

BUSCANDO (Y ENCONTRANDO) UNA AGUJA EN UN PAJAR

Buscando agujas en un pajar se hallaron dos, pero una se perdió y no se ha vuelto a encontrar.

La primera “aguja” fue una mujer norteamericana de *Dallas (Texas)*, de 32 años, con dos hijos, monitora de aeróbic. Nada extraordinario, salvo un aspecto: sus concentraciones de Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL, de su acrónimo en inglés, *Low Density Lipoproteins*) eran excepcionalmente bajas, de 14mg/dl, mientras en un adulto sano no suele bajar de 100mg/dl.

LDL-COLESTEROL

- | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none">• Deseable: <130mg/dl (<3,36mmol/L)• <i>Borderline</i>: 130mg/dl ↔ 159mg/dl (3,36mmol/L ↔ 4,11mmol/L)• Elevado: ≥160mg/dl (≥4,12mmol/L) |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

La razón de estos niveles tan bajos de **LDL** radicaba en la herencia de ambos progenitores de una rara mutación genética. La condición de homocigótica para este gen mutado daba lugar a una concentración tan extraordinariamente baja.

La otra “aguja” fue una mujer de Zimbabue (*Zimbabwe*) cuya concentración de *LDL-Colesterol* era de 15mg/dl. Este hallazgo se produjo durante un análisis de rutina cuando la mujer acudió a una Maternidad para dar a luz. Tras el parto abandonó la Clínica y nada se sabe de ella.

Estos descubrimientos casuales, han desencadenado una febril carrera científico-comercial entre tres Compañías Farmacéuticas, dos norteamericanas, *Amgen* y *Pfizer*, y otra francesa, *Sanofi-Aventis*. La investigación se dirige a descubrir fármacos que mimeticen los efectos de la mutación. Las tres multinacionales disponen de fármacos en fase de ensayo clínico; y, los resultados preliminares, están cumpliendo las expectativas.

En declaraciones del Dr. *Andrew Plump*, responsable de *Medicina Translacional* de *Sanofi-Aventis* “ninguna otra investigación de las actualmente en curso tendrá un impacto tan notable en la Salud Pública”.

Según *Gary H. Gibbons*, director del *National Heart, Lung, and Blood Institute*, si el coste de los tratamientos es elevado y los nuevos fármacos solo se pueden administrar en formulación inyectable, no menos de dos millones de norteamericanos serán candidatos; pero si se logra una galénica oral, aproximadamente uno de cada cuatro norteamericanos (alrededor de 12 millones) serían candidatos al tratamiento.

Las enfermedades cardiovasculares continúan siendo la principal causa de muerte en las sociedades desarrolladas. Las *estatinas* (“Inhibidores de la enzima 3-Hidroxi-metil-glutaril~CoA-reductasa”) supusieron una revolución cuando se comercializaron a partir del año 1987, pero están lejos de solucionar el problema de los elevados niveles de *LDL-Colesterol* en muchos pacientes.

DESCUBRIMIENTO DE LA LOVASTATINA, PRIMERA ESTATINA.

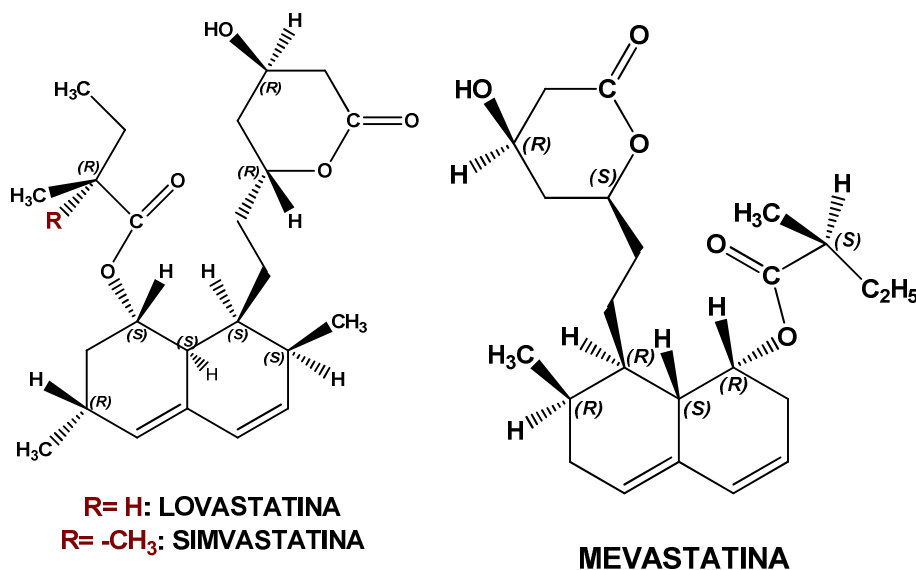
En el año 1974, *Merck & Co* inició un proyecto de investigación de metabolitos provenientes de cultivos microbianos. Este proyecto se denominó con el acrónimo **FERPS** (**FERmentation Products for Screening**) con la colaboración del laboratorio español **CEPA** (Compañía Española de **Penicilinas** y **Antibióticos**), hoy ya englobada en el grupo farmacéutico italiano *Motidison*, tras diversos avatares político-comerciales. Se buscaban sobre todo sustancias que fuesen inhibidoras del ácido fólico, por su potencial utilidad como antibacterianos y/o anti-protozoarios.

