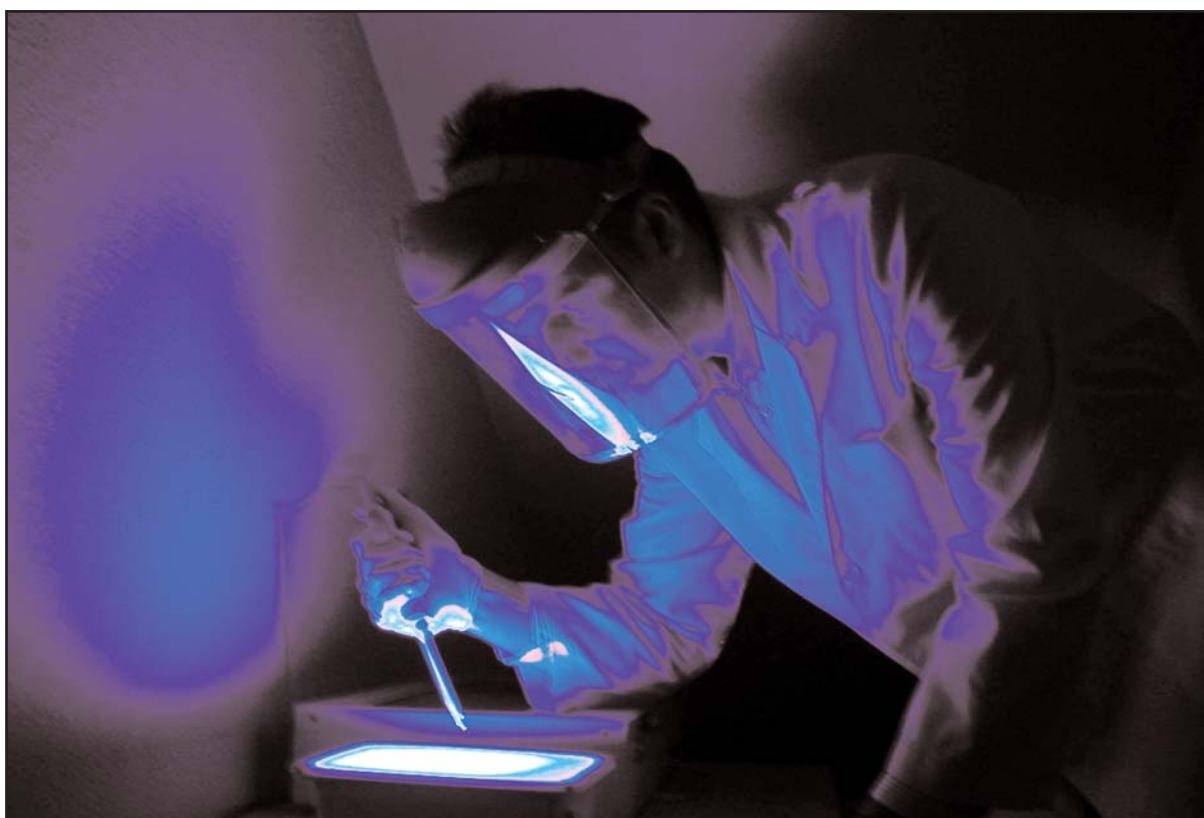


Una molécula diseñada por biólogos de la UIB se muestra veinte veces más efectiva que el ácido oleico para tratar la hipertensión

PALABRAS CLAVE: presión sanguínea, ácidos grasos, señal de transducción, proteínas G, hipotensión

El descubrimiento del papel de los lípidos en las vías de señalización celular inicia una nueva línea de tratamiento de este trastorno cardiovascular: la terapia lipídica

KEYWORDS: blood pressure, fatty acids, signal transduction, G proteins, hypotension



Un investigador realiza un experimento bajo luz ultravioleta.

Una molécula análoga al ácido oleico y diseñada por el Grupo de Investigación de Biomedicina Molecular y Celular de la UIB que dirige el doctor Pablo Escribá se ha demostrado eficaz para el tratamiento de la hipertensión y ha abierto nueva línea de investigación farmacológica: la terapia lipídica.

La novedad consiste en actuar sobre la estructura lipídica de la membrana celular para intervenir en determinadas vías de señalización celular implicadas en la corrección de la hipertensión arterial.

