversas proteínas asociadas a la DM y obesidad. En el estudio se compararon perfiles del proteoma en suero de pacientes mexicanos con cuatro grados de obesidad bien definidos: peso normal, sobrepeso, obesidad I y obesidad II / III, empleando técnicas proteómicas (Gómez, et. al, 2017). Las proteínas relacionadas con la diabetes fueron 14-3-3, ApoH, ZAG y OTOP3.

En mamíferos, la familia de proteínas 14-3-3 son reguladores cruciales de las vías de señalización intracelular. Diversos estudios bioinformáticos han demostrado que las proteínas 14-3-3 se asocian con la DM2. La asociación dependiente de insulina de 14-3-3 con AS160 juega un papel importante en el tráfico de GLUT4 en adipocitos. De acuerdo con los resultados de este estudio, la proteína 14-3-3 mostró asociación con la diabetes porque esta proteína aumento significativamente en pacientes diabéticos en comparación con el grupo control (Gómez, et. al, 2017).

La apolipoproteína H (ApoH) es una proteína plasmática, sus concentraciones plasmáticas están fuertemente asociadas con alteraciones del síndrome metabólico y enfermedades vasculares en pacientes con DM2 y podrían considerarse como un marcador clínico de riesgo cardiovascular. Se detectó que esta proteína se acumula en relación con el índice de masa corporal (IMC), mostrando diferencias estadísticas en los grupos con sobrepeso y grupos con obesidad (Gómez, et. al, 2017).

ZAG es una glicoproteína zinc α 2, que se expresa altamente en la sangre de pacientes obesos, lo que indica que ZAG posiblemente está asociado con la obesidad (Wang, et. al, 2018). En el estudio ZAG mostró un aumento en grupos con sobrepeso y obesidad, pero el aumento fue significativo solo en el grupo obesidad II / III (Gómez, et. al, 2017).

Otopetrin 3 (OTOP3) mostró una disminución significativa en los grupos obesidad I y obesidad II / III. OTOP3 define un objetivo único de la señalización de citocinas que atenúa la inflamación del tejido adiposo inducida por la obesidad y desempeña un papel adaptativo en el mantenimiento de la homeostasis metabólica en la obesidad. Los resultados también sugieren que OTOP3 podría actuar como un biomarcador relacionado con la obesidad en humanos (Gómez, et. al, 2017).

Es importante considerar que no solo con la proteómica se puede abordar el entendimiento de la DM. La metabolómica también juega un papel importante y existen diversos estudios que demuestran su utilidad en esta patología.

En la aparición y desarrollo de la DM existen diferentes cambios en los metabolitos que pueden ser medidos con las técnicas metabolómicas y pueden proporcionar información de las vías metabólicas y vías de señalización relevantes en la patología (Wang, et. al, 2018). La caracterización de los cambios metabólicos es clave para la detección temprana, el tratamiento y la comprensión de los mecanismos moleculares de la diabetes.

Durante la última década, varios grupos que usaron técnicas metabólicas han identificado un agente causal inesperado relacionado con la DM: los aminoácidos. En particular, se pueden encontrar niveles séricos altos de BCAA, aminoácidos aromáticos como fenilalanina (Phe) y tirosina (Tyr) y un ácido amonio como el ácido aminoadípico para identificar a las personas en riesgo de desarrollar la DM2 (Wishart, 2016).

Los niveles de estos biomarcadores son relevantes hasta 15 años antes del inicio de la enfermedad. Los niveles altos de estos aminoácidos pueden provenir de la dieta, pero el microbioma intestinal también parece afectar la abundancia de estos aminoácidos, especialmente aminoácidos esenciales como Ile, Leu, Val y Phe. Estos aminoácidos actúan específicamente en la diana de rapamicina en células de mamíferos o mTOR por sus siglas en inglés (mammalian Target of Rapamycin) y regulan con ello las mismas vías y procesos fisiológicos de la insulina. Si existen niveles crónicamente altos de un análogo de insulina, esto podría conducir a resistencia a la insulina y diabetes (Wishart, 2016).

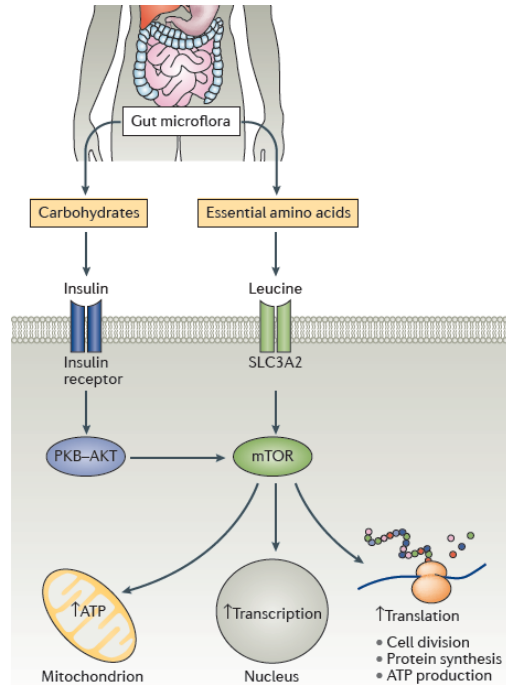


Figura 15. Vía de señalización de carbohidratos y aminoácidos. Obtenida de Wishart, 2016.

Otros aminoácidos como la glicina (Gly), la glutamina (Gln) y el glutamato (Glu) también se han relacionado con la prediabetes y el riesgo de DM2 (Guasch-Ferré, 2016). Por lo cual las concentraciones de los de aminoácidos investigados pueden ser a futuro predictores confiables de la resistencia a la insulina entre los pacientes con DM2 (Arneth, et. al, 2019).

Así mismo, con la metabolómica también se han encontrado cambios en el metabolismo de los nucleótidos, incluido el de N-metilnicotinamida y N-metil-2-piridona-5-carboxamida, (Zhang, et. al, 2014). Además, se han detectado altas concentraciones de lípidos bajos en carbono, tales como glicerofosfolípidos y esfingomielinas, y aumento de los niveles de ácidos grasos, como los ácidos dodecanoico y mirístico en individuos que padecen DM2 por lo cual la identificación y el perfil de estas biomoléculas pueden facilitar la predicción y el manejo de la DM2 (Arneth, et. al, 2019).

La identificación de metabolitos en la DM revela que diversas macromoléculas se encuentran afectadas en este tipo de pacientes, la metabolómica tiene un futuro prometedor en esta área, con sus resultados se puede obtener una amplia comprensión de la base metabólica de la DM1 y DM2.

3.4.2.3 Proteómica y metabolómica en el Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad progresiva, irreversible, incurable, neurodegenerativa y el más común de los trastornos demenciales. Por lo general, comienza después de los 60 años y puede abarcar de 8 a 12 años (Zvěřová, 2019).

Se cree que esta enfermedad comienza 20 años o más antes de que aparezcan los síntomas con pequeños cambios en el cerebro que son imperceptibles para la persona afectada. Solo después de años de cambios cerebrales, las personas experimentan síntomas notables, como pérdida de memoria y problemas de lenguaje. Los síntomas ocurren porque las células nerviosas (neuronas) en partes del cerebro involucradas en el pensamiento, el aprendizaje y la memoria (función cognitiva) se han dañado o destruido (Alzheimer's Association, 2019).

La acumulación de proteínas amiloides y tau se considera el sello distintivo patológico central de la enfermedad de Alzheimer, pero otros factores como la genética, el estrés oxidativo, la inflamación y el estilo de vida contribuyen al complejo mecanismo de esta enfermedad (De Leeuw, et. al, 2017).

En las últimas tres décadas, se han investigado a las proteínas asociadas en los cambios cerebrales de la EA, ya sea la acumulación del fragmento de proteína beta-amiloide fuera de las neuronas y la acumulación de una forma anormal de la proteína tau dentro de las neuronas. Las placas beta-amiloides pueden contribuir a la muerte celular al interferir con la comunicación de neurona a neurona en las sinapsis, mientras que los enredos tau bloquean el transporte de nutrientes y otras moléculas esenciales dentro de las neuronas. A medida que aumenta la cantidad de beta-amiloide, se alcanza un punto de inflexión en el que la tau anormal se extiende por todo el cerebro (Alzheimer's Association, 2019).

En la investigación preclínica se ha detectado que las personas tienen cambios medibles en el cerebro, líquido cefalorraquídeo y sangre los cuales indican los primeros signos de la EA que pueden ser utilizados como biomarcadores, es aquí donde la proteómica y metabolómica implementan sus tecnologías para que en esta etapa de investigación se genere información que pueda servir para el diagnóstico temprano de la enfermedad.

Durante los últimos años, el desarrollo de tecnologías proteómicas basadas en espectrometría de masas ha ofrecido un enfoque eficiente para el estudio intensivo de los cambios relacionados con la EA en los niveles de proteínas en muestras de líquido cefalorraquídeo, plasma y tejidos cerebrales (Sancesario y Bernardini, 2018).

Un perfil proteómico se aplicó con el objetivo de mapear la desregulación del proteoma durante la progresión de la enfermedad del Alzheimer en regiones cerebrales con una clara susceptibilidad a la neurodegeneración (Mendonça, et. al, 2019). Para ello se utilizaron cerebros humanos postmortem de personas que tuvieron enfermedad de Alzheimer y las muestras fueron analizadas mediante LC-MS. Se emplearon dos enfoques en el estudio: el perfil de proteoma comparativo durante la progresión de la enfermedad para detectar proteínas/vías alteradas en diferentes regiones del cerebro y el perfil de proteoma comparativo de diferentes regiones del cerebro en sujetos sanos y enfermos para investigar la vulnerabilidad de las regiones del cerebro en la enfermedad de Alzheimer.

Entre las regiones investigadas, la corteza entorrinal y la corteza parahipocampal que pertenecen al lóbulo temporal medial se ven afectadas en las primeras etapas, mientras que las regiones neocorticales: corteza temporal (TC) y corteza frontal se ven afectadas por la patología tau solo en las etapas tardías de la enfermedad de Alzheimer (Figura 17).

Así mismo entre las proteínas asociadas a la enfermedad de Alzheimer se encontraron 11 proteínas, algunas de ellas están involucradas en procesos metabólicos (CTNND1, FLNA, AUH, RNPEP y NUMBL) y en la adhesión celular (CTNND1, FLNA y NUMBL), mientras que CTNND1, FLNA y SH3GL1 se expresan en la unión celular. En el estudio se realizó una agrupación jerárquica de las 11 proteínas alteradas en tres regiones del cerebro y se generó un mapa de calor considerando su expresión durante la progresión de la enfermedad en todas las áreas del cerebro (Figura 18).

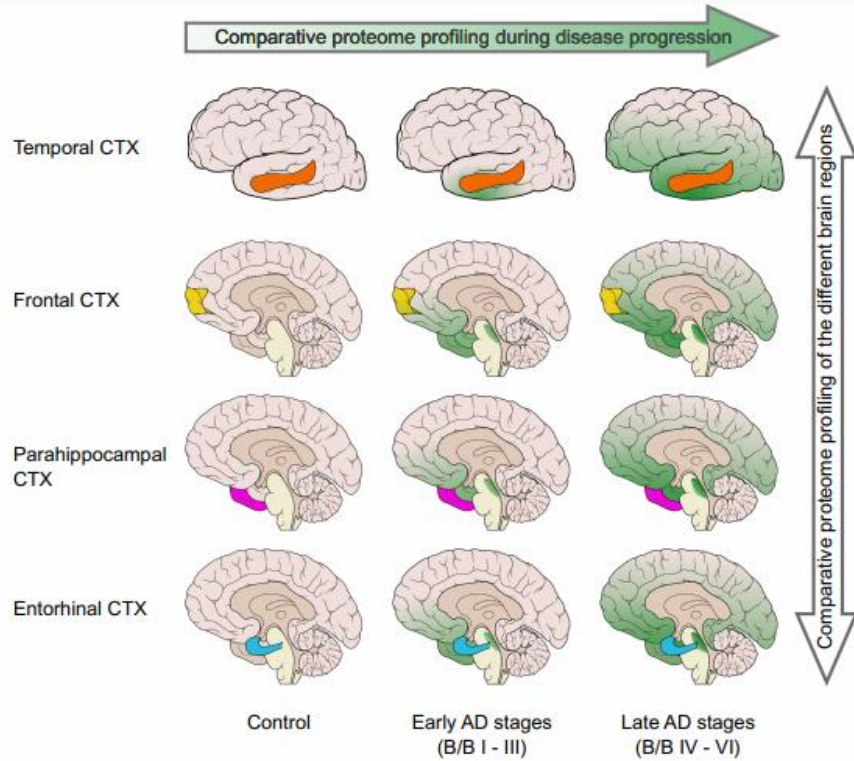


Figura 16. Perfil comparativo del proteoma durante la progresión de la EA. Los perfiles proteómicos que se muestran corresponden a sujetos sanos, con enfermedad temprana y enfermedad tardía. Obtenida de Mendonça, et. al, 2019.

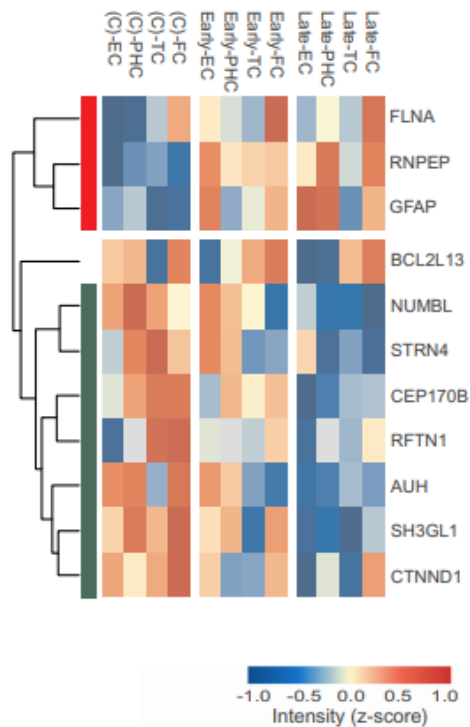


Figura 17. Agrupación de 11 proteínas alteradas en 3 regiones del cerebro con EA. Grupo en rojo: proteínas reguladas positivamente durante el curso de la enfermedad de Alzheimer; grupo en verde: proteínas reguladas negativamente durante el curso de la enfermedad del Alzheimer. Obtenida de Mendonça, et. al, 2019.

Este estudio demuestra que la proteómica puede ser utilizada para el diagnóstico temprano de la enfermedad, conociendo los cambios que ocurren en la fase temprana y tardía de la enfermedad.

Respecto a la metabolómica ha demostrado un enfoque útil para conocer el fenotipo del organismo en la enfermedad de Alzheimer. Estudios recientes de metabolómica han identificado algunas rutas metabólicas alteradas en la enfermedad de Alzheimer, como la ruta de la poliamina, el metabolismo de la lisina, el ciclo del ácido tricarboxílico, el metabolismo de los lípidos, la neurotransmisión y la inflamación (Wilkins y Trushina, 2018), así como el deterioro de algunos niveles de metabolitos como son tirosina, glicilglicina, glutamina, ácido lisofosfático, factor activador de plaquetas, ácidos orgánicos, isoprostanos y prostaglandinas (De Leeuw, et. al, 2017).