En el contexto de este proyecto de investigación, *Carl Hoffman* y *Julie Chen* diseñaron un ensayo para potenciales inhibidores de la enzima “3-Metil-Glutaril~CoA-reductasa”. Este método se basaba en última instancia en la determinación de los niveles de *ácido mevalónico*.

Se observó que en los cultivos del hongo *Aspergillus terreus* no se producía *ácido mevalónico*, de lo que cabía inferir que el hongo producía

alguna sustancia que inhibía la enzima que cataliza su síntesis (“3-Metil-Glutaril~CoA-reductasa”). Pronto se advirtió que los extractos de *Aspergillus terreus* inhibían la [síntesis de Colesterol](#).

Un año más tarde (1979), *Hoffman* aisló partiendo de cultivos de *Aspergillus terreus*, *mevinolina* (más tarde renombrada *Lovastatina*).



Tres años antes de que *Carl Hoffman* aislase *Lovastatina* (*mevalonina*, como se le llamó inicialmente), *Akira Endo*, adscrito a la sazón a los laboratorios *Sankyo* (*Tokio, Japón*) halló en el año 1976 a partir de un cultivo de *Penicillium citrinum* un compuesto inhibidor de la enzima “3-Metil-Glutaril~CoA-reductasa” (inhibidor de la síntesis de Colesterol) que se mostraba eficaz tanto *in vitro* como *in vivo*. Este compuesto, designado al principio como *ML-236B*, más tarde *compactina* y, en la actualidad, *mevastatina*, demostró eficacia en pacientes con *hipercolesterolemia*.

En el mismo año, 1976, *A. G. Brown*, entonces en los laboratorios *Beecham Pharmaceuticals* (hoy día parte de la multinacional británica *GlaxoSmithKline Pharma*) consiguió aislar *mevastatina* a partir de cultivos celulares de un hongo diferente, *Penicillium brevicompactum*.

Volvamos al año 1979: *Akira Endo* (Laboratorios *Sankyo*) aisló de un hongo filamentoso (*Monascus ruber*) un inhibidor de la enzima “3-Metil-Glutaril~CoA-reductasa” un compuesto al que inicialmente denominó *monacolina-K*, demostrándose más tarde que se trataba de *Lovastatina*. *Merck* inició estudios clínicos con *Lovastatina* en el año 1982, presentando solicitud de autorización (*New Drug Application*) a la **FDA** (**Food and Drug Administration**), que lo autorizó en el año 1987, dando inicio a la era de las llamadas *estatinas*. Todas ellas son *ácidos 3,5-dihidroxiheptanóicos* que se unen en C7, bien a una estructura *carbocíclica* (*Lovastatina*, *Simvastatina*), bien a un heterociclo (*indol* en la *Fluvastatina*, *pirrol* en la *Atorvastatina*, *quinolina* en la *Pitavastatina*, o *pirimidina* en la *Rosuvastatina*).

Año	Laboratorio	Investigador	Hongo	Producto aislado (entre paréntesis otras denominaciones fuera de uso)
1976	<i>Sankyo</i>	<i>Akira Endo</i>	<i>Penicillium citrinum</i>	Mevastatina (ML-236B) (compactina)
	<i>Beecham</i>	<i>A.G. Brown</i>	<i>Penicillium brevicompactum</i>	Mevastatina
1979	<i>Sankyo</i>	<i>Akira Endo</i>	<i>Monascus ruber</i>	Lovastatina (monacolina-K)
	<i>Merck</i>	<i>Carl Hoffman</i>	<i>Aspergillus terreus</i>	Lovastatina (mevalonina)

Los estudios clínicos que se están llevando a cabo en la actualidad con los nuevos fármacos dan lugar a una importante disminución de las

concentraciones de *LDL-Colesterol*. Sin embargo, una vez que este aspecto haya sido resuelto, se deberán realizar ensayos clínicos para valorar si esta disminución tiene su traslación en una reducción efectiva y estadísticamente discernible de la incidencia de ataques cardíacos y, por extensión, mortalidad de origen cardiovascular.