La revista *Hypertension* acaba de publicar (4/02/2004) un trabajo del grupo en el que queda probada la eficacia de la molécula en experimentos realizados en animals

El ácido hidroxioleico, una molécula de diseño cuyo efecto se ha demostrado muy superior al ácido oleico, está protegida por cuatro patentes (dos nacionales y dos mundiales), cuya titular es la Universitat de les Illes Balears. Desde 2003, mediante convenio con la UIB, la Fundación Genoma España se ha implicado en

el desarrollo de esta línea de investigación y del fármaco.

Para llegar a este punto, sin embargo, el Grupo de Investigación de Biomedicina Molecular y Celular de la UIB ha recorrido un largo camino que se inició con el descubrimiento de una actividad lipídica en las membranas celulares muy alejada del de mero sostén estructural. En efecto, algunas reordenaciones de la membrana de la célula realizan un papel activo en la señalización celular, papel que era desconocido hasta entonces.

¿Cómo viaja la información en las células?

Como decíamos, el desarrollo de esta molécula de diseño es el último paso de un proceso largo de investigación sobre la señalización celular y el papel que en ella desempeñan los lípidos, que hasta el momento habían pasado desapercibidos.

Entendemos como señalización celular a un sistema de comunicación que interviene en multitud de procesos celulares, desde el propio ciclo celular, la proliferación o la organización en distintos tejidos hasta el metabolismo. Para entender su importancia y el interés por su estudio baste decir que aproximadamente el 50% del genoma humano se traduce en procesos de señalización. La variedad de procesos fisiológicos que depende de la señalización celular es enorme: los sentidos, la contracción del miocardio, el propio pensamiento.

Una vía de señalización celular no es más que un sistema, un cauce, por el que se transmite información, en este caso biológica. Pero, ¿cómo reciben las células mensajes de su entorno?

El ácido hidroxioleico está protegido por cuatro patentes (dos nacionales y dos mundiales) cuya titular es la Universitat de les Illes Balears

El sistema, en general, suele ser así: una molécula mensajera (un neurotransmisor, una hormona, un factor de crecimiento...) lleva consigo la información codificada. Viaja hasta las células que deben recibir el mensaje donde es reconocida por los receptores (comúnmente proteínas situadas en la membrana de

las células) (véase la figura 3).

Estos receptores, es decir estas proteínas, actúan como decodificadores transformando la información que reciben del mensajero en una señal intracelular. A partir de este punto, el decodificador cambia su estructura y activa una proteína intracelular (en el caso que nos ocupa es una proteína G heterotrimérica) que a su vez activa otra proteína y así sucesivamente en una serie de reacciones en cadena, o sistemas en cascada, con el objetivo de transformar el mensaje recibido en una orden que hay que cumplir. Una vez cumplido el objetivo, la señal se apaga. Esto es importante, porque muchas enfermedades son el resultado de un defecto en la fase de desactivación, de manera que la señal intracelular es continua provocando situaciones no deseadas. Otros trastornos se derivan de cualquier alteración en el proceso de señalización.

El descubrimiento del papel activo de los lípidos

Hasta hoy, cuando se describía la transducción de la información mediante una vía de señalización celular se implicaba exclusivamente a las proteínas como receptoras y mensajeras de dicha información. Los lípidos quedaban relegados a un papel estructural, como simples piezas del esqueleto de la membrana celular.

Llamamos lípidos a un conjunto de biomoléculas cuya principal característica es su insolubilidad en agua y su hidrofobia. Estas características los hacen esenciales para poder delimitar el espacio celular. ¿Por qué? Si la célula está rodeada de medio acuoso y su interior también lo es, se precisa una barrera entre ambos medios acuosos que garantice la independencia de la célula. Esto se consigue mediante una membrana formada por lípidos cuyas moléculas tienen dos partes, una hidrofóbica y una hidrofílica y que se distribuyen según una estructura de dos capas. De manera básica la membrana celular quedaría según el esquema de la figura 1a: con una bicapa de lípidos (fosfolípidos) en la que quedan inmersas distintas proteínas que actúan como receptores de los mensajeros y que son las puertas de acceso a las órdenes que llegan del exterior.

Decíamos que hasta hoy, el papel de los lípidos por lo que respecta a la señalización celular se circunscribía

Fig. 1



Fig. 1. Estructuras lamelar y hexagonal de los lípidos constitutivos de la membrana celular.