Otro estudio dio a conocer que el sistema colinérgico, el metabolismo energético y las rutas de aminoácidos y lípidos pueden estar involucrados en el desarrollo temprano de la enfermedad del Alzheimer. Mediante el perfil metabolómico de muestras de suero de pacientes enfermos se demostró que la colina es un biomarcador prometedor en el diagnóstico temprano ya que se encontraba en niveles elevados en los pacientes del estudio. La colina es un metabolito precursor en la síntesis de acetilcolina, neurotransmisor importante implicado en el almacenamiento de memoria, control motor y otras funciones. Además, es un componente clave en algunos lípidos con funciones cerebrales relevantes, como la fosfatidilcolina principal constituyente de las bicapas lipídicas de las membranas celulares. El aumento de este metabolito podría explicarse por el hecho de que en las primeras etapas de la enfermedad la transmisión colinérgica se reduce y, como respuesta compensatoria, aumentaría la producción de colina (Peña, et. al, 2019).

Existe aún un campo amplio de aplicación de las tecnologías ómicas para el entendimiento de la enfermedad de Alzheimer. Su utilización desencadenará que los pacientes con esta enfermedad tengan una calidad de vida mejor, ya que los síntomas de esta patología dificultan que el paciente pueda desarrollarse en su entorno de manera usual. El

conocimiento de las proteínas y metabolitos alterados en esta enfermedad puede llevar a un diagnóstico temprano y mejora en el tratamiento del paciente para el control de la enfermedad.

3.4.2.4 Proteómica y Metabolómica aplicada en Trisomía 21

En el síndrome de Down (SD), un individuo nace con tres copias del cromosoma 21 (Hsa21) en lugar de dos, lo cual se debe a la falla de la segregación cromosómica normal durante la meiosis. La sobreexpresión de algunos o todos los genes Hsa21, resulta en niveles de proteínas alterados que son al menos en parte responsables del fenotipo SD. La neuropatología del SD generalmente se caracteriza por defectos estructurales, celulares y anatómicos en áreas específicas del cerebro. En particular, las estructuras neocorticales, el hipocampo y el cerebelo son todos desproporcionadamente pequeños. Estos cambios cerebrales se vuelven más pronunciados con la edad (Vacano, et. al, 2018).

El SD es la causa genética más común de discapacidad intelectual significativa, las personas con SD tienen la mayor incidencia de demencia en personas menores de 60 años en todo el mundo, y las personas con SD constituyen el grupo más grande y bien definido de personas afectadas por la enfermedad de Alzheimer de inicio temprano (Hartley, et. al, 2015). Diferentes estudios han demostrado que las personas con SD tienen mayor riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer debido a que el cromosoma 21 incluye el gen que codifica la producción del gen APP, el cual proporciona información para sintetizar una proteína llamada proteína precursora amiloidea, que en las personas con Alzheimer se corta en fragmentos de beta-amiloide que se acumulan en placas. Tener una copia extra del cromosoma 21 puede aumentar la producción de fragmentos beta-amiloides producidos en el cerebro. Según la Sociedad Nacional del Síndrome de Down, alrededor del 30 por ciento de las personas con SD que están en sus 50 años tienen demencia de Alzheimer (Alzheimer's Association, 2019).

Los cambios neurodegenerativos en las personas con SD representan un problema de salud cada vez más importante, por ello es necesario implementar diferentes enfoques para prevenir, retrasar o mejorar los tratamientos para el SD. Diversos estudios se han realizado

para saber cuáles son los factores de riesgo para tener un hijo con SD, se ha hablado de la relación que existe entre el metabolismo de folato/homocisteína y la deficiencia de la vitamina B12 para que se presente el padecimiento.

El folato (vitamina B9) y la cobalamina (vitamina B12) juegan un papel vital en la síntesis de ácido nucleico, el metabolismo de metionina (en el cual se encuentra como intermediario la homocisteína) y en el traslado de unidades de un carbono esenciales para la división y crecimiento celular adecuado (Ghasemzadeh y Hossein Riazi, 2019). Estas vitaminas también son componentes importantes de las vías metabólicas en humanos. Los derivados de estas vitaminas a menudo funcionan como coenzimas y, por lo tanto, son elementos críticos de numerosas vías bioquímicas (Krupenko, 2020).

La deficiencia de estas vitaminas se ha implicado en varios trastornos neurológicos, como depresión, demencia y enfermedades desmielinizantes como el Alzheimer que puede presentarse en los pacientes con SD. De hecho, un estudio experimental ha demostrado que la deficiencia en ácido fólico y la acumulación de homocisteína induce a la muerte neuronal programada o apoptosis neuronal en el hipocampo (área cerebral relacionada con la memoria) y aumenta la susceptibilidad al péptido β -amiloide generado en la enfermedad de Alzheimer (Kruman, et. al, 2002).

En general una disminución de los folatos celulares da como resultado una metilación inadecuada en el ADN, roturas de la cadena del ADN, recombinación cromosómica defectuosa y segregación cromosómica anormal. En 1999 se informó por primera vez que las alteraciones en el metabolismo del folato/homocisteína, debido a los polimorfismos genéticos de las enzimas metabólicas, podrían aumentar el riesgo de tener un bebé con SD (Coppedé, 2009).

Actualmente el conocimiento sobre los factores de riesgo del SD es amplio, sin embargo, la proteómica y metabolómica han aportado información complementaria de proteínas y metabolitos asociadas a la enfermedad que proporcionan un panel más amplio en el entendimiento de este padecimiento.

Un estudio reciente implementó un análisis proteómico utilizando electroforesis 2D y espectrometría de masas para comparar las proteínas presentes en cerebros fetales con SD y cerebros sanos. La tropomodulina-2 se encontró aproximadamente tres veces mayor en el cerebro fetal con SD mientras que la proteína de unión a ácidos grasos, la cadena de tubulina alfa-1A y la alfa-internexina mostraron una expresión más baja (Sun, 2011).

La tropomodulina forma parte del citoesqueleto de las células y es importante para la unión de la actina y tropomiosina, además desempeña funciones importantes en el aprendizaje o memoria, contracción muscular, desarrollo del sistema nervioso, y transmisión sináptica neurona-neurona. Los ratones que carecen de esta proteína muestran cambios en el comportamiento como hiperactividad, disminución de la activación sensoriomotora y dificultades de aprendizaje. Aparentemente esto se constata con el hallazgo de una sobreexpresión triple en el cerebro fetal con SD, pero deben tener en cuenta las diferencias de especies (Sun, 2011).

La proteína alfa-internexina es un componente estructural del citoesqueleto y está involucrada en la morfogénesis de las neuronas. Puede formar una red estructural independiente sin la participación de otros neurofilamentos. Con los datos encontrados en el estudio se puede sugerir que esta proteína podría representar un candidato a biomarcador temprano para la neurodegeneración inevitablemente desarrollada en el SD que ocurre desde el final del periodo fetal (Sun, 2011).

De igual modo los estudios metabolómicos pueden enfocarse para detectar las alteraciones en las vías metabólicas en los pacientes con SD. Los cambios metabólicos de la trisomía 21 incluyen la sobreexpresión de la proteína amiloide que da como resultado un mayor riesgo de Alzheimer, así como la sobreexpresión de la superóxido dismutasa que da como resultado el aumento del estrés oxidativo observado en individuos con SD (Orozco, et. al, 2019).

En otro estudio se realizaron perfiles metabólicos de plasma de niños con diferentes enfermedades neurodegenerativas entre ellas el SD, el estudio reveló una modificación en las vías del metabolismo de carbono, se encontró que específicamente el ciclo de la

metionina se ve afectado en estos pacientes, lo cual se sabe que es debido a las deficiencias de ácido fólico y vitaminas. Así mismo se identificaron niveles significativamente elevados de colina y N, N-dimetilglicina, además de creatinina y urea en comparación con los controles, los últimos dos metabolitos sugieren una posible reducción de la filtración glomerular renal. Curiosamente, la nefropatía es una complicación común de la cardiopatía congénita (una afección que afecta aproximadamente al 40-50% de las personas con SD) y puede desempeñar un papel contribuyente (Orozco, et. al, 2019).

La colina es un micronutriente esencial que interviene en el desarrollo del cerebro, la función cerebral, la integridad estructural de las membranas celulares, el transporte y el metabolismo de los lípidos y es un precursor de la acetilcolina (ACh). Es proporcionado por la dieta o producido endógenamente a partir de fosfatidilcolina. La colina se oxida a betaína, un donante directo de metilo para la remetilación de homocisteína (Hcy). Las concentraciones plasmáticas de homocisteína total (tHcy) y el bajo nivel de vitamina B12 son biomarcadores importantes que predicen el desarrollo o la presencia de demencia en la población general (Obeid, et. al, 2012). La vitamina B12, actúa como coenzima en el metabolismo de la metionina y de la homocisteína, razón por la que se refleja una estrecha relación entre los niveles plasmáticos de esta y los niveles de homocisteína. Si existe una deficiencia en esta vitamina puede haber una insuficiente disponibilidad de grupos metilo, obstaculizando así el correcto metabolismo de metionina, neurotransmisores y fosfolípidos de membrana, que posteriormente se verá reflejado como deterioro cognitivo.

Otro estudio metabolómico basado en NMR se realizó para conocer cuáles son los biomarcadores metabólicos que pueden distinguir el SD de los embarazos normales durante el primer trimestre de gestación. Se encontraron cambios significativos en las concentraciones de los metabolitos 3-hidroxi butirato, 3-hidroxiisovalerato y 2-hidroxi butirato.

El 3-hidroxi butirato es una fuente indispensable de energía para tejidos extrahepáticos como el cerebro, también es un sustrato importante para la síntesis de fosfolípidos y esfingolípidos que se requieren para el crecimiento cerebral y la mielinización. El 3-

hidroxibutirato y otros cuerpos cetónicos se utilizan en la síntesis de cerebrósidos durante el período de mielinización activa en el cerebro. Los estudios cerebrales desde las 17 semanas hasta la infancia han confirmado la mielinización tardía en el SD en comparación con los controles normales. En general la disminución de la mielinización se asocia con retraso mental (Bahado-Singh y Akolekar, 2013).

El compuesto 3-hidroxiisovalerato es un metabolito que generalmente se excreta en la orina. Las deficiencias múltiples de enzimas, incluidas las de carboxilasa y biotinidasa, dan como resultado niveles elevados de 3-hidroxiisovalerato. Este compuesto es en sí mismo un biomarcador ampliamente utilizado para la deficiencia de biotinidasa. Además, el uso prolongado de anticonvulsivos como la fenitoína puede estar asociado con la elevación del 3-hidroxibitrato. La deficiencia de biotina (vitamina B7) resulta del fracaso de la liberación de biotina (una función de biotinidasa) de las proteínas de la dieta y puede provocar hipotonía, problemas de aprendizaje, trastornos convulsivos y atrofia cerebral, todas las cuales son características del SD (Bahado-Singh y Akolekar, 2013).

El 2-hidroxibutirato es un ácido orgánico que se eleva en estados de estrés oxidativo. Los trastornos metabólicos que afectan el desarrollo del cerebro neonatal, como la acidosis láctica, a menudo se asocian con niveles elevados de 2-hidroxibirato (Bahado-Singh y Akolekar, 2013).

A través de los enfoques de la proteómica y metabolómica es posible mejorar la comprensión sobre las consecuencias patológicas del SD en el desarrollo del cerebro, lo que lleva a creer que ambas ciencias ómicas tienen un gran potencial y campo de investigación muy prometedor ya que han demostrado aportar conocimiento significativo para este padecimiento.

3.5 Desarrollo de fármacos

El desarrollo de fármacos es un proceso complejo que inicia con la identificación de compuestos que se unen a un blanco terapéutico o que muestran actividad biológica en un ensayo de tamizaje (Saldívar y Prieto, 2017). Este proceso surge de la necesidad de obtener nuevos fármacos para enfermedades de las cuales aún no existe una cura o que ofrecen ventajas adicionales sobre los tratamientos actuales, como son disminución de reacciones adversas, mayor eficacia terapéutica, menos interacciones farmacológicas y a su vez una mejora en la calidad de vida de los pacientes.

Se estima que el periodo de tiempo para el desarrollo de una Nueva Entidad Molecular (NME; molécula que emerge del proceso de descubrimiento que no ha sido evaluada previamente en ensayos clínicos) o una Nueva Entidad Biológica (NBE; un anticuerpo, proteína, terapia génica u otra medicina biológica) abarca entre 10 a 15 años y el costo supera los \$ 1 mil millones y, en promedio puede ser alrededor de los \$ 2.6 mil millones (DiMasi, et. al, 2016).

El desarrollo de fármacos consta de diferentes etapas secuenciales (Figura 19) que son necesarias para que el fármaco pueda comercializarse asegurando que cuenta con niveles de eficacia y seguridad aceptables y que no provocará daños en los pacientes.

Las etapas constan de una investigación para la obtención de diferentes dianas terapéuticas, posteriormente se optimiza la síntesis química y su formulación y los compuestos seleccionados se someten a las fases de investigación preclínicas y clínicas. Una vez que se obtienen resultados favorables y que el fármaco en prueba ha demostrado cumplir con los requisitos necesarios para su distribución se aprueba por entidades regulatorias como pueden ser la Food and Drug Administration (FDA) en Estados Unidos, o la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) en México.

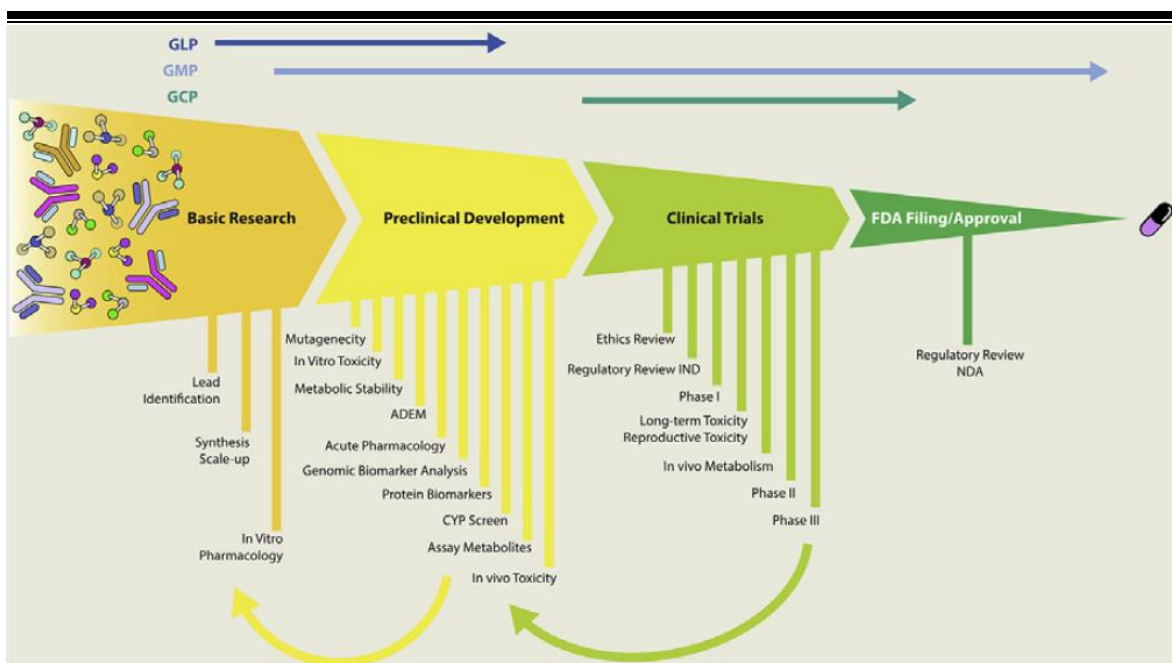


Figura 18. Etapas el desarrollo de fármacos. Obtenida de Mohs y Greig, 2017.