Con las informaciones preliminares disponibles, las personas incluidas en los estudios clínicos han conseguido disminuir sus niveles de *LDL-Colesterol* desde valores de 100mg/dl, a otros tan bajos como 50mg/dl, 40mg/dl, y aún menores. Los tratamientos se administran por inyección 1 o 2 veces cada mes.

Barry Gumbiner, responsable de los estudios clínicos de laboratorios *Pfizer* afirmó que se ha establecido un valor mínimo de 25mg/dl en los estudios clínicos, no porque se hayan observado efectos adversos, sino porque “sienten cierto vértigo” cuando las concentraciones de *LDL-Colesterol* se desploman a valores tan bajos. A estas concentraciones, la ciencia farmacéutica se mueve en una especie de “terra incognita”.

Un problema que no debe desdeñarse es el coste: se trata de [anticuerpos monoclonales](#) producidos en cultivos celulares, por lo que los tratamientos serán caros. *Amgen*, por ejemplo, prevé fabricar toneladas métricas de su compuesto, cantidad muy superior a la de cualquier otro fármaco biológico.

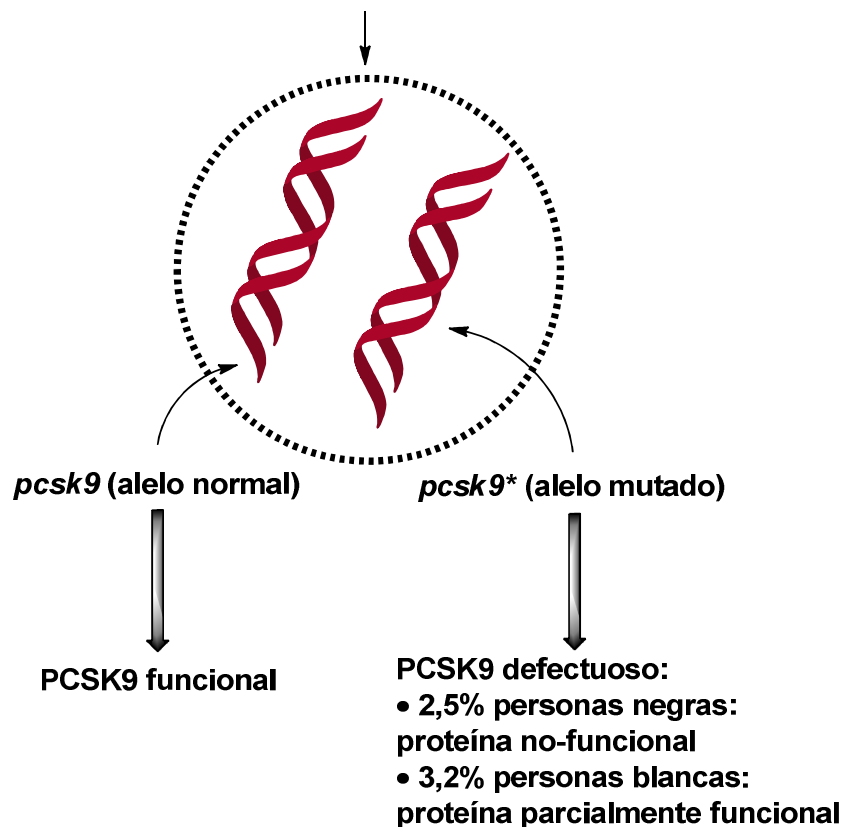
¿CÓMO SE LLEGÓ A DESCUBRIR LA MUTACIÓN?

Hemos de retrotraernos una década. Investigadores franceses realizaron una Comunicación Breve en la revista *Nature Genetics*, en la que daban cuenta de tres generaciones de una familia con concentraciones asombrosamente elevadas de *LDL-Colesterol*, de hasta 466mg/dl, y una historia familiar de enfermedad cardíaca. En los miembros de esta familia, el *Colesterol*, una sustancia cerosa amarillenta, se depositaba en sus arterias, pero también en sus tendones y bajo la piel (xantelasmas). La consecuencia eran ataques cardíacos e ictus en edades tempranas.

Se descubrió que la causa del infortunio de esta familia era la mutación de un gen designado *pcsk9*, que codificaba una proteína *PCSK9*, cuya función entonces se desconocía. La mutación del gen (*pcsk9*) causaba un aumento espectacular de las concentraciones de *Colesterol* en el plasma.