Fig. 2

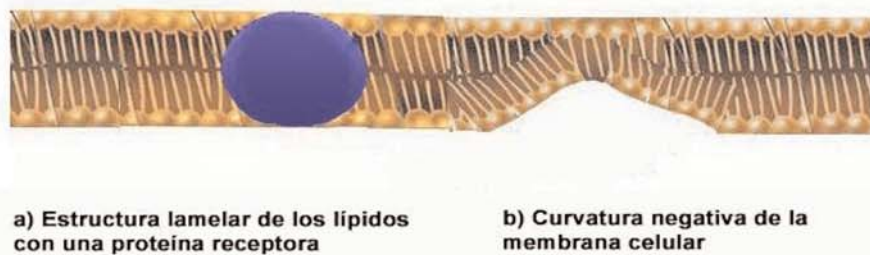


Fig. 2. La ordenación hexagonal de los lípidos da lugar a la llamada curvatura negativa de la membrana. Entre los lípidos se observa una proteína receptora.

Fig. 3

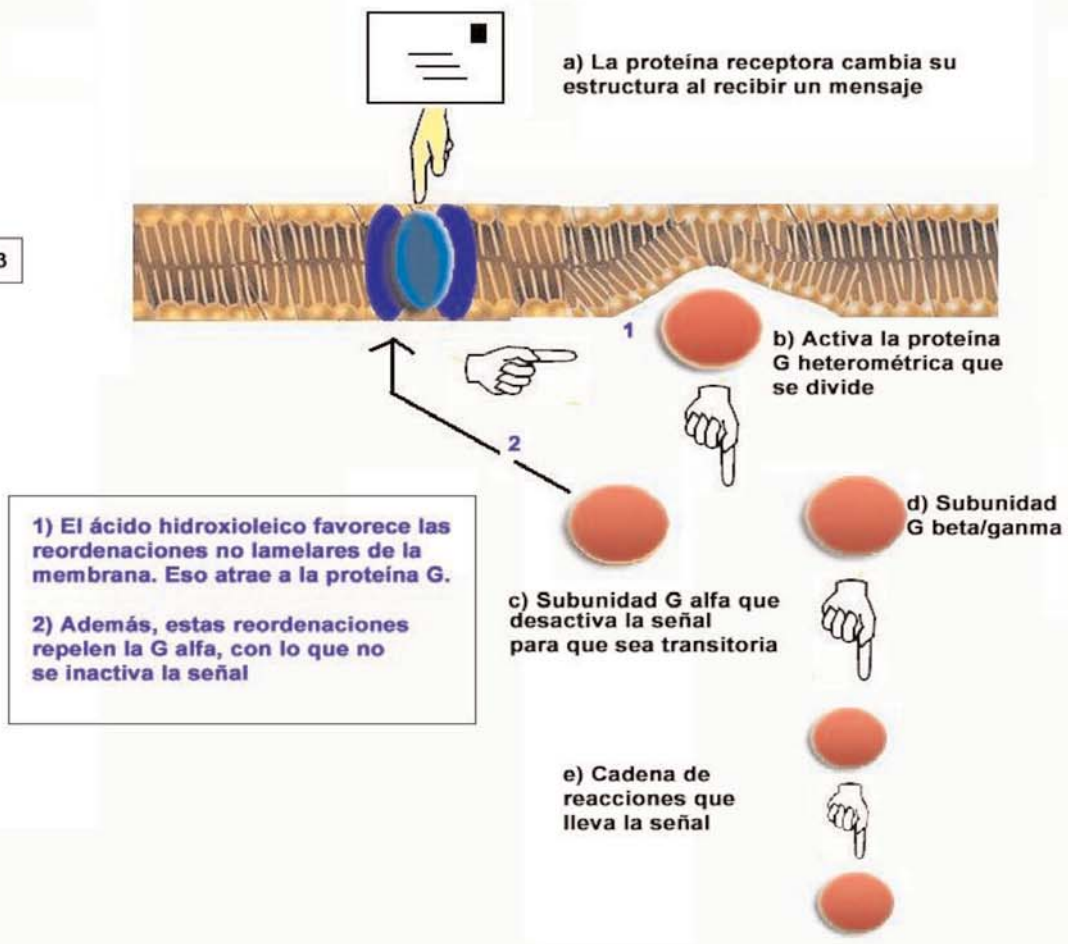


Fig. 3. Al recibir un mensaje, la proteína receptora modifica su estructura y activa una G proteína que desencadena una cascada de reacciones implicando a otras proteínas. En ausencia de ácido hidroxioleico, la subunidad alfa desactiva la señal al contactar con la membrana. En su presencia, se forman estructuras no lamelares que repelen la subunidad alfa.