3.5.1 Descubrimiento y diseño del fármaco

El descubrimiento de fármacos es un proceso destinado a identificar una molécula sintética pequeña o una biomolécula grande para una evaluación exhaustiva como posible candidato a fármaco. El descubrimiento implica una serie de procesos como identificación y validación de objetivos, generación y optimización de candidatos clínicos y, finalmente, la identificación de un candidato para un mejor desarrollo (Sinha y Vohora, 2018).

Para obtener moléculas que demuestren su potencial farmacológico es necesario conocer su estructura molecular y la función que ejerce en los procesos biológicos. Para ello se utilizan herramientas para facilitar el descubrimiento y disminuir los costos de desarrollo a las industrias farmacéuticas, como pueden ser el modelaje computacional que ayuda a la selección de las moléculas para evaluación experimental, con esta herramienta es posible conocer a detalle la forma y estructura de la molécula, sus enlaces químicos, composición atómica y, en el caso de fármacos, la manera como la molécula actuaría de manera terapéutica en un determinado objetivo terapéutico, aquellas moléculas resultantes que muestren actividad biológica son llamadas *hits*.

Así mismo el descubrimiento de fármacos se puede realizar basándose en el conocimiento de un objetivo terapéutico, el cual es una entidad a la que se une un ligando endógeno o un fármaco, lo que resulta en un cambio en su comportamiento o función. Las enzimas, los receptores y las proteínas de transporte junto con el ADN y el ARN son los principales objetivos de los medicamentos a nivel molecular (Sakharkar, et. al, 2018), los cuales están involucrados en los procesos biológicos que se consideran disfuncionales en los pacientes con alguna enfermedad específica (Mohs y Greig, 2017). Conociendo la diana terapéutica se pueden identificar compuestos activos con la misma y se puede optimizar su actividad biológica. Estos ensayos se hacen *in vitro* con blancos moleculares aislados de las células (Saldívar y Prieto, 2017).

Un compuesto debe demostrar las siguientes propiedades para la selección como candidato clínico o “leads-cabezas de serie”:

1. Propiedades químicas: debe ser una molécula estable cuya síntesis sea simple y se pueda ampliar fácilmente
2. Propiedades fisicoquímicas: debe cumplir con la regla de 5 de Lipinski y debe tener una solubilidad aceptable
3. Propiedades farmacológicas: debe unirse al sitio objetivo con alta afinidad, debe demostrar selectividad por su objetivo molecular y debe producir un potente efecto funcional *in vitro*. La eficacia del compuesto debe ser demostrable en el modelo animal de enfermedad humana.
4. Propiedades farmacocinéticas: debe poseer una biodisponibilidad aceptable, una vida media adecuada y una distribución adecuada en animales. Las vías metabólicas del compuesto deben estar bien caracterizadas y se deben evaluar las actividades de los metabolitos.
5. Seguridad y potencial de toxicidad: debe estar desprovisto de toxicidad cardíaca, genotoxicidad y hepatotoxicidad, y debe demostrar un perfil aceptable para la inducción e inhibición de las enzimas del citocromo P450. En última instancia, debe estar desprovisto de cualquier toxicidad animal grave (Sinha y Vohora, 2018).

3.5.2 Fase preclínica

La fase preclínica abarca todas las actividades que actúan como un puente entre el descubrimiento de fármacos y el inicio de los primeros estudios en humanos, en este periodo se empieza a estudiar la actividad biológica de los fármacos, tanto en modelos in vitro como en animales de experimentación.

Así mismo es en esta fase donde se realizan los estudios de formulación para la fabricación de la forma farmacéutica adecuada para la administración del fármaco en estudio, lo cual se realiza considerando las características fisicoquímicas del fármaco y los atributos críticos para la calidad del medicamento que toman en cuenta la vía de administración, las propiedades farmacológicas, los excipientes, el sistema de cierre del envase, cualquier dispositivo de dosificación relevante, el tipo de paciente y el proceso de fabricación (Singh, 2018).

Una vez obtenida la forma farmacéutica se realizan estudios farmacocinéticos y de metabolismo. La Farmacocinética es una disciplina que estudia la evolución temporal de las concentraciones de un fármaco y/o metabolitos en un organismo (fluidos, tejidos, compartimentos extracorporales) y de las relaciones matemáticas necesarias que permitan interpretar los datos a través de modelos definidos (Gibaldi y Perrier, 2006).

En general los estudios farmacocinéticos aportan información del proceso ADME que sufre un fármaco una vez administrado al organismo. El conocimiento de este proceso desempeña un papel importante en el diseño de fármacos para identificar mejores candidatos de una manera más eficiente (Zhang y Tang, 2018).

Así mismo es importante conocer cómo se metabolizan los medicamentos en el organismo. El metabolismo de los medicamentos o la biotransformación es el proceso mediante el cual los xenobióticos se modifican enzimáticamente para que la excreción de estos sea más factible. En la mayoría de los casos, esto implica modificaciones en el fármaco original o la adición de grupos funcionales que hacen que la molécula del fármaco original sea más hidrófila y susceptible de eliminación. El hígado es el órgano principal donde se produce el metabolismo de los medicamentos, seguido en gran medida por el intestino y los riñones y

una variedad de órganos adicionales en menor grado (por ejemplo, sangre, piel y cerebro) (Sane y Sinz, 2017).

Los estudios de metabolismo se realizan típicamente utilizando métodos *in vitro* para exponer microsomas hepáticos, fracciones citosólicas, cultivos de hepatocitos, etc., derivados de diferentes especies. Además de generar perfiles de metabolitos de fármacos, los estudios de metabolismo también se utilizan para evaluar el potencial de interacciones farmacológicas y la inhibición o inducción del CYP P450 (Singh, 2018).

La importancia de detectar la inducción o inhibición del CYP P450 en esta fase del desarrollo de medicamentos radica en que pueden presentarse interacciones farmacológicas debido a que, si dos fármacos administrados conjuntamente usan la misma vía metabólica, pueden afectarse entre sí (Stocks, 2013).

En esta fase también debe considerarse los polimorfismos asociados a los genes involucrados en las fases de metabolismo de los fármacos, ya que en el caso de existan pacientes con algún polimorfismo se puede alterar la respuesta del medicamento en el organismo.

Posteriormente de los estudios de farmacocinética y metabolismo se realizan estudios de seguridad farmacológica y toxicológica para establecer las concentraciones máximas seguras en animales y determinar el potencial de efectos adversos del fármaco en desarrollo. Los estudios toxicológicos tanto en animales y humanos deben determinar la dosis en la que el fármaco no causa un efecto, es decir la dosis máxima a la cual un efecto tóxico no se presenta, la dosis letal mínima la cual es la dosis más baja en la cual el fármaco administrado produce la muerte, y la dosis letal media o DL50, que representa la dosis que ocasiona la muerte en el 50% de los animales de experimentación.

La siguiente tabla 4 proporciona una lista de estudios en animales que deben realizarse como parte del paquete de toxicología:

**Tabla 4. Estudios de toxicidad aplicados en desarrollo farmacéutico.
Modificada de Singh, 2018.**

Estudios de toxicidad en desarrollo farmacéutico	Estudios de Toxicidad Sistémica	Estudio de toxicidad de dosis única
		Estudios para el rango de dosis
	Estudios de Toxicidad Local	Estudio de toxicidad dérmica
		Fotoalergia o fototoxicidad dérmica
		Prueba de toxicidad vaginal
		Prueba de tolerancia rectal
		Estudios de toxicidad ocular
		Estudios de toxicidad por inhalación
	Estudios de toxicidad reproductiva	Desarrollo reproductivo femenino
		Estudios de fermtilidad femenina
		Estudios de teratogenicidad
		Estudios perinatales
		Estudios de fertilidad masculina
	Estudios de carcinogenicidad	
Estudios de inmunotoxicidad		
Estudios de mutagenicidad y genotoxicidad		
Estudios de hipersensibilidad		

Es importante considerar que todas las pruebas realizadas en la fase preclínica deben cumplir con las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL), Buenas Prácticas de Fabricación (BPF) y Buenas Prácticas Clínicas (BPC) ya que según la normatividad se requiere que todos los estudios que impliquen el desarrollo de un medicamento deben realizarse siguiendo protocolos establecidos y procedimientos operativos estándar, y deberán ser realizados por personal debidamente capacitado y calificado utilizando equipos calibrados y estandarizados de tamaño y capacidad adecuados. Cualquier enmienda / desviación debe documentarse. Todo el proceso debe ser retrospectivamente verificable para asegurar la calidad del producto final.

3.5.3 Fase clínica

En la fase clínica de desarrollo de medicamentos el objetivo principal es realizar ensayos clínicos en humanos ya que en la fase preclínica el fármaco de interés ha demostrado la seguridad y eficacia adecuada. Durante esta fase tras las primeras dosificaciones del

fármaco será posible encontrar nuevos usos y formas de administración, así como reacciones adversas que no se evidenciaron en la fase preclínica.

Un ensayo clínico es cualquier estudio de investigación que asigne prospectivamente participantes humanos o grupos de humanos a una o más intervenciones relacionadas con la salud para evaluar los efectos sobre los resultados de un medicamento en el estado de salud de los pacientes. Según los requisitos reglamentarios, los ensayos clínicos son obligatorios antes de que los medicamentos sean aprobados y comercializados (Sambandan y Turcu-Stiolica, 2019).

Además, para que puedan llevarse a cabo los estudios, los voluntarios deberán conocer toda la información de los ensayos clínicos a los que se someterán, así como los riesgos en caso de se presenten y beneficios directos e indirectos de su participación, dicha información deberá incluirse en una carta de consentimiento informado que será otorgada a todos los participantes por parte de los investigadores y que deberá ser aceptada y firmada por cada voluntario.

Una vez que el fármaco nuevo posee la autorización gubernamental para su investigación en humanos, y que los voluntarios han aceptado su participación se inicia el estudio clínico a través de las fases de investigación descritas a continuación:

- **Fase I:** Los estudios son realizados principalmente en un pequeño grupo de voluntarios sanos (20-80). Todos los ensayos deben ser realizado por investigadores capaces de evaluar datos farmacológicos y toxicológicos, y para dicha evaluación se realizan estudios de muestras de sangre, orina, heces y otros fluidos biológicos de los voluntarios antes y después de la administración del fármaco en estudio, con la finalidad de evaluar la farmacocinética a través de los valores de absorción, distribución, metabolismo y excreción, así como los efectos que tienen en la salud de los voluntarios. La información recopilada servirá para evaluar la seguridad del fármaco ya que es aquí donde se pueden presentar los primeros efectos dañinos en humanos y por ende será posible establecer los valores de dosis clínicas seguras para un tratamiento determinado.

Existen casos en los que los fármacos en estudio no pueden ser administrados en voluntarios sanos ya que se espera una toxicidad del fármaco, como es el caso de los fármacos citotóxicos, en estos casos se deberán realizar los ensayos clínicos en voluntarios enfermos para evitar exponer a sujetos sanos a los efectos tóxicos que provocarían consecuencias graves en ellos.

- **Fase II:** Esta fase maneja un número considerablemente mayor de pacientes en comparación con la fase I. Los números pueden aumentar gradualmente a 100 o más. A diferencia de los ensayos de fase I, estos ensayos están destinados a tratar voluntarios con una enfermedad específica, y se prefiere que no presenten otros procesos patológicos asociados y que no estén recibiendo ningún otro tipo de tratamiento medicamentoso. La finalidad de esta fase es descubrir problemas de seguridad del medicamento como el objetivo principal. Por ello a esta etapa también se le denomina fase terapéutica exploratoria. La seguridad del medicamento se evalúa con prioridad, seguida de su eficacia (Sambandan y Turcu-Stiolica, 2019). Para evaluar la seguridad y eficacia se debe contar con un grupo control al cual se le administrara placebo o en su caso un medicamento aprobado que haya demostrado tener actividad y efectividad terapéutica similar.
- **Fase III:** En esta fase se realizan ensayos para determinar la eficacia y seguridad del fármaco. Estos son ensayos de fase confirmatoria terapéutica. Generalmente se llevan a cabo en un número relativamente alto (100 a 3000) de pacientes, dependiendo de las áreas terapéuticas, en varios centros, por lo tanto, se llaman ensayos multicéntricos. Estos ensayos generalmente se llevan a cabo durante un período más prolongado (pocos años) para analizar los niveles de dosificación exactos que resultarían beneficiosos en un menor grado / grado de eventos adversos (Sambandan y Turcu-Stiolica, 2019).

-
- **Fase IV:** La fase IV puede considerarse una etapa continua donde los fármacos son monitorizados después de ser aprobados para su uso comercial. En esta fase ya se conoce la eficacia y la relación dosis-respuesta del fármaco, si bien su perfil de efectos secundarios suele ser incompleto y se sigue recopilando información sobre aquellas reacciones confirmadas o probablemente relacionadas con el medicamento, es de suma importancia contar con un sistema de farmacovigilancia para monitorear la seguridad de los medicamentos ya que en diversos casos las reacciones adversas se presentan varios años después de haber tenido la exposición al fármaco.

La farmacovigilancia es una ciencia que se encarga de detección, identificación, evaluación, comprensión, prevención y sospecha de reacciones adversas o cualquier otro problema relacionado con el uso de medicamentos y vacunas. En México el Centro Nacional de Farmacovigilancia (CNFV) forma parte de la Comisión de Evidencia y Manejo de Riesgos (CEMAR) dentro de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) desde el 2001 y tiene como finalidad recibir información de Sospechas de Reacciones Adversas de los Medicamentos, vacunas y dispositivos médicos, por parte de los integrantes de la Farmacovigilancia en el país, así como la evaluación, el análisis y la retroalimentación de la información (COFEPRIS, 2017).