Si la mutación referida incrementaba las concentraciones de *LDL-Colesterol* hasta valores incompatibles con la salud, ¿existiría otra mutación del mismo gen que actuase en sentido contrario, conduciendo a concentraciones de *LDL-Colesterol* extremadamente bajas?. Este fue el planteamiento de *Jonathan C. Cohen* y *Helen H. Hobbs*, de la universidad de *Texas Southwestern Medical Center*. Y aquí comenzó la búsqueda de la aguja del pajar. La indagación se llevó a cabo de manera sistemática. En primer lugar se observó que alrededor del 2,5% de las personas de raza negra (no las de raza blanca) tenían una mutación en uno de los *alelos* del gen *pcsk9*, mientras el otro *alelo* funcionaba normalmente. [Recordar que cada gen tiene dos copias, habitualmente idénticas, denominadas *alelos*]. Otro tipo de mutación del gen (*pcsk9*) afectaba a uno de los *alelos* en el 3,2% de las personas de raza blanca, si bien esta alteración conservaba cierta funcionalidad genética, a diferencia de la mutación observada en las personas de raza negra que anulaba por completo la actividad del *alelo* mutado.

GEN *pcsk9* (dos copias - alelos -, en cromosomas distintos)



La mutación que afecta al 2,5% aproximadamente de las personas de raza negra, daba lugar a una reducción del *LDL-Colesterol* del 28%; mientras que la mutación que afectaba al 3,2% aproximadamente de las personas de raza blanca conducía a una disminución porcentual del *LDL-Colesterol* del 15%.

El estudio prospectivo de los afectados por estas mutaciones condujo a dos observaciones: las personas de raza negra en quienes una de las copias del gen (*alelo*) mutado se hallaba deshabilitado, eran prácticamente inmunes a la enfermedad cardíaca, aun cuando tuviesen factores predisponentes a la enfermedad cardíaca, tales como hipertensión, diabetes y hábito tabáquico.

Las personas de raza blanca, con una mutación de uno de los alelos que solo impedía parcialmente el funcionamiento del gen, el riesgo de enfermedad cardíaca se veía reducido un 46% como valor promedio.

La investigación se dirigió entonces a buscar personas que tuvieran mutación en las dos copias (*alelos*) del gen *pcsk9*. Y es así como los doctores *Cohen* y *Hobbs* dieron con la mujer de *Dallas* (“la primera aguja del pajar”).

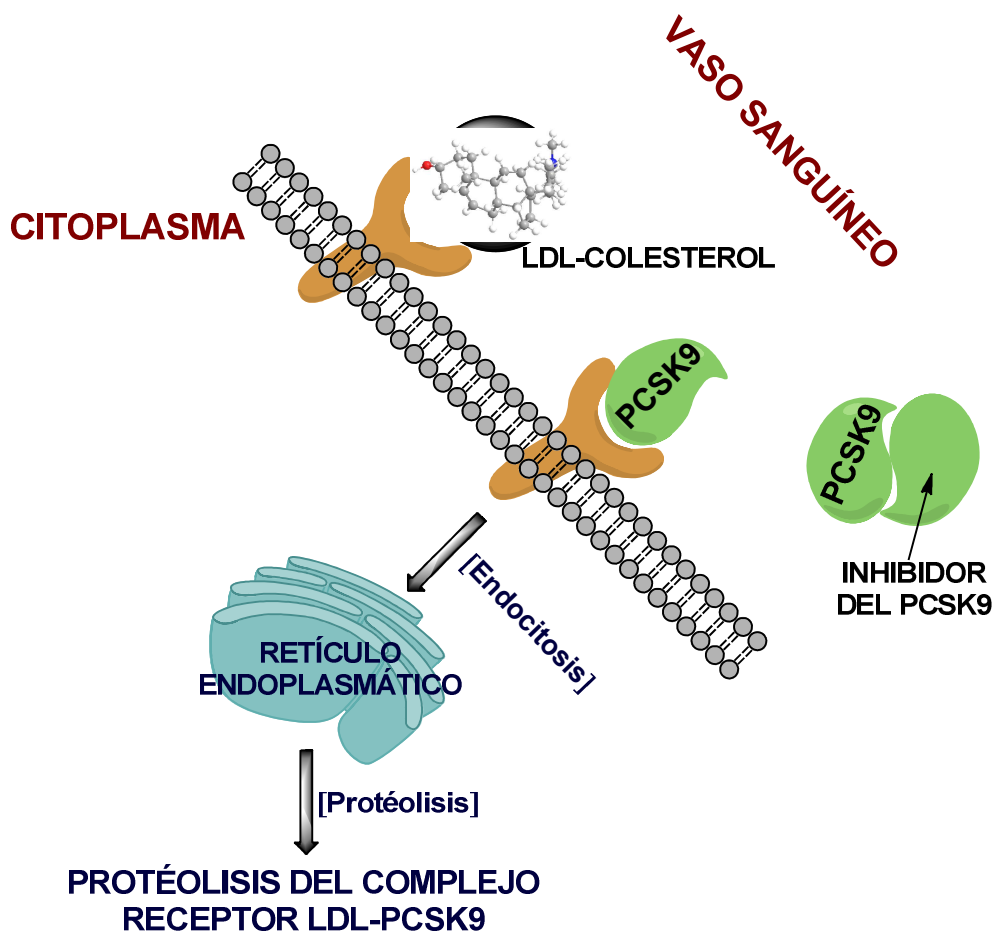
Fue en la misma época cuando varios investigadores sudafricanos hallaron a una mujer de Zimbabue (castellanización de *Zimbabwe*) homocigótica para el gen mutado (*pcsk9**). Esta mujer había acudido a dar a luz a una Clínica del país africano. Tras el parto su rastro se perdió. Y, hasta ahora, no se la ha vuelto a encontrar.