casi exclusivamente al papel de ladrillos con los que se ha construido la membrana celular. También es cierto que algunos mensajeros son de naturaleza lipídica, como por ejemplo algunas hormonas como los esteroides o las prostaglandinas.

El grupo de Investigación de Biomedicina Molecular y Celular de la UIB se interesó, sin embargo, por otras formas de estructuración de los lípidos de la membrana celular distintas a la lamelar de bicapa anfipática. Se preguntó si, en determinadas zonas o en determinados momentos, esta bicapa modificaba su estructura, si adoptaba otras ordenaciones. El grupo comprobó que así era y que además esas reordenaciones tenían efectos sobre las vías de señalización celular. ¿Cuáles eran esas reordenaciones y cómo afectaban a la vía de señalización?

El grupo consiguió probar que la reordenación no lamelar de los lípidos de membrana, denominada estructura hexagonal (fig. 1b), interviene en la señalización celular. Esta estructura provoca una curvatura en la propia membrana (curvatura negativa) (véase fig. 2 b), que precisamente atrae a determinadas proteínas intracelulares heterotriméricas (los interruptores que inician la cascada de reacciones de la que hemos hablado), situándose justo al lado de los receptores (fig.3).

El doctor Pablo V. Escribá en el laboratorio.

Pero no es este el único papel de las estructuras no lamelares o hexagonales. Vaya por delante que la proteína heterotrimétrica como su nombre indica tiene tres subunidades, la alfa, la beta y la gamma. Cuando se activa la señal, la proteína se separa en dos mitades, por una parte la G alfa y por otra la G beta/gamma. Mientras esta última mitad continúa la cascada de reacciones, la G alfa se libera e inactiva el proceso para que este cumpla su objetivo de ser transitorio y no permanente.

La existencia de estructuras no lamelares en la membrana lipídica repele la G alfa con lo que no se inactiva el proceso y la señal es más duradera (fig. 3). El grupo por tanto demostró que el papel de los lípidos es mucho más importante del que en principio se creía en las señalizaciones celulares: son capaces de impulsar una vía de señalización y de hacerla más duradera.



El caso de la hipertensión y el ácido oleico

Se conocían las propiedades benéficas del ácido oleico en el tratamiento de la hipertensión. Una dieta mediterránea, con abundante ingesta de aceite de oliva, previene contra este tipo de trastorno cardiovascular. Entre otros efectos beneficiosos, a nivel molecular el ácido oleico favorece precisamente las reordenaciones lipídicas no lamelares en la membrana. Esto significa que cuando en un organismo se emite una señal para corregir una situación de hipertensión, una presencia de ácido oleico en el citoplasma de la célula favorece que se desencadene la señalización intracelular y que la cadena de órdenes, además, esté activa por más tiempo.

El reto del grupo de Biomedicina Molecular y Celular era, sin embargo, conseguir aumentar la acción del ácido oleico, superando un handicap de este ácido

graso: su rápida degradación y su bajo tiempo de permanencia en el citoplasma. El ácido oleico es un excelente combustible celular que a través de la respiración mitocondrial entra el ciclo de Krebs produciendo energía y dejando como únicos residuos CO₂ y H₂O. Este objetivo se consiguió diseñando el ácido hidroxioleico, después de ensayar una serie de moléculas que, además de ser capaces de modular la estructura de la membrana celular, tuvieran una actividad farmacológica elevada y no provocasen efectos secundarios.

La solución surgió por el camino de la sencillez: añadiendo un grupo hidroxilo al ácido oleico. Este oxígeno añadido a la estructura del oleico, hace que se bloquee la beta-oxidación mitocondrial del hidroxioleico, a la vez que dificulta la entrada de la molécula a través de la membrana de las mitocondrias. El resultado es que su tiempo de permanencia en el citoplasma es elevado y su efectividad farmacológica es veinte veces superior al ácido oleico.

