

Estudio para la reutilización de los fármacos en enfermedades asociadas a proteínas moonlighting en *Homo sapiens*.

Olga Giménez Sáez

Máster Universitario en Bioinformática y Bioestadística. UOC-UB.

Área 2

Nombre Consultor: Luis Franco Serrano

Nombre Profesor/a responsable de la asignatura: Carles Ventura Royo

5 de junio de 2019



Esta obra está sujeta a una licencia de Reconocimiento-
NoComercial-SinObraDerivada [3.0 España de Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es/)

FICHA DEL TRABAJO FINAL

Título del trabajo:	<i>Estudio para la reutilización de los fármacos en enfermedades asociadas a proteínas moonlighting en Homo sapiens.</i>
Nombre del autor:	<i>Olga Giménez Sáez</i>
Nombre del consultor/a:	<i>Luis Franco Serrano</i>
Nombre del PRA:	<i>Carles Ventura Royo</i>
Fecha de entrega (mm/aaaa):	06/2019
Titulación:	<i>Máster universitario en Bioinformática y Bioestadística. UOC-UB.</i>
Área del Trabajo Final:	<i>TFM-Estadística y Bioinformática 2</i>
Idioma del trabajo:	<i>Castellano</i>
Palabras clave	Moonlighting, Drug Repurposing, Drugability
Resumen del Trabajo (máximo 250 palabras):	
<p>El desarrollo de la genómica tuvo como consecuencia una explosión de nuevos descubrimientos en el campo de la biología.</p> <p>Con el desarrollo de la proteómica se empezó a estudiar el proteoma, que es el conjunto de proteínas que se expresan a partir del genoma. La diferencia básica entre genómica y proteómica estriba en que los estudio genéticos de ADN proporcionan una visión estática de la información hereditaria, mientras que para entender los procesos celulares y su asociación con las enfermedades es necesario el estudio dinámico de la proteínas y sus interacciones celulares con el medio.</p> <p>El propósito del trabajo ha sido proponer la reutilización de fármacos en distintas enfermedades asociadas a proteínas multifuncionales, de las cuales se haya analizado su drugabilidad. Se ha estudiado la reutilización de fármacos dentro de una misma proteína entre enfermedades involucradas, una en la función canónica y otra en alguna función adicional. Pero, en caso de no haber tenido éxito, se hubiera estudiado contra enfermedades asociadas a proteínas homólogas.</p> <p>A partir del conjunto de proteínas multifunción se ha seleccionado las que se expresan en humanos y son dianas farmacológicas con varias enfermedades asociadas. Para ello se ha utilizado el entorno y lenguaje de programación R.</p>	

Este tipo de estudio pretende evitar la pérdida de recursos que conlleva el desarrollo de nuevos medicamentos que interaccionan con dianas que resultan ser poco modulables a la unión con la molécula del fármaco.

Los datos del estudio se han extraído de diversos repositorios especializados: UniProt, DrugBank, OMIM y MalaCards. Además, se han utilizado dos herramientas de predicción de drugabilidad de proteínas.

Se ha propuesto la reutilización de varios fármacos para tratar Leucemia linfoblástica aguda y Síndrome Nevus-Becker, en la proteína multifunción Actina-Beta. Además, se ha propuesto un conjunto seleccionado de proteínas para llevar a cabo un análisis análogo al realizado en Actina.

Como conclusión, la multifuncionalidad característica en estas proteínas las convierte en un marco apropiado para extraer dianas farmacológicas exitosas a partir de fármacos con efectos conocidos.

Abstract (in English, 250 words or less):

The development of genomics resulted in an explosion of new discoveries in the field of biology.

With the development of proteomics we began to study the proteome, which is the set of proteins that are expressed from the genome. The basic difference between genomics and proteomics is that DNA genetic studies provide a static view of hereditary information, while understanding cellular processes and their association with diseases requires the dynamic study of proteins and their cellular interactions with the middle.

The purpose of this work has been the concept known as Drug Repurposing: to use the same drug in different diseases associated with the same protein, from which its drugability has been analyzed. We have studied the possibility of using a drug -already used for the treatment of a disease- in a second disease associated to the same protein. But, if it had not been successful, we would have studied the possibility of using this drug in a second disease associated to an homologous protein.

The reuse within the same protein among diseases involved, one in the canonical function and the other in some additional function, has been studied.

From the set of moonlighting proteins we have selected those that are expressed in humans and are human drug targets with more than one associated diseases. For this purpose, it has been used R as programming language and software environment.

This type of analysis aims to avoid the loss of resources involved in the development of new drugs that interact with targets that are not properly modified by the drug molecule.

The study data has been extracted from various specialized repositories: UniProt, DrugBank, OMIM and MalaCards. In addition, two protein drugability prediction tools have been used.

The reuse of several drugs for the treatment of acute lymphoblastic leukemia and Nevus-Becker syndrome has been proposed with the Actin-Beta multifunction protein as a target. In addition, a selected set of proteins has been proposed to carry out an analogous analysis to that performed on Actin.

In conclusion, the multifunctional characteristic in these proteins makes them an appropriate framework for selecting successful pharmacological targets of drugs with already studied toxicity effects.

Índice

1	Introducción	1
1.1	Contexto y Justificación del Trabajo.....	1
1.1.1	Descripción y justificación del trabajo	1
1.1.2	Contexto	1
1.2	Objetivos del Trabajo	4
1.2.1	Objetivos generales.....	4
1.2.2	Objetivos específicos.....	4
1.3	Enfoque y método seguido	5
1.3.1	Conjunto de proteínas multifunción	5
1.3.2	... de la especie <i>Homo sapiens</i>	5
1.3.3	... y dianas farmacológicas.....	6
	DrugBank.....	6
	Selección de dianas	7
	Fármacos y proteínas.....	9
	Fármacos y estados de aprobación.....	10
1.3.4	Planteamiento	11
	Enfoque a partir de los fármacos	11
	Enfoque a partir de las proteínas.....	12
	Desarrollo común	12
1.4	Planificación del Trabajo	14
1.4.1	Tareas	14
1.4.2	Calendario	14
1.4.3	Hitos en la Planificación	14
1.4.4	Análisis de Riesgos.....	15
1.5	Breve resumen de productos obtenidos.....	15
1.6	Breve descripción de los capítulos	16
2	Desarrollo I: OMIM.....	16
2.1	Listado de proteínas moonlighting.....	16
2.2	Listado de fármacos	17
2.3	Primer enfoque: centrado en los fármacos	19
2.4	Segundo enfoque: centrado en las proteínas	19
2.5	Funciones, enfermedades y fármacos	20
2.5.1	Thrombin protease (P00734)	21
	Funciones	21
	Enfermedades	22
	Fármacos	22
	Resultados.....	23
2.5.2	CFTR (P13569)	24

Funciones	24
Enfermedades	24
Fármacos	24
Resultados	25
2.5.3 Actina cytoplasmic 1(P60709)	26
Funciones	26
Enfermedades	26
Fármacos	26
Resultados	27
2.5.4 Mejoras en el desarrollo. Punto de inflexión.	27
Proteína hCNT1	27
Funciones	27
Enfermedades	27
Fármacos	28
Resultados y punto de inflexión.	28
3 Desarrollo II: OMIM y MalaCards	29
3.1 Funciones, enfermedades y fármacos	30
3.1.1 Actina (P60709)	30
Funciones	30
Enfermedades	30
Fármacos	31
Resultados	31
3.1.2 Calreticulina (P27797)	32
Funciones	32
Enfermedades	33
Fármacos	34
Resultados	35
4 Estudio de Drugabilidad	35
4.1 Actina (P60709)	36
4.1.1 Identificación de las regiones	36
4.1.2 Drugabilidad	37
4.1.3 Resultados	39
5 Conclusiones.....	40
6 Glosario	42
7 Bibliografía y webgrafía.....	44
Anexo I Planificación temporal del TFM.....	47
Anexo II Funciones, enfermedades y fármacos	48
II.1 Phosphoglycerate kinase (P00558)	48
Funciones	48

	Enfermedades	48
	Fármacos	49
	Efectos secundarios	51
	Resultados	51
II.2	Protrombina (P00734).....	51
II.2.1	Funciones	51
II.2.2	Enfermedades	52
II.2.3	Fármacos	52
II.2.4	Resultados	52
II.3	CFTR (P13569)	53
II.3.1	Funciones	53
II.3.2	Enfermedades	53
II.3.3	Fármacos	55
II.3.4	Resultados	56
II.4	Alpha-crystallin A chain (P02489)	56
	Funciones	56
	Enfermedades	57
	Resultados	57
II.5	Dynamin-2 (P50570).....	57
	Funciones	57
	Enfermedades	57
	Resultados	57
Anexo III	Materiales Suplementarios	58
III.1	Material Suplementario S1	58
III.2	Material Suplementario S2	58
III.3	Material Suplementario S3	59

Lista de figuras

Figura 1-1: enfoques planteados	5
Figura 1-2: filtrado de proteínas multifunción expresadas en Homo sapiens	6
Figura 1-3: : total de moons (eje Y), ordenadas según su interacción funcional con el fármaco (eje X)	8
Figura 1-4: filtrado de grupos funcionales : de moons a moons expresadas en Homo sapiens.	8
Figura 1-5: cantidad de moons de Homo sapiens (eje Y), ordenadas según su interacción funcional con el fármaco (eje X)	9
Figura 1-6: 1024 combinaciones distintas fármaco-proteína	9
Figura 1-7: cantidad de fármacos (eje Y) por proteína (eje X)	9
Figura 1-8: cantidad de fármacos (eje Y) según su estado de aprobación (eje X)	11
Figura 1-9: enfoque a partir de fármacos	12
Figura 1-10: enfoque a partir de enfermedades	12
Figura 1-11: workflow	13
Figura 2-1: dataframes en R por grupos funcionales	18
Figura 2-2: enfoques planteados	19
Figura 2-3. Workflow. Serie de criterios a tomar en cuenta en el análisis realizado.	20
Figura 2-4: workflow. Serie de criterios a tomar en cuenta en el análisis realizado.	21
Figura 4-1 representación esquemática de la contribución de la calidad biológica (eje vertical) y la calidad química (eje horizontal) en el concepto global de drugabilidad, referido en [1]	35
Figura 4-2 Secuencia de aminoácidos de la Actina Beta, extraída de UniProt.	36
Figura 4-3: Resultado del análisis de drugabilidad de la proteína Actina Beta	39
Figura I-1 Diagrama de Gantt donde se desglosan las tareas. Planificación PEC 1.	47

Lista de tablas

Tabla 1-1: análisis de riesgos	15
Tabla 2-1: moons dianas farmacológicas de Homo sapiens, con varias enfermedades asociadas	20
Tabla 2-2: enfermedades asociadas a la Protrombina	22
Tabla 2-3: fármacos asociados a Protrombina, en estado actual de aprobación, según DrugBank	23
Tabla 2-4: enfermedades asociadas a CFTR, según OMIM	24
Tabla 2-5: fármacos asociados a CFTR, en estado de aprobación o bien nutracéuticos, según DrugBank	25
Tabla 2-6: enfermedades asociadas a actina citoplásmica, según OMIM	26
Tabla 2-7: fármacos asociados a actina citoplásmica, según DrugBank	26
Tabla 3-1: tabla con enfermedades registradas en OMIM y MalaCards en asociación con cada proteína	29
Tabla 3-2: descripción enfermedades de Actina-Beta	30

Tabla 3-3: descripción enfermedades de Calreticulina	33
Tabla II-1: descripción enfermedades de Fosfoglicerato Kinasa	48
Tabla II-2: descripción enfermedades de Fosfoglicerato Kisana	49
Tabla II-3: fármacos asociados a Phosphoglycerate kinase	49
Tabla II-4: descripción enfermedades asociadas a Actina-Beta	52
Tabla II-5: descripción enfermedades asociadas a Protrombina	53

1 Introducción

1.1 Contexto y Justificación del Trabajo

1.1.1 Descripción y justificación del trabajo

“En un proceso de investigación de nuevos fármacos es necesario obtener una idea previa de si la proteína diana del fármaco puede tener un sitio apropiado de unión con la molécula del fármaco o, como alternativa, un epítipo accesible en fármacos basados en anticuerpos. En caso de resultar ser una diana poco modulable, se debe considerar buscar objetivos alternativos dentro de la misma ruta metabólica de la proteína. No hacer este estudio previo puede conllevar un gran esfuerzo en la detección de puntos de unión para la interacción entre proteína y molécula, y ser una pérdida de tiempo y recursos”. [1].

En el presente TFM se analizarán proteínas multifuncionales que son tratadas como dianas farmacológicas. Se investigará si, dentro de este conjunto de proteínas, se halla alguna con al menos dos enfermedades, donde en cada enfermedad esté involucrada una función distinta de la proteína multifunción. Encontrado algún caso positivo, se propondrá utilizar el fármaco de una de las enfermedades para tratar la otra enfermedad. A este proceso se le denomina Drug Repurposing: mismo fármaco, distinta enfermedad. [2].

En caso de no encontrar una proteína adecuada, se investigará si, dentro del conjunto de proteínas multifunción y dianas farmacológicas, se halla una proteína homóloga que comparta una de esas dos -o más- funciones, pero que esté involucrada en una enfermedad distinta y, encontrando un caso positivo, se analizaría la reutilización del fármaco.

Así, se analizarán los fármacos ligados a proteínas multifuncionales para identificar casos de polifarmacología, y también efectos adversos de los medicamentos.

En caso de encontrar alguna proteína que pudiera ser propuesta para un estudio posterior por polifarmacología, se profundizará en el estudio de su estructura e interactoma¹. En cuanto al fármaco, se llevará a cabo un análisis para concretar la viabilidad de uso, adecuación, toxicidad y en general su drugabilidad.

1.1.2 Contexto

“El ADN contiene la información genética que codifica para la síntesis de todas las proteínas celulares, de tal manera que todas las células de un ser vivo contienen la misma secuencia de ADN. En el caso de las formas de vida más simples, una única célula forma todo el organismo. En el caso de las formas de vida más complejas, encontramos miles de millones de células que forman el ser vivo.

Cada célula -pertenezca a un organismo unicelular o pluricelular- tiene que desempeñar las mismas funciones vitales: nutrirse, respirar, reaccionar a estímulos ambientales, moverse y reproducirse. Un organismo unicelular encontrará lo necesario para sobrevivir en el ambiente en el que vive (nutrientes, agua, gas...) y desarrollará de modo autónomo cada función vital. Pero dentro de un organismo pluricelular, cada célula se especializa en una función en particular, y no se ocupa de otra cosa: así puede encargarse de sus propias funciones al máximo de sus posibilidades. De este modo, se produce un paso de funciones del nivel celular al nivel orgánico, en donde cada célula reclama al organismo que desempeñe las funciones para las cuales no está especializada” [3].

¹ Interacción entre proteínas.

Según se indica en la web formativa del hospital Sant Joan de Déu [4], las encargadas de llevar a cabo estas funciones celulares son las proteínas, las cuales pueden desempeñar diversas funciones: pueden ser enzimas (transformando un producto en otro producto), transportadoras (transportando compuestos a través de las membranas celulares), hormonas (segregadas por células especializadas en modular la función de otras células), proteínas estructurales (que dan forma, estructura, elasticidad o resistencia a la célula), anticuerpos (utilizados por el sistema inmunitario para reconocer y bloquear antígenos), reguladoras (que regulan la expresión de los genes, o la división celular), homeostáticas (que mantienen el equilibrio osmótico y mantienen constante el pH del medio), contráctiles (responsables de la contracción muscular o del movimiento de cilios y flagelos), también proteínas de reserva (que almacenan aminoácidos para el desarrollo del embrión), entre otras funciones.

Como hemos visto, las proteínas son esenciales para el funcionamiento del organismo. La propia función o funciones de una proteína viene determinada por su forma, por su estructura. La estructura primaria (que es la secuencia de aminoácidos) determina los niveles estructurales superiores. La estructura espacial tridimensional de las proteínas viene definida por sus estructuras secundaria y terciaria. Y aún definimos una estructura cuaternaria de las proteínas, que se refiere a la forma en la que se unen varios péptidos entre sí formando un complejo proteico mayor. Una variación en la secuencia de aminoácidos de la estructura primaria puede provocar una modificación en el plegamiento espacial tridimensional de la proteína, y este cambio puede afectar a una o a varias de sus funciones, o incluso significar la pérdida de funcionalidad de la proteína.

Aún sí, se sabe que algunos aminoácidos pueden ser sustituidos por otros manteniendo la función de la proteína intacta. Esto ha permitido que, a lo largo de la evolución, haya surgido una gran variabilidad de proteínas.

Una característica importante de las proteínas es su especificidad funcional, este concepto se refiere a que la proteína está especializada en una determinada función. Esto se cumple en la inmensa mayoría del proteoma celular.

El presente trabajo trata sobre un tipo especial y algo diferente de proteínas, en las cuáles no se cumple la especificidad funcional. Las proteínas de este estudio están implicadas en más de una función, en donde normalmente la segunda función no mantiene relación alguna con la primera. Se les llama proteínas multifuncionales o proteínas moonlighting (moons).

Tal y como queda descrito en el artículo de Franco-Serrano L.[5] , *“las proteínas moonlighting son de reciente descubrimiento. Cronológicamente, la primera proteína moonlighting descubierta y publicada fue la Aldehyde dehydrogenase, identificada como una proteína de función estructural en la lente del ojo, además de por su función enzimática (Wistow y Piatigorsky, 1987)[53]. La Aldehyde dehydrogenase es un ejemplo claro de proteína con dos funciones que nada tienen que ver entre sí.*

Es bastante común encontrar proteínas moonlighting con sólo dos funciones -aunque hay también proteínas con varias funciones adicionales -. La primera función descrita recibirá el nombre de función canónica por ser la primera descubierta cronológicamente hablando, mientras que las funciones descubiertas posteriormente, funciones adicionales, serán llamadas funciones moonlighting.” El par funcional más frecuentemente encontrado es una función canónica enzimática, y una función moon como factor de transcripción (que se une al ADN y ayuda a iniciar la transcripción genética a ARN mensajero), o de adhesión a nucleótidos.

Llegados a este punto, aclaremos qué no es una proteína multifunción.

Según se indica en el artículo de Franco-Serrano,L.[5], *“el genoma humano contiene unos 20.000 genes. Mecanismos como el splicing alternativo pueden dar lugar a muchas proteínas a partir de un mismo gen. El splicing alternativo, por lo tanto, permite obtener distintas isoformas de ARN mensajero a partir de un transcrito original de pre-ARN. De cada una de las isoformas se sintetiza una proteína distinta, con su función específica. Éste, efectivamente, es un mecanismo que aumenta la capacidad funcional de la célula, aumentando la variabilidad de proteínas.*

Pero la multifuncionalidad agrega más capacidad funcional sin aumentar el número de proteínas. Por ejemplo, el fenómeno moonlighting también está presente en procariotas en los cuáles no existe el mecanismo de splicing alternativo comentado en el párrafo anterior. Por lo tanto, no son consideradas proteínas multifuncionales las variantes por splicing alternativo. En cambio, sí se consideran proteínas multifuncionales los casos en los que la multifuncionalidad está ligada a modificaciones post-traduccionales.

Las proteínas moonlighting pueden estar relacionadas con patologías humanas, generalmente por alguna mutación en la secuencia, o por la ganancia de una función tóxica. De hecho, está demostrado que la asociación entre proteínas multifuncionales y enfermedad es significativamente superior a la asociación con el conjunto completo del proteoma, en seres humanos”.

En el artículo de Franco-Serrano,L.[5] se indica que, a partir del análisis de las proteínas en la base de datos MultitaskProtDB [6] desarrollada en la UAB, se encontró que el 78% de las proteínas moonlighting humanas en MultitaskProtDB-II están involucradas en patologías conocidas, registradas según la base de datos OMIM [7] y [8], y la base de datos de mutaciones genéticas humanas HGMD[9]. Esto contrasta con el porcentaje de proteínas afectadas tomando el conjunto completo del proteoma -incluidas las multifunción-, del cual se encontró que sólo un 18% de las proteínas están relacionadas con enfermedades. Además, el 48% de las proteínas moonlighting humanas de la base de datos fueron identificadas como dianas de fármacos incluidos en las bases de datos de Therapeutic Target Database (Qin et al., 2014)[10], y DrugBank (Wishart et al., 2008)[11]. Esto contrasta con el 10% del proteoma completo, identificado como diana de fármacos en el referido trabajo[5].

La expresión de las proteínas cambia según la etapa del ciclo celular,según la respuesta de la célula frente a acciones externas, incluso según la estación del año o el momento del día. Este carácter ya de por sí dinámico se acentúa en las proteínas multifuncionales, justificando así el estudio del comportamiento de aquéllas que además son dianas farmacológicas.

El presente trabajo identificará las proteínas moonlighting que son dianas farmacológicas actualmente definidas en DrugBank y con patologías asociadas en los repositorios OMIM y MalaCards. Se investigará si los fármacos pueden ser reutilizados en más de una enfermedad, ya sea porque la proteína moonlighting está involucrada en ella, o a través del análisis de otras proteínas homólogas. De este análisis, en caso de obtener resultados positivos, se realizarán propuestas de uso de fármacos ya desarrollados para el tratamiento de enfermedades distintas a aquéllas para las cuáles fueron desarrollados.

En cualquier caso, la decisión final sobre la viabilidad para la reutilización de un fármaco deberá ser experimental. Pero este estudio previo puede servir para ahorrar recursos económicos en las fases experimentales, seleccionando aquellos fármacos que se estimen idóneos basándose en distintas evidencias bioinformáticas.

1.2 Objetivos del Trabajo

1.2.1 Objetivos generales

Como objetivo principal del trabajo, del conjunto de proteínas moonlighting dianas farmacológicas, se buscarán aquellas con fármacos aprobados, y se analizará si alguno de los fármacos es reutilizable en otra enfermedad.

Como objetivo secundario, del conjunto de fármacos en proceso de experimentación que hayan sido descartados con relación a una enfermedad, se analizará la posibilidad de reutilizar dichos fármacos para tratar otra enfermedad.

También como objetivo secundario, se procurará encontrar relaciones entre los efectos secundarios de los fármacos y la multifuncionalidad de las proteínas.

1.2.2 Objetivos específicos

Objetivo específico principal: Drug Repurposing con fármacos aprobados.

De cara a cumplir con el objetivo de encontrar un fármaco reutilizable para distintas enfermedades, seguiremos el siguiente proceso:

- a) Recopilar la lista de proteínas moonlighting MultitaskProtDB
- b) Seleccionar de este listado las moon que son actualmente dianas farmacológicas.
- c) Establecer los fármacos de cada proteína, e identificar la enfermedad que tratan.
- d) Analizar y referir con qué función -o funciones- está la proteína involucrada en dicha enfermedad.

Objetivo específico secundario: Drug Repurposing con fármacos descartados.

El proceso es análogo al descrito en el objetivo anterior, pero con fármacos descartados para el tratamiento de una enfermedad:

- a) Describir el fármaco descartado para la proteína, indicar la enfermedad para la que se investigaba, e investigar el motivo de descarte.
- b) Analizar y referir con qué función -o funciones- está la proteína involucrada en la enfermedad.

En ambos casos de Drug Repurposing:

- a) En caso de que la proteína esté involucrada en diversas enfermedades, analizar si se puede relacionar cada enfermedad con una función distinta de la proteína. En caso positivo, analizar la drugabilidad de la región y proponer la reutilización del fármaco para la segunda enfermedad.
- b) Si no, buscar proteínas homólogas a la proteína moonlighting en estudio, a partir de la secuencia de aminoácidos, su estructura y puntos de unión.
- c) Seleccionar, del conjunto de proteínas homólogas, sólo las relacionadas con enfermedades humanas.
- d) Buscar en la proteína homóloga la secuencia de aminoácidos clave para su enfermedad. Es decir, ubicar la región de la proteína relacionada con su enfermedad.
- e) Analizar las regiones drugables de la proteína - es decir, susceptibles de ser dianas farmacológicas-.