Ambas mujeres demuestran que se puede vivir con concentraciones de *LDL-Colesterol* extremadamente bajos.

La industria farmacéutica comenzó entonces una ardua investigación para diseñar fármacos que mimetizasen el efecto de estas mutaciones.

Amgen, por ejemplo, ha preparado tres fábricas, en *Colorado*, *Puerto Rico* y *Rhode Island* solo para fabricar su fármaco, una costosa inversión para un medicamento potencial que se halla en fase de investigación preclínica, y todavía a años vista de su introducción en el Mercado Farmacéutico. La logística de la inversión rememora la tierra de gigantes de *Gulliver's Travels*, de *Jonathan Swift*.

Las tres multinacionales quieren tener todo dispuesto cuando finalmente se autoricen, como se da por descontado, estos nuevos medicamentos, que podemos encuadrar como "[Inhibidores de PCSK9](#)".



BLOQUEANDO LA UNIÓN DE LAS "PROTEÍNA-CONVERTASAS" AL RECEPTOR LDL, AUMENTA LA DENSIDAD DE ESTOS RECEPTORES Y, CONSECUENTEMENTE, LA CAPTACIÓN DE LAS PARTÍCULAS LDL-COLESTEROL EN PLASMA

PCSK9 (acrónimo en inglés de “**P**roprotein **C**onvertase **S**ubtilisin **K**exin **9**”) son proteínas con actividad enzimática *endoproteasa*. El epíteto *Subtilisina* es consecuencia de su homología con una proteína de *Bacillus subtilis*; y *Kexina* hace referencia a su homología con una proteína de las levaduras. **PCSK9** se suelen denominar de modo abreviado “proteína-convertasas”. Constituyen una familia compuesta por 9 proteínas, de las que 7 (de **PCSK1** a **PCSK7**) tienen elevada homología estructural; no así las dos restantes (*SK1/SIP*, y **PCSK9**). Todas ellas se unen al receptor celular para las **LDL**. El complejo formado experimenta endocitosis y ulterior hidrólisis en el retículo endoplasmático. El efecto global es una disminución de la densidad de receptores para **LDL** y, en consecuencia, una menor captación del *Colesterol-LDL* circulante. Los

“inhibidores del PCSK9” en fase de desarrollo son anticuerpos monoclonales contra estas “proteína-convertasas”.

Todas las “proteína-convertasas” se sintetizan en forma de precursores inactivos (cimógenos) que contienen dominios necesarios para su plegamiento correcto (estructuras secundaria y terciaria). La activación por escisión de una parte de la proto-proteína (cimógeno → enzima activo) tiene lugar en el retículo endoplasmático, proceso muy dependiente de la concentración de Ca^{+2} intracelular y del pH. Todas las “proteína-convertasas” son *proteín-serinas*, haciendo alusión a la abundancia del aminoácido *serina* en su centro activo.

La importancia de las “proteín-serinas” trasciende la regulación de los lípidos en sangre, implicando también a otras muchas facetas de la biología, desde las enfermedades infecciosas a los procesos cancerosos.

Zaragoza, 6 de agosto de 2013

Dr. José Manuel López Tricas

Farmacéutico especialista Farmacia Hospitalaria

Farmacia Las Fuentes
Florentino Ballesteros, 11-13
50002 Zaragoza