Los experimentos en hipertensión y otros trastornos

El mecanismo molecular explicado más arriba, experimentado *in vitro*, ha tenido su confirmación en

experimentos realizados *in vivo*, con animales. La administración por vía oral de ácido 2- hidroxioleico a ratas Sprague-Dawley, genéticamente manipuladas para padecer un síndrome de hipertensión, se ha demostrado muy efectiva. En concreto se han registrado descensos de la presión de entre 20 y 26 mm Hg (milímetros de mercurio) administrando la molécula a los animales durante siete días. Los experimentos demuestran que la molécula diseñada posee un elevado efecto farmacológico.

El desarrollo del ácido hidroxioleico ya ha dado lugar, por su interés farmacológico, a cuatro patentes, entre ellas la de su utilización (y la de moléculas análogas) como medicamento. En el año 2003, la UIB, entidad titular de la patente, formalizó un convenio con la Fundación Genoma España de colaboración científica y tecnológica para el impulso de las investigaciones llevadas a cabo por el equipo que dirige el doctor Escribá y para el desarrollo de la patente.

El grupo ensaya ahora la utilización de la molécula para el tratamiento de ciertos tipos de tumor, ya que el ácido hidroxioleico actúa inhibiendo la formación de ciclinas en el citoplasma celular implicadas en la división y proliferación celular, interviniendo, pues, una vez más en las vías de señalización celular.



Imagen del laboratorio del grupo de biomedicina molecular y celular con una parte del equipo de investigadores.

Proyectos financiados

Título: Selección de moléculas con actividad farmacológica reguladora de proteínas G.

Entidad financiadora: PETRI PTR1995-0421-OP

De 2000 a 2002

Investigador responsable: Dr. Pablo V. Escribá Ruiz

Título: Receptores de imidazolinas y adrenoceptores alfa-2 en el SNC. Cartacterización bioquímica y molecular y modulación fisiofarmacológica y patológica.

Entidad financiadora: FIS 00/1029

De 2000 a 2002

Título: Regulación de la composición y estructura de membranas biológicas.

Entidad financiadora: HU2001-0002

De 2001 a 2002

Título: Modulación farmacológica de la presión arterial mediante lípidos que alteran la estructura de membrana.

Entidad financiadora: Ministerio de Ciencia y Tecnología. SAF2001-0839.

De 2001 a 2004

Título: Influencia del aceite de oliva virgen sobre la estructura y funcionalidad de membranas y lipoproteínas con propiedades aterogénicas.

Entidad financiadora: Junta de Andalucía. CAO001-002

De 2001 a 2004

Título: Grupo Biomedicina Molecular y Celular. Ayudas a grupos competitivos.

Entidad financiadora: Conselleria d'Innovació i Tecnologia (Govern Balear) PRDIB-2002GC2-11

De 2002 a 2005.

Título: Tratamiento de tumores resistentes con pronóstico grave con ácido hidroxioléico.

Entidad financiadora: Conselleria de Sanitat (Govern Balear).

De 2002 a 2003

Título: Minerval: un nuevo y potente fármaco antitumoral.

Entidad financiadora: Ministerio de Ciencia y Tecnología. SAF2003-0232.

De 2004 a 2006

Título: Desarrollo farmacológico del ácido hidroxioléico y análogos.

Entidad financiadora: Fundación Genoma España.

De 2004 a 2005.

Título: Estudio farmacológico y molecular del efecto del Minerval sobre la presión arterial.

Entidad financiadora: Instituto de la Salud Carlos III. P1031218

(Investigadora responsable: doctora Regina Alemany).

Investigador responsable

Dr. Pablo V. Escribá

Grupo de Biomedicina Molecular y Celular.

Departamento de Biología. UIB.