Así mismo en esta fase se puede conocer la efectividad estadística del medicamento ya que se obtendrá más información de diversos grupos de pacientes y se pueden estimar las interacciones farmacológicas, ya que personas con una enfermedad secundaria pueden participar en estos ensayos clínicos (Sambandan y Turcu-Stiolica, 2019).

Toda la información recopilada durante la fase clínica debe ser transmitida a las agencias regulatorias para la aprobación de los compuestos para uso clínico. La COFEPRIS o la FDA tienen la responsabilidad de asegurar que todas las fases del desarrollo de los medicamentos se realizaron conforme a la normatividad aplicable y que demuestran que los medicamentos son eficaces y seguros para uso clínico cotidiano.

3.5.4 Impacto de la proteómica en el desarrollo de fármacos

La utilización de la proteómica en la investigación y desarrollo de nuevos fármacos con los años ha tenido mayor impacto debido a que cada vez más laboratorios utilizan esta herramienta para obtener resultados a menores costos y tiempos.

La proteómica se usa ampliamente en varias etapas, incluyendo ADME, toxicología, fabricación y ensayos clínicos. Las tecnologías analíticas como MS se utilizan para la cuantificación e identificación de proteínas específicas en todas las secciones antes mencionadas.

Para el descubrimiento de fármacos, la proteómica identifica nuevos objetivos farmacológicos para diseñar nuevas terapias que demuestren éxito clínico (Tan, et. al, 2012). La proteómica se ha utilizado para dilucidar con éxito los mecanismos moleculares precisos de los fármacos descubiertos en los análisis fenotípicos y ha contribuido junto con la modificación postraduccional y el análisis de complejos de proteínas a la identificación y validación de objetivos terapéuticos en el descubrimiento de fármacos (Yokota, 2018).

El perfil de expresión de proteínas se aplica para descubrir nuevos biomarcadores que ayuden a la predicción de la seguridad del fármaco en los estudios de toxicología realizados durante la fase preclínica y clínica, ya que se han empleado tanto en modelos animales, como en seres humanos, con la finalidad de evaluar la eficacia y seguridad de los nuevos fármacos. A estos biomarcadores se les conoce como biomarcadores de seguridad y su medición proporciona información sobre los mecanismos moleculares de toxicidad (Boekelheide y Schuppe-Koistinen 2012).

Para la industria farmacéutica los biomarcadores se aplican preclínicamente para la detección temprana de toxicidad, la selección del candidato a fármaco que demuestre mayor seguridad, el monitoreo de seguridad sensible en estudios de toxicidad reguladora y la selección de regímenes de dosificación (Marrer y Dieterle, 2010).

En la fase preclínica el objetivo principal de utilizar biomarcadores es ayudar a seleccionar candidatos a fármacos que sean más propensos a ser tolerados en humanos, además de

explorar y caracterizar todos los mecanismos biológicos que median la toxicidad y los efectos secundarios de los medicamentos (Anadón, et. al, 2019).

Un ejemplo de esto es el estudio con enfoque proteómico que se utilizó para comprender la hepatotoxicidad idiosincrásica causada por la troglitazona, la cual es una tiazolidindiona de primera generación utilizada para el tratamiento de la DM1, este medicamento en las primeras evaluaciones de seguridad e incluso en estudios a largo plazo no causó hepatotoxicidad en roedores ni en monos sanos, sin embargo se retiró del mercado debido a que tras su comercialización se encontraron riesgos inaceptables de hepatotoxicidad. Esto resalta las deficiencias de los ensayos preclínicos que se realizaron para este medicamento y la notable dificultad para predecir la hepatotoxicidad en las pruebas preclínicas en animales. En el estudio se caracterizaron las proteínas mitocondriales en la hepatotoxicidad inducida por troglitazona en un modelo de ratón y los autores demostraron la presencia de lesiones hepáticas a la cuarta semana de la exposición al fármaco. Además, a través de un mapeo de proteínas específicas de ratón se reveló que las proteínas asociadas a los lípidos contribuyen a la lesión mitocondrial y hepática evidente cuando se encuentran bajo la exposición prolongada de la troglitazona (Lee, et. al, 2013).

Aunque el estudio fue realizado después de que los efectos hepatotóxicos se presentaran, la investigación puede servir como ejemplo para que muchas industrias farmacéuticas opten por realizar estudios proteómicos durante la fase preclínica.

Respecto a la fase clínica, los biomarcadores pueden aplicarse para el seguimiento de los ensayos clínicos en humanos, monitoreo de seguridad, desarrollo de atención médica personalizadas y vigilancia de seguridad postcomercialización (Marrer y Dieterle, 2010). La proteómica es una tecnología que puede facilitar mucho la optimización de los ensayos clínicos, no ayudando a la caracterización del fármaco, sino identificando biomarcadores no invasivos de diagnóstico y pronóstico de la respuesta del paciente a la administración del fármaco. Por lo tanto, puede servir para comparar el perfil proteómico de los pacientes incluidos en los ensayos clínicos antes y después de la administración del fármaco, con ello se podrán diferenciar aquellos individuos que respondan favorablemente al fármaco, los

que presenten un nivel alto de toxicidad y aquellos en los que el fármaco no ha presentado niveles de actividad eficaces.

Los ensayos clínicos actuales que utilizan proteómica para el descubrimiento y / o evaluación de biomarcadores están en curso en muchos tipos de cánceres y otras enfermedades. Actualmente, la FDA recomienda la aplicación de un biomarcador verificado y validado para la identificación de la subpoblación clínica objetivo cuando se emplea un medicamento, esta información debe incluirse como parte del registro del medicamento. La prueba inicial que identificaba la subpoblación amplificada de HER-2 fue requerida para la aprobación de la FDA antes de que Trastuzumab recibiera la aprobación para el tratamiento adyuvante de mujeres con cáncer de mama que expresa HER-2 con ganglios linfáticos positivos. La incorporación de biomarcadores predictivos en los ensayos clínicos durante el proceso de desarrollo del fármaco se traducirá en una mayor precisión en la selección de subgrupos de pacientes objetivo (Lee, et. al, 2019).

Por otra parte, un estudio de fase II presentado recientemente, demostró que los tratamientos de cáncer de pulmón dirigidos, a medida de biomarcadores pueden mejorar el resultado del paciente. Este estudio identificó subgrupos de pacientes con cáncer de pulmón avanzado que tenían más probabilidades de beneficiarse de uno o más agentes específicos, según los análisis de biomarcadores realizados con biopsias de tejidos frescos. En general, no produjo un beneficio clínico dramático, el 46% de los pacientes tenían enfermedad estable o respuesta parcial después de 8 semanas de tratamiento con una mediana de supervivencia general de 9 meses en comparación con el 30% de la quimioterapia tradicional para el cáncer de pulmón avanzado. Sin embargo, este estudio demuestra que se han realizado progresos en la estratificación de pacientes basados en biomarcadores. Por lo tanto, los perfiles proteómicos integrales para los cánceres avanzados son prometedores al abordar los objetivos de los biomarcadores predictivos para seleccionar pacientes y terapias dirigidas y eficaces (Lee, et. al, 2019).

En la fase IV correspondiente a la postcomercialización los biomarcadores se pueden utilizar para garantizar la seguridad del producto en la población general. Con ellos se les puede

dar seguimiento a la generación de reacciones adversas, ya que los efectos adversos graves y raros a menudo se observan solo después de la comercialización del medicamento, ya que en los ensayos clínicos el número de pacientes es limitado a comparación de cuando se distribuye el medicamento.

3.5.5 La metabolómica en investigación y desarrollo de medicamentos

La metabolómica tiene un papel potencial en la investigación y el desarrollo farmacéutico desde el descubrimiento de fármacos hasta el desarrollo clínico. La metabolómica se puede utilizar para la selección del fármaco, la optimización del fármaco, las pruebas toxicológicas *in vivo* tempranas y la detección de eficacia *in vivo*. Otras aplicaciones de la metabolómica incluyen la identificación de biomarcadores preclínicos, el mecanismo de la enfermedad y la validación de modelos animales para la enfermedad, y el descubrimiento de biomarcadores para evaluar la seguridad y eficacia clínicas. Las técnicas avanzadas que implican el uso de perfiles metabólicos pueden acelerar el proceso de descubrimiento y desarrollo de fármacos mediante la identificación temprana y la eliminación de candidatos falsos y mejorando la seguridad de los nuevos fármacos (Kumar, et. al, 2014).

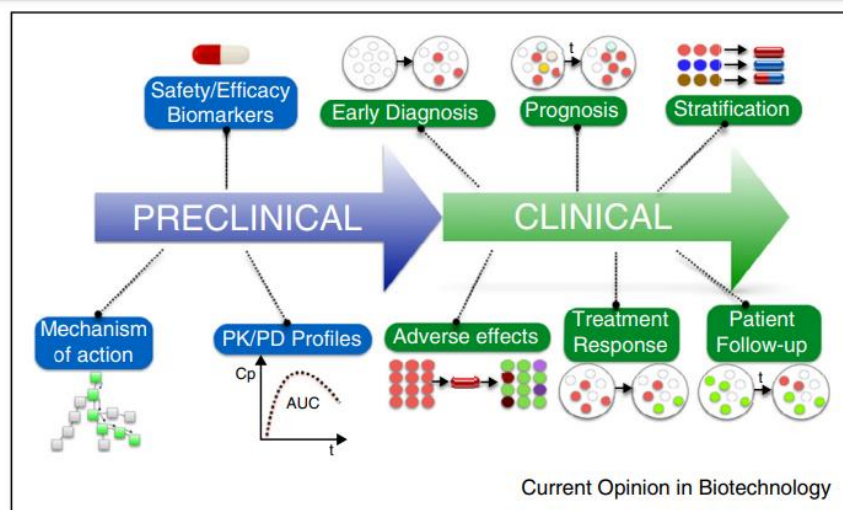


Figura 19. Aplicaciones de la metabolómica en investigación farmacéutica. Los círculos pequeños corresponden a pacientes específicos. Los colores más representativos (blanco, rojo, verde) indican individuos sanos, enfermos y respondedores, respectivamente. Obtenida de Puchades y Pineda, 2015.

Tradicionalmente, los datos de expresión de genes y proteínas han sido la fuente preferida para el descubrimiento de objetivos farmacológicos bajo el supuesto de que los genes o proteínas expresados de manera más diferencial en una enfermedad podrían proporcionar

objetivos terapéuticos interesantes (Puchades y Pineda, 2015). Sin embargo, también los metabolitos pueden ofrecer ventajas para la selección de un objetivo terapéutico debido a que los procesos de las enfermedades pueden estar asociados con cambios metabólicos en el organismo y por lo tanto pueden identificarse nuevos objetivos enzimáticos para una posible intervención farmacológica (Beyoğlu e Idle, 2013) así como los factores que influyen en las enzimas y en su expresión o activación ya que estos intervienen indirectamente en el metabolismo.

Potencialmente, la metabolómica ofrece una herramienta económica y conveniente para controlar la dosificación y la eliminación del fármaco en los pacientes y también para rastrear la toxicidad del fármaco y sus reacciones adversas. Así como la identificación del órgano objetivo de toxicidad, la identificación de varios posibles mecanismos involucrados en la toxicidad, la identificación de biomarcadores para medir la toxicidad, el monitoreo de los perfiles de toxicidad y la toxicocinética (Kumar, et. al, 2014).

Así mismo la identificación de metabolitos o vías metabólicas y redes en sistemas biológicos que se ven afectados por enfermedades o patógenos puede conducir a desarrollo de nuevos fármacos. La identificación de los cambios que se producen en las vías metabólicas de los pacientes puede ser utilizado para determinar puntos críticos en la vía metabólica y estos se pueden explorar en el desarrollo del tratamiento. De esta manera, es posible reducir aún más el número de objetivos terapéuticos y también seleccionar regiones en la red que son más significativas para una patología particular (Cuperlovic-Culf, et. al, 2012). Por ello, la metabolómica puede proporcionar una mayor comprensión de la acción del candidato a fármaco y a una mejor selección de moléculas objetivo, así como la selección de la población de estudio.

Actualmente los inhibidores metabólicos como objetivos terapéuticos, la consideración de redes metabólicas y datos de metabolómica en el análisis de objetivos está conduciendo a una reducción del número de objetivos potencialmente significativos (Harrold y Ramanatham, 2013). Lo cual beneficia asombrosamente a la industria farmacéutica ya que se puede ahorrar tiempo y la inversión monetaria de la investigación podría reducirse.

Con el uso del perfil de metabolitos es posible entender el proceso ADME durante la etapa preclínica y clínica. El sistema ADME se preocupa por identificar las moléculas que son potencialmente dañinas, con la aparición de la metabolómica, los fármacos que probablemente fracasen debido a la toxicidad pueden identificarse fácilmente en las etapas de desarrollo preclínico, por lo cual se podrán desarrollar medicamentos con mayor seguridad, y se disminuirán los fracasos por los imprevistos de toxicidad.

La seguridad de los medicamentos puede verse afectada por interacciones farmacológicas y propiedades químicas de los compuestos. Existe una gran variación en las interacciones farmacológicas entre los individuos (dependiendo de su edad, sexo y genotipo) y también las dosis que se consideran seguras en un individuo pueden ser letales para otro. Por lo tanto, es necesario controlar los niveles séricos y el aclaramiento urinario de fármacos y metabolitos de fármacos en pacientes individuales. La metabolómica tiene un gran potencial en toxicología (especialmente estudios de toxicidad preclínica) (Kumar, et. al, 2014).

Los métodos metabólicos avanzados proporcionan una imagen más precisa y detallada de lo que realmente está sucediendo dentro del cuerpo en un período de tiempo muy corto. Las aplicaciones de la metabolómica son ampliamente utilizadas por las industrias farmacéuticas para realizar los estudios ADME. Además, la FDA planea realizar estos estudios de metabolómica como parte integral de las nuevas aplicaciones de medicamentos (Kumar, et. al, 2014).

La contribución de la metabolómica al descubrimiento del objetivo de la enfermedad se puede dividir libremente en tres grupos:

- a) Análisis de redes metabólicas de importancia y determinación de puntos de cuello de botella para posibles objetivos;
- b) Determinación de redes de efectos fuera del objetivo de importancia en un sistema particular;
- c) Determinación de metabolitos cuya concentración cambia

Aunque las aplicaciones para la metabolómica en el descubrimiento de objetivos de fármacos contra diversas enfermedades se encuentran en las primeras etapas, se han logrado diversas contribuciones importantes; de las cuales mencionaremos a continuación algunas de ellas:

En la industria farmacéutica, una importante aplicación inicial de la metabolómica fue en toxicología. Un consorcio de compañías farmacéuticas intentó encontrar biomarcadores para la toxicidad renal y hepática inducida por fármacos (Rabinowitz, et. al, 2011). El proyecto COMET (Consortium on Metabonomic Toxicology), iniciado en el Imperial Collage de Londres, es un ejemplo de cómo la metabolómica podría entrar en este proceso. Los objetivos de este proyecto de colaboración fueron evaluar el uso de NMR enfocado a la metabolómica para estudiar tempranamente la toxicidad de los fármacos candidatos en las etapas preclínicas y construir sistemas predictivos para la toxicidad de órganos diana. Con esto COMET ha demostrado la aplicabilidad de la metabolómica en las etapas de desarrollo preclínico (Leenders y Frédérich, 2015).