- f) Proponer la reutilización del fármaco creado para activar o inhibir una de las funciones de la proteína moonlighting (ya exitoso o fallido) para tratar una segunda enfermedad asociada a una función diferente de la misma proteína.

Objetivo específico secundario: análisis de efectos secundarios.

Con objeto de llevar a cabo un estudio sobre la relación entre fármacos, sus efectos secundarios y la multifuncionalidad de las proteínas moon, se procederá del siguiente modo:

- a) Detallar los efectos secundarios del fármaco.
- b) Tratar de describir la influencia de las funciones no implicadas en la enfermedad sobre el fármaco, para analizar su vinculación con los efectos secundarios detectados.

1.3 Enfoque y método seguido

A continuación, se describirá con detalle los criterios y el proceso con los que se ha escogido el conjunto de proteínas a analizar, así como los dos enfoques planteados para analizar la reutilización de los fármacos.

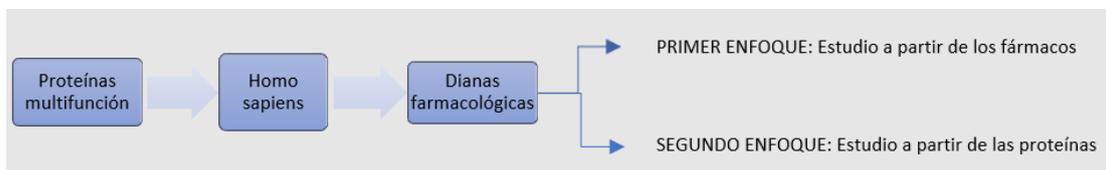


Figura 1-1: enfoques planteados

1.3.1 Conjunto de proteínas multifunción

Se tomó el conjunto de proteínas multifuncionales que hay identificadas actualmente en MultitaskProtDB, y se seleccionaron sólo aquellas que se expresan en *Homo sapiens* y que además son dianas farmacológicas. Es decir, buscamos proteínas multifuncionales sobre las que actúen fármacos para combatir enfermedades humanas.

MultitaskProtDB es un repositorio de proteínas multitarea, es decir, multifuncionales desarrollada por el grupo de Bioinformática de Biología Molecular, en el Institut de Biotecnologia i Biomedicina de la Universitat Autònoma de Barcelona.

La base de datos actualmente contiene 288 entradas, cada una de las cuales corresponde a una proteína multifuncional distinta. Cada registro proporciona detalles sobre la proteína, como los números de identificación en UniProt o en NCBI, las funciones biológicas canónica y adicionales de la proteína, referencias bibliográficas de la misma y otros datos. Los datos empleados se facilitan en el Material Suplementario S1 (ver anexo III).

1.3.2 ... de la especie *Homo sapiens*

Como se ha comentado, interesan únicamente las proteínas que se expresan en nuestra especie. Para ello, se ha cargado la lista de 288 registros de proteína multifuncionales² en un entorno R de programación, y se han seleccionado únicamente las correspondientes a *Homo sapiens*, obteniendo un total de 89 entradas como resultado del filtrado.

² Descargada en enero de 2019



Figura 1-2: filtrado de proteínas multifunción expresadas en Homo sapiens

1.3.3 ... y dianas farmacológicas

A continuación, se seleccionaron las proteínas relacionadas con fármacos. Para averiguar si una proteína es considerada diana farmacológica o no, se ha tomado como referencia el repositorio DrugBank.

DrugBank

DrugBank es uno de los recursos de referencia de medicamentos más utilizado a nivel mundial. Proporciona información estructurada sobre fármacos, desde la fase del descubrimiento del fármaco hasta su aprobación. DrugBank incluye información molecular sobre los medicamentos, sus mecanismos, sus interacciones y sus objetivos, así como información regulatoria detallada que incluye indicaciones sobre el fármaco, su estado de comercialización y ensayos clínicos llevados a cabo.

La última versión de DrugBank ha sido publicada recientemente en abril del 2019 [11], y contiene un total de 12655 medicamentos, que incluyen 1287 medicamentos biotecnológicos aprobados, 2592 medicamentos micro-moleculares aprobados, 130 nutracéuticos y más de 6301 medicamentos en fase experimental.

En este trabajo se ha definido como:

- **Medicamento biotecnológico:** Según la Agencia Europea del Medicamento [12], “los medicamentos biotecnológicos – o fármacos biotec- pueden ser proteínas recombinantes, anticuerpos monoclonales, vectores para el transporte de material genético, fragmentos de anticuerpo, ácidos nucleicos, vacunas, etc., que comparten la característica de ser productos medicinales obtenidos a partir de técnicas de biotecnología (r-DNA, expresión génica controlada, métodos basados en anticuerpos, etc.)” .
- **Medicamentos micro-moleculares:** Según la Agencia Europea del Medicamento [12], un medicamento micro-molecular es “una sustancia de síntesis química capaz de penetrar fácilmente en la célula gracias a su baja masa molecular. Muchas de las terapias son medicamentos de moléculas pequeñas que, una vez dentro de la célula, pueden afectar a otras moléculas, como las proteínas y, por ejemplo, provocar la muerte de células cancerosas. Se diferencian de otros medicamentos de masa molecular alta, como los anticuerpos monoclonales, que no pueden penetrar las células con facilidad. La característica diferencial principal entre las moléculas de síntesis química como las micromoléculas y las obtenidas por biotecnología es el riesgo de inmunogenicidad inherente a éstas últimas y es que, al tratarse de moléculas biológicamente activas derivadas de células vivas, tienen el potencial de activar la respuesta inmunitaria y de desarrollar la inmunogenicidad, con las posibles consecuencias clínicas que se puedan derivar.”
- **Compuesto nutracéutico:** Según se indica en [13] un compuesto nutracéutico es “un suplemento dietético, presentado en una matriz no alimenticia (como píldoras, cápsulas, polvo, etc.) de una sustancia natural bioactiva concentrada, presente en los alimentos y que, tomada en dosis superior a la existente en los alimentos, se le supone que tienen un efecto favorable sobre la salud”.
- **Fase experimental:** Según se indica en [14], un medicamento en fase experimental es una “sustancia que se analizó en laboratorio y obtuvo la aprobación de la FDA para probarla en seres humanos en ensayos clínicos. Se puede aprobar un medicamento en fase

experimental para una enfermedad y, aun así, considerarlo en fase de investigación clínica para otra enfermedad o afección”

Además, Drugbank combina la descripción del medicamento con información sobre las dianas de éste. A este respecto, contiene 5169 secuencias de proteínas que interactúan con cada fármaco según una clasificación de tipo funcional: como diana del fármaco, como transportadora del fármaco, como enzima relacionadas con la acción del fármaco, o como portadora del fármaco.

En este trabajo se ha definido como:

- **Proteína diana farmacológica:** es una “macromolécula, micromolécula o ácido nucleico a la que se le une el fármaco, lo cual resulta en una alteración de la función normal de la molécula, del cual se obtiene un efecto terapéutico” (definición DrugBank).
- **Transportador:** es una “proteína que transporta iones, micromoléculas o macromoléculas a través de las membranas, hacia el interior o exterior de la célula” (definición DrugBank).
- **Enzima:** es una “proteína que cataliza las reacciones químicas que involucran a un fármaco” (definición DrugBank).
- **Portadora:** es una “proteína secretada que se une al fármaco llevándolo a los transportadores celulares, a través de los cuales entrarán en la célula. Los portadores de medicamentos se usan para aumentar la efectividad en la administración del medicamento al sitio objetivo de acción farmacológica” (definición DrugBank).

Los datos empleados se facilitan en el Material Suplementario S1 (ver anexo III).

Selección de dianas

Así pues, para averiguar cuáles de las 89 proteínas multifuncionales humanas son dianas farmacológicas, se descargaron las listas de medicamentos contenidas en DrugBank desde la sección de descargas del repositorio. En estas listas se relacionan los fármacos con sus proteínas asociadas a través del identificador UniProt.

Se descargó el conjunto completo de proteínas contenidas en DrugBank, clasificadas según su interacción con los fármacos en los que están involucradas, obteniendo un total de 83 registros de proteínas que actúan como portadoras³, 376 como enzimas, 4987 como dianas⁴ y 200 como transportadoras⁵. Hay que aclarar que una misma proteína puede interactuar como portadora, enzima, diana o transportadora dependiendo del fármaco con el que interactúa. Ésta es la razón por la que se obtuvo un total de 5646 registros con distintas interacciones funcionales correspondientes a las 5169 proteínas expresadas en cualquier especie, no sólo humanas.

³ También llamadas carrier

⁴ También llamadas target

⁵ También llamadas transporter

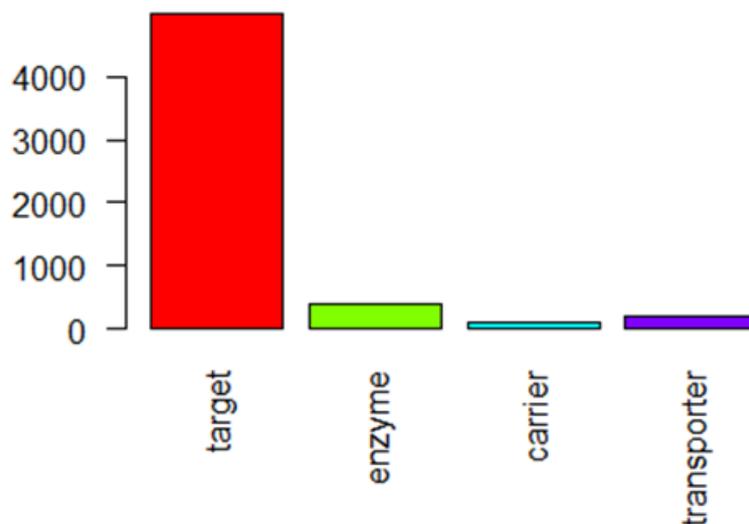


Figura 1-3: : total de moons (eje Y), ordenadas según su interacción funcional con el fármaco (eje X)

Entre esta larga lista de fármacos y proteínas, se identificaron las 89 proteínas multifuncionales de *Homo sapiens*, obteniendo 2 registros de proteínas que actúan como portadoras, 10 como enzimas, 38 como dianas y 3 como transportadoras. La suma de registros da un total de 53 registros.

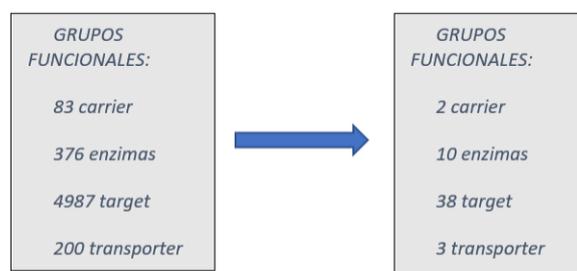


Figura 1-4: filtrado de grupos funcionales : de moons a moons expresadas en *Homo sapiens*.

Para evitar proteínas repetidas en más de un registro debido a múltiples interacciones con distintos fármacos, se estructuró el conjunto para que en cada registro se identifique una proteína distinta, que incluya el total de fármacos y sus interacciones asociadas. Se obtuvo un total de 41 proteínas multifuncionales de *Homo sapiens*, dianas farmacológicas, con sus fármacos asociados, y una anotación con el tipo de interacción con cada uno de los fármacos.

El total de 53 registros excede las 41 moons *Homo sapiens* (número total de proteínas en este estudio) debido, como se ha dicho, a las múltiples interacciones de algunas de ellas con distintos fármacos.

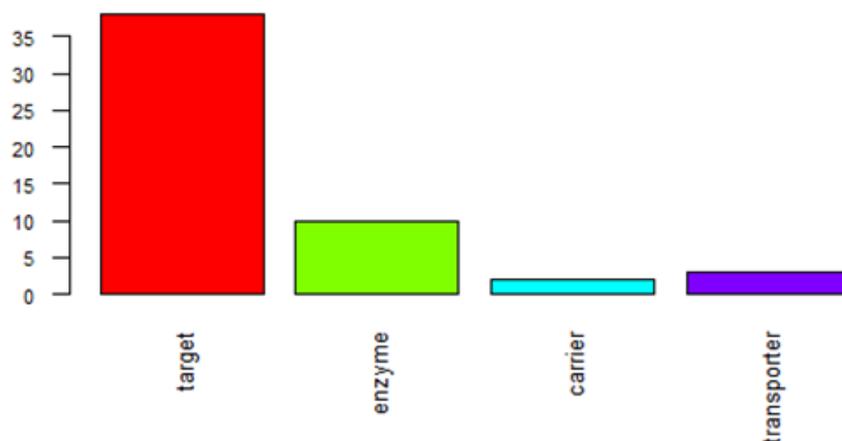


Figura 1-5: cantidad de moons de Homo sapiens (eje Y), ordenadas según su interacción funcional con el fármaco (eje X)

Fármacos y proteínas

El total de medicamentos asociados a las 41 proteínas en nuestro estudio, según recoge DrugBank, es de 931 fármacos distintos; de los cuáles un 6% son reutilizados en más de una proteína, por lo que obtenemos un total de 1024 registros de fármacos asociados a las 41 proteínas.



Figura 1-6: 1024 combinaciones distintas fármaco-proteína

Al analizar los datos en el sentido opuesto, se observó que también hay proteínas a las que se les asocia múltiples fármacos: a algunas más de un centenar de fármacos cada una. El 83% de las proteínas son dianas de varios fármacos, de las cuales el 32% interaccionan con los fármacos con más de un tipo funcional (diana, enzima, transportadora o portadora).

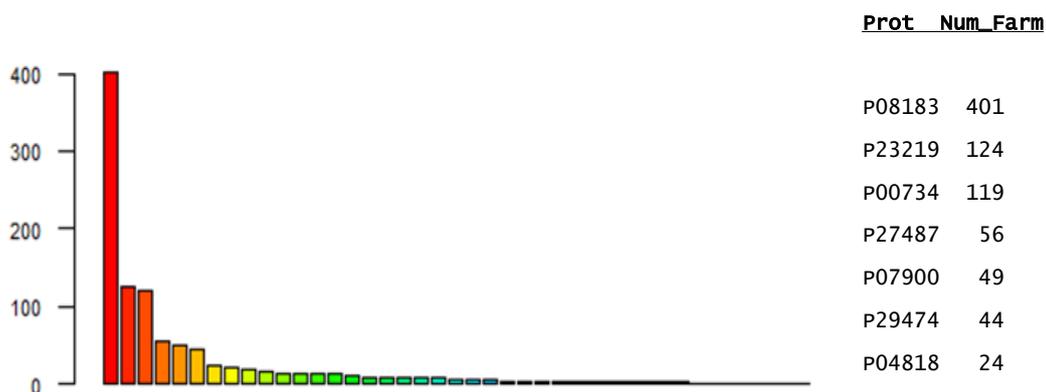


Figura 1-7: cantidad de fármacos (eje Y) por proteína (eje X)

La Figura 1-7: cantidad de fármacos (eje Y) por proteína (eje X) muestra la relación de proteínas, ordenadas según el número de fármacos asociados en DrugBank a cada una de ellas. Las proteínas con mayor número de fármacos y dicho número de fármacos se detallan a

la derecha del gráfico. Las primeras 3 proteínas, en rojo, registran más de un centenar de fármacos cada una:

- **Glucoproteína-P (P08183):** es una proteína transportadora localizada en la membrana, y muy importante porque expulsa una gran cantidad de sustancias fuera de la célula. Surgió como un mecanismo de defensa contra sustancias externas. Y es la responsable de reducir la cantidad de fármaco en células resistentes a múltiples fármacos, de tal manera que a menudo interviene en el desarrollo de resistencia a los fármacos contra el cáncer. [15]
- **Ciclooxigenasa (P23219):** es una enzima de membrana, clave en la síntesis de prostaglandinas, las cuales realizan funciones relacionadas con el dolor, la inflamación y el desarrollo de neoplasias. Acostumbra a ser inhibida por antiinflamatorios no esteroideos como la aspirina.[16]
- **Protrombina o factor II (P00734):** es una proteína del plasma sanguíneo que forma parte del proceso de coagulación. Está asociada tanto con fármacos inhibidores para tratamientos que requieren acción anti-coagulante en la trombocitopenia; como asociada con fármacos potenciadores para tratamientos que requieren acción coagulante en la hemofilia.

Fármacos y estados de aprobación

Por otro lado, el interés del trabajo también se centra en el estado de aprobación de los medicamentos. Por esta razón se descargó de DrugBank los datos en los que queda definida la categoría del medicamento a este respecto. En esta clasificación los fármacos están divididos según fármaco aprobado, nutracéutico, ilícito, retirado, en fase de investigación o en fase experimental. Los datos empleados se facilitan en el Material Suplementario S1 (ver anexo III).

En este estudio se han definido como:

- **Fármaco aprobado:** en DrugBank el estado de aprobado se otorga a los” medicamentos que han sido aceptados oficialmente para su comercialización en al menos una jurisdicción en un momento dado. Debido a la presencia de diferentes agencias reguladoras en todo el mundo, una vez que se aprueba un medicamento, este estado permanecerá en la tarjeta de medicamentos incluso si el medicamento se retira más adelante del mercado en una jurisdicción particular o se encuentra bajo investigación por una indicación diferente. Es muy común ver medicamentos con diferentes estados”.
- **Nutracéuticos:** son “medicamentos que están regulados y procesados a nivel farmacéutico y tienen un efecto nutricional demostrable. Otra característica importante de los nutracéuticos es que no siempre tienen una patente de protección, incluso cuando se usan como agentes terapéuticos. En general, son suplementos dietéticos, presentados en una matriz no alimenticia (como píldoras, cápsulas, polvo, etc.) de una sustancia natural bioactiva concentrada, presente en los alimentos y que, tomada en dosis superior a la existente en los alimentos, se le supone que tienen un efecto favorable sobre la salud” (DrugBank).
- **Medicamento ilícito:** aquél que “se ha prohibido su uso debido a la estimulación o inhibición del sistema nervioso central o debido a la producción de efectos alucinógenos. Los fármacos ilícitos son a menudo drogas programadas, por lo que son aprobadas, pero están limitadas en su distribución o tienen restricciones adicionales sobre cómo se pueden recetar “(DrugBank).
- **Medicamento retirado:** o según se denomina en inglés “withdrawn”, es un “medicamento que ha sido discontinuado. Si bien la razón por la cual se retiran

dichos medicamentos puede variar desde la seguridad del paciente y los problemas de toxicidad hasta la inviabilidad comercial, la razón formal detrás de tales decisiones recae típicamente en la administración de salud pública que emitió el retiro“(DrugBank).

- **Fármaco en investigación:** se refiere al estado de desarrollo del fármaco en el que el fármaco se está investigando para una condición determinada y ha llegado a ensayos clínicos. Un medicamento puede tener varios estados si, por ejemplo, ha sido aprobado para una indicación determinada, pero actualmente se encuentra en ensayos clínicos para una indicación diferente.
- **Fármaco experimental:** alude al estado de desarrollo del fármaco en el que se está investigando de forma preclínica.

Del total completo de fármacos descargados en DrugBank -no sólo los 931 fármacos del estudio-, 3729 son aprobados, 129 nutracéuticos, 205 son considerados ilícitos, 252 han sido retirados del mercado, 3920 han estado en fase de investigación, y 5764 en fase experimental con ensayos clínicos. Hay que tener en cuenta que un mismo fármaco puede estar clasificado en diferentes estados. Por ejemplo, un medicamento puede mantener en DrugBank su estado de aprobación incluso una vez retirado, ya que la aprobación indica que se ha aprobado en algún momento; así como el estado de retirado puede ser cierto para un área geográfica y no para otra.

Se descargaron y asignaron los estados de aprobación de cada uno de los fármacos asociados a las 41 proteínas multifuncionales de *Homo sapiens* en estudio, obteniendo un total de 931 fármacos distintos, clasificados como: 518 aprobados, 17 nutracéuticos, 10 ilícitos, 30 retirados, 322 en fase de investigación y 369 en fase experimental. La suma total da 1266 estados distintos, por lo que hay que recordar que un mismo fármaco puede estar clasificado en más de un estado.

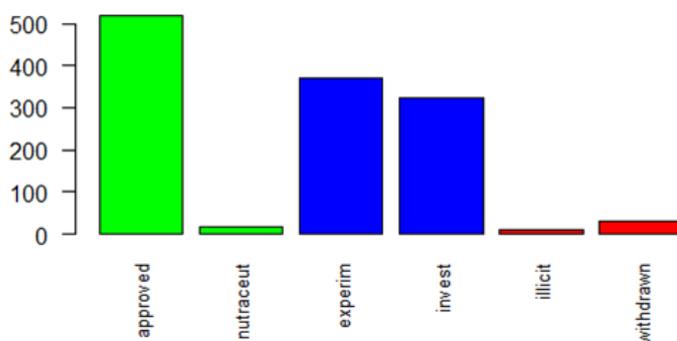


Figura 1-8: cantidad de fármacos (eje Y) según su estado de aprobación (eje X)

1.3.4 Planteamiento

El objetivo principal del trabajo es buscar fármacos exitosos y analizar si pueden ser reutilizados en distintas enfermedades.

Enfoque a partir de los fármacos

Parece lógico que el siguiente paso a seguir sea, una vez obtenido el listado de fármacos asociados a cada proteína, obtener el listado de enfermedades relacionadas con cada fármaco, sea exitoso o fallido el fármaco ante cada enfermedad o disfunción que intenta curar o modificar.

La Figura 1-9 muestra el primer enfoque. Se parte de un listado inicial de proteínas: Proteína 1, Proteína 2 (P2) y Proteína n (Pn), donde n el total de 41 proteínas multifuncionales, humanas

y dianas farmacológicas. De cada proteína se obtienen los fármacos asociados -Fármaco 1 (Farm1), Fármaco 2 (Farm2) y Fármaco X (Farmx) son fármacos asociados a la proteína 1 -, a partir del repositorio DrugBank, donde el total X de fármacos son los 931 fármacos distintos asociados a las 41 proteínas. El siguiente paso, es encontrar la enfermedad o enfermedades asociadas a cada fármaco obtenido -. En la figura, los fármacos 1 y 2 van dirigidos a paliar la enfermedad o los síntomas de la enfermedad 1(E1) , mientras que el fármaco X (farm x) se dirige a la enfermedad P (Ep)-.

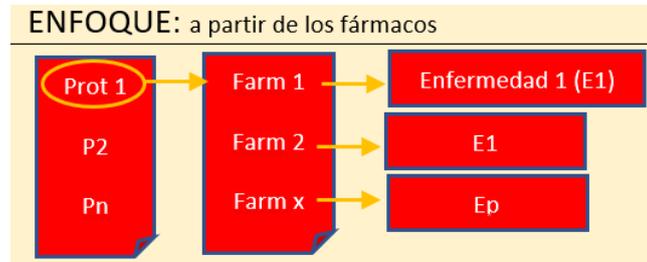


Figura 1-9: enfoque a partir de fármacos

Enfoque a partir de las proteínas

Pero, tal y como se descubrirá más adelante, será necesario tener en cuenta un segundo planteamiento en el cual no se relacionen directamente los fármacos con sus enfermedades asociadas; sino que las enfermedades se relacionen con las proteínas del estudio. Y será de esta manera indirecta que se intentarán relacionar finalmente con los fármacos asociados a las proteínas.

El siguiente diagrama plantea gráficamente el segundo enfoque. Se parte de nuevo del listado inicial de proteínas: Proteína 1, Proteína 2 (P2) y Proteína n (Pn), donde n es el total de 41 proteínas multifuncionales, humanas y dianas farmacológicas. De este listado de proteína se obtienen 2 listados asociados: un listado de fármacos asociados a cada proteína – con el fármaco 1 (Farm1), fármaco 2 (Farm 2) y fármaco x (Farm x) asociados a la proteína 1 de la Figura 1-10. Y se obtiene un listado de enfermedades en las que cada proteína está involucrada: la proteína 1 (P1) está involucrada en la enfermedad 1(E1), y así hasta la enfermedad número m (Em).