Tel.: 971 17 34 33

e-mail: pablo.escriba@uib.es

Otros miembros del equipo

Regina Alemany, investigadora del programa Ramón y Cajal

Silvia Terés, becaria predoctoral

Carmela Baamonde, investigadora posdoctoral

Mikhail Benet, colaborador posdoctoral

Oliver Vögler, investigador del programa Ramón y Cajal

Francisca Barceló, profesora titular

Joan Besalduch, jefe del Servicio de Hematología del Hospital Son Dureta

Tünde Nagy, investigadora posdoctoral

Gudrun Borchert, investigadora posdoctoral

Jordi Martínez, investigador predoctoral

Jesús Casas, investigador predoctoral

Antonio Gutiérrez, investigador predoctoral

Jesús Prades, investigador predoctoral

Carolina Egea, investigadora predoctoral

Carlos Saus, facultativo especialista de Anatomía Patológica

José Rodríguez, facultativo especialista de Oncología

Fernando Barturen, facultativo especialista de Cuidados Intensivos

Patentes y modelos de utilidad

AUTORES: P. V. Escribá

TITULO: Ácido 2-hidroxioléico para utilizar como medicamento.

Nº DE REGISTRO: 200102269 (ES2186576)

AÑO: 2001 (11 de octubre)

ENTIDAD TITULAR: Universidad de las Islas Baleares

PAISES: España (BOPI 1-mayo-2003)

AUTORES: P. V. Escribá

TITULO: Utilización del ácido hidroxioleico y compuestos análogos del mismo en la fabricación de medicamentos.

Nº DE REGISTRO: PCT/ES02/00475 (W03030891)

AÑO: 2002 (9 de octubre)

ENTIDAD TITULAR: Universidad de las Islas Baleares

PAISES: Mundial (PCT) (W)

AUTORES: P. V. Escribá

TITULO: Utilización de ácido 2-hidroxioléico y análogos como aditivo alimentario funcional.

Nº DE REGISTRO: 200302364

AÑO: 2003

ENTIDAD TITULAR: Universidad de las Islas Baleares

PAISES: España

AUTORES: P. V. Escibá

TITULO: Use of hydroxyoleic acid and related compounds as functional food additives

Nº DE REGISTRO: PCT/ES02/00475

AÑO: 2003

ENTIDAD TITULAR: Universidad de las Islas Baleares

PAISES: Mundial (PCT)

Publicaciones

L.M. García-Segura, J.A. Ferragut, A.V. Ferrer-Montiel, P.V. Escibá y J.M. González-Ros. Ultrastructural alterations in plasma membranes from drug-resistant P388 murine leukemia cells. *Biochim. Biophys. Acta* 1029, 191-195(1990)

P.V. Escibá, A.V. Ferrer-Montiel, J.A. Ferragut y J.M. Gonzalez-Ros. Role of membrane lipids in the interaction of daunomycin with plasma membranes from tumour cell: implications in drug-resistance phenomena. *Biochemistry* 29,7275-7282 (1990)

P.V. Escibá, M. Sastre y J.A. García-Sevilla. Disruption of cellular signalling pathways by daunomycin through destabilization of nonlamellar membrane structures. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 7595-7599 (1995).

P.V. Escibá, A. Ozaita, C. Ribas, A. Miralles, E. Fodor, T. Farkas y J.A. García-Sevilla. Role of lipid polymorphism in G protein-membrane interactions: nonlamellar-prone phospholipids and peripheral protein binding to membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 11375-11380 (1997).

P.V. Escibá. Membranes and membrane structure in cell signaling. *Molecular and Cellular Biology: From Plant to Human* 216pp, páginas 196-209 (2001).

P.V. Escibá, P. Morales y A. Smith. Membrane phospholipid re-organization differentially regulates metallothionein and heme oxygenase by heme-hemopexin. *DNA Cell Biol.*, 21, 355-364 (2002)

Kitajka K, Martínez E, Miralles A y Escibá PV. Role of phosphatidylethanolamine in G protein-coupled receptor-associated signal transduction. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 507, 491-496 (2002)

P.V. Escibá y P. Bean. Basic Principles underlying the emerging field of lipid therapy. *Amer. Clin. Lab.*, 21, 29-31 (2002)

P.V. Escibá, J.M. Sánchez-Domínguez, R.Aleman, J.S. Perona y V. Ruiz-Gutiérrez. Alteration of lipids, G proteins and PKC in cell membranes of elderly hypertensives. *Hypertension*, 41, 176-182 (2003)

S.S. Funari, F. Barceló y P.V. Escibá. Effects of oleic acid and its congeners, elaidic and stearic acids, on the structural properties of phosphatidylethanolamine membrane. *J. Lipid Res.* 44, 567-575 (2003)

J. Prades, S.S. Funari, P.V. Escribá y F. Barceló. Effects of unsaturated fatty acids and triacylglycerols on phosphatidylethanolamine membrane structure. *J. Lipid Res.* 44, 1720-1727 (2003)

R. Alemany, Silvia Terés, Carmela Baamonde, Mikhail Benet, Oliver Vögler y P.V. Escribá. 2-Hydroxyoleic acid: a new hypotensive molecule. *Hypertension* 43, 249-254 (2004)

Comunicaciones a congresos

Congreso de la Sociedad Española de Bioquímica. Zaragoza, 1986.