En otro estudio se destacó que la metabolómica basada en NMR y LC-MS permite la interrogación de las concentraciones de los metabolitos a medida que aumentan y disminuyen en un estado de enfermedad en particular, mediante estudios sobre las respuestas metabólicas a la infección por virus. El virus de la influenza A (IVA), el virus del herpes simple tipo 1 (HSV-1) y el citomegalovirus humano (HCMV) se probaron en fibroblastos humanos y se realizó un análisis del metaboloma por LC-MS. Los tres virus provocaron importantes perturbaciones en el metaboloma (Beyoğlu e Idle, 2013).

El mayor cambio en las células infectas con IVA fue el aumento en el ácido acetilneuramínico, que es consistente en la farmacología de oseltamivir (Tamiflu), un medicamento líder para la gripe, que se dirige a la neuraminidasa viral, un objetivo preferido para el tratamiento de esta enfermedad. Por su parte HSV-1 produjo cambios en los desoxinucleótidos DTTP y Dtmp. El Aciclovir, un tratamiento principal para la infección por HSV-1, se dirige a la timidina quinasa viral que sintetiza DTTP y Dtmp. Así mismo el HCMV aumentó principalmente las concentraciones de los compuestos intermedios del

ciclo de Krebs y los acetilaminoácidos (Beyoğlu e Idle, 2013). Estos resultados demuestran que a través de la metabolómica se puede conocer los metabolitos afectados en las enfermedades y por lo tanto será posible desarrollar nuevos fármacos que se dirijan a la inhibición de estas moléculas.

En el cáncer resulta fundamental la comprensión detallada de los mecanismos implicados en el metabolismo y la producción de energía en las células cancerosas ya que esta información resulta útil para diseñar nuevas moléculas de fármacos antineoplásicos. Se han propuesto objetivos enzimáticos potenciales que podrían estar dirigidos a interrumpir el efecto Warburg en las células cancerosas, como bloquear la enzima glucolítica hexoquinasa en la vía de la glucólisis, con 3-bromopiruvato (3-BrPA), que detuvo el crecimiento de las células de cáncer de colon *in vitro* (Beyoğlu e Idle, 2013). El 3- BrPA es un agente alquilante irreversible que puede inhibir muchas enzimas metabólicas como la fosfoglicerato kinasa (PGK), la succinato deshidrogenasa (SDH) o la gliceraldehído-3-fosfatodeshidrogenasa (GAPDH), todas ellas involucradas en la glucólisis (Beyoğlu e Idle, 2013).

Muchos estudios han explorado una diversidad de huellas de metabolitos para evaluar la toxicidad aguda de los órganos mediante el uso de metodologías analíticas. En uno de estos estudios sobre la nefrotoxicidad inducida por D-serina (fármaco para tratar la esquizofrenia), se encontró que los niveles de lactato y aminoácidos: fenilalanina, triptófano, tirosina y valina estaban elevados en la orina. Mientras que, en otro estudio, se descubrió que la toxicidad renal inducida por gentamicina se asociaba con niveles elevados de glucosa y niveles reducidos de N-óxido de trimetilamina (TMAO), ácido xanturénico y ácido quinurénico en la orina. La metabolómica junto con la toxicogenómica revela el mecanismo responsable del daño hepático inducido por la administración de altas dosis de pentametil-6-cromanol (PMCol), un medicamento contra el cáncer. Se ha encontrado que los mecanismos responsables de este daño son la inhibición de la síntesis de glutatión y la alteración de las vías del metabolismo de los fármacos (Kumar, et. al, 2014).

De igual manera mediante un análisis de NRM de biofluidos en varios modelos de roedores condujo al hallazgo de nuevos biomarcadores metabólicos de toxicidad de fármacos

específicos en órganos. El daño papilar renal inducido por fármacos se asocia con niveles alterados de dimetilamina, trimetilamina, N-óxido, N, N-dimetilglicina y succinato en la orina. El espectro de NRM proporciona información sobre los metabolitos asociados con la toxicidad específica de órganos (Kumar, et. al, 2014).

Respecto a la fase clínica la incorporación de la metabolómica puede acortar el tiempo de los ensayos clínicos para agilizar la disponibilidad de los medicamentos en el mercado, así mismo mediante la aplicación del perfil del metaboloma en los voluntarios es posible aumentar la seguridad de los medicamentos, lo cual resulta de gran interés para la regulación y la salud pública.

La metabolómica se puede utilizar en ensayos clínicos para:

- a) Medir los metabolitos y el metabolismo de los fármacos en los voluntarios;
- b) Supervisar el cumplimiento o incumplimiento de los pacientes con los tratamientos a través de la detección de los niveles en plasma del fármaco;
- c) Evaluar si los pacientes están consumiendo alguna droga ilícita o alcohol durante el tratamiento;
- d) Seguir el cumplimiento de la dieta, en caso de que existan restricciones de alimentos que no se puedan consumir, o cantidad en exceso;
- e) Medir la respuesta terapéutica a través de biomarcadores asociados a fármacos o enfermedades;
- f) Diseño de ensayos clínicos seleccionando o dirigiéndose a los subconjuntos específicos de la población en pacientes;
- g) Monitoreo de reacciones adversas, aplicando los biomarcadores de toxicidad;
- h) Determinar las dosis óptimas del medicamento, a través de mediciones de los niveles de los medicamentos;
- i) Estratificar a los pacientes para la selección del tratamiento adecuado según en la fase de la enfermedad en que se encuentre;
- j) Distinguir los fármacos de metabolización rápida y metabolización lenta.

En los ensayos clínicos puede darse el caso de que los pacientes no cumplan con el tratamiento específico al que aceptan someterse. Un estudio metabólico se aplicó para la detección de más de 40 fármacos antihipertensivos o metabolitos de fármacos en orina comúnmente recetados en pacientes con hipertensión. En el estudio se encontró que el 25% de los pacientes no cumplían con el tratamiento, y que los niveles de presión arterial del paciente se correlacionaban directamente con el grado de incumplimiento de la medicación (Wishart, 2016). Por ello con la metabolómica se pueden aplicar estudios similares para verificar la trazabilidad del tratamiento en los voluntarios y con ello se puede prevenir un gasto innecesario para la industria farmacéutica, dado a que el costo asociado con las fallas del tratamiento o retiros de fármacos en etapa tardía resulta en una pérdida monetaria muy grande, la cual puede evitarse al monitorear el cumplimiento del tratamiento de los pacientes.

3.5.6 Proteómica y Metabolómica en productos biofarmacéuticos:

El término biofarmacéutico fue acuñado en la década de 1980 específicamente para referirse a productos para la salud humana generados o producidos por medio de métodos biológicos moleculares modernos que utilizan organismos diseñados, y para distinguir estos de productos biológicos tradicionales directamente extraídos de fuentes biológicas naturales como proteínas obtenidas de plasma o plantas (Castilho, 2017).

Los productos biofarmacéuticos incluyen anticuerpos monoclonales (mAbs), hormonas, factores de crecimiento, proteínas, citocinas, enzimas terapéuticas, factores sanguíneos, vacunas recombinantes y anticoagulantes (Severson, et. al, 2018). Los sistemas basados en células también pueden considerarse biofarmacéuticos para aplicaciones de terapia celular. Por lo tanto, podemos agrupar la naturaleza amplia de los productos biofarmacéuticos en distintas clases (Walsh, 2002).

El primer producto biofarmacéutico recombinante aprobado en los EE. UU. en 1982 fue la insulina humana (Samanen, 2013) y actualmente es uno de los medicamentos proteicos más comunes y se usa para el tratamiento de algunos tipos de diabetes. Los primeros tratamientos utilizaron insulina porcina, pero más recientemente se utilizó principalmente

insulina humana; se produce a partir del gen clonado y se sobreexpresa para la producción a gran escala (Littlechild, 2013).

La producción de proteínas mediante procesos biotecnológicos involucra inicialmente la clonación de un gen específico en el laboratorio, o la construcción de un gen sintético, con la subsiguiente inserción en una célula llamada hospedero. La clonación del organismo o cultivo celular precede en general al desarrollo del proceso en escala piloto para optimizar el proceso a escala industrial (FEUM, 2014).

Los productos biofarmacéuticos, como cualquier otro medicamento requieren la validación del proceso de fabricación, control y aseguramiento de la calidad, los cuales son muy similares a los procesos farmacológicos. Sin embargo, la complejidad de los procesos biotecnológicos es mayor porque involucra metodologías para la propagación celular, purificación y control analítico específicos para garantizar la homogeneidad, consistencia lote a lote y seguridad (FEUM, 2014).

Según la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) dentro de los criterios que se evalúan en las metodologías de los biofarmacéuticos para garantizar la calidad del producto se requiere conocer el contenido de proteínas, esta cantidad usualmente es crítica para productos biológicos y biotecnológicos y debe determinarse usando un método apropiado, comúnmente de naturaleza fisicoquímica. Cuando es aplicable, algunos métodos sencillos tales como la absorbancia UV se pueden usar para determinar la cantidad absoluta de proteína. Métodos como Lowry, Biuret, contenido de aminoácidos y Bradford también dan buenos resultados (FEUM, 2014). En esta etapa de los procesos, en un futuro se podrían aplicar las diferentes técnicas analíticas de la proteómica, como la MS, HPLC, etc., para la cuantificación de proteínas como métodos alternativos.

En la actualidad los productos biofarmacéuticos tienen una mayor tasa de crecimiento, siendo los mAbs la categoría más grande, constituyendo aproximadamente el 39% de las ventas de medicamentos biológicos (Aggarwal, 2014).

Los mAbs son moléculas de proteínas hechas de células de hibridoma mediante tecnología de ADN recombinante. Así mismo pueden definirse como "anticuerpos monoespecíficos

que están hechos por células inmunes idénticas que son todos clones de una célula madre única" (Quinteros, et. al, 2017).

Los mAbs se pueden producir principalmente de dos formas dependiendo de si son de origen humano o murino. Para el caso de los anticuerpos murinos se obtienen de linfocitos del bazo de ratones o ratas previamente sensibilizados. El linfocito se fusiona entonces con una célula transformada de mieloma, dando lugar a un hibridoma. Las células se clonan selectivamente y se usan para producir el mAb deseado, como se muestra en la figura 21.

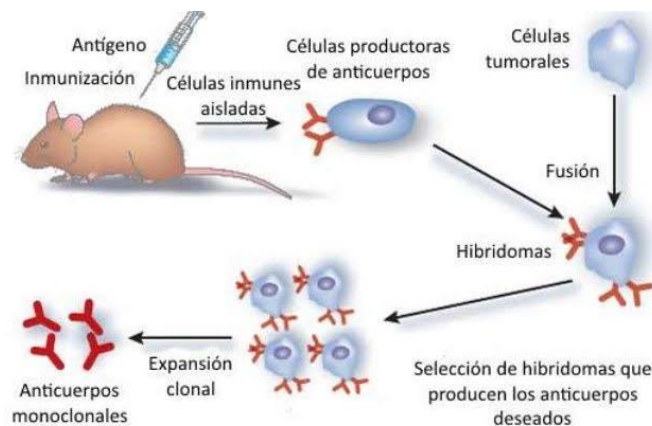


Figura 20. Producción de anticuerpos monoclonales. Obtenida de [https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn%3AANd9GcTH11tm_XSceLuRSsUdKuEIP_ZOqKQ8JYQDzU56alySZiTcPgFO]

Uno de los primeros mAbs aprobados por la FDA es Trastuzumab el cual se une de manera selectiva y eficiente al receptor de HER-2. Este receptor está presente en grandes cantidades en la superficie de algunas células cancerosas, estimulando su crecimiento. Cuando Trastuzumab se une al HER-2, se frena el crecimiento de estas células y por tanto el desarrollo tumoral.

En general los enfoques proteómicos han permitido la generación de conjuntos de datos de alta calidad útiles para aplicaciones que van desde el descubrimiento de anticuerpos monoclonales, hasta la optimización de bioprocesos. Así mismo desempeña un papel importante al identificar aquellos factores que mejoran la capacidad de las células utilizadas para la generación de mAbs lo que conlleva a obtener altos rendimientos de proteínas terapéuticas (Heffner, et. al, 2014).

Actualmente las células CHO (células de ovario de hámster chino) y *Escherichia coli* son las que principalmente se utilizan en el desarrollo biofarmacéutico, sin embargo, la fisiología de estos tipos de células aún no se ha establecido completamente. Los enfoques proteómicos pueden proporcionar nuevos conocimientos sobre estos tipos de células, ayudando en la producción de proteínas recombinantes, la regulación del crecimiento celular y la formulación del medio. La optimización de las preparaciones de muestras y los desarrollos de bases de datos de proteínas están mejorando la cantidad y la precisión de los resultados proteómicos. De esta manera, las innovaciones en proteómica están enriqueciendo la investigación en biotecnología y bioprocesamiento en un amplio espectro de aplicaciones (Heffner, et. al, 2014).

Un análisis proteómico recientemente publicado de las células CHO (Baycin-Hizal, et. al, 2012) ha aumentado el conocimiento de las proteínas y vías de las células CHO y probablemente formará la base para futuros estudios de ingeniería celular destinados a mejorar las características de la línea celular. Este estudio es el primero en determinar el proteoma de las células CHO, aplicando espectrometría de masas. Además del proteoma se analizó el secretoma y glucoproteoma, y se observó que el procesamiento de proteínas y las vías de apoptosis se enriquecen en estas células.

La proteómica comparativa se puede utilizar para identificar proteínas expresadas diferencialmente asociadas con propiedades celulares clave que incluyen producción de proteínas, crecimiento celular, apoptosis reducida, glicosilación favorable y formulaciones de medio optimizadas (Figura 22).

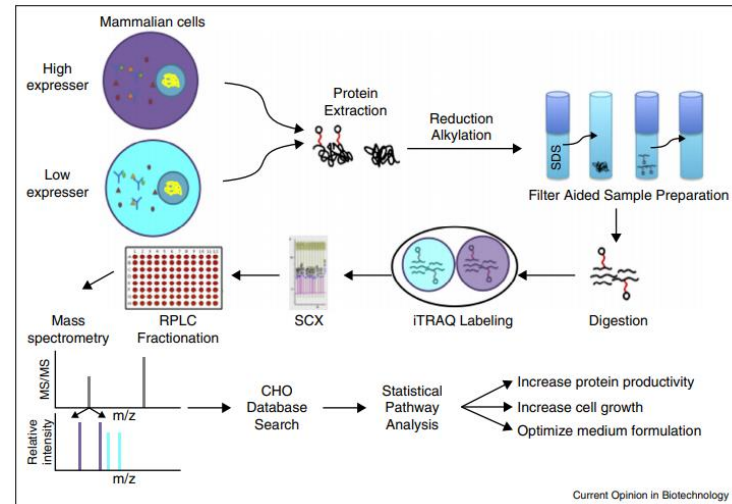


Figura 21. Cuantificación de proteínas de cultivos celulares de mamíferos. Obtenida de Heffner, et. al, 2014.