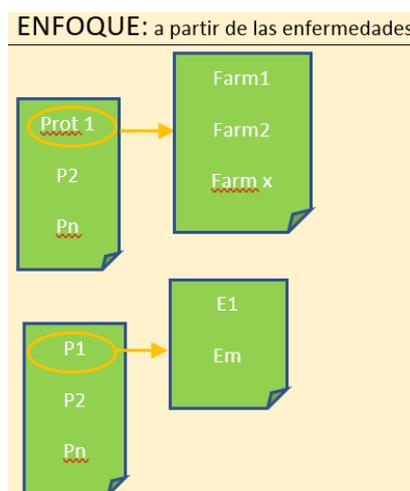


Figura 1-10: enfoque a partir de enfermedades

Desarrollo común

En cualquiera de los dos planteamientos descritos, tanto si las enfermedades se asocian a los fármacos o a las proteínas, el diagrama de trabajo será el que sigue:

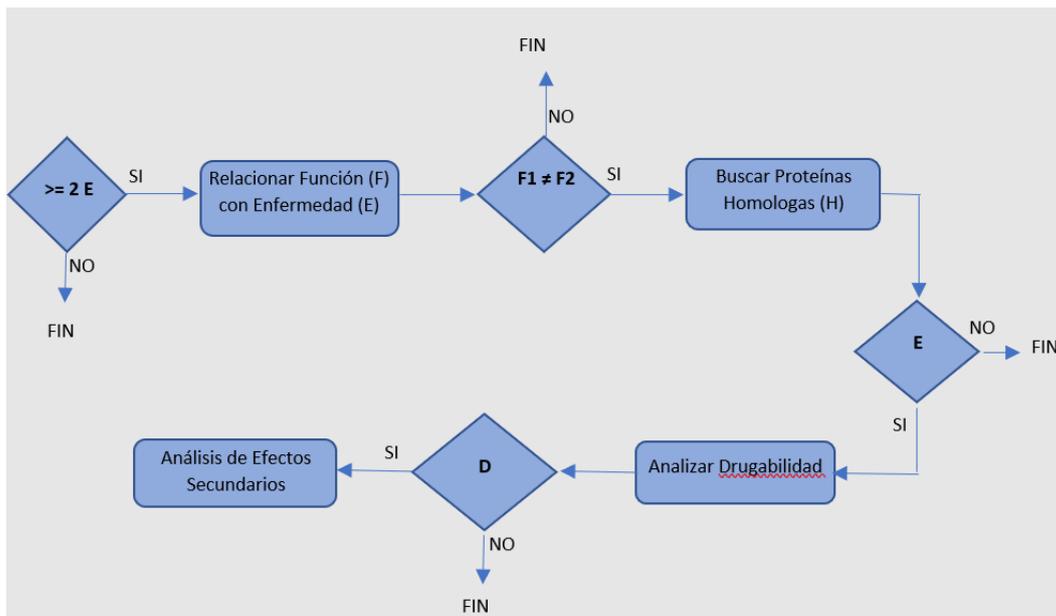


Figura 1-11: Workflow. Desarrollo común a ambos enfoques.

Lo primero será filtrar aquellos registros (de fármacos en el primer enfoque, o proteínas en el segundo) con **más de 1 enfermedad asociada** - $\geq 2 E$, más de 2 enfermedades-.

Esto es importante porque se buscan aquellas proteínas en las que la función canónica esté involucrada en una de las enfermedades, y una de las funciones adicionales, no canónica, esté involucrada en otra enfermedad –la función F1 corresponde a la función canónica involucrada en una enfermedad 1, y la función F2 corresponde a una de las funciones adicionales de la misma proteína que está involucrada en una enfermedad 2, distinta a la primera-.

En el *drug repurposing* se puede reutilizar un fármaco descartado para una enfermedad relacionada con una de las funciones, en otra enfermedad relacionada con una función distinta en la misma proteína.

Otra posibilidad es que se pueda reutilizar el fármaco en una proteína homóloga a la escogida. Si esta proteína homóloga tiene enfermedades asociadas - E, enfermedad asociada a la proteína homóloga- también se podrá plantear el estudio de reutilización del fármaco.

Una vez encontrado un caso de posible reutilización de un fármaco, se analizará la drugabilidad -D de drugabilidad- de la proteína. La drugabilidad es la capacidad de una proteína para unirse a una molécula moduladora. Esta molécula puede ser un medicamento micro-molecular o un fármaco biotecnológico, pero, en cualquier caso, debe modular la proteína de tal manera que la modulación se traduzca en un cambio a mejor en la enfermedad o bien en sus síntomas. Se puede tratar de reutilización de un fármaco entre dos enfermedades correspondientes a dos funciones distintas en la misma proteína; o bien, reutilización de un fármaco entre dos enfermedades correspondientes a dos proteínas homólogas entre sí. En este estudio se analizarán las regiones involucradas en las diferentes enfermedades. Se analizará la biodisponibilidad de la proteína, es decir, si la proteína puede realmente ser modulada por un fármaco sin provocar efectos perjudiciales. Podría, por ejemplo, ser una proteína vital y al inhibirla provocar la muerte del individuo.

Por último, como objetivo secundario se analizarán los efectos secundarios del fármaco, y se intentarán relacionar con la modulación del fármaco de las regiones involucradas en la función canónica y/o de las involucradas en las funciones adicionales.

1.4 Planificación del Trabajo

1.4.1 Tareas

1. Investigar la base de datos MultitaskProtDB [6] y obtener la recopilación actual de proteínas multifunción.
2. Investigar la base de datos DrugBank [11] y descargar los datos correspondientes a las proteínas multifunción recopiladas en la tarea 1.
3. Identificar las moon dianas farmacológicas junto con sus fármacos asociados e identificar las moon no dianas farmacológicas según la base de datos DrugBank.
4. Clasificar los fármacos entre exitosos y descartados, a partir de la base de datos DrugBank. Si se da el caso, indicar la razón descrita para la retirada de éste. Investigar las proteínas en la base de datos UniProt [17], y relacionarlas con enfermedades según el identificador OMIM hallado UniProt. Investigar la relación entre los fármacos y las enfermedades asociadas, si la hubiere.
5. Identificación de la función (canónica o adicional) involucrada en la enfermedad. Identificar la enfermedad diana de cada fármaco asociado con la proteína. En caso de que haya más de una enfermedad y las funciones sean distintas, valorar la posibilidad de estar ante un caso de estudio para reutilización del fármaco.
6. Si fuera necesario por falta de casos positivos en el punto 5, identificación de las proteínas homólogas a las moons dianas farmacológicas con enfermedades asociadas. La información se podrá extraer de la base de datos de UniProt analizando homología en la secuencia con la herramienta BLAST [18].
7. Investigar las proteínas homólogas en la base de datos UniProt y relacionarlas con enfermedades según el identificador OMIM hallado en la base de datos UniProt.
8. Identificación de las regiones relacionados con las enfermedades.
9. Averiguar si la proteína es drugable.
10. Resultado: propuesta de reutilización de fármaco.

1.4.2 Calendario

En el diagrama de Gantt adjunto - en anexo 1 - se desglosan la planificación previa al desarrollo del trabajo con las tareas a llevar a cabo y la duración que se asigna a cada una.

1.4.3 Hitos en la Planificación

Los hitos recogidos en la siguiente tabla corresponden al conjunto de datos que pretendemos obtener al final de cada tarea o subtarea del Enfoque Principal.

1. Dataset de proteínas Moonlighting.
2. Dataset con datos asociados a las proteínas Moon.
3. Identificación de las dianas farmacológicas, detallando los fármacos asociados.
4. Tabla con el estado de los fármacos (exitoso o fallido) asociados a la proteína. Tabla con las enfermedades OMIM asociadas a la proteína. Tabla cruzada con las proteínas dianas farmacológicas con enfermedades.
5. En la tabla cruzada obtenida en la tarea número 4, identificar e indicar la función correspondiente a la enfermedad o enfermedades asociadas a cada fármaco, o asociadas a cada proteína, según el enfoque dado. Resaltar los casos a estudiar para Drug Repurposing.
6. Según la tabla cruzada obtenida en la tarea número 4, si fuera necesario, indicar las proteínas homólogas según BLAST.

7. Dataset con las enfermedades OMIM asociadas a las proteínas homólogas.
8. Identificar las regiones de aminoácidos relacionadas con cada enfermedad.
9. Indicar si la proteína es o no es drugable.
10. Propuesta de proteína para reutilización de fármaco. Descripción de los efectos secundarios, relacionándolos con las funciones de la proteína.

1.4.4 Análisis de Riesgos

A lo largo del trabajo se consultarán una serie de bases de datos, de las cuales se pretende extraer la información necesaria acerca de las proteínas.

Como se puede apreciar de la valoración de riesgos, el alcance y los tiempos de dedicación al trabajo se verán afectados por la dificultad en encontrar disponibles los datos indicados.

Tabla 1-1: análisis de riesgos

Tarea	Riesgo
4	Si el número de proteínas moon, dianas farmacológicas y con enfermedades genéticas asociadas fuera nula o escasa. Esto aumentaría el riesgo de no encontrar una proteína adecuada para el estudio.
5	No poder identificar la función o funciones involucradas en una enfermedad afectaría de manera crítica al desarrollo de la investigación y la proteína quedaría sin poder ser analizada siguiendo el enfoque principal.
5	Los fármacos fallidos podrían no estar detalladamente explicados o, mejor dicho, ser difícil aclarar las causas que hayan motivado su descarte. Si se da el caso, se definirá el estado descartado del fármaco respecto a una enfermedad y se indicará la bibliografía relacionada con la misma, observando el desconocimiento de la causa. El desconocimiento de la causa del fracaso del fármaco afectará a la hora de proponer su reutilización.
6	No identificar enfermedades asociadas a las proteínas homólogas afectaría el desarrollo de la investigación, y la proteína quedaría sin poder ser analizada siguiendo el enfoque principal.
8 - 9	Crítica será la identificación de las regiones relacionadas con las enfermedades, y averiguar si son o no drugables. Esto está relacionado con el conocimiento de la estructura de las proteínas y hay que tener en cuenta que puede no estar disponible. Ambas averiguaciones son fundamentales para el trabajo, y en caso de no conseguir estos datos -ya sea a través de bases de datos o bien de artículos-, se indicará la imposibilidad de analizar la proteína en cuestión y se describirá la causa.
10	En cuanto a los efectos secundarios, podría ocurrir que no sea posible crear una correspondencia entre las funciones y los efectos secundarios. En tal caso, se describirá la causa.

1.5 Breve resumen de productos obtenidos

El objetivo es conseguir algún caso positivo en donde proponer la reutilización de un fármaco actualmente empleado para el tratamiento de una enfermedad relacionada con proteína multifuncional expresada en humanos, para tratar otra enfermedad distinta relacionada con otra función de la misma proteína, o bien con una proteína homóloga.

Un resultado particularmente interesante obtenido durante el proceso es el análisis de las enfermedades que están ligadas a las proteínas moonlighting, así como de los tipos de fármacos

que actúan sobre ellas. También colateralmente esto permite obtener un análisis de los efectos secundarios asociados a estos fármacos.

1.6 Breve descripción de los capítulos

En el capítulo 2 se estudian en detalle el conjunto de proteínas que cumplen con el criterio de ser multifuncionales en humanos, ser dianas farmacológicas y estar relacionadas con diversas enfermedades extraídas del repositorio OMIM.

En el capítulo 3 se añaden las enfermedades referidas en el repositorio MalaCards y, a continuación, se lleva a cabo el estudio de las proteínas que cumplen con el criterio ampliado.

En el capítulo 4 se analiza la drugabilidad de un posible caso exitoso para reutilización farmacológica.

En el capítulo 5 se resumen los resultados obtenidos y se plantean vías futuras de desarrollo.

En el capítulo 6 se definen algunos de los términos clave más utilizados en el trabajo.

El capítulo 7 reúne la bibliografía y webgrafía, con el listado de libros, artículos y webs consultados y referenciados a lo largo del trabajo.

El Anexo 1 contiene el diagrama de Gantt inicial, con la planificación original planteada.

Y finalmente, en el Anexo 2 se detallan algunas de las proteínas seleccionadas, y se valora si son o no casos óptimos para futuros estudios de drugabilidad.

2 Desarrollo I: OMIM

En este apartado se va a trabajar con datos descargados de los siguientes repositorios: MultitaskProtDB (del cual extraemos el conjunto de proteínas multifunción), DrugBank (con los fármacos asociados), UniProt (que nos proporciona información sobre las proteínas, sus funciones, enfermedades, etc) y OMIM (de la cual obtenemos información de las enfermedades asociadas).

2.1 Listado de proteínas moonlighting

Para conseguir el conjunto de proteínas se ha optado por descargar la información de la base de datos MultitaskProtDB, de la cual se extrae el listado. Los datos empleados se facilitan en el Material Suplementario S1 (ver anexo III).

Dependiendo de si la web está disponible o no en el momento de ejecutar este código, se puede descargar el listado de proteínas moonlighting on-line,

```
library(XML)

## Warning: package 'XML' was built under R version 3.4.4

web <- "http://wallace.uab.es/multitask/proteins_list.php?pagesize=-1"
moonlighting <- readHTMLTable(web, header=T, which = 2, stringsAsFactors=F)
```

o se carga la información desde un fichero adjunto al trabajo -fichero descargado cuando la base de datos está disponible-.

```
require(stringr)

## Loading required package: stringr
```

```
## Warning: package 'stringr' was built under R version 3.4.4
moonlighting <- read.csv("proteins.csv",header = TRUE, sep = ",",stringsAsFactors = FALSE)
```

El dataframe con el conjunto de moons descargada contiene 288 proteínas multifunción, de las cuales sólo nos interesan las proteínas expresadas en *Homo sapiens*.

```
moonlighting<-[grep("sapiens",moonlighting$Organism),]
```

Como resultado obtenemos un dataframe con 89 moons de *Homo sapiens*.

El dataset contiene 89 registros con variables que nos dan información sobre la proteína: el identificador de la proteína en UniProt, el nombre de la proteína, las definiciones de función canónica y función o funciones adicionales de la proteína, y la especie del organismo en el que se expresa, entre otras variables. Los registros quedan adjuntados en el Material Suplementario S2 (ver anexo III).

2.2 Listado de fármacos

Se descargaron los listados de proteínas contenidos en DrugBank, publicados en Noviembre del 2018, v 5.1.2, en la sección de descargas.

Tal y como se ha explicado, las proteínas vienen clasificadas por grupo funcional según su interacción con los fármacos, e incluyen el identificador de UniProt, el cual nos sirve para relacionar este dataset que relaciona proteínas y fármacos, con el anterior dataset de proteínas multifuncionales.

Para acceder y descargar los datos de la web de DrugBank hay que ejecutar instrucciones de descarga. Por ejemplo, en el caso de descarga de la actualización 5.1.2 con el listado de dianas farmacológicas, las instrucciones de descarga son:

```
curl -Lfv -o target.csv.zip -u ogimenezs@uoc.edu:4g3m2n2zs https://www.drugbank.ca/releases/5-1-2/downloads/target-all-polypeptide-ids
```

```
curl -Lfv -o enzyme.csv.zip -u ogimenezs@uoc.edu:4g3m2n2zs https://www.drugbank.ca/releases/5-1-2/downloads/enzyme-all-polypeptide-ids
```

```
curl -Lfv -o carrier.csv.zip -u ogimenezs@uoc.edu:4g3m2n2zs https://www.drugbank.ca/releases/5-1-2/downloads/carrier-all-polypeptide-ids
```

```
curl -Lfv -o transporter.csv.zip -u ogimenezs@uoc.edu:4g3m2n2zs https://www.drugbank.ca/releases/5-1-2/downloads/transporter-all-polypeptide-ids
```

De nuevo, dependiendo de si la web está disponible o no en el momento de ejecutar el código, se puede descargar el listado de proteínas/fármacos on-line, o se carga la información desde los correspondientes ficheros previamente descargados y adjuntos al trabajo - cuatro archivos csv, clasificados según los 4 grupos funcionales-

```
DrugTargetId <- read.csv("drugbank_all_target_polypeptide_ids.csv//all.csv",header = TRUE, sep = ",",stringsAsFactors = FALSE)
DrugEnzymeId <- read.csv("drugbank_all_enzyme_polypeptide_ids.csv//all.csv",header = TRUE, sep = ",",stringsAsFactors = FALSE)
DrugCarrierId <- read.csv("drugbank_all_carrier_polypeptide_ids.csv//all.csv",header = TRUE, sep = ",",stringsAsFactors = FALSE)
DrugTransporterId <-read.csv("drugbank_all_transporter_polypeptide_ids.csv//all.csv", header = TRUE, sep = ",",stringsAsFactors = FALSE)
```

Los datos empleados se facilitan en el Material Suplementario S1 (ver anexo III).

Se obtienen 4 dataframes (Figura 2-1) con información de proteínas y fármacos asociados: DrugCarrierId con 83 registros de proteínas que actúan como portadoras de fármacos,

DrugEnzymeId con 376 proteínas que actúan como enzimas, DrugTargetId con 4987 proteínas que se comportan como dianas, y DrugTransporterId con 200 registros de proteínas que se comportan como transportadoras. Como se comentó antes, una proteína puede interactuar con fármacos distintos en grupos funcionales distintos.

Data	
DrugCarrierId	83 obs. of 13 variables
DrugEnzymeId	376 obs. of 13 variables
DrugTargetId	4987 obs. of 13 variables
DrugTransporterId	200 obs. of 13 variables
moonlighting	89 obs. of 9 variables

Figura 2-1: dataframes en R por grupos funcionales

Cada dataframe está definido por 13 variables, como el identificador UniProt de proteínas, el nombre de la proteína, el nombre del gen que expresa la proteína, la especie del organismo en la que se expresa y todos los fármacos asociados, nombrados con una identificación propia de DrugBank.

A continuación, se cruzaron los dataframes de fármacos con el de proteínas multifuncionales de *Homo sapiens*— dataframe moonlighting—, dando lugar a 38 registros de moons target, 10 registro de moons enzimas, 2 de moons portadoras y 3 de moons transportadoras. La suma de registros da lugar a 53 registros-

```
targets_DrugTargetId<- merge(moonlighting,DrugTargetId, by.x = "UniProt.Code",by.y =
"UniProt.ID")
colnames(targets_DrugTargetId)[colnames(targets_DrugTargetId)=="Drug.IDs"]<- "Target.Drug.IDs"
# 38 moons son dianas farmacológicas
```

```
targets_DrugEnzymeId<- merge(moonlighting,DrugEnzymeId, by.x = "UniProt.Code",by.y =
"UniProt.ID")
colnames(targets_DrugEnzymeId)[colnames(targets_DrugEnzymeId)=="Drug.IDs"]<- "Enzyme.Drug.IDs"
# 10 moons son dianas farmacológicas
```

```
targets_DrugCarrierId<- merge(moonlighting,DrugCarrierId, by.x = "UniProt.Code",by.y =
"UniProt.ID")
colnames(targets_DrugCarrierId)[colnames(targets_DrugCarrierId)=="Drug.IDs"]<- "Carrier.Drug.IDs"
# 2 moons son dianas farmacológicas
```

```
targets_DrugTransporterId<- merge(moonlighting,DrugTransporterId, by.x = "UniProt.Code",by.y =
"UniProt.ID")
colnames(targets_DrugTransporterId)[colnames(targets_DrugTransporterId)=="Drug.IDs"]<-
"Transporter.Drug.IDs"
# 3 moons son dianas farmacológicas
```

Pero como una misma proteína puede estar contenida en más de uno de los cuatro listados funcionales, fue necesario unificar los dataframes y filtrarlo de tal manera que cada registro contuviera únicamente información relacionada con una proteína.

```
tmp<-rbind.fill(targets_DrugTargetId,targets_DrugEnzymeId,targets_DrugCarrierId,targets_DrugTr
ansporterId)

targets<-aggregate(x = tmp, by = list(tmp$UniProt), FUN = function(x) na.omit(x)[1]),-1]

targets<-targets[ , !(names(targets) %in% drops)]
```

Obteniendo un dataframe con 41 proteínas multifuncionales, de *Homo sapiens*, dianas farmacológicas. Con este cambio cada proteína ocupa un solo registro con la información de los fármacos asociados, divididos por el grupo funcional según su interacción con la proteína. El

listado con los datos de las 41 proteínas resultantes adecuadamente tratados se facilitan en el Material Suplementario S2, en la pestaña Moons-Dianas (ver anexo III).

2.3 Primer enfoque: centrado en los fármacos

Para identificar de manera independiente la relación fármaco-proteína, se genera un nuevo dataset auxiliar con el mismo contenido que el anterior, pero estructurado de manera distinta: cada fármaco ocupando un registro distinto. De esta manera se obtiene un dataframe de 1024 registros, con un total de 931 fármacos distintos. Las 41 moons de *Homo sapiens*, dianas, interaccionan con 931 fármacos.

En este momento se llega a un importante punto de inflexión en el desarrollo del trabajo. No conocemos la existencia de una base de datos de la cual se pueda obtener la información de las enfermedades **asociadas** a los fármacos de manera automática. Debido a la ingente cantidad de fármacos distintos asociados a las 41 moons de nuestro conjunto se opta por no seguir el criterio de averiguar qué enfermedad pretende modular cada fármaco puesto que sería necesario hacer la investigación manualmente, fármaco a fármaco.

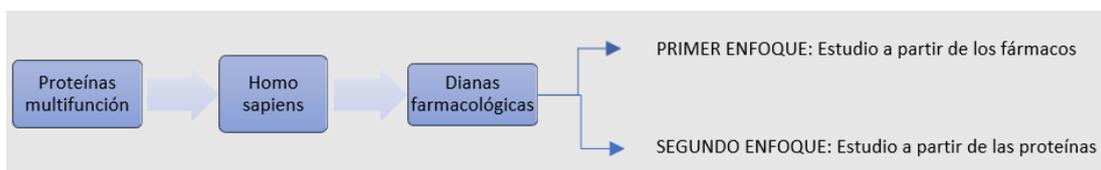


Figura 2-2: enfoques planteados

Por ello, se toma la decisión de desestimar el primer enfoque propuesto. A partir de este momento, se inicia el segundo planteamiento: identificar las enfermedades en las que están involucradas las proteínas multifuncionales, y de manera indirecta relacionarlas con los fármacos asociados con ellas.

2.4 Segundo enfoque: centrado en las proteínas

Se investigaron las enfermedades genéticas asociadas a las 41 proteínas multifuncionales, de *Homo sapiens*, dianas farmacológicas halladas, según la base de datos OMIM[19].

OMIM es el acrónimo de Online Mendelian Inheritance in Man. Se trata de un importante repositorio que contiene un compendio completo de genes humanos, fenotipos genéticos y su relación. Contiene información sobre más de 15000 genes humanos relacionándolos con todos los trastornos mendelianos⁶ conocidos.

La base de datos se inició en la década de los 60, y en 1995 el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) la desarrolló y facilitó su disponibilidad on-line. En la actualidad está actualizada por el Instituto de Medicina Genética McKusick-Nathans, de la Facultad de Medicina de la Universidad Johns Hopkins, bajo la dirección de la Dra. Ada Hamosh.

Los datos resultantes de la búsqueda de las enfermedades mendelianas asociadas a cada proteína multifuncional quedaron recogidos en un Excel adjunto, el cual muestra el número de enfermedades asociadas y su identificación.

⁶ Un trastorno mendeliano, también llamado monogénico, es un trastorno causado por un defecto en un único gen. Los trastornos mendelianos son poco comunes, pero dado que hay varios miles de trastornos monogénicos conocidos, su impacto es considerable.

Resaltar el ejemplo de la proteína multifuncional Thrombin protease (Protrombina) a la cual se ha hecho también referencia gráfica anteriormente por la gran cantidad de fármacos asociados. OMIM tiene registradas 4 enfermedades asociadas a dicha proteína, en las que la protrombina está involucrada.

Del listado total de proteínas, filtramos sólo aquellas con más de una enfermedad asociada. El resultado de tal filtrado es un conjunto de 3 moons.