Papel del componente lipídico en la interacción entre membrana plasmática y antraciclinas. I Congreso de Biofísica. Valladolid 1987.

Interacciones entre Daunomicina y membrana plasmática de delulas tumorales modelo: estudios de localización. XVI Congreso de la Sociedad Española de Bioquímica. Alicante 1989.

Plasma membrane lipid structures modulate G protein-coupled receptor signaling. IX Congreso de la Sociedad Española de Neurociencia. Santiago de Compostela, Septiembre, 2001.

Role of membrane lipids on binding of chemotherapy agents: implications in cellular drug resistance. I Congreso Hispano-Soviético de Biofísica. Granada 1987.

The surface charge of membranes modulates the interaction with the anthracycline daunomycin. Biological membranes in cancer cells. Perugia, Italia 1988.

Localización de daunomicina en la membrana plasmática de células tumorales P388 sensibles y resistentes al fármaco. I Congreso Iberoamericano de Biofísica. Sevilla 1989.

Interactions of anthracyclines with plasma membranes from tumour cells: implications in drug resistance. Joint Meeting of the British Biochemical Society and the Sociedad Española de Bioquímica. Bilbao 1989.

Hexamethylene Bisacetamide alters the calorimetric phase transition of membrane-like phospholipids. Meeting of the American Association for Cell Biology. Boston USA 1991.

Membrane alterations associated with hexamethylene bisacetamide-induced differentiation of murine erythroleukemia cells. V Conference on differentiation and therapy of cancer. Cerdeña, Italia 1992.

Daunomycin alters the lamellar to hexagonal phase transition of 1-palmitoyl-2-oleoyl phosphatidylethanolamine. XXXVII Meeting of the Biophysical Society. Washington DC USA 1993.

Role of PEs in G protein-coupled receptor-associated signal transduction. VI Eicosanoid Conference. Boston, MA (USA), 1999.

Brain and platelet imidazoline receptors in mood disorders. 10th Congress of the Association of European Psychiatrists. Praga (República Checa), 2000.

Effect of fatty acids on nonlamellar-phase propensity. 3rd European Biophysics Congress. Munich, Alemania, 2000.

Effect of oleic acid on membrane lipid structure. 3rd European Biophysics Congress. Munich, Alemania, 2000.

Effect of membrane structure alterations in G protein-coupled receptor-associated signal transduction in 3T3 cells transfected with β 2A/D-adrenoceptors. 43 Meeting of the European Tissue Culture Society. Granada, October 2001.

Lipid Therapy: a new era in pharmacology and pharmaceuticals. VII Drug Discovery Meeting. Boston (MA, EE.UU.). 4-8 de agosto de 2002.

Effects of triacylglycerols and their corresponding fatty acids on phosphatidylethanolamine membranes. XII International Conference on Small-Angle Scattering - SAS2002. 25-29 Agosto- Venecia, Italia.

Addition of fatty acids to phosphoethanolamine membranes: Structural aspects. XIV International Biophysics Congress of the IUPAB. Buenos Aires, Argentina. Abril 2002.

Effects of fatty acids on the structure of phosphoethanolamine membranes. 46th Annual Meeting of the Biophysical Society. San Francisco, California. Febrero 2002.

Lipid Therapy with Minerval for cancer treatment. 2003 Meeting on DNA Arrays. Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas. Madrid. Mayo 2003.

The antitumor drug Minerval regulates the transcriptional rate of VHL and other genes in A549 human lung tumor cells. 2003 Meeting on DNA Arrays. Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas. Madrid. Mayo 2003.

On the study of the effect of lamellar- and nonlamellar-forming lipids with synthetic peptides of G-protein and alpha 2 adrenergic-receptor sequences. 4th European Biophysics Meeting. Alicante 2003.