Al igual que la proteómica, la metabolómica también puede aplicarse para el descubrimiento de mAbs. Se ha demostrado que las células CHO que producen anticuerpos monoclonales experimentan cambios metabólicos cuando se diseñan para producir altos títulos de proteínas recombinantes (Ghorbaniaghdam, et. al, 2014). Por lo cual resultaría interesante que se realizaran estudios metabolómicos para identificar dichos cambios en las células, lo cual será un método clave para la optimización del rendimiento de la producción de mAbs.

La investigación en biofarmacéuticos continua y los avances técnicos relacionados con la terapia génica, terapia celular, genómica, proteómica y metabolómica probablemente respaldarán el desarrollo y la aprobación de una gama más diversa de productos biofarmacéuticos a largo plazo (Walsh, 2005).

3.6 Aspectos Bioéticos

El desarrollo de medicamentos es un proceso que tiene un gran impacto en la salud de la población. Si un medicamento se comercializa aun cuando se sabe que no cumple con la seguridad esperada conllevará a diversas consecuencias en la salud de los pacientes. Por ello la bioética tiene un papel importante en la investigación de sujetos humanos, así como de animales de experimentación.

La bioética comprende los problemas relacionados con valores, conductas y principios que surgen en todas las profesiones de la salud, y son aplicados a las investigaciones biomédicas, así como las tecnologías asociadas a ellas; abordan cuestiones sociales relativas a la salud pública y amplían su marco hasta la experimentación animal y los problemas del medioambiente (Garcés, 2012).

El campo de estudio de la bioética es realmente grande, puede aplicarse a la biología, la biotecnología, la genética y, particularmente en sus modernas expresiones, la genómica, la proteómica, la metabolómica, etc., las cuales están relacionadas con los seres humanos, los sistemas biológicos y las opciones éticas. El equilibrio nacido de esta relación constituye una garantía de los límites en los cuales la ciencia progresa (Hernández, 2019).

El enfoque bioético en las ciencias ómicas se aplica de diversas maneras. Como se ha mencionado los estudios proteómicos y metabolómicos se encuentran estrechamente relacionados con el trato animal y el paciente, en estos estudios se debe considerar que estos sujetos de experimentación sean tratados debidamente y bajo condiciones que no dañen o alteren su estado físico, mental y emocional.

Durante la fase preclínica es importante considerar que la obtención de muestras provenientes de fluidos animales no debe perjudicar al animal de experimentación, se les debe brindar un trato digno, y se debe plantear como objetivo principal minimizar cualquier dolor o angustia que dichos animales puedan sufrir. Con ello se abordará el punto humanitario, así como el cumplimiento de los requisitos con la legislación sobre la protección animal. En general se puede decir que una investigación ómica es éticamente aceptable si se aplica el principio de las 3 R de la experimentación humanizada con animales, que está dirigida a todos los científicos que utilicen modelos animales en sus estudios. La 3 R incluyen: Reemplazo, siempre que sea posible se pueden reemplazar los animales de laboratorio por otro modelo experimental, se puede optar por utilizar métodos que eviten o ayuden a reemplazar el uso de animales; reducción, se deberá disminuir al máximo el número de animales cuando sea posible, se pueden implementar métodos que ayuden a reducir el número de animales que se usan en experimentos; y refinamiento, en esta etapa

se busca refinar los métodos y técnicas utilizados de modo que produzcan al animal el menor sufrimiento posible. Los ejemplos de refinamiento incluyen garantizar que los animales reciban un alojamiento que permita la expresión de comportamientos específicos de la especie, el uso de anestesia y analgesia apropiadas para minimizar el dolor, y entrenar a los animales para que cooperen con los procedimientos para minimizar cualquier angustia.

La investigación científica con seres humanos constituye una discusión ética que existe desde los orígenes de la bioética, precisamente cuando el médico Henry K. Beecher, profesor de anestesiología de la Escuela de Medicina de la Universidad de Harvard, publicara un artículo revelador titulado *Ethics and Clinical Research* (1966). En el escrito, el médico estadounidense presenta casos de investigación en los que la ética del investigador estuvo ausente. En efecto, “uno de ellos consistía en privar de penicilina a un grupo testigo de sífilíticos negros durante un período prolongado de tiempo para estudiar los efectos de otros medicamentos; veinticinco pacientes contrajeron fiebres reumáticas: varios años más tarde, en 1997, los tribunales fallaron a favor de los sobrevivientes perjudicados, indemnizándolos económicamente (Quesada, 2013).

Para evitar este tipo de situaciones, es necesario que a todos los sujetos que se encuentren en las investigaciones se les brinde un trato digno, independientemente del enfoque del estudio.

En los estudios proteómicos y metabolómicos realizados en la fase clínica se tendrá contacto directo con los voluntarios para la obtención de muestras biológicas, igualmente se debe asegurar que los métodos no sean invasivos y se debe informar a los voluntarios de todos los métodos y pruebas a los que serán sometidos, se les deberá entregar una carta de consentimiento informado en donde se especifiquen todas las características del estudio, así como los beneficios y riesgos que pueden presentarse durante la investigación, sin la aceptación de la participación de los voluntarios en los ensayos clínicos ningún estudio podrá ser realizado en ellos. Para la investigación de pacientes con enfermedades neurológicas, que requieran específicamente explorar el “cerebro” solo se podrán realizar

estudios postmortem ya que resultaría realmente invasivo que en un paciente consiente se realicen este tipo de estudios. En este proceso se pone en práctica el principio bioético de respeto por las personas y su autonomía. El consentimiento informado tiene carácter jurídico porque se recoge la firma de los investigadores y de los voluntarios o de un representante legal o tutor en los casos requeridos.

Para garantizar que un ensayo clínico se ha efectuado siguiendo un protocolo científica y éticamente adecuado, respetando los derechos de los pacientes y garantizando la validez de los datos y resultados obtenidos, se deben seguir las BPC actualmente delineadas a escala internacional por la ICH (International Conference on Harmonization) conformada por las autoridades reguladoras de la Unión Europea (CPMP), de los Estados Unidos de Norteamérica (FDA) y del Japón (MHW), más las asociaciones de la industria farmacéutica de estos mismos países; las BPC representan un estándar internacional de calidad ética y científica para diseñar, realizar, registrar y reportar ensayos que involucren la participación de sujetos humanos. El cumplimiento de esta norma garantiza al público que los derechos, la seguridad y el bienestar de los sujetos de prueba están protegidos, de conformidad con los principios que tienen su origen en la Declaración de Helsinki, y que los datos de los ensayos clínicos son creíbles (ICH E6, 2016).

La información obtenida en los estudios ómicos no debe ser divulgada de manera que afecte la integridad de los voluntarios, solo será con fines de investigación y contribución a la mejora de la salud de los seres vivos. Los resultados de la investigación pueden usarse para controlar el riesgo individual, desarrollar nuevos conocimientos, contribuir a intervenciones personalizadas o la comprensión de cómo interactúa el entorno con la fisiología de un individuo (Ferranti, et. al, 2017). Por lo tanto, la realización de investigaciones en sujetos humanos que involucren métodos ómicos requiere la adhesión a los principios bioéticos subyacentes a las políticas federales e institucionales (Williams y Anderson, 2018). Tanto la FDA y la COFEPRIS se encargan de vigilar que las investigaciones se realicen conforme a la normatividad, contemplando que los datos generados deben respetar los aspectos éticos y legales establecidos por la legislación del país. Así mismo se encargan directamente de

prohibir algún ensayo en el que no se actúe éticamente y de asegurar que los medicamentos desarrollados sean seguros para la población.

Además, fue necesario la creación de biobancos tales como el de UK Biobank en Reino Unido, o el biobanco Institucional de la Universidad Autónoma de Nuevo León en México, debido a existe un aumento del número de moléculas analizadas mediante estudios ómicos. Los biobancos son establecimientos que conservan una colección de muestras biológicas concebida con fines de diagnóstico o investigación biomédica. Su finalidad es ayudar a las diversas disciplinas ómicas en el estudio de las enfermedades para mejorar el diagnóstico, prevención y tratamiento de estas (Frigolet y Gutiérrez, 2017). En un futuro, los sistemas de salud podrán utilizar la información obtenida a partir de los estudios ómicos para tratar los padecimientos más frecuentes de una población utilizando la medicina personalizada.

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los avances tecnológicos en las disciplinas de la salud han proporcionado diversos beneficios a la población, desde el descubrimiento del ADN hasta el desarrollo de biofarmacéuticos. Los conocimientos adquiridos de las investigaciones han contribuido al entendimiento de diversas patologías que anteriormente no presentaban una cura y que representaban una alta tasa de mortalidad. Hoy en día contamos con una amplia gama de medicamentos que han beneficiado a la salud de la población, sin embargo aún existen problemas relacionados con medicamentos en la práctica clínica que se necesitan abordar, como inadecuada prescripción de medicamentos, surgimiento de reacciones adversas, interacciones farmacológicas, respuesta inadecuada al tratamiento, resistencia bacteriana, resistencia tumoral, etc., lo cual ha generado cierta preocupación en el área de la salud, por ello cada día se presentan nuevas investigaciones que permiten adquirir conocimientos para el entendimiento de los problemas existentes, así mismo se han presentado posibles soluciones en las que la proteómica y metabolómica juegan un papel fundamental.

Sin duda alguna la proteómica y metabolómica son disciplinas que han revolucionado el área biológica y farmacéutica, ya que a partir de sus resultados se ha generado diferente información benéfica para la población. Estas ciencias ofrecen formas prometedoras para acelerar la comprensión de la biología de los sistemas que se presentan en las enfermedades y con ello pueden ayudar al desarrollo de nuevas terapias.

Los estudios ómicos tienen como objetivo principal contribuir a la mejora de la salud de la población, abordando un margen amplio de estudios de diversas enfermedades, como las que se ejemplificaron en el presente trabajo. El cáncer, la diabetes, el Alzheimer y el Síndrome de Down representan solo algunos casos del campo de estudio de las ciencias ómicas que han generado información relevante sobre posibles biomarcadores proteómicos y metabolómicos que cuentan con potencial para que en un futuro sean implementados en la práctica clínica.

Se decidió realizar la investigación del cáncer y diabetes mellitus debido a su alta tasa de prevalencia y mortalidad que existe actualmente, además de la complejidad y

complicaciones de las enfermedades. Por otra parte, aunque el Alzheimer y el Síndrome de Down no representan un índice alto de muertes a comparación de las dos primeras, es importante posicionar a estas patologías como un problema de prioridad a nivel mundial, ya que se tiende a descuidar a los pacientes con estos padecimientos y simplemente se les brindan medicamentos paliativos para el control de sus enfermedades. Es indispensable brindarles una mayor calidad de vida, ya que ambas patologías empeoran conforme el tiempo, por lo cual resulta importante encontrar nuevas oportunidades para disminuir o retrasar la aparición de los problemas cognitivos que ocurren conforme el desarrollo de estas enfermedades; la proteómica y metabolómica han permitido detectar variaciones sutiles en los perfiles de proteínas y metabolitos de los individuos y han identificado los factores de riesgo de estos padecimientos, lo cual las posiciona en disciplinas de elección para profundizar y reforzar las investigaciones de estas enfermedades.

Sin duda, en el cáncer las investigaciones proteómicas y metabolómicas tienen enormes oportunidades y desafíos por enfrentar. A través de estas ciencias se ha obtenido una cantidad elevada de resultados, se ha demostrado que diferentes proteínas y metabolitos tienen un alto potencial de ser biomarcadores, que podrían ser utilizados con fines predictivos, diagnósticos, pronósticos, o para la estratificación de la enfermedad y selección de tratamiento. Aunque actualmente ya se utilizan biomarcadores con fines terapéuticos, se espera que en un periodo corto los estudios proteómicos y metabolómicos sean incluidos con mayor frecuencia en los estudios básicos de los pacientes oncológicos ya que debido a los diferentes cambios en el organismo y complicaciones de esta enfermedad es de fundamental importancia conocer la cantidad mayor de procesos involucrados en la patología, para brindarles un mejor tratamiento y con ello garantizar en la mayoría de los casos la supervivencia del paciente.

Desde luego, la obtención de los datos de proteínas y metabolitos presentes en los organismos no podrían producirse sin la utilización de las técnicas analíticas, las cuales facilitan el análisis de datos de los perfiles ómicos. Los estudios varían en la selección de las técnicas, sin embargo, en la mayoría se utiliza una técnica de separación seguida de espectrometría de masas. En la proteómica evidentemente se han desarrollado técnicas

complementarias como ITRAQ y los microarreglos, los cuales facilitan la cuantificación e identificación de las proteínas debido a la amplia cantidad en el organismo de estas biomoléculas. Así mismo, la innovación de los equipos también ha evolucionado, nuevos equipos más modernos y con mayor sensibilidad surgen en el mercado, lo cual brinda un soporte con mayor robustez, rapidez, selectividad y confiabilidad en los resultados. Cada una de las técnicas tiene sus limitantes, algunas solo aplican para compuestos volátiles, otras requieren mayor cantidad de muestra y un mayor procesamiento, por ello es importante que dependiendo del enfoque de estudio se seleccionen correctamente las técnicas para facilitar el análisis de los datos. En un futuro el avance tecnológico sumado con el conocimiento de la proteómica y metabolómica podrán desarrollar nuevos tratamientos y fármacos a medida de las necesidades de cada individuo.

De acuerdo con la investigación realizada en general se requieren obtener nuevos biomarcadores para las enfermedades, a partir de las investigaciones se han revelado un gran número de biomarcadores para el cáncer, la Diabetes Mellitus, el Alzheimer y el Síndrome de Down, sin embargo, aún queda por indagar la validación de estos para asegurar que efectivamente los cambios en sus niveles de expresión indican la presencia de alguna enfermedad. Además, existe un porvenir en donde se pretende incluir estos biomarcadores en la medicina personalizada. Tradicionalmente se considera que la genómica es el enfoque más importante para determinar la variación individual y el desarrollo de la medicina personalizada, sin embargo se ha demostrado que dicha variación también depende de otros factores, como la edad, sexo, estilo de vida y de las modificaciones de ciertas biomoléculas, como es el caso de las proteínas y metabolitos, por ello actualmente ha surgido un especial interés en integrar estas ciencias ómicas en los estudios de cada paciente, ya que se tendrá un panorama más amplio de los procesos biológicos de cada individuo y será posible identificar los mecanismos, similitudes o cambios que ocurren en el organismo durante una patología, con la intención de desarrollar nuevos enfoques dirigidos para el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades.