Tabla 2-1: moons dianas farmacológicas de Homo sapiens, con varias enfermedades asociadas

UniProt.Code	Protein.Name	Gene.Name	Número de enfermedades según OMIM
P00734	Thrombin protease (Prothrombin)	F2	4
P13569	CFTR chloride channel (Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)	CFTR	2
P60709	Actin	ACTB	2

La protrombina está involucrada en 4 enfermedades, y la actina y la proteína reguladora de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR) están involucradas en 2 enfermedades cada una.

En la Figura 2-3 se muestra el diagrama de flujo del trabajo, resaltando en amarillo justo el punto en el que se encuentra el análisis.

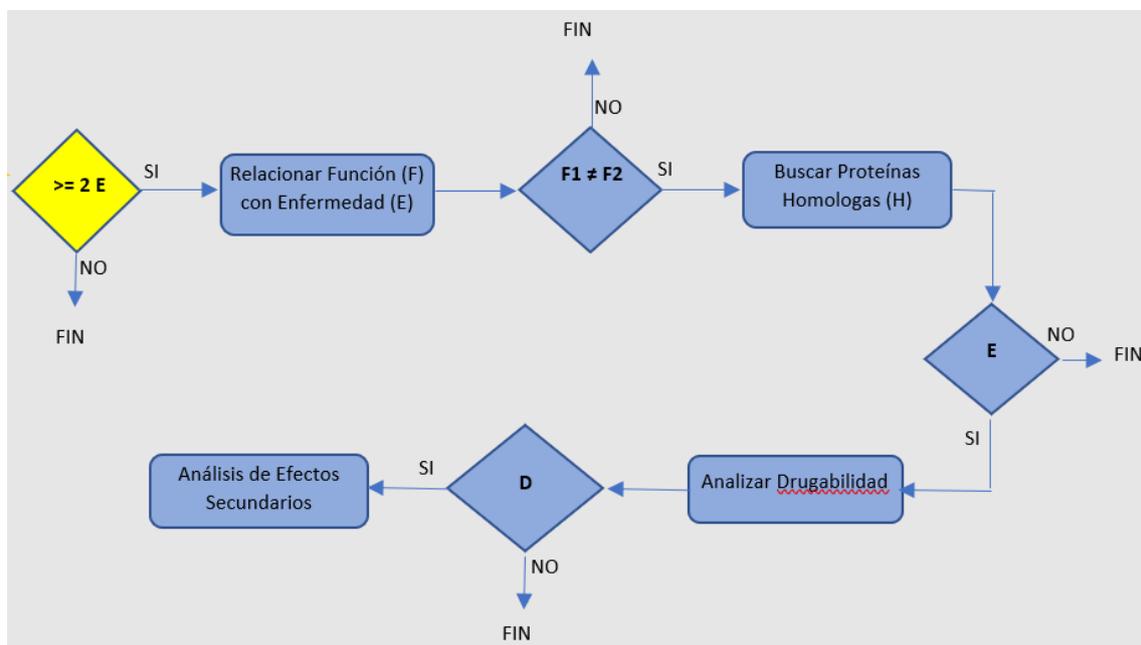


Figura 2-3. Workflow. Criterio: proteínas con más de una enfermedad asociada.

Se han filtrado las proteínas con al menos 2 enfermedades, para a continuación, llevar a cabo el análisis que nos permita proponer la reutilización del fármaco para la segunda enfermedad.

2.5 Funciones, enfermedades y fármacos

Siguiendo la línea de trabajo, se procede al estudio en detalle de las 3 proteínas seleccionadas, para intentar relacionar sus enfermedades asociadas con la función canónica o alguna de las

funciones adicionales. En caso de descubrir en alguna de las tres proteínas que una de las enfermedades involucra la función canónica, mientras que otra involucra una función adicional, estaríamos ante un caso óptimo para un estudio de reutilización de fármaco.

Por otro lado, se investigará la relación indirecta entre los fármacos y las enfermedades asociadas. Se indicará una clasificación entre fármacos exitosos y descartados para cada proteína en los casos óptimos de estudio. Y, llegado el caso, se indicaría la razón descrita en caso de retirada de fármaco posterior.

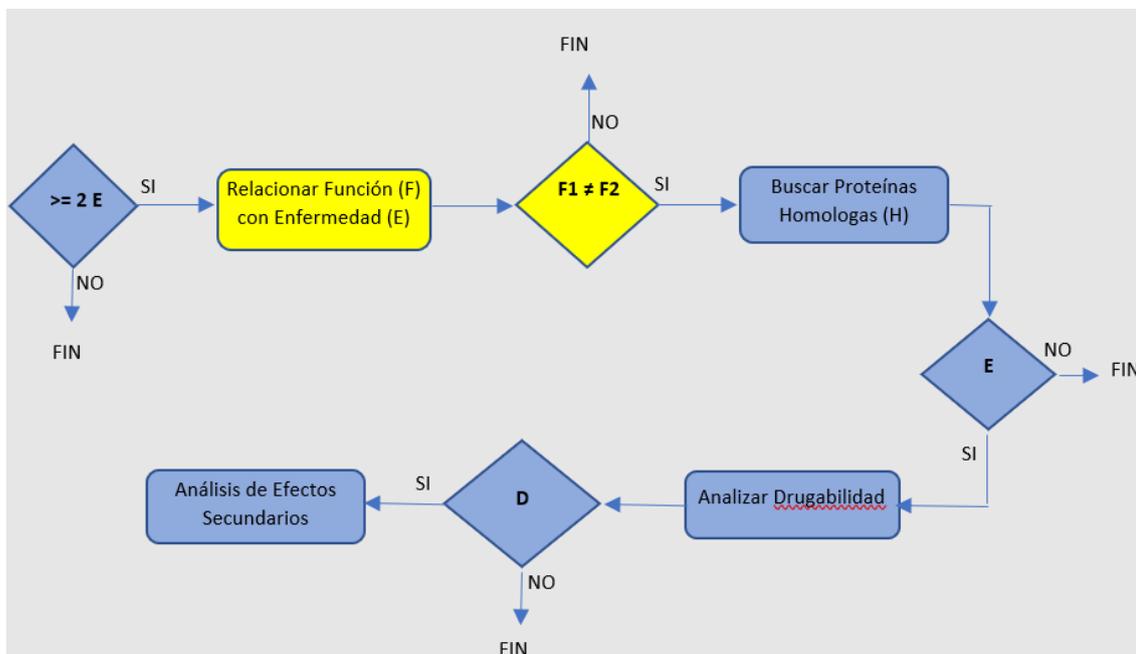


Figura 2-4: Workflow. Criterio: enfermedades asociadas a funciones distintas, donde una es la canónica.

Se estudiarán las proteínas Protrombina, Actina Beta y CFTR (Reguladora de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística) a partir de las enfermedades registradas en OMIM y los fármacos en DrugBank.⁷

2.5.1 Thrombin protease (P00734)

Funciones

La función canónica de la protrombina (también llamada Factor II) es la de ser una proteína del plasma sanguíneo que forma parte del proceso de coagulación mediante reacción con la tromboplastina.

La función moonlighting es hacer enlaces con receptores de membrana celular. La descripción ofrecida por UniProt indica que *“la protrombina se activa en la superficie de una membrana de fosfolípidos que se unen al extremo amino de la protrombina y de los factores Va y Xa en las interacciones dependientes de Ca”*.

⁷ Las descripciones de las funciones están extraídas de UniProt y MultitaskProtDB. Las descripciones de las enfermedades están extraídas de OMIM. Las descripciones de los fármacos están extraídas de DrugBank.

Tabla 2-2: enfermedades asociadas a la Protrombina

Enfermedad	Función	Expresión	Fenotipo
Deficiencia de Factor II	C ⁸	Deficiencia de Protrombina	Menor capacidad de coagulación.
Infarto cerebrovascular	-	-	Disminución del flujo sanguíneo.
Trombofilia	C	Exceso de Protrombina	Exceso de formación de coágulos.
Abortos espontáneos	-	-	-

Deficiencia del Factor II (FA2D): Es un trastorno raro de coagulación sanguínea, caracterizado por síntomas de sangrado mucocutáneo. La gravedad de las manifestaciones hemorrágicas se correlaciona con la deficiencia del Factor II en sangre, lo cual lleva a la disminución de la capacidad de coagulación. Puede transmitirse de padres a hijos (hereditario), y es muy poco común pues ambos padres deben portar el gen para transmitir el trastorno a sus hijos. También puede no ser hereditaria y deberse a otra afección o al uso de ciertas medicinas. Esto se denomina deficiencia del Factor II adquirida. En este caso, puede ser causada por: falta de vitamina K, enfermedad hepática grave o al uso de medicamentos para prevenir la coagulación. Ref. OMIM:613679.

Infarto Cerebrovascular (ISCHSTR): El infarto cerebrovascular es un evento neurológico agudo que conduce a la muerte del tejido neural del cerebro y provoca la pérdida de la función motora, sensorial y / o cognitiva. Es causado por un proceso de isquemia (disminución del flujo sanguíneo), durante el cual muere parte de la masa encefálica debido al fallo en la irrigación sanguínea. El 80% de los infartos son isquémicos (disminución masiva del flujo sanguíneo), resultantes de una oclusión vascular. Ref. OMIM: 601367.

Trombofilia (THPH1): Provocada por una mutación en la región 3 no traducida del gen de la protrombina. Es un trastorno de formación inadecuada de coágulos (factores predisponentes genéticos, adquiridos y circunstanciales), y se asocia con niveles elevados de protrombina en plasma y un mayor riesgo de trombosis venosa. Se trata de un trastorno de la hemostasia caracterizado por agregación plaquetaria anormal en respuesta a diversos agentes y formación de trombos recurrentes. El tromboembolismo venoso (taponamiento) se manifiesta con mayor frecuencia como trombosis venosa profunda, la cual puede progresar a una embolia pulmonar. Ref. OMIM:188050.

Pérdidas recurrentes del embarazo (RPRGL2): Complicación común del embarazo, que resulta en aborto espontáneo antes de que el feto haya alcanzado la viabilidad. Ref. OMIM:614390.

Fármacos

Del análisis de DrugBank se obtienen 118 fármacos asociados a la protrombina. Casi todos los fármacos contemplan la proteína como target, menos 5 que la tratan como enzima. Se filtran sólo los exitosos (es decir, aprobados o nutraceuticos que no hayan sido descartados por haber sido retirados del mercado). A continuación, se muestra el conjunto de fármacos que cumplen la condición. Las dos líneas grises corresponden a fármacos aprobados y retirados del mercado en algún área geográfica. Suman un total de 25 fármacos a analizar en detalle.

⁸ Canónica

Tabla 2-3: fármacos asociados a Protrombina, en estado actual de aprobación, según DrugBank

1	UniProt.Cc	DrugBank	Name	isApproved	isNutraceutical	isExperimental	isInvestigational	isIllness	isWithdrawn
2	P00734	DB00001	Lepirudin	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE
3	P00734	DB00006	Bivalirudin	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
4	P00734	DB00025	Antihemophilic factor, human recombinant	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
5	P00734	DB00055	Drotrecogin alfa	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	TRUE
6	P00734	DB00100	Coagulation Factor IX (Recombinant)	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
7	P00734	DB00170	Menadione	TRUE	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE
8	P00734	DB00278	Argatroban	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
9	P00734	DB01123	Proflavine	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE
10	P00734	DB01593	Zinc	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
27	P00734	DB04898	Ximelagatran	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	TRUE
29	P00734	DB05777	Thrombomodulin Alfa	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
30	P00734	DB06404	Human C1-esterase inhibitor	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE
31	P00734	DB06695	Dabigatran etexilate	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE
106	P00734	DB09109	Turoctocog alfa pegol	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
107	P00734	DB09130	Copper	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
108	P00734	DB09228	Conestat alfa	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
109	P00734	DB09332	Kappadione	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE
110	P00734	DB11166	Antithrombin Alfa	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
111	P00734	DB12364	Betrixaban	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
114	P00734	DB13151	Anti-inhibitor coagulant complex	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
115	P00734	DB13152	Coagulation Factor IX Human	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE
116	P00734	DB13998	Lonoctocog alfa	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
117	P00734	DB13999	Moroctocog alfa	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE
118	P00734	DB14487	Zinc acetate	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
119	P00734	DB14533	Zinc chloride	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE

9 fármacos son **inhibidores de coagulación** y puede seguir dos estrategias diferentes. Algunos inhiben la trombina: el Trombomodulin alfa, Dabigatran, Antitrombina alfa, Lepirudin, Bivalirudin, Argatroban, y Ximelagatran. Otros inhiben el factor X u otros factores de coagulación: el Betrixaban, Drotrecogin alfa, y Ximelagatran.

De los 9 fármacos inhibidores, dos fueron retirados del mercado: el Drotrecogin se retiró por no mejorar la infección generalizada de la sangre (sepsis); y el Ximelagatran por hepatotoxicidad.

Aparte de estos dos fármacos retirados, se ha descubierto que el Lepirudin ha sido anulado por muerte de varios pacientes tras su administración. Aunque DrugBank no ha actualizado su estado a WITHDRAWN, en la descripción sí describe que el medicamento está anulado.

9 fármacos son **potenciadores de la coagulación** y también siguen estrategias diferentes. Por ejemplo, algunos potencian los factores VIII y XIII de coagulación para el tratamiento de la hemofilia A: el Turoctocog, Lonoctocog, Moratocog y el factor anihemolítico Factor VIII recombinante. Por otro lado, el fármaco factor IX de coagulación recombinante potencia el factor IX de coagulación para el tratamiento de la hemofilia B. Además, se incluye un fármaco anti-inhibidor coagulante, indicado para ambas hemofilias.

Por último, son fármacos derivados de la Vitamina K la Kappadione y la Menadione. Kappadione es un fármaco citotóxico y está discontinuado por el laboratorio fabricante, aunque DrugBank aún no indica que está retirado. Y en el Menadione se indica que el fármaco puede causar daño cerebral y anemia hemolítica. Este efecto secundario indica que la proteína no sólo se dedica a la coagulación. Los efectos secundarios del fármaco encajan con las otras enfermedades.

Resultados

Las dos enfermedades principales -trombofilia y deficiencia del factor II- involucran a la función canónica, por lo que no podemos tomar la protrombina como caso de estudio para reutilización de fármaco.

Desde otro punto de vista: la deficiencia de factor II necesitaría un fármaco potenciador de protrombina, mientras que la trombofilia necesitaría un fármaco inhibidor de protrombina. Por

lo tanto, analizando el caso desde este otro prisma, tampoco se podría reutilizar un mismo fármaco para las dos enfermedades.

Por último, es necesario aclarar que ni en el caso del infarto, ni en la pérdida del embarazo se han hallado las funciones involucradas.

2.5.2 CFTR (P13569)

Funciones

La proteína CFTR se encuentra en las membranas celulares de los tejidos animales que tienen una secreción exocrina, como las glándulas sudoríparas, páncreas, intestino y riñón.

Su función canónica consiste en facilitar el transporte de iones de cloro hacia el exterior de la membrana celular.

La función moon descrita indica que la proteína es también reguladora de otros canales, como el de iones de sodio (Na+).

Enfermedades

Se describen las 2 enfermedades asociadas a la CFTR.

Tabla 2-4: enfermedades asociadas a CFTR, según OMIM

Enfermedad	Función	Expresión	Fenotipo
Fibrosis Quística	-	Déficit en el transporte de iones	Mal funcionamiento del intercambio de iones
Absencia congénita bilateral de los vasos deferentes	-	Déficit en el transporte de iones	Mal funcionamiento del intercambio de iones

Fibrosis Quística (CF): Es un trastorno generalizado común de las glándulas exocrinas que entorpece la eliminación de las secreciones en varios órganos. Se caracteriza por una tríada: 1.- infección broncopulmonar crónica, 2.- insuficiencia pancreática (que causa mala absorción y retraso del crecimiento) y 3.- electrolitos elevados de sudor. La herencia es autosómica recesiva. Ref. OMIM: 219700.

Absencia congénita bilateral de los vasos deferentes (CBAVD): Enfermedad causante de esterilidad en los hombres. Parece que podría ser una forma incompleta de fibrosis quística, ya que la mayoría de los hombres que sufren de fibrosis quística carecen del conducto deferente. Se hereda con un patrón autosómico recesivo. Ref. OMIM: 277180.

Fármacos

A continuación, se lleva a cabo un análisis de actuación de los fármacos asociados a la proteína.

Los fármacos están dirigidos mayoritariamente a subsanar el fallo en las funciones secretoras.

La proteína tiene asociados un total de 13 fármacos, de los cuales 9 pueden considerarse exitosos y ninguno ha sido retirado, o considerado ilícito. Todos los fármacos interactúan con la proteína como target. En la siguiente tabla, se marcan en gris, los fármacos no aprobados aún.

Tabla 2-5: fármacos asociados a CFTR, en estado de aprobación o bien nutracéuticos, según DrugBank

1	DrugBank.	Name	isApprov	isNutraceuti	isExperimen	isInvestigatio	isIlli	isWithdraw
2	DB00171	ATP	FALSE	TRUE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
3	DB00887	Bumetanide	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE
4	DB01016	Glyburide	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE
5	DB01050	Ibuprofen	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE
6	DB02587	Colforsin	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE	FALSE	FALSE
7	DB04395	Phosphoamin	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE
8	DB04522	Dexfosfoferin	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE
9	DB04941	Crofelemer	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE
10	DB06266	Lonidamine	FALSE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
11	DB08820	Ivacaftor	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE
12	DB09213	Dexibuprofen	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE
13	DB09280	Lumacaftor	TRUE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE	FALSE
14	DB11712	Tezacaftor	TRUE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE

Dentro del desarrollo de los fármacos reparadores de la proteína CFTR, se han identificado 3 grupos principales⁹.

1. los supresores del codón de parada prematuro (**mutación de clase I**). Estos fármacos consiguen que no se identifique este codón de parada, por lo que la proteína puede seguir su síntesis al completo.
2. los denominados fármacos correctores del CFTR. Están diseñados para corregir el tráfico de la proteína con defectos en el plegamiento (**mutación de clase II**) hasta la membrana celular donde podría hacer su función casi con normalidad.
3. los denominados potenciadores del CFTR. Estos fármacos tienen por diana la proteína CFTR que está en la superficie celular, con objeto de mejorar su función. Los fármacos potenciadores pueden actuar por tanto sobre las **mutaciones de clases III, IV, V y VI**.

Resultados

Los fármacos están dirigidos mayoritariamente a los fallos en las funciones secretoras.

Las descripciones sugieren que ambas afectaciones están relacionadas con un déficit en el transporte de iones. Por ejemplo, en el caso de la función espermática desempeña un papel en la homeostasis del cloruro y el bicarbonato durante la maduración y capacitación del epidídimo del semen.

El mal funcionamiento podría ser debido a un intercambio incorrecto de iones de Cloro, pero también al mal funcionamiento en el intercambio de iones de sodio (funciones principal y moonlighting indicadas), por lo que no queda claro que las enfermedades involucren funciones distintas de la proteína, de cara a escogerla para el estudio.

Lamentablemente, los fármacos asociados son para bloquear la función secretora, mientras que las enfermedades asociadas lo son también por defecto de la función, por lo que no interesaría bloquearlas más y, por tanto, se descarta esta proteína para la reutilización farmacológica.

⁹ Información extraída por completo de DrugBank

2.5.3 Actina cytoplasmic 1(P60709)

Funciones

La función canónica de la actina citoplásmica -o actina beta- se desarrolla en el citoesqueleto, con la contracción y relajación muscular.

La función moonlighting se localiza en el núcleo y regula la transcripción de genes y la motilidad y reparación del ADN dañado.

Enfermedades

Se describen las 2 enfermedades asociadas a la actina beta:

Tabla 2-6: enfermedades asociadas a actina citoplásmica, según OMIM

Enfermedad	Función	Expresión	Fenotipo
Distonía de origen juvenil	C	sobreexpresión	contracción muscular involuntaria sostenida
Síndrome de Baraitser-Winter	C	sobreexpresión	migración neuronal dañada

Distonía de origen juvenil (DJO): La distonía se define por la presencia de una contracción muscular involuntaria sostenida, que a menudo conduce a posturas anormales. Los pacientes manifiestan distonía progresiva, generalizada, que no responde a tratamiento, con malformaciones del desarrollo y pérdida auditiva sensorial. Ref. OMIM: 607371.

Síndrome Baraitser-Winter (BRWS1): Enfermedad que afecta el desarrollo de muchas partes del cuerpo, particularmente la cara y el cerebro. La característica más común de este síndrome es el aspecto facial inusual. Los rasgos faciales distintivos pueden incluir ojos muy espaciados (hipertelorismo), grandes aperturas de párpados, párpados caídos (ptosis), cejas arqueadas, un puente nasal ancho, punta de la nariz ancha, gran distancia entre la nariz y el labio superior, mejillas inflamadas, y el mentón puntiagudo. Muestra anomalías estructurales del cerebro en la mayoría de los pacientes. Estas anomalías están relacionadas con la migración neuronal dañada, un proceso por el cual las neuronas se mueven a sus posiciones adecuadas en el cerebro en la fase de desarrollo. En raras ocasiones, las personas con síndrome de Baraitser-Winter presentan también distensión muscular involuntaria (distonía). Ref. OMIM: 243310.

Fármacos

No es posible usar un fármaco para una enfermedad de desarrollo como el síndrome Baraitser-Winter ya que, una vez ha nacido el bebe, los daños están ya hechos.

Por otro lado, del estudio de los dos fármacos asociados se observa que ninguno de los dos va dirigido al tratamiento de las enfermedades descritas en OMIM: la Quercitina está indicada para la malaria, y el Phenethyl Isothiocyanate se utiliza en ensayos para el tratamiento de leucemia y cáncer de pulmón.

Tabla 2-7: fármacos asociados a actina citoplásmica, según DrugBank

1	DrugBank.ID	Name	isApproved	isNutraceutical	isExperimental	isInvestigational	isIllicit	isWithdrawn
2	DB04216	Quercetin	FALSE	FALSE	TRUE	TRUE	FALSE	FALSE
3	DB12695	Phenethyl Isothiocyanate	FALSE	FALSE	FALSE	TRUE	FALSE	FALSE

Resultados

De nuevo, este caso no es óptimo para la reutilización del fármaco. Pero viendo las enfermedades relacionadas con los fármacos, se intuye un nuevo punto de inflexión en el trabajo.

2.5.4 Mejoras en el desarrollo. Punto de inflexión.

Tal y como se ha descrito a lo largo de la estrategia inicial, el número de fármacos descritos asociados a las 41 proteínas multifuncionales humanas y dianas farmacológicas es de un tamaño tan grande como para descartar el planteamiento del estudio a partir de la acción farmacológica de cada fármaco, o bien de las enfermedades a las que van dirigidos sus tratamientos, puesto que no se conoce un repositorio que ofrezca esta información a través de instrucciones de descarga masiva.

Por otro lado, se observa que el número de enfermedades relacionadas según OMIM con las proteínas es extrañamente bajo, sobre todo si se compara con el número de fármacos de alguna de ellas y extrañamente incoherente en algunos casos.

Proteína hCNT1

Siguiendo este hilo conductor se planteó el estudio detallado de una cuarta proteína, la O00337 hCNT1 Sodium/nucleoside cotransporter 1. La hCNT1 es una proteína multifuncional, de *Homo sapiens*, también diana farmacológica. El interés de este análisis se centra en que hCNT1 no está involucrada en ninguna enfermedad con referencia OMIM – que es nuestro criterio de estudio-, pero en cambio sí tiene fármacos asociados: 5 fármacos, todos aprobados, todos exitosos. Este análisis intenta ahondar en la falta de correspondencia entre los fármacos mostrados en DrugBank y las enfermedades mendelianas mostradas en OMIM.

Funciones

La proteína hCNT1 participa en el transporte de nucleósidos. Según indica la revista SINC [20] *“Estos transportadores son la puerta de entrada a la célula de fármacos análogos a los nucleósidos, y usados en quimioterapia del cáncer y en enfermedades virales. Además, hCNT1 puede tener otras funciones biológicas que afectarían a la fisiología de células tumorales.*

Dejando aparte su papel de transportador de fármacos, se cree que las células tumorales podrían proliferar en condiciones de ausencia de este transportador hCNT1, independientemente del uso de un fármaco. Es decir, más allá de la función original de transportar nucleósidos y fármacos derivados de nucleósidos, la sola presencia del transportador definiría una cadena de interacciones proteicas que afectarían a otras vías ligadas a la proliferación y la migración de las células tumorales”.

Según indica UniProt, son transportadores de nucleósidos humanos las proteínas SLC28A1, SLC28A2 y SLC28A3. SLC28A2 es un cotransportador de nucleótidos de Na⁺ específico de purina, localizado en la membrana biliar. SLC28A1 es un transportador de nucleósidos dependiente de Na⁺, selectivo para nucleósidos de pirimidina y adenosina. Como se verá en el apartado de fármacos, transportan los análogos de nucleósidos antivirales Zidovudina y Zalcitabina.

Enfermedades

Aunque la proteína hCNT1 no está, según OMIM, involucrada en enfermedades, el gen SLC28A1 (solute Carrier family 28, subfamily A, isoforma 1) está asociado a neoplasia, en concreto a diferentes tipos de carcinoma con una ratio de 0.37 según indica la base de datos de

enfermedades Open Targets Platform [21]. Se puede hallar relación entre cada una de las proteínas y su ratio en diferentes enfermedades asociadas a su gen a través del link a Open Target Platform sito en la sección de patologías de UniProt.

Fármacos

En cuanto a los fármacos asociados en DrugBank a la proteína hCNT1, están todos aprobados, y efectivamente usan la proteína como transportadora. Los fármacos tienen como objetivo el VIH, carcinomas y los virus de herpes tipo 1 y 2.

A continuación, resumo la acción de cada fármaco.

- **Zidovudine:** es un análogo estructural de la timidina. Inhibe la replicación del VIH. Inhibe la transcripción inversa de ARN viral a ADN viral tras la entrada al citoplasma celular introduciendo un terminador en la cadena de la síntesis de ADN viral.
- **Stavudine:** análogo del didesoxinucleósido que inhibe la enzima transcriptasa inversa del VIH y actúa como un terminador de la cadena de la síntesis de ADN viral.
- **Gemcitavine:** análogo de nucleósido de citidina utilizado como quimioterapia. El medicamento reemplaza la citidina, durante la replicación del ADN. El proceso detiene el crecimiento del tumor, ya que los nuevos nucleósidos no pueden unirse al nucleósido "defectuoso", lo que da como resultado la apoptosis. La gemcitabina se usa en varios carcinomas: cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer pancreático, cáncer de vejiga y cáncer de mama.
- **Tegafur-uracil:** es un compuesto antitumoral indicado para el tratamiento de primera línea del cáncer colorrectal metastásico. El efecto de los metabolitos de Tegafur resulta en una disminución de la síntesis de timidina, la síntesis de ADN, la función de ARN interrumpida y la citotoxicidad de las células tumorales.
- **Trifluridine:** nucleósido de pirimidina. Es un agente antiviral activo en soluciones oftálmicas que se utiliza principalmente en el tratamiento de la queratoconjuntivitis primaria y la queratitis epitelial recurrente debida al virus del herpes simple. Muestra una actividad antiviral efectiva contra el virus del herpes simple tipo 1 y 2. La combinación del producto de trifluridina con tipiracilo comercializado como Lonsurf se aprobó en Japón, Estados Unidos y la Unión Europea para el tratamiento de pacientes adultos con cáncer colorrectal metastásico que hayan sido tratados previamente con quimioterapia. En la terapia contra el cáncer, la trifluridina actúa como un inhibidor metabólico del nucleósido basado en timidina que se incorpora al ADN de las células cancerosas después de la captación celular para aberrar la función del ADN durante la replicación celular.

Resultados y punto de inflexión.

Tras este análisis de fármacos y funciones, se podría decir que la proteína hCNT1 está involucrada en la contención de enfermedades virales y tumorales. La proteína no provoca dichas enfermedades, sino que, debido a alguna de sus funciones, se la utiliza como transportadora del fármaco para contener o paliar las enfermedades asociadas. Esta conclusión es importante en el desarrollo del trabajo, puesto que plantea las siguientes dos opciones:

1. Ampliar el estudio a enfermedades no sólo descritas en OMIM.
2. Buscar proteínas homólogas, con enfermedades en las que pueda ser válida la reutilización de fármacos.

Se toma la decisión de reanalizar las enfermedades asociadas, incluyendo un nuevo repositorio de enfermedades: MalaCards [22] .

MalaCards es una base de datos de enfermedades humanas y anotaciones, que contiene actualmente 19941 registros de enfermedades obtenidos a partir de 77 fuentes de referencia, como son NCBI, GeneCards, GeneAnalytics, OMIM, PubMed, UniProt, entre otros.

Por último, volviendo al estudio de la proteína hCNT1, tras analizar sus enfermedades asociadas en MalaCards, hay que indicar que tampoco se encuentran referencias a cáncer, VIH y el resto de virus que sugieren los fármacos asociados. Lo cual significa que para realizar un análisis exhaustivo de enfermedades sería necesario recopilar datos teniendo en cuenta no sólo las indicadas en OMIM, o las indicadas en MalaCards, sino también las sugeridas directamente por los fármacos, lo cual nos devuelve a la idea de abarcar el estudio individual de los 931 fármacos asociados a las 41 moons.

3 Desarrollo II: OMIM y MalaCards

En este desarrollo se va a trabajar con datos descargados de los siguientes repositorios: MultitaskProtDB, DrugBank, UniProt, OMIM y la ampliación de enfermedades registradas en MalaCards.

Se retoma el desarrollo del estudio a partir del hito número 4, es decir, se investigaron las enfermedades asociadas a las 41 proteínas, añadiendo las registradas en MalaCards.

Los datos resultantes pueden encontrarse en Material Suplementario S2 (ver anexo III), el cual muestra las enfermedades asociadas y sus identificaciones OMIM (se omiten los identificadores MalaCards).

Del listado ampliado se seleccionaron las proteínas con más de una enfermedad. Se obtiene un total de 9 moons que satisfacen el criterio de ser multifuncionales, expresadas en humanos, dianas farmacológicas y con varias enfermedades asociadas (Tabla 3-1).

Tabla 3-1: tabla con enfermedades registradas en OMIM y MalaCards en asociación con cada proteína

UniProt.Code	Protein.Name	Gene. Name	Número enfermedades (OMIM y MalaCards)
P00734	Thrombin protease (Prothrombin)	F2	5
P08183	P-Glycoprotein (transporter)	ABCB1	2
P13569	CFTR chloride channel (Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)	CFTR	7
P19971	Thymidine phosphorylase	TYMP	2
P27797	Calreticulin	CALR	3
P29474	Endothelial Nitric Oxide Synthase	NOS3	4
P60709	Actin	ACTB	4
P99999	Cytochrome c	CYCS	2
Q9NQX3	Gephyrin, protein anchor	GPHN	2

3.1 Funciones, enfermedades y fármacos

Se inicia el estudio del nuevo conjunto de proteínas obtenidas, hasta encontrar un caso óptimo de viabilidad en la reutilización de un fármaco para un análisis de drugabilidad posterior.

Los análisis se incluyen en el Anexo 2, y a continuación se procede a describir el estudio realizado a la actina citoplásmica y la calreticulina.¹⁰

3.1.1 Actina (P60709)

Funciones

Las funciones quedaron definidas en el apartado 2.5.32.5.3. La función canónica de la actina se desarrolla en el citoesqueleto, y la función moon se localizan en el núcleo y regula la transcripción de genes y la motilidad y reparación del DNA dañado.

Enfermedades

Se describen 4 enfermedades asociadas a la actina beta. La distonía de origen juvenil y el síndrome Baraitser-Winter quedan descritos en el apartado 2.5.3.

Tabla 3-2: descripción enfermedades de Actina-Beta

Enfermedad	Función	Expresión	Fenotipo
Distonía de origen juvenil	C ¹¹	sobreexpresión de actina	contracción muscular involuntaria sostenida
Síndrome de Baraitser-Winter	C	sobreexpresión	migración neuronal dañada
Leucemia linfoblástica aguda	M ¹²	sobreexpresión	crea tumores
Síndrome Nevus-Becker	C	sobreexpresión	varios

Leucemia linfoblástica aguda: Es un tipo de cáncer de los glóbulos blancos. En una leucemia linfoblástica aguda, donde los linfoblastos crecen de manera descontrolada, invaden la médula ósea, impiden la fabricación del resto de células sanguíneas y se diseminan en la circulación sanguínea.

Un importante gen asociado con esta leucemia es la NBN (nibrina). Entre sus vías relacionadas se encuentran los microARN en el cáncer y la regulación génica de las células madre hematopoyéticas por el complejo alfa / beta de GABP. También hay evidencia de la acción patogénica de la expresión del gen ACTB.

Según la Asociación Española de Afectados por Leucemia -AEAL- [23], *“alteraciones en los mecanismos de control de proliferación y muerte celular son muy importantes en todos los tipos de cáncer. En el caso concreto de la LLA, alteraciones en los procesos que controlan la proliferación de linfoblastos y de los mecanismos de autocontrol que inducen muerte celular participan de forma fundamental en la aparición y perpetuación de la leucemia”*.

Se mencionan los fármacos Arranon y Blinicyto en el contexto de este trastorno. Ref. OMIM: 613065.

Síndrome del nevus de Becker: El nevus de Becker es una enfermedad que consiste en la existencia en la piel de una lesión pigmentada con bordes bien delimitados en la que

¹⁰ Las descripciones de las funciones están extraídas de UniProt y MultitaskProtDB. Las descripciones de las enfermedades están extraídas de OMIM, MalaCards y Orphanet. Las descripciones de los fármacos están extraídas de DrugBank.

¹¹ Canónica

¹² Moon

frecuentemente crecen pelos y se clasifica como un hamartoma (tumor de piel) hiperpigmentado. En cuanto al síndrome del nevus de Becker, se caracteriza por un nevus de Becker en asociación con poco desarrollo de la mama, de los músculos o de los huesos en el mismo lado del cuerpo donde está situado el nevo (ipsilateral). Se relaciona con defectos cardíacos congénitos, hamartomas de la lengua (crecimiento benigno de una mezcla anormal de células y tejido), polisindactilia (fusión de dedos) y neurofibroma (trastorno genético en el que se forman tumores no cancerosos en el tejido nervioso).

Se cree que la afección es esporádica (ocurre en individuos sin antecedentes de la afección en la familia). Un gen importante asociado con el síndrome de Becker Nevus es ACTB (Actina Beta). Ref. OMIM: 604919.

Fármacos

DrugBank asocia 2 fármacos a la Actina P60709 (ver Tabla 2-7: fármacos asociados a actina citoplásmica, según DrugBank).

El fármaco DB12695, isotiocianato de fenetilo, está en estado de investigación y se ha utilizado en ensayos que estudian la **prevención y el tratamiento de la leucemia**, el cáncer de pulmón, el trastorno por consumo de tabaco y los **trastornos linfoproliferativos**, interaccionando con la actina como target.

En resumen, se mencionan los fármacos Arranon y Blincyto en relación a la leucemia, y los fármacos Axitinib y Metformina en relación al síndrome Nevus-Becker.

Resultados

Se sugiere la actina citoplásmica como una proteína óptima para proseguir con el estudio de drugabilidad.

La web Orphanet [24] indica que *“el síndrome Baraitser-Winter está causado por una mutación puntual sin sentido en el gen que codifica la beta-actina - una isoforma de actina no muscular-. Las mutaciones en las isoformas de actina no muscular pueden estar asociadas con anomalías del desarrollo y trastornos neurológicos como la distonía. No se le asocian fármacos, ni ensayos clínicos”*.

En Orphanet se sugiere que las mutaciones causantes de la enfermedad actúan probablemente por un mecanismo de ganancia de función, ya que las eliminaciones de los mismos genes no dan como resultado el fenotipo BWS. Por lo tanto, si la enfermedad se desarrolla por ganancia de función, en principio quiere decir que esta mutación provoca o una sobreexpresión, o simplemente una expresión si en condiciones normales no se expresa el gen. Por lo tanto, farmacológicamente habría que inhibirla. Tampoco se le relacionan ni fármacos, ni ensayos clínicos.

En el síndrome Nevus-Becker, MalaCards indica que hay evidencia de mutación somática causada por el gen ACTB – actin beta. No existe fármaco asociado, pero hay registrado en Orphanet un ensayo clínico en UK en fase II para estudiar la eficacia de la combinación de los fármacos Axitinib y Metformina. Axitinib es un inhibidor de los receptores del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR) 1, 2 y 3; mientras que la Metformina es un agente antihiper glucémico utilizado para el tratamiento de la diabetes tipo II.

En cuanto a la leucemia linfoblástica aguda no se indican ni en OMIM, ni en Orphanet relación entre la enfermedad y la actina, pero MalaCards sí indica evidencia de relación, sin concretar cuál. Seguramente la función asociada es la reparación del ADN. Curiosamente el citoesqueleto suele tener funciones de supresión de tumores (si funciona mal, crea tumores), ya que está

implicado en la división celular. Si ésta no se realiza correctamente, el citoesqueleto lo detecta y da la alerta a la maquinaria de reparación o activa la apoptosis celular.

En efecto, el fármaco DB12695 asociado a la proteína en DrugBank está indicado para trastornos linfoproliferativos.

Se considera que el estudio de drugabilidad de la actina beta sí es interesante, puesto que los fármacos son inhibidores y las enfermedades parece que son sobreexpresiones de la función.

3.1.2 Calreticulina (P27797)

Proteína codificada por el gen CALR con 12 fármacos y 3 enfermedades asociadas según MalaCards.

Funciones

La función canónica de la calreticulina es intracelular: es una chaperona¹³ (involucrada en el plegamiento de glicoproteínas y homeostasis de Ca²⁺) y moduladora de la expresión génica. Se encuentra en el retículo endoplásmico, el núcleo, el citoplasma y en la superficie celular.

Las funciones moon de la calreticulina son extracelulares: en rutas de secreción no clásicas, está involucrada en la adhesión celular y la migración (promueve la progresión tumoral y la metástasis). También está implicada en la señalización de co-receptor CD59 y LRP.

La función principal del retículo endoplasmático es la síntesis de proteínas y lípidos de membrana, y la participación en procesos de detoxificación (sobre todo en células de hígado en donde se inactivan productos tóxicos). La calreticulina, en su función canónica, se encuentra en los compartimentos del retículo endoplasmático, y se une a proteínas mal plegadas evitando que se exporten desde el retículo endoplásmico al aparato de Golgi (donde se lleva a cabo la glicosilación de proteínas y lípidos, almacenamiento y distribución de las vesículas de secreción). Se inactiva al unirse a los iones Ca²⁺ que son mensajeros secundarios de transducción de señales.

Por otro lado, al buscar la proteína en wikipedia, se indica que “la calreticulina se expresa en muchas células cancerosas y desempeña un papel para promover que los macrófagos engullan células cancerosas peligrosas. La razón por la que la mayoría de las células no se destruyen es la presencia de otra molécula con la señal CD47, que bloquea la calreticulina (función moon). Por lo tanto, los anticuerpos que bloquean CD47 podrían ser útiles como tratamiento para el cáncer. En modelos de ratones de leucemia mieloide y linfoma no Hodgkin, el anti-CD47 fue efectivo para eliminar las células cancerosas mientras que las células normales no se vieron afectadas” [25].

¹³ Las proteínas chaperonas son proteínas de estrés (térmico o cualquier otro tipo), cuya función es la de ayudar a otras proteínas recién sintetizadas en el plegamiento.

Enfermedades

OMIM no relaciona la Calreticulina con ninguna enfermedad genética. Pero en MalaCards se asocia con 3 enfermedades ¹⁴.

Tabla 3-3: descripción enfermedades de Calreticulina

Enfermedad	Función	Expresión	Fenotipo
Mielofibrosis	M	-	Cáncer. Sobreexpresión de fibroblastos.
Trombocitemia esencial	C	-	Exceso de plaquetas
Trombocitosis 1	C	-	Exceso de plaquetas

Mielofibrosis: está relacionada con las neoplasias mieloproliferativas¹⁵ y la leucemia megacariocítica. En mielofibrosis la médula ósea produce demasiados fibroblastos, demasiado tejido fibroso. La médula cicatriza y no puede producir suficientes células sanguíneas. A medida que la mielofibrosis avanza, el número de glóbulos blancos aumenta o disminuye; mientras que el número de plaquetas suele disminuir. Esto conduce a anemia, debilidad, fatiga y, a menudo, hinchazón del hígado y el bazo. El trastorno ocurre cuando las células madre de la sangre desarrollan mutaciones somáticas en los genes JAK2, MPL, CALR y TET2. Otros genes también pueden estar involucrados. Los tejidos afiliados incluyen mieloide, hueso y médula ósea, y los fenotipos relacionados son la esplenomegalia (agrandamiento patológico del bazo) y la fiebre.

Un gen importante asociado con la mielofibrosis es el MPL (proto-oncogén MPL, receptor de trombopoyetina), y entre sus vías relacionadas se encuentran la vía de señalización JAK-STAT y la respuesta a la elevación del Ca²⁺ citosólico plaquetario.

Los medicamentos gabapentina y fexofenadina se han mencionado en el contexto de este trastorno.

El trastorno generalmente no se hereda porque este tipo de mutación no afecta a las células reproductivas (espermatozoides y óvulos) solo a ciertas células del cuerpo (somáticas). Aunque la mielofibrosis puede ocurrir a cualquier edad, generalmente se desarrolla después de los 50 años. En la mayoría de los casos, la mielofibrosis empeora progresivamente. El tratamiento está dirigido a aliviar los signos y síntomas y puede incluir medicamentos, transfusiones de sangre, quimioterapia, radioterapia y cirugía. El trasplante de médula ósea o de células madre puede mejorar los síntomas y puede curar la enfermedad. Ref. OMIM:254450

Trombocitemia esencial: La trombocitemia esencial, también conocida como trombocitosis esencial, está relacionada con la trombocitemia 1 y la trombocitosis. Es un trastorno mieloproliferativo, donde el cuerpo produce demasiadas células plaquetarias.

Los signos y síntomas varían, pero la mayoría de las personas con trombocitemia esencial no presentan ningún síntoma cuando aumenta el recuento de células plaquetarias. Los principales signos y síntomas incluyen: aumento de la producción de megacariocitos (un tipo de célula en la médula ósea responsable de la producción de plaquetas), ampliación del bazo (esplenomegalia) y sangrado en varias partes del cuerpo y / o episodios de coagulación como

¹⁴ Las descripciones de las enfermedades están extraídas literalmente de OMIM y MalaCards

¹⁵ OMIM indica que "Las mutaciones somáticas de calreticulina se encuentran con frecuencia en neoplasias mieloproliferativas - cánceres mieloides crónicos que se caracterizan por una producción excesiva de fibroblastos, demasiado tejido fibroso, lo que provoca la expulsión de las células hematopoyéticas que no pueden producir suficientes glóbulos y plaquetas, y pueden evolucionar a leucemia mieloide aguda".

accidentes cerebrovasculares, dolor en las piernas y dificultad para respirar. Otros síntomas pueden incluir debilidad, dolor de cabeza o sensación de ardor, hormigueo o picazón en la piel. Algunas personas tienen episodios de dolor intenso, enrojecimiento e hinchazón, especialmente en las manos y los pies.

La trombocitemia esencial es causada por mutaciones en los genes JAK2 (con mayor frecuencia) y CALR y, rara vez, la enfermedad es causada por mutaciones en los genes MPL, THPO y TET2.

Entre sus vías relacionadas se encuentran el sistema inmune innato y la señalización inducida por PEDF.

Se mencionan los medicamentos anagrelida e hidroxiurea en el contexto de este trastorno. Los tejidos afiliados incluyen hueso, médula ósea y mieloide, y los fenotipos relacionados son hiperhidrosis (excesiva producción de sudor) y convulsiones. El tratamiento puede incluir medicamentos como la hidroxiurea, la anagrelida o el interferón alfa. La mayoría de las personas con la enfermedad pueden vivir vidas largas. En casos muy raros, la trombocitemia esencial se puede transformar en mielofibrosis primaria o en leucemia mieloide aguda.

Trombocitemia 1: La trombocitemia, o trombocitosis, es un trastorno mieloproliferativo caracterizado por una producción excesiva de plaquetas que produce un aumento en el número de plaquetas circulantes. La trombocitemia se puede asociar con episodios trombóticos o hemorrágicos y la transformación leucémica ocasional. La trombocitemia 1, también conocida como trombocitosis 1, está relacionada con la trombocitosis y la neoplasia mieloproliferativa. Un gen importante asociado con la trombocitemia 1 es la THPO (trombopoyetina), y entre sus vías relacionadas se encuentran la respuesta a la elevación del Ca^{2+} citosólico de las plaquetas y el ciclo visual en las barras retinianas. Los medicamentos Aspirina e Hidroxiurea han sido mencionados en el contexto de este trastorno. Los tejidos afiliados incluyen los huesos, los testículos y la médula ósea, y los fenotipos relacionados son la hipertensión y la esplenomegalia. Ref. OMIM:187950

Fármacos

En cuanto a los fármacos parece que están pensados para paliar los síntomas de falta o exceso de coagulación de la sangre. Todos los fármacos están aprobados, menos Lanoteplase que se encuentra en estado de investigación.

- **Factor antihemolítico:** corrige el defecto de coagulación.
- **Lonocotog alfa:** Corrige los defectos de coagulación en el tratamiento de la hemofilia.
- **Morocotog alfa:** corrige defectos de coagulación.
- **Melatonin:** posible uso para trombocitopenia asociada con cáncer. La unión a receptores de melatonina parece que incrementa la actividad de la proteína kinasa C. La activación de estos receptores puede conducir a una activación de flujo de iones en la célula (utiliza la calreticulina como target).
- **Tenecteplase:** degrada la fibrina de los trombos.
- **Lanoteplase:** elimina los trombos
- **Citrato de calcio:** aumenta el nivel de calcio en sangre.
- **Fosfato de calcio**
- **Cobre**
- **Ferric cation**

Resultados

Es una proteína interesante para hacerle un estudio de drugabilidad. Las funciones están muy diferenciadas y las enfermedades están claramente ligadas a una función y a otra, donde el cáncer es claramente la moon.

Parece que está asociada a dos tipos enfermedades que se dan en las células de la médula ósea. En un caso, las mutaciones provocan cicatrización de la médula (que da lugar a proliferación de células cancerígenas en la mielofibrosis, con un aumento de linfocitos y disminución de plaquetas). En el otro caso, las mutaciones provocan un aumento de plaquetas (dando lugar a trombosis).

4 Estudio de Drugabilidad

El análisis indaga en dos aspectos cruciales previos a la investigación en laboratorio: 1.- identificación y localización de las regiones asociadas a la enfermedad-, y 2.- drugabilidad de la proteína.

Tal y como se indica en el artículo referido en [1], “desde que Hopkins y Groom introdujeron por primera vez el concepto de genoma drugable en 2002 [26], se introdujeron términos como drugabilidad, tratabilidad, capacidad de unión en la interacción y calidad biológica de la diana.

En la Figura 4-1 se representa esquemáticamente la contribución de la calidad biológica (eje vertical) y química (eje horizontal) al conjunto del concepto de drugabilidad.

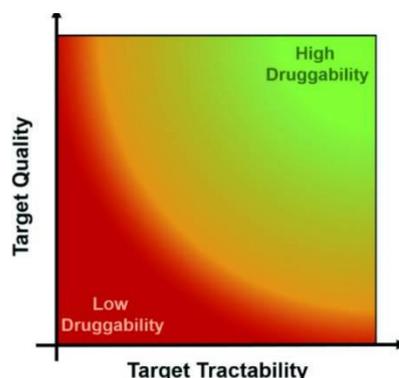


Figura 4-1 representación esquemática de la contribución de la calidad biológica (eje vertical) y la calidad química (eje horizontal) en el concepto global de drugabilidad, referido en [1]

Calidad biológica es el nivel de confianza de que la modulación de la proteína se traducirá en un cambio en la enfermedad o en alivio de los síntomas. Se valora a partir de evidencias genéticas, niveles de expresión, estudios KO, la comprensión de las rutas metabólicas, etc.