Aunque este enfoque integrativo y personalizado sería lo ideal, su implementación representa un cambio radical y mayores inversiones monetarias en el sector salud e

industrias farmacéuticas, las cuales se verán forzadas a generar nuevos medicamentos específicos, que en algunos casos solo un cierto grupo de individuos los utilizará. Como consecuencia la industria farmacéutica intentará recuperar los costos de desarrollo del producto elevando los precios de los medicamentos, lo cual hará que la población implicada tenga un menor acceso a estos.

Esta situación se ha presentado con los medicamentos huérfanos, en términos monetarios, en la industria farmacéutica no resulta idóneo producir un medicamento que este enfocado solo a un porcentaje de la población, ya que las ganancias no serán las mismas que un medicamento para la población general, por lo cual las industrias no se ven dispuestas a comercializarlos bajo las condiciones habituales de mercado. El desarrollo de un medicamento destinado para el tratamiento de una enfermedad poco común no permite, recuperar el capital invertido para su investigación, por ello las industrias tienen poco interés en su producción. En algunos casos, el gobierno provee capital a las industrias para la investigación y desarrollo de estos productos, sin embargo, se ve limitado. Esta postura puede presentarse también en la medicina personalizada, debido a que algunos pacientes necesitarán medicamentos más específicos y será necesario que sean desarrollados por las industrias, por ello antes de su implementación es importante proponer los beneficios de estas terapias, imponer el costo-beneficio y enfrentar diversos desafíos éticos y legales para los profesionales del sector, así como crear conciencia para que este enfoque pueda estar disponible para toda la población, sin importar el nivel socioeconómico. En este aspecto las investigaciones ómicas son clave para la implementación de la medicina personalizada, se espera que los avances y resultados de estas ciencias apoyen y demuestren que el enfoque personalizado beneficia de diferentes maneras a la salud de los pacientes y que la proteómica y metabolómica son contribuyentes valiosos para esto.

En este sentido, el Licenciado en Farmacia tiene un gran campo de aplicación, en primer lugar cuenta con la capacidad y conocimientos para realizar los estudios proteómicos y metabolómicos para la búsqueda de biomarcadores en cada paciente, los cuales servirán como apoyo para la predicción, diagnóstico, pronóstico de la enfermedad y selección de medicamentos con base a los requerimientos de cada paciente, lo cual hará que se reduzcan

las reacciones adversas, interacciones farmacológicas y tratamientos innecesarios durante la terapia, por lo tanto, el farmacéutico podrá desenvolverse dentro de la Farmacia Hospitalaria y Oncológica tras la implementación de los perfiles ómicos en cada caso clínico para aumentar el éxito de las terapias farmacológicas.

En el desarrollo farmacéutico tanto la proteómica y metabolómica son disciplinas que actualmente se han estado implementado. De acuerdo con los estudios previos los biomarcadores se utilizan cada vez más para ayudar al desarrollo y regulación de medicamentos. Se espera que al igual que se ha considerado el seguimiento de biomarcadores genómicos en las guías ICH, en un futuro también se haga con los proteómicos y metabolómicos cuyos resultados pueden servir como estándares para enfermedades específicas y para apoyar al desarrollo del fármaco, la aprobación regulatoria del medicamento y la práctica clínica. Es importante alentar a los profesionales de la salud en el uso de estas herramientas ómicas para que se obtengan los frutos esperados. En este aspecto el papel del farmacéutico es indispensable, ya que es el experto en medicamentos y puede contribuir al desarrollo de nuevos objetivos terapéuticos, desde su descubrimiento hasta su regulación, aplicando las ciencias ómicas. En particular el farmacéutico en la etapa de descubrimiento de fármacos puede realizar estudios *in silico* para evitar el uso de animales de experimentación, así mismo puede utilizar las bases de datos de proteómica y metabolómica para descubrir las proteínas o metabolitos afectadas en alguna patología para dirigir el desarrollo farmacéutico a estos objetivos terapéuticos, utilizando los modelos computacionales como predicción de la actividad terapéutica de las moléculas. Así mismo puede desempeñarse en los estudios preclínicos y clínicos utilizando métodos analíticos con enfoques proteómicos y metabolómicos para detectar los cambios de las proteínas y metabolitos en las muestras biológicas que ayudaran a la evaluación de la seguridad y eficacia de los nuevos medicamentos.

En México actualmente se cuenta con varios laboratorios dedicados a la investigación proteómica, metabolómica y medicina personalizada, estas entidades han generado información valiosa de científicos mexicanos, en donde el farmacéutico puede participar ampliamente. En Estados Unidos, se implementó un programa en donde el gobierno

financió la investigación para la medicina personalizada, aunque la situación actual en México se encuentra en una gran revolución no debemos olvidarnos de la salud de la población, ya que nuestro país se encuentra entre los primeros lugares de la población que padece Diabetes Mellitus, hipertensión, obesidad, entre otras. En este aspecto, la inversión en México en las ciencias ómicas puede brindarle a la población mexicana una mayor calidad de vida, en donde la participación de los profesionales de la salud, como son médicos, farmacéuticos y enfermeras es esencial para el seguimiento adecuado de las terapias de cada paciente.

5. CONCLUSIONES

1. Los avances tecnológicos en las últimas décadas han contribuido significativamente al conocimiento de los sistemas biológicos a nivel molecular. La proteómica y metabolómica han experimentado mejoras increíbles y proporcionan herramientas para conocer la variación que existe en las composiciones proteicas y de metabólicas presentes en los individuos.
2. La proteómica y metabolómica desempeñan un papel clave en el desarrollo de la medicina personalizada, a través de los biomarcadores que surgen de las investigaciones, se pueden detectar cambios en las proteínas y metabolitos durante una enfermedad o durante la exposición a xenobióticos, al identificarlos será posible entender los mecanismos y el surgimiento de las enfermedades para brindarles a los pacientes un tratamiento personalizado.
3. La proteómica y metabolómica se han aplicado ampliamente en la investigación de diferentes enfermedades como el Cáncer, la Diabetes Mellitus, el Alzheimer y el Síndrome de Down, en las cuales han demostrado que diversas proteínas y metabolitos tienen potencial de ser biomarcadores para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de estas enfermedades.
4. El desarrollo farmacéutico es un proceso en el que se puede aplicar ampliamente la proteómica y metabolómica, desde el descubrimiento y selección del fármaco hasta su evaluación clínica en seres humanos lo cual puede reducir tiempos y costos en la producción de fármacos.
5. El farmacéutico desempeña un papel fundamental en la implementación de la proteómica y metabolómica dentro del área de la salud, la combinación de sus conocimientos en ciencias ómicas y farmacéuticas son clave para el desarrollo de la medicina personalizada y el surgimiento de nuevos fármacos.

6. REFERENCIAS

- Abel, L., Kutschki, S., Turewicz, M. (2014). *Autoimmune profiling with protein microarrays in clinical applications*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1844(5), 977–987.
- Aggarwal, S. (2014). *What's fueling the biotech engine-2012 to 2013?* *Nature Biotechnology*, 32(1), 3239.
- Alzheimer's Association. (2019). 2019 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia* 15, 321-387.
- Amberg, A., Riefke, B., Schlotterbeck, G., Ross, A., Senn, H., Dieterle, F. (2017). *NMR and MS Methods for Metabolomics*. *Drug Safety Evaluation*, 229–258.
- Anadón, A., Martínez, M., Ares, I. (2019). *Biomarkers of Drug Toxicity and Safety Evaluation*. *Biomarkers in Toxicology*, 655–691.
- Arneth, B., Arneth, R., & Shams, M. (2019). *Metabolomics of Type 1 and Type 2 Diabetes*. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10), 2467.
- Astarita, G., Dhungana, S., Shrestha, B. (2019). *Enfoques metabólicos para estudiar el microambiente tumoral*. *Métodos en enzimología*.
- Bahado-Singh, R., Akolekar, R. (2013). *Metabolomic analysis for first trimester Down syndrome prediction*. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 208(5), 371.e1–371.e8.
- Ballesté, R. (2018). *Proteomics. The Use of Mass Spectrometry Technology (MALDI-TOF) in Clinical Microbiology*, 1–17.
- Baycin-Hizal, D., Tabb, D., Chaerkady, R., Chen, L., Lewis, N. (2012). *Proteomic analysis of Chinese hamster ovary cells*. *J Proteome Res* 11:5265-5276.
- Beckett, P. (2012). *The Basics of 2D DIGE*. *Difference Gel Electrophoresis (DIGE)*, 9–19.
- Bedia, C. (2018). *Experimental Approaches in Omics Sciences*. *Comprehensive Analytical Chemistry*. Barcelona.
- Berg, J., Tymoczko, J., Stryer, L. (2009). *Bioquímica*. Barcelona. Reverte.
- Beyoğlu, D., & Idle, J. R. (2013). *Metabolomics and its potential in drug development*. *Biochemical Pharmacology*, 85(1), 12–20.

Boekelheide, K., Schuppe-Koistinen, I. (2012). *SOT/EUROTOX debate: biomarkers from blood and urine will replace traditional histopathological evaluation to determine adverse responses*. *Toxicol. Sci.* 129, 249e255

Campos, P. (2019). *I Congreso Interfacultativo de Innovación Docente*. CEU. Sao Pablo.

Carnero, A. (2019). *Biomarcadores en medicina*. *Hidden Nature*. 7, 9-13.

Castilho, J. (2017). *Biopharmaceutical products: An Introduction*. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Human and Animal*. Elsevier. Estados Unidos

Claudino, W. M., Goncalves, P. H., di Leo, A., Philip, P. A., Sarkar, F. H. (2012). *Metabolomics in cancer: A bench-to-bedside intersection*. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 84(1), 1–7.

Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. (2017). *Farmacovigilancia en México*. Consultado el 04 de octubre de 2021. Recuperado de [Farmacovigilancia en México | Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios | Gobierno | gob.mx \(www.gob.mx\)](http://www.gob.mx/farmacovigilancia).

Coppedè, F. (2009). *The complex relationship between folate/homocysteine metabolism and risk of Down syndrome*. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 682(1), 54–7

Corrales, F., Odriozola, L. (2020). *Proteomic Analyses*. *Principles of Nutrigenetics and Nutrigenomics*, 69–74.

Creative Proteomics. (2019). *Análisis de proteómica basado en ITRAQ*. Consultado el 18 de diciembre de 2019. Recuperado de <https://www.creative-proteomics.com/services/itraq-based-proteomics-analysis.htm>.

Cuperlovic-Culf, M., S. Culf, A., Jr Morin, P., Touaibia, M. (2012). *Application of Metabolomics in Drug Discovery, Development and Theranostics*. *Current Metabolomics*, 1(1), 41–57.

De la Figueroa, M., Sanchez, M. (2018). *Medicina personalizada en atención primaria*. *Medicina de Familia. SEMERGEN*, 44(1), 1–2.

De Leeuw, F., Peeters, C., Kester, M., Harms, A., Struys, E., Hankemeier, T., Teunissen, C. (2017). *Blood-based metabolic signatures in Alzheimer's disease*. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*, 8, 196–207.

DiMasi J., Grabowski, H., Hansen, R. (2016). *Innovation in the pharmaceutical industry: new estimates of R&D costs*. *J Health Econ* 47:20–33.

Duarte, J. G., & Blackburn, J. M. (2017). *Advances in the development of human protein microarreglos*. *Expert Review of Proteomics*, 14(7), 627–641.

Fernández, J., García, R., Carabias, J. (2019). *A Systematic Workflow for Design and Computational Analysis of Protein Microarreglos*. *Encyclopedia of Biomedical Engineering*, 213–222.

Ferranti, E., Grossmann, R., Starkweather, A., Heitkemper, M. (2017). *Biological determinants of health: Genes, microbes, and metabolism exemplars of nursing science*. *Nursing Outlook*, 65(5), 506–514.

FEUM. *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos* (2014). 11a edición. *Productos biotecnológicos* (2581 – 2587 pp) México.

Frigolet, M., Gutiérrez R. (2017). *Ciencias ómicas, ¿cómo ayudan a las ciencias de la salud?* *Revista Digital Universitaria*. UNAM. Vol. 18, Núm. 7.

Garcés, L. (2012). *Bioética en la experimentación científica con animales*. Consultado el 25 de octubre de 2019. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/695/69524955012.pdf>.

Geiger, T., Madden, S. F., Gallagher, W. M., Cox, J., & Mann, M. (2012). *Proteomic Portrait of Human Breast Cancer Progression Identifies Novel Prognostic Markers*. *Cancer Research*, 72(9), 2428–2439.

Ghasemzadeh, S. y Hossein Riazi, G. (2019). *Inhibición de la formación de fibrillas de amiloide tau por ácido fólico: estudios in vitro y teóricos*. *Revista Internacional de Macromoléculas Biológicas*.

Ghorbaniaghdam, A., Chen, J., Henry, O. (2014). *Analyzing Clonal Variation of Monoclonal Antibody-Producing CHO Cell Lines Using an In Silico Metabolomic Platform*. *PLoS ONE*, 9(3), e90832.

Gibaldi, M., Perrier, D. *Farmacocinética* (Versión en español). Barcelona: Reverté; 2006. 352 p.

Gómez, E., Hernández, E., Velarde, A. (2017). *2D-DIGE as a strategy to identify serum biomarkers in Mexican patients with Type-2 diabetes with different body mass index*. *Scientific Report*. 7:46536.

Gómez, M. (2017). *Aplicación de técnicas proteómicas de alta resolución al estudio de la obesidad y la diabetes tipo 2: Análisis de la disfunción mitocondrial en el tejido adiposo*

humano. Consultado el 28 de octubre de 2019. Recuperado de <https://digital.csic.es/bitstream/10261/191017/1/tecniproteoaiposo.pdf>

Guasch-Ferré, M. (2016). *Metabólica en prediabetes y diabetes: una revisión sistemática y metaanálisis*. Diabetes care. 39 (5): 833 - 846.

Gutiérrez, C., Roura, A., Olivares, J. (2017). *Mecanismos moleculares de la Resistencia a la Insulina: Una Actualización*. Gaceta Médica de México. 153:214-28.

Habtemariam, S. (2019). *Type-2 diabetes: Definition, diagnosis and significance*. Medicinal Foods as Potential Therapies for Type-2 Diabetes and Associated Diseases, 3–10.

Harrold, J., Ramanathan, M. (2013). *Network-based approaches in drug discovery and early development*. Clin Pharmacol Ther 94, 651-658.

Hartley, D., Blumenthal, T., Carrillo, M., DiPaolo, G., Esralew, L. (2015). *Down syndrome and Alzheimer's disease: Common pathways, common goals*. Alzheimer's Dement 11, 700–709.

Heffner, K., Hizal, D., Kumar, A. (2014). *Exploiting the proteomics revolution in biotechnology: from disease and antibody targets to optimizing bioprocess development*. Current Opinion in Biotechnology, 30, 80–86.

Hernández, E. *La bioética y los derechos y libertades fundamentales del hombre*. Consultado el 29 de noviembre de 2019. Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcps/v47n194/0185-1918-rmcps-47-194-137.pdf>.