Tratabilidad de la proteína es la capacidad de encontrar un punto de unión en la interacción. Se trata de la probabilidad de identificar un modulador que interactúa de manera efectiva con la proteína, su dominio, o ruta metabólica.

Finalmente, la drugabilidad es la capacidad de una proteína para unirse a un modulador (por ejemplo, una molécula pequeña o un anticuerpo) con un nivel de afinidad, eficacia y seguridad terapéutica útil. Combina la tratabilidad y la calidad del objetivo, y puede usarse para ayudar a comprender el potencial de un objetivo para avanzar en el proceso de descubrimiento de fármacos, especialmente en las etapas iniciales”.

Por lo tanto, los estudios de drugabilidad se centran en si una proteína es una buena diana para un fármaco. Sobre todo, analizan datos relativos a la biodisponibilidad evaluando, por ejemplo, si inhibir una proteína puede provocar la muerte del individuo. Se obtiene un índice numérico que ofrece una idea de si el fármaco es drugable, independientemente de la posición específica de unión al fármaco. De hecho, la mayoría de los fármacos inhiben o activan la proteína entera y no regiones específicas.

4.1 Actina (P60709)

4.1.1 Identificación de las regiones

A continuación, se lleva a cabo el estudio de drugabilidad de la proteína actina citoplásmica como uno de los casos óptimos seleccionados en el punto 3.

Primero se buscan las regiones implicadas en las enfermedades, cuyas mutaciones conocidas están resaltadas en color. La información acerca de las variantes se ha recopilado en las webs UniProt y MalaCards.

10	20	30	40	50
MDDDIAALVV	DNGSGMCKAG	FAGDDAPRAV	FPSIVGRPRH	QGVVMGMGQK
60	70	80	90	100
DSYVGDEAQS	KRGILTKYP	LEHGIVTNWD	DMEKIWHHTF	YNELRVAPEE
110	120	130	140	150
HPVLLTEAPL	NPKANREKMT	QIMFETFNTP	AMYVAIQAVL	SLYASGRITG
160	170	180	190	200
IVMDSGDGVT	HTVPIYEGYA	LPHAILRLDL	AGDLTDYLM	KILTERGYSF
210	220	230	240	250
TTTAEREIR	DIKEKLCYVA	LDFEQEMATA	ASSSSLEKSY	ELPDGQVITI
260	270	280	290	300
GNERFRCPEA	LFQPSFLGME	SCGIHETTFN	SIMKCDVDIR	KDLYANTVLS
310	320	330	340	350
GGTTMYPGIA	DRMQKEITAL	APSTMKIKII	APPERKYSVW	IGGSILASLS
360	370			
TFQQMWISKQ	EYDESGPSIV	HRKCF		

Figura 4-2 Secuencia de aminoácidos de la Actina Beta, extraída de UniProt. Se resalta en colores las posiciones con mutaciones conocidas, algunas de ellas asociadas a enfermedades. La distonía de inicio juvenil, por ejemplo, está asociada a una mutación que ocurre en la posición marcada en verde. El síndrome BW está asociado con mutaciones en las posiciones marcadas en amarillo, azul y verde. El síndrome NB está asociado con mutaciones en la posición marcada en fucsia. La leucemia mieloide aguda está asociada con mutaciones en la posición marcada en lila. Las posiciones marcadas en gris son mutaciones conocidas, no asociadas a enfermedades.

Distonía de inicio juvenil: asociada a la variante VAR_030026 por una mutación en la posición 183, donde el codón de Arginina (R) muta a Triptofano (W)[27]. Coloreado en verde.

Síndrome Baraitser-Winter: asociado a las variantes VAR_067810, VAR_067811, VAR_067812 y VAR_067813[28]. Coloreado en amarillo, azul y de nuevo verde.

- De Asparagina (N) a Aspartato (D): VAR_067810
- De Leucina (L) a Valina (V): VAR_067811
- De Arginina (R) a Cisteina (C): VAR_067812
- De Arginina (R) a Histidina (H): VAR_067813

Además, se identifica en UniProt otras 9 mutaciones no correlacionadas con enfermedades: posiciones 69 a 82, coloreadas en gris.

Síndrome Nevus-Becker: No se encuentran variantes especificadas ni en UniProt ni en MalaCards, sino en bibliografía [29] que hace referencia a mutaciones de ACTB p.R247C y

p.R247S, letales, y detectadas en individuos con nevus de Becker y síndrome Nevus-Becker. Mutación coloreada en fucsia.

Se chequean las supuestas mutaciones en la posición 247 (p.R247C y p.R247S) de la secuencia de la proteína, el aminoácido R (Arginina). Pero el resultado es fallido porque en la posición 247 el aminoácido es Valina, no Arginina.

Se continúa investigando entre la bibliografía hasta dar con otra publicación en internet [30] en el que se corrige la posición mutada: R147C, p.R147S, la cual sí es coherente con la secuencia. Las mutaciones encontradas en individuos con síndrome Nevus-Becker están en la posición 147 y mutan Arginina a Cisteína o a Serina.

En cuanto a la referencia sorpresiva de que se trata de mutaciones letales, en tal caso no debieran ser causantes de la enfermedad porque provocarían la muerte del individuo en estadios tempranos de desarrollo. Aun así, revisando los textos, el artículo insiste en marcar estas mutaciones como causantes de la enfermedad.

Leucemia mieloide aguda: MalaCards identifica la variante p.Val209Leu relacionada con la enfermedad (coloreada en lila en la Figura 4-2). Es decir, la Valina de la posición 209 es sustituida por una Leucina en los casos secuenciados de individuos con Leucemia mieloide aguda.

La relación entre leucemia linfocítica aguda y actina beta se halla bien referenciada en:

1. Cita en PUBMED del Journal of Investigative Dermatology (2017). Becker's Nevus and Lethal Beta-Actin Mutations. Rudolf Happle.[29] *"Hasta el momento, se han publicado dos casos de pacientes con BWCF que presentan neoplasias malignas (es decir, leucemia linfocítica aguda y linfoma cutáneo). Aquí, informamos de una mujer de 21 años con FA confirmada molecularmente, que desarrolló leucemia mieloide aguda (LMA). El presente hallazgo puede indicar que las actinopatías podrían ser síndromes que predisponen al cáncer, aunque deben tenerse en cuenta los números pequeños y el sesgo de publicación."*
2. Al introducir la proteína en UniProt, en la sección de patologías, el link de MalaCards, refiere la asociación entre el gen ACTB y la leucemia linfocítica aguda.
3. Uno de los dos fármacos asociados a actina en DrugBank - Phenethyl Isothiocyanate- está en estudio para la prevención y tratamiento contra la leucemia, cáncer de pulmón y desórdenes linfoproliferativos.

En resumen, las regiones de actina beta asociadas con Baraitser-Winter y Dystonia de inicio juvenil están claramente identificadas. Las regiones de actina beta asociadas con Nevus-Becker parece que están definidas en los artículos indicados [29 y 30]. Por último, en MalaCards se relaciona directamente la actina con la leucemia mieloide aguda, aunque no se identifiquen las regiones involucradas. Se concluye que no hay suficientes estudios acerca de la expresión – o parece que más bien sobreexpresión- de la actina beta y su relación con la leucemia mieloide aguda.

4.1.2 Drugabilidad

Se lleva a cabo el análisis de drugabilidad a través del portal DrugEBility[31], basado en la estructura de la proteína.

Según se ha visto en DrugBank, la actina beta no es una diana farmacológica con fármaco en estado aprobado. En DrugBank aparecen dos medicamentos en proceso de investigación y experimentación, que investigan y experimentan referenciándola como target.

DrugEBility evalúa la drugabilidad según la Regla de Lipinski [32], método empírico que permite evaluar cualitativamente cómo de adecuado podría resultar un compuesto químico para cumplir una determinada función farmacológica o actividad biológica una vez que es ingerido como medicamento para consumo oral en seres humanos. El resultado muestra valores entre -1 (molécula no drugable) y +1 (molécula drugable), a partir del estudio de tratabilidad de la proteína (tratable = 1 e intratable = 0). La puntuación conjunta es el promedio de la puntuación de drugabilidad calculada en diferentes modelos.

Se introduce el identificador UniProt de la actina beta en el apartado de resumen estructural en DrugEBility, y el resultado indica que hay un dominio de la proteína representado por 4 estructuras distintas: 33200909, 3320910, 3530954 y 3530955. Las cuatro estructuras son tratables, pero según indica, no drugables.

Parece que la molécula tiene regiones buenas para unirse, pero aun así nos dice que no es drugable. Es un resultado que sorprende por la aparente incoherencia, así que se busca otro servidor para analizar y comparar la drugabilidad.

OmicX [33] es un buscador online que muestra un listado de soluciones de software para resolver el tipo de problema indicado en su buscador. Tras introducir drugabilidad se muestran una serie de aplicaciones relacionadas con el estudio de drugabilidad. Entre otras, los programas SiteMap y ProckDrug, que analizan e identifican las regiones de unión de las proteínas con micro-moléculas y predicen su drugabilidad.

PockDrug [34] es una web que ofrece un motor de predicción on-line. El flujo de trabajo se divide en tres fases: identificación de la proteína (a partir, por ejemplo, del identificador PDB de la proteína), caracterización de sus descriptores fisicoquímicos y geométricos, y predicción [35] de la drugabilidad. Estima la drugabilidad usando dos posibles métodos: 1.- descompone la estructura de la proteína en pequeños “pockets” – y analiza la probabilidad de unión de cada parte por separado, y/o 2.- analiza las regiones de átomos de la proteína entorno a un enlace que forme una cavidad a la que pueda unirse un fármaco.

Estudiando la actina citoplásmica (su identificador PDB es “3LUE”), según ProckDrug la probabilidad de drugabilidad de la proteína es de más del 90% en algunas regiones y no es drugable en otras. En la imagen se indican los pockets con mayor probabilidad de drugabilidad y se muestra gráficamente una de las regiones (el pocket número 110) sobre la estructura de la proteína. Se adjunta en el Anexo III, en Material Suplementario S3, el resultado generado en el análisis de drugabilidad dividido por pockets identificadas dentro de la estructura de la proteína.

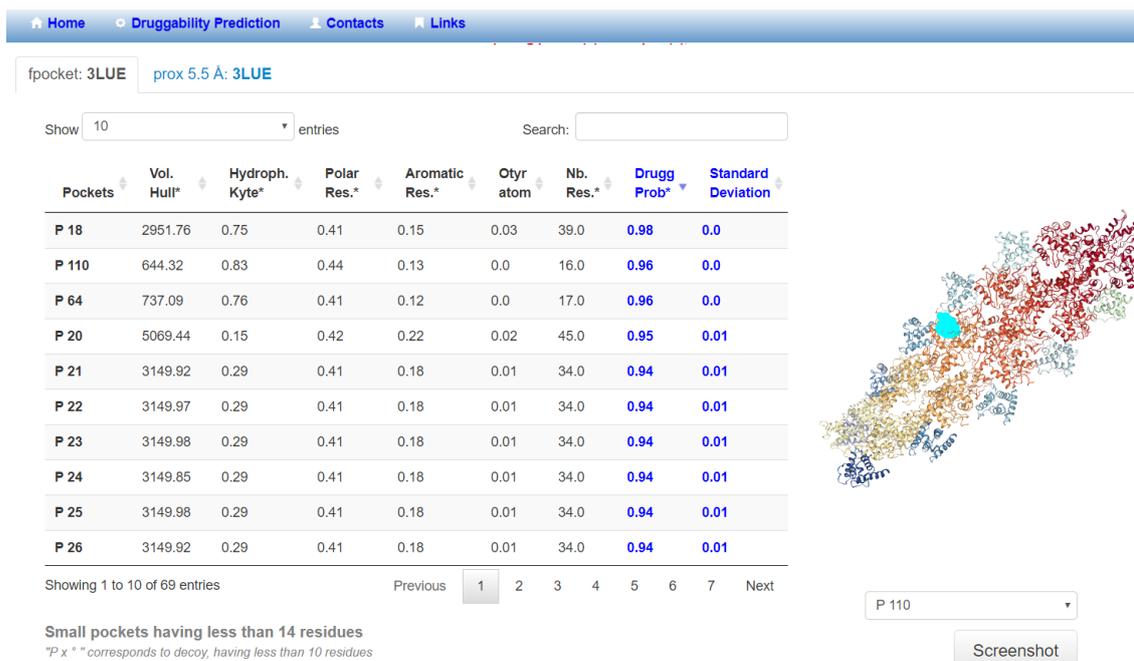


Figura 4-3: Resultado del análisis de drugabilidad de la proteína Actina Beta, también llamada citoplásmica. Se muestran las probabilidades de cada pocket y la estructura 3D con la zona del pocket escogido – por ejemplo, el P110 con probabilidad de unión de 96% de éxito- resaltada en la representación gráfica.

Por otro lado, se analiza la posibilidad de utilizar la aplicación SiteMap [36] para llevar a cabo un tercer análisis.

SiteMap es una aplicación para analizar dianas farmacológicas incluida en un grupo de programas desarrollados por la empresa americana Schrödinger. En Schrödinger desarrollan software de simulación química para uso en investigación farmacéutica, biotecnológica y de ciencia de materiales. Se solicita una licencia temporal para el análisis de drugabilidad del TFM. Previo al estudio de drugabilidad, SiteMap lleva a cabo un análisis de la estructura de la proteína porque, según dice, por lo general a los archivos PDB les faltan hidrógenos, cadenas laterales y otras regiones, lo cual dificulta el modelado de la proteína. Indica que, si la resolución de la proteína que se obtiene con rayos X está por encima de 3 Amstrong, el modelo que se obtiene es pobre y se debe analizar los resultados de su informe preliminar para evaluar la presencia de ligandos, su ajuste, los residuos de los sitios de unión y los bucles y cadenas que falten. Se ha llevado a cabo un pequeño estudio inicial del software, pero se descarta llevar a cabo el análisis de la proteína a través de él debido a la profundidad de conocimiento requerido para ello. Se considera que un análisis de este tipo excede la finalidad y plazos temporales de este trabajo y se propone como línea de trabajo futuro.

4.1.3 Resultados

Se sugiere que la actina beta es una proteína factible de ser una diana farmacológica, pues presenta regiones con alta probabilidad de unión a moléculas tipo fármacos, por lo que sería una propuesta para reutilización de alguno de los fármacos indicados en las enfermedades asociadas leucemia linfoblástica aguda y Síndrome Nevus-Becker.

5 Conclusiones

En resumen, se propone la proteína multifunción Actina-Beta con identificador UniProt P60709 como posible caso óptimo para reutilización farmacológica. La actina-Beta muestra una doble funcionalidad: es proteína estructural en el citoesqueleto, y reguladora transcripcional en el núcleo celular.

De entre las enfermedades asociadas destacan para nuestro propósito la distonía de origen juvenil, el Síndrome Nevus-Becker – ambos asociados a la función estructural -, y la leucemia linfoblástica aguda -involucrada en la función adicional reguladora de transcripción-. Todas las enfermedades lo son por una sobreexpresión de la actina, lo cual es muy importante a la hora de pensar en la reutilización de un fármaco. En este sentido, se mencionana varios fármacos en relación a la leucemia y también al síndrome Nevus-Becker.

Tras el estudio de drugabilidad de la actina se concluye que la probabilidad de éxito en algunas regiones está por encima del 90%, lo cual sugiere que pueda ser factible la reutilización de alguno de estos fármacos asociados. Como línea de trabajo futuro a seguir, se sugiere proceder con un análisis en detalle para analizar la interacción entre cada fármaco y la actina con alguna aplicación tipo la referida SiteMap, pues no se ha realizado ya que el tiempo disponible para este trabajo es limitado y excede la finalidad del mismo.

En cuanto al plan de trabajo desarrollado, el planteamiento inicial era analizar las enfermedades asociadas a las proteínas moon, con fármacos y diversas enfermedades involucradas. Pero durante el desarrollo, a la hora de investigar las enfermedades relacionadas directamente con los fármacos no se encontró una base de datos que ofreciera esta información a través de instrucciones de descarga masiva. Dado que el conjunto de fármacos relacionados con el conjunto de moons ha resultado ser de 931 fármacos, se decidió no llevar a cabo manualmente este análisis, y se propuso un segundo enfoque indirecto que es el que se ha implementado. Aun así, como línea de trabajo futura, se sugiere investigar la manera de obtener las enfermedades asociadas a cada fármaco de manera automática, ya que el planteamiento secundario por el que se ha optado para obtener las enfermedades asociadas a los fármacos de manera indirecta -a través de la asociación a las proteínas y no a los fármacos- ha resultado no ser suficientemente exhaustiva. Esto lo demuestra el ejemplo propuesto de la proteína hCNT1, en la cual ninguna de las enfermedades obtenidas a través de los repositorios OMIM o MalaCards contempla el VIH o la Hepatitis B, a pesar de que hay fármacos asociados a esta proteína que sí interactúan con ella precisamente en el marco de estos virus (estudio de la proteína hCNT1 en apartado 2.5.4).

Por otro lado, en caso de lograr encontrar una base de datos que relacione fármacos y enfermedades y permita la descarga de los datos automáticamente, se sugiere ampliar el listado original de proteínas multifuncionales a los incluidos en la base de datos MultitaskII, con un total de 694 proteínas.

En resumen, debido al cambio de estrategia en los planes, han habido desviaciones importantes respecto del plan de trabajo original. Pero a pesar de haber optado por una aproximación indirecta y no exhaustiva, al desarrollar la estrategia alternativa sí se han logrado resultados. Se obtuvo primero un listado de 3 proteínas multifuncionales con fármacos y varias enfermedades asociadas registradas en el repositorio OMIM. Investigando las enfermedades relacionadas en el repositorio MalaCards, se obtuvo un segundo listado ampliado, con 9 proteínas óptimas para analizar en profundidad. Se propone este conjunto de 9 proteínas como marco idóneo para el estudio de polifarmacología en profundidad. Se sugiere estudiar en detalle

las proteínas no analizadas en el trabajo por falta de tiempo (ver tabla 14), y en particular, se sugiere el estudio en profundidad de las proteínas Actina-beta, Calreticulina y Protrombina.

ACTINA BETA				
Enfermedad	Función	Expresión	Fenotipo	Fármacos
Distonia de origen juvenil	C ¹⁶	sobreexpresión de actina	contracción muscular involuntaria sostenida	
Síndrome de Baraitser-Winter	C	sobreexpresión	migración neuronal dañada	
Leucemia linfoblástica aguda	M ¹⁷	sobreexpresión	crea tumores	Isotiocianato de fenetilo (DB12695), Arranon y Blincyto
Síndrome Nevus-Becker	C	sobreexpresión	varios	Axitinib y Metformina

CALRETICULINA				
Enfermedad	Función	Expresión	Fenotipo	Fármacos
Mielofibrosis	M	-	Cáncer. Sobreexpresión de fibroblastos.	Gabapentina, Fexofenadina y Melatonin.
Trombocitemia esencial	C	-	Exceso de plaquetas	Hidroxiurea, Anagrelida, Interferón alfa
Trombocitosis 1	C	-	Exceso de plaquetas	Aspirina e Hidroxiurea

Finalmente, indicar que la cantidad de conceptos nuevos e interesantes adquiridos gracias a este trabajo ha sido especialmente amplia. Por ejemplo, se ha aprendido que un 6% de los fármacos del estudio tienen más de una diana asociada (ver Figura 1-6). Esto significa que hay fármacos ya reutilizados en varias proteínas. Por el contrario, un 83% de las proteínas (ver Figura 1-7) han resultado también ser dianas de múltiples fármacos, con hasta más de cien medicamentos asociados cada una.

¹⁶ Canónica

¹⁷ Moonlighting

6 Glosario

Proteína multifunción: también llamada moonlighting (moon), proteína capaz de ejercer más de una función -generalmente en distintas ubicaciones de la célula, y cuya capacidad multifuncional no es debida al splicing alternativo, a fusión de genes distintos o a proteólisis.

Drugabilidad: capacidad de unión entre la molécula de proteína y la molécula de un fármaco.

Reutilización de fármaco: drug repurposing, en inglés. Mismo fármaco, distinta enfermedad.

Medicamento biotecnológico: también llamado fármaco biotec, pueden ser proteínas recombinantes, anticuerpos monoclonales, vectores para el transporte de material genético, fragmentos de anticuerpo, ácidos nucleicos, vacunas, etc., que comparten la característica de ser productos medicinales obtenidos a partir de técnicas de biotecnología (r-DNA, expresión génica controlada, métodos basados en anticuerpos, etc).

Medicamento micro-molecular: sustancia de síntesis química capaz de penetrar fácilmente en la célula gracias a su baja masa molecular (DrugBank).

Proteína diana: proteína en donde un fármaco va a ejercer su acción. El fármaco se dirige hacia su proteína diana para inhibirla, o promover su expresión (DrugBank).

Transportador: proteína que transporta iones, micromoléculas o macromoléculas a través de las membranas, hacia el interior o exterior de la célula (DrugBank).

Enzima: proteína que cataliza las reacciones químicas que involucran a un fármaco (DrugBank).

Portadora: proteína secretada que se une al fármaco llevándolo a los transportadores celulares, a través de los cuales entrarán en la célula. Los portadores de medicamentos se usan para aumentar la efectividad en la administración del medicamento al sitio objetivo de acción farmacológica (DrugBank).

Medicamento en fase experimental: sustancia que se analizó en laboratorio y obtuvo la aprobación de la FDA para probarla en seres humanos en ensayos clínicos. Se puede aprobar un medicamento en fase experimental para una enfermedad y, aun así, considerarlo en fase de investigación clínica para otra enfermedad o afección(DrugBank).

Medicamento aprobado: se otorga a los medicamentos que han sido aceptados oficialmente para su comercialización en al menos una jurisdicción en un momento dado. Debido a la presencia de diferentes agencias reguladoras en todo el mundo, una vez que se apruebe un medicamento, este estado permanecerá en la tarjeta de medicamentos incluso si el medicamento se retira más adelante del mercado en una jurisdicción particular o se encuentra bajo investigación por una indicación diferente. Es muy común ver medicamentos con diferentes estados(DrugBank).

Medicamento nutracéutico: son medicamentos que están regulados y procesados a nivel farmacéutico y tienen un efecto nutricional demostrable. Otra característica importante de los nutracéuticos es que no siempre tienen una patente de protección, incluso cuando se usan como agentes terapéuticos. En general, son suplementos dietéticos, presentados en una matriz no alimenticia (como píldoras, cápsulas, polvo, etc.) de una sustancia natural bioactiva

concentrada, presente en los alimentos y que, tomada en dosis superior a la existente en los alimentos, se le supone que tienen un efecto favorable sobre la salud (DrugBank).

Medicamento ilícito: cuando se ha prohibido su uso debido a la estimulación o inhibición del sistema nervioso central o debido a la producción de efectos alucinógenos. Los fármacos ilícitos son a menudo drogas programadas, por lo que son aprobadas, pero están limitadas en su distribución o tienen restricciones adicionales sobre cómo se pueden recetar (DrugBank).

Medicamento retirado: en inglés “withdrawn”, es un medicamento que ha sido discontinuado. Si bien la razón por la cual se retiran dichos medicamentos puede variar desde la seguridad del paciente y los problemas de toxicidad hasta la inviabilidad comercial, la razón formal detrás de tales decisiones recae típicamente en la administración de salud pública que emitió el retiro (DrugBank).

Medicamento en investigación: se refiere al estado de desarrollo del fármaco en el que el fármaco se está investigando para una condición determinada y ha llegado a ensayos clínicos. Un medicamento puede tener varios estados si, por ejemplo, ha sido aprobado para una indicación determinada, pero actualmente se encuentra en ensayos clínicos para una indicación diferente (DrugBank).