Hoofnagle, A., Bystrom, C. (2018). *Proteomics*. Principles and Applications of Molecular Diagnostics, 381–401.

Hou, Q., Tan, H., Lim, K., Lim, T. (2013). *Identification and Functional Validation of Caldesmon as a Potential Gastric Cancer Metastasis-associated Protein*. Journal of Proteome Research, 12(2), 980–990.

Hoy, M. (2019). *ADN, estructura génica y replicación de ADN*. Genética molecular de insectos, 3–36.

Husi, H., Albalat, A. (2014). *Proteomics*. Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicine, 147–179.

ICH Efficacy Guideline E6. *Guideline for Good Clinical Practice (2016)*. Consultado el 14 de noviembre de 2019. Recuperado de https://database.ich.org/sites/default/files/E6_R2_Addendum.pdf

Johnson, C. H., Ivanisevic, J., Siuzdak, G. (2016). *Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms*. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 17(7), 451–459.

Kang, C., Lee, Y., & Lee, J. E. (2016). *Recent advances in mass spectrometry-based proteomics of gastric cancer*. *World Journal of Gastroenterology*, 22(37), 8283.

Khurshid, Z., Zafar, M., Khan, R., Najeeb, S., Slowey, P., Rehman, I. (2018). *Role of Salivary Biomarkers in Oral Cancer Detection*. *Advances in Clinical Chemistry*, 23–70.

Klassen, A., Tedesco A. (2017). *Metabolomics: Definitions and Significance in Systems Biology*. In: Sussulini A. *Metabolomics: From Fundamentals to Clinical Applications*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 965. Springer, Cham.

Konstantinou, G. N. (2017). *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*. *Food Allergens*, 79–94.

Kruman, II, Kumaravel, T., Lohani, A., Pedersen, W., Cutler, R., Kruman, Y., Haughey, N., Lee, J., Evans, M., Mattson, M. (2002). *La deficiencia de ácido fólico y la homocisteína perjudican la reparación del ADN en las neuronas del hipocampo y las sensibilizan a la toxicidad amiloide en modelos experimentales de la enfermedad de Alzheimer*. *The Journal of Neuroscience: el diario oficial de la Society for Neuroscience*, 22 (5), 1752–1762.

Krupenko, N. (2020). *Folate and Vitamins B6 and B12*. *Principles of Nutrigenetics and Nutrigenomics*, 295–302.

Kumar, B., Prakash, A., Ruhela, R. (2014). *Potential of metabolomics in preclinical and clinical drug development*. *Pharmacological Reports*, 66(6), 956–963.

Lam, Y. W. F., Duggirala, R., Jenkinson, C. P., Arya, R. (2019). *The Role of Pharmacogenomics in Diabetes*. *Pharmacogenomics*, 247–269.

Lanucara, F., & Eyers, C. E. (2011). *Mass Spectrometric-Based Quantitative Proteomics Using SILAC*. *Methods in Systems Biology*, 133–150.

Lee, Y. H., Goh, W. W. B., Ng, C. K., Raida, M., Wong, L., Lin, Q. (2013). *Integrative Toxicoproteomics Implicates Impaired Mitochondrial Glutathione Import as an Off-Target Effect of Troglitazone*. *Journal of Proteome Research*, 12(6), 2933–2945. doi:10.1021/pr400219s

Leenders, J., Frédérich, M. (2015). *Nuclear magnetic resonance: a key metabolomics platform in the drug discovery process*. *Drug Discovery Today: Technologies*, 13, 39–46.

Littlechild, J. A. (2013). *Protein structure and function*. *Introduction to Biological and Small Molecule Drug Research and Development*, 57–79.

Liu, Q., Zhou, X., Wu, H., Wu, L., & Zheng, B. (2019). *A polydopamine patterned perfluoropolymer-based substrate for protein microarray applications*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 287, 306–311 (a).

Liu, Y., Bai, F., Liu, N., Ouyang, F., & Liu, Q. (2019). *The Warburg effect: A new insight into atrial fibrillation*. *Clinica Chimica Acta* (b).

Lozano, M. (2017). *Efecto Warburg y los cambios metabólicos asociados al cáncer*. Consultado el 16 de octubre de 2019. Recuperado de <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/24974/TFG-M-N1000.pdf;jsessionid=6FB2C00A256987FAF64CC56190693E50?sequence=1>

Lu, W., Clasquin, M., Melamud, E., Amador, D., Caudy, A., Rabinowitz, J. (2010). *Metabolomic analysis via reversed-phase ion-pairing liquid chromatography coupled to a stan alone orbitrap mass spectrometer*. *Anal Chem* 82: 3212– 3221.

Marrer, E., Dieterle, F. (2010). *Impact of biomarker development on drug safety assessment*. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 243(2), 167–179.

May, C., Brosseron, F., Pfeiffer, K., Meyer, H. E. (2012). *Proteome Analysis with Classical 2D-PAGE*. *Quantitative Methods in Proteomics*, 37–46.

McCartney, A., Vignoli, A., Biganzoli, L., Love, R., Tenori, L., Luchinat, C. (2018). *Metabolomics in breast cancer: A decade in review*. *Cancer Treatment Reviews*, 67, 88–96.

Meleady, P. (2017). *Two-Dimensional Gel Electrophoresis and 2D-DIGE*. *Difference Gel Electrophoresis*, 3–14.

Mendonça, CF, Kuras, M., Nogueira, FCS, Plá, I., Hortobágyi, T. (2019). *Firmas proteómicas de regiones cerebrales afectadas por la patología tau en etapas tempranas y tardías de la enfermedad de Alzheimer*. *Neurobiología de la enfermedad*, 104509.

Mohs, R., Greig, N. (2017). *Drug discovery and development: Role of basic biological research*. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*, 3(4), 651–657.

Murshed, H. (2019). *Molecular Cancer Biology*. *Fundamentals of Radiation Oncology*, 89–104.

Obeid, R., Hartmuth, K., Herrmann, W., Gortner, L., Rohrer, T. (2012). *Blood biomarkers of methylation in Down syndrome and metabolic simulations using a mathematical model*. *Molecular Nutrition & Food Research*, 56(10), 1582–1589.

Olivares, J., Arellano, A. (2008). *Bases Moleculares de las Acciones de la Insulina*. *Rev Edu Bioq*. 27:9-18.

Orozco, J., Hertz-Picciotto, I., Abbeduto, L. (2019). *Metabolomics analysis of children with autism, idiopathic-developmental delays, and Down syndrome*. *Translational Psychiatry*, 9(1).

Paris, D., Maniscalco, M., & Motta, A. (2018). *NMR-based metabolomics in respiratory medicine*. *European Respiratory Journal*, 1801107.

Pasquali, M., Serchi, T., Planchon, S. (2017). *2D-DIGE in Proteomics*. *Functional Genomics*, 245–254.

Peña, C., Roca, M., Hervás, D. (2019). *Plasma metabolomics in early Alzheimer's disease patients diagnosed with amyloid biomarker*. *Journal of proteomics*, 200, 144-152.

Puchades, L., Pineda, A. (2015). *Metabolomics in pharmaceutical research and development*. *Current Opinion in Biotechnology*, 35, 73–77.

Quero, S., Párraga, N., García, M., Sabrià, M. (2016). *Proteómica en enfermedades infecciosas*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 34(4), 253–260.

Quesada, F. (2013). *La bioética y los derechos humanos: una perspectiva filosófica sobre la justicia en la investigación científica y experimentación clínica con seres humanos*. *Medicina Legal de Costa Rica*, 30(2), 24-34.

Quinteros, D., Bermúdez, J., Ravetti, S., Cid, A., Allemandi, D. (2017). *Therapeutic use of monoclonal antibodies: general aspects and challenges for drug delivery*. *Nanostructures for Drug Delivery*, 807–833

Rabinowitz, J., Purdy, J., Vastag, L., Shenk, T., Koyuncu, E. (2011). *Metabolómica en el descubrimiento de objetivos farmacológicos*. *Simposios de Cold Spring Harbor sobre biología cuantitativa*, 76 (0), 235–246.

Ramateur, R., Berger R. (2013). *Human Metabolomics: strategies to understand biology*. *Current Opinion in Chemical Biology*, 17(5), 841–846.

Saavedra, W., Vásquez, V., Rojas, C. (2015). *Técnicas analíticas empleadas en metabolómica de alimentos*. *Universidad Nacional de Trujillo*, 191-210.

Sakharkar, M. K., Rajamanickam, K., Babu, C. S., Madan, J. (2018). *Preclinical: Drug Target Identification and Validation in Human*. *Reference Module in Life Sciences*.

Saldívar-González, F., Prieto-Martínez, F. (2017). *Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional*. *Educación Química*, 28(1), 51–58.

Sallam, R. (2015). *Proteomics in cancer biomarkers discovery: Challenges and applications*. *Disease Markers*, 2015, 1–12.

Samanen, J. (2013). *Similarities and differences in the discovery and use of biopharmaceuticals and small-molecule chemotherapeutics*. Introduction to Biological and Small Molecule Drug Research and Development, 161–203.

Sambandan, G., Turcu-Stiolica, A. (2019). *Clinical Trials*. Clinical Pharmacy Education, Practice and Research, 323–344.

Sancesario, G., Bernardini, S. (2018). *Alzheimer's disease in the omics era*. Clinical Biochemistry, 59, 9–16.

Sane, R., Sinz, M. (2017). *Introduction of Drug Metabolism and Overview of Disease Effect on Drug Metabolism*. Drug Metabolism in Diseases, 1–19.

Scalbert, A., Ferrari, P. (2020). *Descubrimiento de biomarcadores*. Metabolomics for Biomedical Research, 201–226.

Severson, K., VanAntwerp, J., Natarajan, V., Antoniou, C., Thömmes, J., Braatz, R. (2018). *A Systematic Approach to Process Data Analytics in Pharmaceutical Manufacturing*. Multivariate Analysis in the Pharmaceutical Industry, 295–312. doi:10.1016/b978-0-12-811065-2.00012-6.

Shen, C. (2019). *Quantification and Analysis of Proteins*. Diagnostic Molecular Biology, 187–214.

Singh, G. (2018). *Preclinical Drug Development*. Pharmaceutical Medicine and Translational Clinical Research, 47–63.

Sinha, S., Vohora, D. (2018). *Drug Discovery and Development*. Pharmaceutical Medicine and Translational Clinical Research, 19–32

Stagljar, I. (2016). *The power of OMICs*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 479(4), 607–609.

Stocks, M. (2013). *The small molecule drug discovery process – from target selection to candidate selection*. Introduction to Biological and Small Molecule Drug Research and Development, 81–126.

Sun, Y. (2011). *Un método proteómico basado en gel revela varias anomalías en las vías de las proteínas en el cerebro con Síndrome de Down*. Revista de Proteómica, 547-557.

Tan, H., Lee, Y., Chung, M. (2012). *Cancer proteomics*. Mass Spectrometry Reviews, 31(5), 583–605.

Tang, Y., Li, Z., Lazar, L., Fang, Z., Tang, C. (2019). *Flujo de trabajo de la metabolómica para el cáncer de pulmón: descubrimiento de biomarcadores*. Clinica Chimica Acta, 495, 436-

Terzi, F. y Cambridge, S. (2017). *Una visión general de las estrategias avanzadas de etiquetado SILAC para la proteómica cuantitativa*. Proteomics in Biology, Parte A, 29–47.

Toss, A., De Matteis, E., Rossi, E., Casa, L., Iannone, A., Federico, M., Cortesi, L. (2013). *Ovarian Cancer: Can Proteomics Give New Insights for Therapy and Diagnosis?* International Journal of Molecular Sciences, 14(4), 8271–8290.

Troisi, J. (2019). *Metabolómica en Pruebas Genéticas*. Avances en Química Clínica. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2019.07.009>

Vacano, G., Gibson, D., Turjoman, A., Gawryluk, J., Geiger, J., Duncan, M., Patterson, D. (2018). *Proteomic analysis of six- and twelve-month hippocampus and cerebellum in a murine Down syndrome model*. Neurobiology of Aging, 63, 96–109

Vernieri C, Casola S, Foiani M, Pietrantonio F, de Braud F, Longo V. (2016). *Targeting cancer metabolism: Dietary and pharmacologic interventions*. Cancer Discov, 6:1315–33.

Walsh, G. (2002). *Biopharmaceuticals and biotechnology medicines: an issue of nomenclature*. European Journal of Pharmaceutical Sciences 15, 135-138.

Walsh, G. (2005). *Biopharmaceuticals: recent approvals and likely directions*. Trends in Biotechnology 23, 553e558

Wang, N., Zhu, F., Chen, L., & Chen, K. (2018). *Proteomics, metabolomics and metagenomics for type 2 diabetes and its complications*. Life Sciences.

Watson, J. (2008). *Biología molecular del gen*. Medica Panamericana. 5ed. Buenos Aires.

Wilkins, J., Trushina, E. (2018). *Application of metabolomics in Alzheimer's disease*, Front. Neurol. 8, 719.

Williams, J. K., & Anderson, C. M. (2018). *Omics research ethics considerations*. Nursing Outlook, 66(4), 386–393.

Wilson, J., Burgess, R., Mao, Y.-Q., Luo, S., Tang, H., Jones, V. (2015). *Antibody Arrays in Biomarker Discovery*. Advances in Clinical Chemistry, 255–324.

Wishart, D. (2016). *Emerging applications of metabolomics in drug discovery and precision medicine*. Nature Reviews Drug Discovery, 15(7), 473–484.

Xu, Q., Cui, Z., Venkatraman, G., Gomes, A. (2012). *The use of biophysical proteomic techniques in advancing our understanding of diseases*. Biophysical Reviews, 4(2), 125–135.

Yadav, D., Tanveer, A., Malviya, N., & Yadav, S. (2018). *Overview and Principles of Bioengineering*. Omics Technologies and Bioengineering, 3–23. doi:10.1016/b978-0-12-804659-3.00001-4

Yanes, O. (2015). *Metabolómica: la ciencia ómica más multidisciplinaria*. Consultado el 27 de noviembre de 2019. Recuperado de <https://www.sebbm.es/revista/pdf.php?id=42>

Yang, M., Soga, T., Pollard, P. (2012). *The emerging role of fumarate as an oncometabolite*. Front. Oncol., 2, 85.

Yokota, H. (2018). *Applications of proteomics in pharmaceutical research and development*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics.

Zhang, A., Qiu, S., Xu, H., Sun, H., Wang, X. (2014). *Metabolomics in diabetes*. Clinica Chimica Acta, 429, 106–110.

Zhang, A., Sun, H., Wang, P., Han, Y. y Wang, X. (2012). *Técnicas analíticas modernas en el análisis de la metabolómica*. El analista, 137 (2), 293–300. doi: 10.1039 / c1an15605e

Zhang, Z., Tang, W. (2018). *Drug metabolism in drug discovery and development*. Acta Pharmaceutica Sinica B.

Zvěřová, M. (2019). *Clinical aspects of Alzheimer's disease*. Clinical Biochemistry. 72, 3-6.