Medicamento experimental: alude al estado de desarrollo del fármaco en el que se está investigando de forma preclínica (DrugBank).

Función canónica: primera función descrita, cronológicamente hablando, en una proteína multifuncional

Función moon: denominación para la segunda y posteriores funciones descritas en una proteínas multifuncional.

7 Bibliografía y webgrafía

1. BROWN, KRISTIN K., HANN, MICHAEL M., LAKDAWALA, AMI S., ET AL. "APPROACHES TO TARGET TRACTABILITY ASSESSMENT—A PRACTICAL PERSPECTIVE." *MEDCHEMCOMM* 9, NO. 4 (2018): 606-613.
2. PUSHPAKOM, S., IORIO, F., EYERS, P. A., ESCOTT, K. J., HOPPER, S., ET AL. (2019). DRUG REPURPOSING: PROGRESS, CHALLENGES AND RECOMMENDATIONS. *NATURE REVIEWS DRUG DISCOVERY*, 18(1), 41.
3. GALLORI E. 'ATLAS ILUSTRADO. GENÉTICA'. EDITORIAL SUSAEETA EDICIONES. MADRID. 2012.
4. HOSPITAL SANT JOAN DE DÉU: GUÍA METABÓLICA [INTERNET] ÚLT. ACTUALIZACIÓN: 2012. CONSULTADO EN ABRIL 2019. DISPONIBLE EN URL: <https://metabolicas.sjdhospitalbarcelona.org/noticia/gen-proteina-0>.
5. FRANCO-SERRANO, L., HUERTA, M., HERNÁNDEZ, S., CEDANO, J., PEREZ-PONS, J., ET AL. "MULTIFUNCTIONAL PROTEINS: INVOLVEMENT IN HUMAN DISEASES AND TARGETS OF CURRENT DRUGS." *THE PROTEIN JOURNAL* 37.5 (2018): 444-453.
6. HERNANDEZ, S., FERRAGUT, G., AMELA, I., PEREZ-PONS, J.A., PINOL, J., ET AL. (2014). MULTITASKPROTDB: A DATABASE OF MULTITASKING PROTEINS. *NUCL. ACIDS RES.* 42, D517-D520. URL: http://wallace.uab.es/multitask/proteins_list.php. Visitado en 2019.
7. ONLINE MENDELIAN INHERITANCE IN MAN, OMIM®. MCKUSICK-NATHANS INSTITUTE OF GENETIC MEDICINE, JOHNS HOPKINS UNIVERSITY (BALTIMORE, MD),1966-2019. WORLD WIDE WEB URL: <https://www.omim.org/>. VISITADO EN 2019.
8. HAMOSH, ADA, ET AL. "ONLINE MENDELIAN INHERITANCE IN MAN (OMIM), A KNOWLEDGEBASE OF HUMAN GENES AND GENETIC DISORDERS." *NUCLEIC ACIDS RESEARCH* 33.SUPPL_1 (2005): D514-D517.
9. THE HUMAN GENE MUTATION DATABASE [INTERNET]. COPYRIGHT EN 2017. CONSULTADO EN ABRIL 2019. URL: <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>.
10. QIN, C., ZHANG, C., ZHU, F., XU, F., CHEN, S.Y., ZHANG, P., LI, Y.H., YANG, S.Y., WEI, Y.Q., TAO, L. AND CHEN, Y.Z., 2013. THERAPEUTIC TARGET DATABASE UPDATE 2014: A RESOURCE FOR TARGETED THERAPEUTICS. *NUCLEIC ACIDS RESEARCH*, 42(D1), PP.D1118-D1123
11. WISHART DS, FEUNANG YD, GUO AC, LO EJ, MARCU A, ET AL. (2017). DRUGBANK 5.0: A MAJOR UPDATE TO THE DRUGBANK DATABASE FOR 2018. *NUCLEIC ACIDS RES.* 2017 NOV 8. DOI: 10.1093/NAR/GKX1037, URL: <https://www.drugbank.ca/>
12. AGENCIA EUROPEA DEL MEDICAMENTO. ULT. ACTUALIZACIÓN ND. CONSULTADO EN MAYO 2019. URL: https://www.cedimcat.info/index.php?option=com_content&view=article&id=186:medicamentos-biotecnologicos-y-biosimilares&catid=46:farmacoterapia-esp&lang=es
13. NUTRACÉUTICA MÉDICA. ULT ACTUALIZACIÓN ND. CONSULTADA EN MAYO 2019. URL: <http://www.nutraceuticamedica.org/definicion.htm>.
14. INSTITUTO NACIONAL DEL CANCER. ULT. ACTUALIZACIÓN ND. CONSULTADA EN MAYO 2019. URL: <HTTPS://WWW.CANCER.GOV/ESPANOL/PUBLICACIONES/DICCIONARIO/DEF/MEDICAMENTO-EN-FASE-EXPERIMENTAL>
15. NCBI RESOURCES. ULT. ACTUALIZACIÓN MAYO 2019. CONSULTADO EN ABRIL DEL 2019. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd>ShowDetailView&TermToSearch=5243>.
16. REVISTA ESPAÑOLA DE REUMATOLOGÍA. ELSEVIER. ULT. ACTUALIZACIÓN ENERO 2000. CONSULTADO EN ABRIL 2019. URL: <HTTPS://WWW.ELSEVIER.ES/ES-REVISTA-REVISTA-ESPANOLA-REUMATOLOGIA-29-ARTICULO-FISIOPATOLOGIA-CICLOOXIGENASA-1-CICLOOXIGENASA-2-8546>.
17. The UniProt Consortium. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge *Nucleic Acids Res.* 47: D506-515 (2019) , URL: <HTTPS://WWW.UNIPROT.ORG/>
18. HIGURASHI, M., ISHIDA, T., & KINOSHITA, K. (2008). PISITE: A DATABASE OF PROTEIN INTERACTION SITES USING MULTIPLE BINDING STATES IN THE PDB. *NUCLEIC ACIDS RESEARCH*, 37(SUPPL_1), D360-D364. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

19. A.D.A.M. MEDICAL ENCYCLOPEDIA [INTERNET]. ATLANTA (GA): A.D.A.M., INC.; ©2005. TRASTORNO MENDELIANO. AVAILABLE FROM: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/002048.htm>. VISITADO EN ABRIL 2019.
20. REVISTA SINC. FUNCIONES DE LA PROTEÍNA hCNT1. VISITADO EN ABRIL DEL 2019. URL: <https://www.agenciasinc.es/Noticias/Descritas-nuevas-funciones-de-la-proteina-hCNT1-alternativas-al-transporte-de-nucleosidos-en-celulas-tumorales>
21. CARVALHO-SILVA, D., PIERLEONI, A., PIGNATELLI, M., ONG, C., FUMIS, L, ET AL. "OPEN TARGETS PLATFORM: NEW DEVELOPMENTS AND UPDATES TWO YEARS ON." NUCLEIC ACIDS RESEARCH 47.D1 (2018): D1056-D1065. URL: <https://www.opentargets.org/>
22. Safran, M, Nativ, N, Golan, Y, Dalah, I, Iny Stein, et al. "MalaCards - the integrated Human Malady Compendium", ISMB 2012, Mar 6, 2012. URL: <HTTPS://WWW.MALACARDS.ORG/>
23. ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE AFECTADOS POR LINFOMA, MIELOMA Y LEUCEMIA. ULT. ACTUALIZACIÓN ND. VISITADO EN MAYO 2019. URL: <HTTP://WWW.AEAL.ES/LEUCEMIA-LINFOBLASTICA-AGUDA-ESPANA/>.
24. PORTAL DE INFORMACIÓN DE ENFERMEDADES RARAS Y MEDICAMENTOS HUÉRFANOS. ULT ACTUALIZACIÓN JUNIO 2019. VISITADO EN MAYO 2019. URL: <https://www.orpha.net>.
25. WIKIPEDIA. ULT ACTUALIZACIÓN FEBRERO 2019. CONSULTADO EN MAYO 2019. URL: <HTTPS://EN.WIKIPEDIA.ORG/WIKI/CALRETICULIN>.
26. HOPKINS, A.L. AND GROOM, C.R., 2002. THE DRUGGABLE GENOME. NATURE REVIEWS DRUG DISCOVERY, 1(9), P.727.
27. PROCACCIO V.; SALAZAR G.; ONO S.; ET AL.(2006). A MUTATION OF BETA -ACTIN THAT ALTERS DEPOLYMERIZATION DYNAMICS IS ASSOCIATED WITH AUTOSOMAL DOMINANT DEVELOPMENTAL MALFORMATIONS, DEAFNESS, AND DYSTONIA. PUBLISHED ONLINE 2006 APR 21. [PUBMED] URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1474101/>
28. RIVIÈRE, J.B., VAN BON, B.W., HOISCHEN, A., ET AL. 2012. DE NOVO MUTATIONS IN THE ACTIN GENES ACTB AND ACTG1 CAUSE BARAITSER-WINTER SYNDROME. NATURE GENETICS, 44(4), P.440.
29. RUDOLF HAPPLE. BECKER'S NEVUS AND LETHAL BETA-ACTIN MUTATIONS. PUBLISHED ONLINE 2017. URL: [https://www.jidonline.org/article/S0022-202X\(17\)31409-4/fulltext](https://www.jidonline.org/article/S0022-202X(17)31409-4/fulltext) VISITADO EN MAYO 2019.
30. CAI, E., RIEGER, K., ROGERS, A., ET AL. 2016. POSTZYGOTIC MUTATIONS IN THE ACTIN GENE ACTB CAUSES BECKER'S NEVUS AND BECKER'S NEVUS SYNDROME. JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, 136(5), P.572. URL: [https://www.jidonline.org/article/S0022-202X\(16\)30494-8/abstract](https://www.jidonline.org/article/S0022-202X(16)30494-8/abstract) VISITADO EN MAYO 2019.
31. EUROPEAN BIOINFORMATICS INSTITUTE [INTERNET]. COPYRIGHT 2019. VISITADO EN ABRIL 2019. URL: <https://www.ebi.ac.uk/chembl/drugability>.
32. C.A. LIPINSKI; F. LOMBARDO; B.W. DOMINY AND P.J. FEENEY (1997). «EXPERIMENTAL AND COMPUTATIONAL APPROACHES TO ESTIMATE SOLUBILITY AND PERMEABILITY IN DRUG DISCOVERY AND DEVELOPMENT SETTINGS». ADV DRUG DEL REV 23: 3-25. DOI:10.1016/S0169-409X(00)00129-0
33. OMICX [INTERNET]. ULT ACTUALIZACIÓN 2019. CONSULTADO EN MAYO 2019.. URL: <https://omictools.com/search?q=drugability>.
34. POCKDRUG. UNIVERSIDAD PARIS DIDEROT. [INTERNET]. ULT ACTUALIZACIÓN ABRIL 2015. VISITADO EN MAYO 2019. URL: <http://pockdrug.rpbs.univ-paris-diderot.fr/cgi-bin/index.py?page=home>.
35. BORREL, A., REGAD, L., XHAARD, H.G., PETITJEAN, M. AND CAMPROUX, A.-C. (2015) POCKDRUG: A MODEL FOR PREDICTING POCKET DRUGGABILITY THAT OVERCOMES POCKET ESTIMATION UNCERTAINTIES. J. CHEM. INF. MODEL., 10.1021/ci5006004.
36. SITEMAP. URL: <https://www.schrodinger.com/sitemap>. VISITADO EN MAYO 2019.
37. LIU, X.X., ZHANG, H., SHEN, X.F., ET AL, 2015. CHARACTERISTICS OF TESTIS-SPECIFIC PHOSPHOGLYCERATE KINASE 2 AND ITS ASSOCIATION WITH HUMAN SPERM QUALITY. HUMAN REPRODUCTION, 31(2), PP.273-279.

38. GRAVES PR, KWIEK JJ, FADDEN P, ET AL. DISCOVERY OF NOVEL TARGETS OF QUINOLINE DRUGS IN THE HUMAN PURINE BINDING PROTEOME. *MOL PHARMACOL* 2002;62:1364-1372.
39. THE NATIONAL PANCREAS FOUNDATION [INTERNET]. ULT ACTUALIZACIÓN ND. VISITADA EN MAYO 2019. url: [HTTPS://PANCREASFOUNDATION.ORG/](https://pancreasfoundation.org/)
40. HERNÁNDEZ, S., CALVO, A., FERRAGUT, G., FRANCO, L., HERMOSO, A., ET AL. "CAN BIOINFORMATICS HELP IN THE IDENTIFICATION OF MOONLIGHTING PROTEINS?" (2014): 1692-1697.
41. OVERINGTON, JOHN P., BISSAN AL-LAZIKANI, AND ANDREW L. HOPKINS. "HOW MANY DRUG TARGETS ARE THERE?" *NATURE REVIEWS DRUG DISCOVERY* 5.12 (2006): 993.
42. ZANZONI, ANDREAS, CHARLES E. CHAOPENPPLE, AND CHRISTINE BRUN. "RELATIONSHIPS BETWEEN PREDICTED MOONLIGHTING PROTEINS, HUMAN DISEASES, AND COMORBIDITIES FROM A NETWORK PERSPECTIVE." *FRONTIERS IN PHYSIOLOGY* 6 (2015): 171.
43. BARSHIR, R., SHWARTZ, O., SMOLY, I. Y., & YEGER-LOTEM, E. (2014). "COMPARATIVE ANALYSIS OF HUMAN TISSUE INTERACTOMES REVEALS FACTORS LEADING TO TISSUE-SPECIFIC MANIFESTATION OF HEREDITARY DISEASES." *PLOS COMPUTATIONAL BIOLOGY* 10.6 (2014): e1003632.
44. YOON, JOO-HEON, JUNSUN RYU, AND SEUNG JOON BAEK. "MOONLIGHTING ACTIVITY OF SECRETED INFLAMMATION-REGULATORY PROTEINS." *YONSEI MEDICAL JOURNAL* 59.4 (2018): 463-469.
45. MIN, KYUNG-WON, SEONG-HO LEE, AND SEUNG JOON BAEK. "MOONLIGHTING PROTEINS IN CANCER." *CANCER LETTERS* 370.1 (2016): 108-116.
46. SANTOS, R., URSU, O., GAULTON, A., BENTO, A. P., DONADI, R. S., ET AL. "A COMPREHENSIVE MAP OF MOLECULAR DRUG TARGETS." *NATURE REVIEWS DRUG DISCOVERY* 16.1 (2017): 19.
47. HUBERTS, DAPHNE HEW, AND IDA J. VAN DER KLEI. "MOONLIGHTING PROTEINS: AN INTRIGUING MODE OF MULTITASKING." *BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA (BBA)-MOLECULAR CELL RESEARCH* 1803.4 (2010): 520-525.
48. SRIRAM, G., MARTINEZ, J. A., MCCABE, E. R., LIAO, J. C., & DIPPLE, K. M. (2005). SINGLE-GENE DISORDERS: WHAT ROLE COULD MOONLIGHTING ENZYMES PLAY? *THE AMERICAN JOURNAL OF HUMAN GENETICS*, 76(6), 911-924.
49. RIBEIRO D.M., BRIERE G., BELY B., SPINELLI L., BRUN C. (2018) "MOONDB 2.0: AN UPDATED DATABASE OF EXTREME MULTIFUNCTIONAL AND MOONLIGHTING PROTEINS" *NUCLEIC ACIDS RESEARCH*, URL: <https://doi.org/10.1093/nar/gky1039>
50. KELLEY, L. A., MEZULIS, S., YATES, C. M., WASS, M. N., & STERNBERG, M. J. (2015). THE PHYRE2 WEB PORTAL FOR PROTEIN MODELING, PREDICTION AND ANALYSIS. *NATURE PROTOCOLS*, 10(6), 845. URL: <http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/servers/phyre2>
51. OUGHTRED R, STARK C, BREITKREUTZ BJ, RUST J, BOUCHER L, ET AL. THE BIOGRID INTERACTION DATABASE: 2019 UPDATE. *NUCLEIC ACIDS RES.* 2019 JAN 8;47(D1): D529-D541. URL: <https://www.thebiogrid.org/>
52. GAULTON A, HERSEY A, NOWOTKA M, BENTO AP, CHAMBERS J, ET AL. (2017). 'THE CHEMBL DATABASE IN 2017.' *NUCLEIC ACIDS RES.*, 45(D1) D945-D954. URL: <https://www.ebi.ac.uk/chembl/downloads>
53. WISTOW, G. and PIATIGORSKY, J., 1987. Recruitment of enzymes as lens structural proteins. *Science*, 236(4808): pp.1554-1556

Anexo I Planificación temporal del TFM

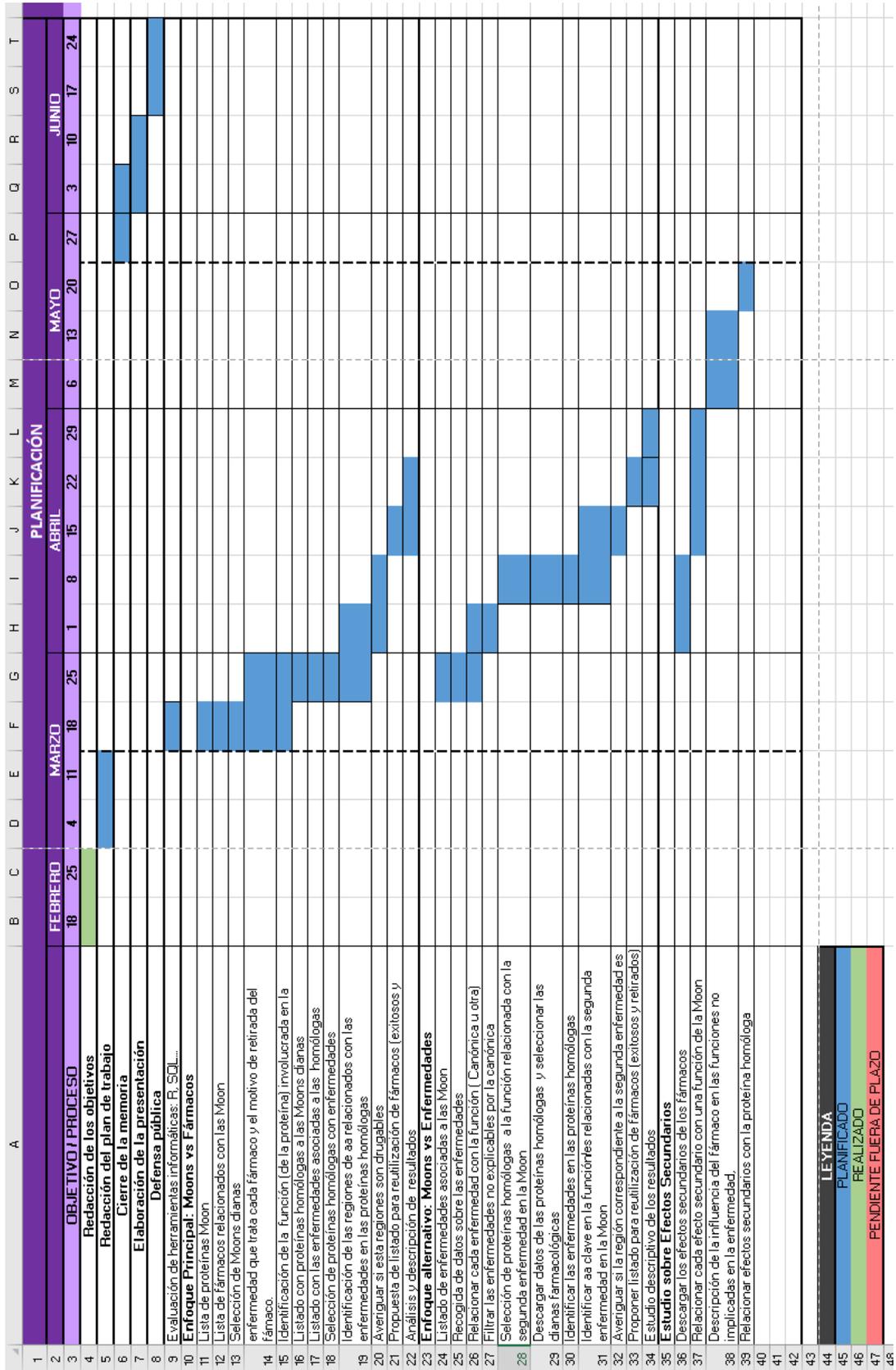


Figura I-1 Diagrama de Gantt donde se desglosan las tareas. Planificación PEC 1.

Anexo II Funciones, enfermedades y fármacos

De las siguientes proteínas se ha buscado la información necesaria en cuanto a funciones, enfermedades y fármacos asociados para valorar su inclusión en el estudio de polifarmacología¹⁸. No se han incluido en el estudio de reutilización por falta de bibliografía que especifique las funciones involucradas en cada enfermedad, o bien por no cumplir con algún criterio propuesto para evaluar la drugabilidad. En todos los casos se especifica en el apartado propio de la proteína.

II.1 Phosphoglycerate kinase (P00558)

Funciones

Es una proteína multifuncional humana, diana farmacológica con 5 fármacos asociados según DrugBank, y una enfermedad relacionada según OMIM (Ref. 300653).

Su función canónica es convertir el 3-fosfo-D-glicerato (3-PG) en 3-fosfo-D-gliceril fosfato (es una enzima glucolítica¹⁹).

Su función o funciones moon es como plasmina reductasa²⁰ y parece que actúa como una proteína de cofactor alfa de polimerasa²¹.

Además, puede desempeñar un papel en la motilidad del esperma, pues la proteína se expresa principalmente en el esperma, con expresión significativamente disminuida en los testículos de hombres de edad avanzada.

Enfermedades

Tabla II-1: descripción enfermedades de Fosfoglicerato Kinasa

Enfermedad	Función	Expresión	Fenotipo
Deficiencia de fosfoglicerato kinasa	C	Infraexpresión	variado

Deficiencia de fosfoglicerato kinasa 1: Afección con un fenotipo clínico altamente variable que incluye anemia hemolítica, rbdomiólisis²², miopatía y compromiso neurológico. Los pacientes pueden expresar una o más de estas manifestaciones. La enfermedad está relacionada con la deficiencia de fosfoglicerato quinasa y el cáncer de próstata, y tiene síntomas que incluyen convulsiones y ataxia. Los tejidos afiliados incluyen la próstata, y los fenotipos relacionados son la labilidad emocional²³ y la discapacidad intelectual. Ref.OMIM: 300653:

¹⁸ Las descripciones de las funciones están extraídas de UniProt y MultitaskProtDB. Las descripciones de las enfermedades están extraídas de OMIM, MalaCards y Orphanet. Las descripciones de los fármacos están extraídas de DrugBank.

¹⁹ La glucólisis o glicólisis es la ruta metabólica encargada de oxidar la glucosa con el fin de obtener energía para la célula. La función de esta proteína es un paso intermedio en la ruta.

²⁰ Una plasmina es una enzima presente en la sangre que degrada muchas proteínas del plasma sanguíneo, incluidos los coágulos de fibrina. Relacionado con cáncer.

²¹ Actúa como una proteína de reconocimiento de cebadores durante la transcripción.

²² Rbdomiólisis es la descomposición del tejido muscular que ocasiona la liberación en la sangre del contenido de las células de las fibras musculares.

²³ La labilidad emocional es un conjunto de alteraciones en la manifestación de la afectividad (llantos, risas inapropiadas o, en general, respuestas emocionales desproporcionadas como reacción a la afectación física) y que en ningún caso significa que exista un auténtico problema psiquiátrico.

Los glóbulos rojos de los mamíferos pierden el núcleo y tampoco tienen mitocondrias. Pero necesitan glucosa para producir energía mediante glucólisis. Por lo tanto, parece que sin fosfoglicerato kinasa 1, no hay glucólisis. Parece que los glóbulos rojos no pueden obtener energía, por lo que se destruyen antes de tiempo. Por lo tanto, esta enfermedad puede que esté relacionada con la función canónica.

Por otro lado, esta proteína se encuentra sobre todo en el espermatozoide y parece estar relacionada con el cáncer de próstata [37]. Es decir, la destrucción de glóbulos rojos anticipada por falta de energía podría estar relacionada con el cáncer de próstata, así como con la falta de movilidad de los espermatozoides.

La función moon indica que la proteína es un cofactor de polimerasa, es decir, es una proteína ayudante de otras proteínas que se dedican a transcribir el ADN. Esta proteína se dedica a reconocer cebadores de transcripción. La identifica para que las polimerasas inicien la transcripción. Si no identifica el cebador, no hay transcripción. Esta función está relacionada con el fármaco Lamiduvina indicado en el apartado de fármacos.

La Lamiduvina utiliza la quinasa fosfoglicerato como enzima, es decir, utiliza su función adicional de identificador de cebador y cuando la ha encontrado se une al ADN (compite contra la transcriptasa inversa del VIH o de la hepatitis para unirse antes que ellos) metiendo un codón de parada. VIH y Hepatitis B no están relacionadas con esta proteína porque la provocan sino porque seguramente en el proceso de infección los virus la necesitan para replicarse. Por tanto, no nos sirve, aunque quizás sí nos sirviera el fármaco.

Lo que sí es intrigante es la relación que puede tener una proteína metabólica en causar cáncer. Como segunda enfermedad, por lo tanto, se podría indicar cáncer porque sí parece estar causado por la proteína. Pero entre las funciones no se describe ninguna relacionada con la angiogénesis, la regulación de factores de crecimiento o la reparación de daño celular, por lo que la actuación de la proteína en el cáncer de próstata no está clara.

La tabla resumen de enfermedades sería la siguiente:

Tabla II-2: descripción enfermedades de Fosfoglicerato Kinasa

Enfermedad	Función	Expresión	Fenotipo
Deficiencia de fosfoglicerato kinasa	C	deficiencia	anemia, convulsiones, ataxia, etc.
Cáncer de próstata	M	deficiencia	cáncer

Fármacos

La proteína muestra 5 fármacos asociados en DrugBank, 2 de ellos aprobados.

Tabla II-3: fármacos asociados a Phosphoglycerate kinase

Adenosine-5'-[Beta, Gamma-Methylene] Triphosphate	DB03909	experimental	target	
3-phospho-D-glyceric acid	DB04510	experimental	target	-
Lamivudine	DB00709	approved, investigational	enzima	Contra VIH y hepatitis B.
Copper	DB09130	approved, investigational	target	Síntesis de proteínas
Arteminol	DB11638	experimental, investigational	target	Contra la malaria.

- **Lamivudine (DB00709):** es un fármaco aprobado, inhibidor de la transcriptasa inversa, análogo de nucleósidos (INTI) con actividad contra el virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y la hepatitis B (VHB). También se utiliza para tratar la hepatitis B crónica. Utiliza la proteína a modo de enzima.

Lamivudine se fosforila en metabolitos activos que compiten por la incorporación al ADN viral. Inhiben competitivamente la enzima transcriptasa inversa del VIH y actúan como un terminador de la cadena de la síntesis de ADN. La falta de un grupo 3'-OH en el análogo de nucleósido incorporado evita la formación del enlace fosfodiéster 5' a 3' esencial para el alargamiento de la cadena de ADN, y por lo tanto, el crecimiento del ADN viral se termina. Se incorpora al ADN viral mediante la transcriptasa inversa del VIH y la polimerasa del VHB, dando como resultado la terminación de la cadena del ADN.

- **Cobre (DB09130) :** es un elemento esencial importante para la función de muchas enzimas porque se les incorpora como cofactor. También es un componente del superóxido dismutasa de zinc / cobre, lo que le otorga un papel antioxidante. La deficiencia de cobre ocurre en el Síndrome de Cuerno Occipital y en la enfermedad de Menke, ambas asociadas con un desarrollo deficiente del tejido conectivo debido a la falta de cobre para actuar como un cofactor en la proteína lisina 6 oxidasa. La enfermedad de Menke también se asocia con un deterioro neurológico progresivo que conduce a la muerte en la infancia. Los mecanismos precisos de los efectos de la deficiencia de cobre son imprecisos debido a la amplia gama de enzimas que utilizan el ion como cofactor.
- **Arteminol (DB11638):** es un derivado de la artemisinina y un agente antimalárico utilizado en el tratamiento de infecciones por Plasmodium falciparum. Se cree que las artemisininas se unen al grupo hemo dentro del parásito. El parásito se transmite con las picaduras de mosquito, llega a la sangre e infecta los glóbulos rojos de su víctima. Una vez dentro, usa como nutriente la hemoglobina (la proteína encargada del transporte de oxígeno en la sangre). Al digerirla, se producen residuos de hierro en forma de moléculas llamadas hemo. Estos grupos hemo son tóxicos para el parásito, pero él tiene una estrategia para que no le perjudiquen: los junta de dos en dos y después los agrupa formando cristales de hemozoína, de manera que el hierro tóxico queda bloqueado y ya no representa una amenaza para él. La artemisina se une al grupo hemo. Una vez que se unen al hemo, se cree que las artemisininas se activan con hierro ferroso mediante escisión reductora que divide el puente de endoperóxido para producir un oxígeno reactivo. Se cree que este oxígeno reactivo se somete a una extracción de hidrógeno intramolecular posterior para producir un radical de carbono reactivo. Se cree que el radical carbono es la fuente de la actividad potente de los fármacos contra P. falciparum al unirse a una amplia gama de proteínas y así inhibirlas. Se observa que la artemisa muestra un efecto reductor de la expresión de enzimas glucolíticas (como la quinasa de fosfoglicerato) y en asociación con otros fármacos tiene la propiedad de regular el metabolismo del parásito[38].

Parece que el Arteminol se une a varias proteínas (tal vez también a la fosfoglicerato de quinasa) y las inhibe. Eso significa que provocaría la inhibición de las funciones de la proteína (tanto la identificación de cebadores de DNA, como la producción de energía en la glucólisis). Como el parásito se alimenta de la energía que obtiene de los glóbulos rojos, si evitamos la síntesis de las proteínas que utiliza para obtener energía, acaba muriendo. Este fármaco parece estar relacionado con la función canónica. Es decir, la deficiencia de la fosfoglicerato quinasa proteína es positiva para acabar con la malaria.

Efectos secundarios

Retomando el hilo conductor de la relación entre la deficiencia de la proteína y el cáncer, se plantea la siguiente duda: ¿tienen los medicamentos efectos secundarios parecidos al resto de enfermedades asociadas a la proteína? Más en concreto, una deficiencia provocada a nivel farmacológico podría llevar a consecuencias parecidas al déficit de la proteína? Si una deficiencia de la proteína causa cáncer, entonces sería interesante indagar si reducir farmacológicamente la expresión de la proteína podría tener efectos secundarios relacionados con cáncer.

Artenimol es un medicamento que inhibe las funciones de la proteína (tanto la identificación de cebadores de DNA, como la producción de energía en la glucólisis). En Drugbank se indica que *“La toxicidad se caracterizó por la infiltración de macrófagos y la deposición intracitoplasmática de materiales granulares basófilos en macrófagos compatible con fosfolipidosis²⁴. La toxicidad a altas dosis estuvo acompañada por disminuciones en los reticulocitos y aumentos en AST y ALT.”* Es decir, no se halla recogida la asociación entre el medicamento que provoca infraexpresión de la proteína y el cáncer. Pero el efecto secundario sí parece estar relacionado con la inhibición de la función canónica: al inhibir la proteína, afecta en deficiencia de glucólisis lo cual es coherente con un exceso de fosfolípidos en los tejidos.

Resultados

En resumen, se diría que la función canónica del fosfoglicerato de quinasa está involucrada en la glucólisis, mientras que en la función moon identifica cebadores de transcripción.

Las enfermedades relacionadas son la deficiencia de fosfoglicerato (asociada a la función canónica) y el cáncer de próstata (asociada a la función moon).

Además, la proteína se ve involucrada en los procesos de infección de los virus VIH y hepatitis B, donde el fármaco utiliza la fosfoglicerato quinasa para inhibir la transcriptasa inversa que replicaría el ADN del virus. De todos modos, el fármaco asociado -Lamiduvina- no sirve para reutilización pues parece que es inhibidor, y se pretende sobreexpresar la proteína para compensar las enfermedades.

En cuanto a la disminución de movilidad de espermatozoides, el déficit de proteína provoca falta de energía que puede ser causa de la falta de movilidad y, por lo tanto, la sobreexpresión de la proteína mejoraría este mal funcionamiento.

Por último, en la bibliografía se hace referencia a la posible relación con el cáncer de próstata. Lo cual significa que la destrucción de glóbulos rojos anticipadamente por falta de energía podría estar relacionado con el cáncer de próstata, así como con la falta de movilidad de los espermatozoides. Pero no se ha encontrado referencia en la descripción de efectos secundarios del medicamento que provoca una reducción en su expresión.

II.2 Protrombina (P00734)

II.2.1 Funciones

Las funciones quedaron definidas en el apartado 0.

²⁴ Acumulación excesiva de fosfolípidos en los tejidos. En este caso, desencadenada por el medicamento.

Simplemente se recuerda que la función canónica es ser una proteína del plasma sanguíneo que forma parte del proceso de coagulación, y la función moon es hacer enlaces con receptores de membrana celular en las interacciones dependientes de Ca.

II.2.2 Enfermedades

Según registra OMIM la protrombina está involucrada en 4 enfermedades; MalaCards añade una más.

Tabla II-4: descripción enfermedades asociadas a Actina-Beta

Enfermedad	Función	Expresión	Fenotipo
Deficiencia de Factor II	C	Deficiencia del Factor II	Menor capacidad de coagulación.
Infarto cerebrovascular	-	-	Disminución del flujo sanguíneo.
Trombofilia	C	Exceso de Protrombina	Exceso de formación de coágulos.
Abortos espontáneos	-	-	-
Trombosis sinovenosa cerebral	¿C o M?	Deficiencia del Factor II	Menor capacidad de coagulación.

Trombosis sinovenosa cerebral: Esta enfermedad, también conocida como CSVT, está relacionada con la trombosis y la deficiencia de proteína C. Un gen importante asociado es el Factor de Coagulación V, y entre sus vías relacionadas se encuentran la respuesta al Ca²⁺ + citosólico elevado de las plaquetas y la polimerización de la cadena de colágeno.

Los tejidos afiliados incluyen el cerebro, el hígado y la médula espinal, y el fenotipo la presencia de trombosis (coágulos) en el seno venoso del cerebro. Ref. OMIM: - / Ref. MalaCards CRB132.

II.2.3 Fármacos

Tal y como se ha indicado anteriormente, hay fármacos potenciadores y otros inhibidores de coagulación.

II.2.4 Resultados

Con la información ofrecida acerca de la enfermedad y la falta de bibliografía que especifique la función involucrada, es difícil saber si la trombosis sinovenosa tiene que ver con problemas en la comunicación intercelular, lo cual estaría en línea con la función moon.

Las otras dos enfermedades posibles --trombofilia y deficiencia del factor 2- están relacionadas con la función canónica (por deficiencia de protrombina).

Por otro lado, la deficiencia de la proteína C está relacionada con la trombofilia por deficiencia de factor II, según indica MalaCard. Esto significa que un mismo fármaco potenciador de factor 2 aumentaría la capacidad de coagulación, y podría estudiarse para reutilización en la trombosis sinovenosa cerebral, en caso de encontrar bibliografía relacionando la enfermedad con la función moon.

II.3 CFTR (P13569)

II.3.1 Funciones

Las funciones quedaron definidas en el apartado 2.5.2. Se trata de una proteína de membrana, cuya función canónica está relacionada con el transporte de iones de cloro, y la función moon con el transporte de iones de sodio.

II.3.2 Enfermedades

Según registra OMIM la protrombina está involucrada en 2 enfermedades. MalaCards registra 7 enfermedades relacionadas.

Tabla II-5: descripción enfermedades asociadas a Protrombina

Enfermedad	Función	Expresión	Fenotipo
Fibrosis Quística	C	Déficit en el transporte de iones	Defecto en la función reguladora de iones de Cl
Absencia congénita bilateral de los vasos deferentes	-	Déficit en el transporte de iones	Defecto en la función reguladora de iones
Pancreatitis hereditaria	-	Déficit en el transporte de iones	Defecto en la función reguladora de iones de Ca
Bronquiectasias con o sin cloruro de sudor elevado	¿C?	Déficit en el transporte de iones	Defecto en la función reguladora de iones tal vez de Cl
Atresia duodenal	-	Déficit en el transporte de iones	Defecto en la función reguladora de iones
Bronquiectasia idopática	-	Déficit en el transporte de iones	Defecto en la función reguladora de iones
Acroqueratodermia acuagénica siringea	C	Déficit en el transporte de iones	Defecto en la función reguladora de iones de Cl

Fibrosis Quística (CF): Es un trastorno generalizado común de las glándulas exocrinas que afecta la eliminación de las secreciones en varios órganos. Se caracteriza por una tríada: 1.- infección broncopulmonar crónica, 2.-insuficiencia pancreática (que causa mala absorción y retraso del crecimiento) y 3.- electrolitos elevados de sudor. La herencia es autosómica recesiva. Ref. OMIM: 219700.

Absencia congénita bilateral de los vasos deferentes (CBAVD): Enfermedad causante de esterilidad en los hombres. Parece que podría ser una forma incompleta de fibrosis quística, ya que la mayoría de los hombres que sufren de fibrosis quística carecen del conducto deferente. Se hereda con un patrón autosómico recesivo. Ref. OMIM: 277180.

Pancreatitis hereditaria: Es una condición genética rara que causa múltiples episodios de pancreatitis aguda. Los signos y síntomas pueden incluir dolor de estómago, fiebre, náuseas o vómitos. Los episodios a menudo duran de uno a tres días, pero pueden ser más largos. Los episodios repetidos de pancreatitis conducen a pancreatitis crónica (páncreas constantemente inflamado), depósitos de calcio en el páncreas y, durante años, cicatrización del páncreas.

Las personas con pancreatitis hereditaria también tienen un mayor riesgo de diabetes tipo 1 y cáncer de páncreas, generalmente en la edad adulta.

En la mayoría de los casos, la pancreatitis hereditaria es causada por mutaciones en el gen PRSS1 y se transmite a través de familias en un patrón autosómico dominante.

Si bien no existe una cura para la pancreatitis hereditaria, según la Pancreas Foundation [39], los enfermos tienden a tener una esperanza de vida normal gracias a los tratamientos disponibles. Ref. OMIM: 167800.

Bronquiectasias con o sin cloruro de sudor elevado 1: Enfermedad respiratoria debilitante caracterizada por dilatación crónica y anormal de los bronquios y otros síntomas similares a la fibrosis quística en ausencia de causas conocidas de bronquiectasia. Es una dilatación permanente de uno o varios bronquios que puede ser congénita o causada por una bronquitis. Casos que podrían justificar una bronquiectasia sería una fibrosis quística, enfermedades autoinmunes, disquinesia ciliar, inmunodeficiencia variable común o una obstrucción por cuerpo extraño. Las características clínicas incluyen función pulmonar subnormal, infecciones sinopulmonares, tos productiva crónica, producción excesiva de esputo y cloruro de sudor elevado en algunos casos. Ref. OMIM: 211400.

Atresia duodenal: La atresia duodenal es una malformación congénita en la que la primera parte del intestino delgado no se ha desarrollado adecuadamente o bien por ausencia o por el cierre completo de una porción del lumen del duodeno. La enfermedad está relacionada con el íleo meconial (obstrucción intestinal del recién nacido debido a la presencia de meconio espeso en el interior del intestino), y la insuficiencia pancreática exocrina (incapacidad del páncreas para sintetizar la cantidad de enzimas necesarias para una adecuada digestión de los alimentos). Causa niveles elevados de líquido amniótico durante el embarazo (polihidramnios) y obstrucción intestinal en bebés recién nacidos. Los tejidos afiliados incluyen páncreas, pulmones y corazón, y los fenotipos relacionados son polihidramnios y anomalías de la arteria pulmonar.

Un gen importante asociado con la Atresia duodenal es el GUCY2C (Guanylate Cyclase 2C), y entre sus vías relacionadas se encuentran las vías de diferenciación de células madre pluripotentes embrionarias e inducidas y marcadores específicos de linaje. Ref. OMIM: 223400.

Bronquiectasia idiopática: La bronquiectasia idiopática está relacionada con la bronquiectasia y el asma. Los tejidos afiliados incluyen neutrófilos, pulmones y corazón, y los fenotipos relacionados son: mayor abundancia de ARNh_c y de ARNh.

Un gen importante asociado con la bronquiectasia idiopática es SCNN1B (Subunidad Beta 1 del Epitelio del Canal de Sodio), y entre sus vías relacionadas están el Sistema Inmune Innato y el procesamiento y presentación de antígenos mediados por MHC de Clase I. Ref. OMIM: -.

Acroqueratodermia acuagénica siríngica: Se trata de una condición rara transitoria que afecta las palmas de las manos, caracterizada por la aparición o el empeoramiento de una erupción palmar, después de una breve exposición al agua. La erupción palmar está formada por granos pequeños, blancos o brillantes que pueden unirse en placas. Los pies no se ven afectados. Los síntomas incluyen un dolor ardiente y una sensación de tensión en las palmas, así como demasiada sudoración. Hay dos variantes. La más común es una condición temporal y recurrente que aparece después de la inmersión en agua, conocida como la "mano en el signo del balde", que mejora a los pocos minutos de las horas de secado. Una variante menos común se caracteriza por lesiones persistentes que empeoran después de la inmersión en agua.

La causa es desconocida, pero probablemente esté relacionada con la sudoración.

Varios estudios han encontrado que está presente en aproximadamente del 40% al 84% de los pacientes con fibrosis quística y también en portadores, lo que sugiere que puede ser causada por mutaciones en el gen CFTR. Se encuentra más a menudo en mujeres jóvenes. Además de la fibrosis quística, también se observa en el desgaste (marasmo) y el síndrome nefrótico y también con el uso de aspirina y otros fármacos como el rofecoxib y el celecoxib.

En la mayoría de los casos no necesita ningún tratamiento y se resuelve de forma espontánea. Cuando sea necesario, se puede tratar con cloruro de aluminio tópico o ungüento de ácido salicílico o con iontoforesis de agua corriente. Ref. OMIM: -.

II.3.3 Fármacos

Como se ha comentado, hay 3 grupos principales: fármacos que tratan las mutaciones de clase I (elimina un codón de parada prematuro), II (corrige defectos de plegamiento) y III (potenciadores de la proteína que está en la membrana).

Los fármacos están dirigidos a los fallos en las funciones secretoras. El mal funcionamiento puede ser debido al mal intercambio de iones de Cloro, pero también al mal funcionamiento en el intercambio de iones de sodio u otros (funciones principal y moonlighting indicadas).

El detalle es el siguiente:

- **Ibuprofeno(DB01050):** Se ha comprobado que el uso de dosis altas de ibuprofeno disminuye la inflamación y disminuye la afluencia de células polimorfonucleares (leucocitos) en los pulmones.
- **DB09213: Dexibuprofen.** Medicamento antiinflamatorio no esteroideo (AINE). Se propone que sea más activo farmacológicamente y tolerable con un mejor perfil de seguridad que el ibuprofeno debido a la mayor concentración de enantiómero S activo. El dexibuprofeno tiene una tasa de disolución más lenta en los jugos gástricos y entéricos simulados en comparación con el ibuprofeno racémico y muestra una mejor biodisponibilidad oral.
- **Ivacaftor(DB08820) :** Desarrollado por la biofarmacéutica Vertex. Nombre comercial Kalydeco. Ivacaftor es un fármaco potenciador que ha demostrado una buena eficacia para la mutación de clase III, Gly551Asp, en niños mayores de 6 años y adultos. Tienen por diana la proteína CFTR que está en la superficie celular, con objeto de mejorar, potenciar su función.
- **Lumacaftor (DB09280):** Desarrollado por la biofarmacéutica Vertex. Nombre comercial: Orkambi. Es un fármaco corrector que está dirigido a mutaciones de clase II, entre las que figura la más frecuente (Phe508del). Intenta corregir el tráfico de la proteína defectuosa en el plegamiento (mutación de clase II) hasta la membrana celular donde podría hacer su función casi con normalidad. Lumacaftor es un medicamento que se usa en combinación con Ivacaftor como el producto de combinación de dosis fijas Orkambi para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ) en pacientes de 6 años de edad y mayores. Lumacaftor mejora los síntomas de la FQ y la patología subyacente de la enfermedad ayudando a la estabilidad conformacional de las proteínas CFTR mutadas con F508del, evitando el plegado incorrecto y dando como resultado un mayor procesamiento y tráfico de proteínas maduras a la superficie celular.
- **Tezacaftor (DB11712):** Desarrollado por Vertex. Tezacaftor e Ivacaftor. Nombre comercial: Symkevi. Terapia que rescata a los pacientes que no toleran Orkambi.
- **ATP (DB00171):** es un medicamento nutracéutico que almacena y transporta energía dentro de las células y es importante en la síntesis de ácidos nucleicos. Pero no interpreto su actuación en la CF o la ausencia de vasos deferentes.
- **Bumetanide(DB00887):** es un diurético. El principal objetivo de la terapia con diuréticos es decrecer el edema causada por la acumulación de líquido secretado y la congestión pulmonar.
- **Crofelemer (DB04941):** es un inhibidor de la diarrea secretora a través de la inhibición del transportador de cloruro CFTR. Está indicado para el tratamiento sintomático de la diarrea no infecciosa en pacientes adultos con VIH / SIDA que reciben tratamiento antirretroviral.
- **Glyburide (DB01016):** medicamento antihiper glucémico oral para el tratamiento de la diabetes mellitus no dependiente de insulina. Actúa estimulando las células β del páncreas para que liberen insulina. Las sulfonilureas también aumentan la utilización de glucosa

periférica, disminuyen la gluconeogénesis hepática y pueden aumentar el número y la sensibilidad de los receptores de insulina.

II.3.4 Resultados

En Fribrosis quística, la ausencia de CFTR funcional en la membrana celular epitelial conduce a la producción de sudor con un alto contenido de sal, asociado con un riesgo de deshidratación y secreciones de moco con una viscosidad anormal (que conduce a obstrucción e infección bronquial).

Los varones con ausencia de vasos deferentes nacen sin ellos, luego un fármaco no va a arreglar ese estado. Huelga decir que la enfermedad es por defecto de la función de la proteína.

En pancreatitis crónica parece que también hay un defecto de la función reguladora de iones, el cual provoca depósitos de calcio en el páncreas.

En Bronquiectasias con o sin cloruro de sudor elevado se indica explícitamente que hay un defecto de la función reguladora de iones de cloro.

La atresia duodenal aparece en el feto y por lo tanto no existe fármaco que pueda curarlo.

La Acroqueratodermia acuagénica siríngica parece estar presente en un tanto por ciento muy elevado de pacientes de fibrosis quística o portadores. Por lo tanto, se trata de la misma función de la proteína.

No se podría reutilizar el fármaco en las enfermedades congénitas debido a que el individuo nace con la malformación o afección y, por lo tanto, el fármaco no podría corregirla.

Y se sugiere reevaluar el efecto de los fármacos que potencian la función reguladora de la proteína, ya que varias de las enfermedades son debidas al defecto de la regulación en el intercambio de iones: iones de cloro en la fibrosis quística y la acroqueratodermia acuagénica siríngica, iones tal vez de calcio en pancreatitis hereditaria, e iones de cloro u otro tipo en bronquiectasias con o sin cloruro de sudor elevado. Pero no es un caso óptimo para el estudio de reutilización que se plantea en el presente trabajo.

II.4 Alpha-crystallin A chain (P02489)

Se trata de una proteína multifuncional de *Homo sapiens*, no diana farmacológica según DrugBank.

Funciones

Su función canónica es como proteína estructural en el cristalino del ojo, donde contribuye a la transparencia y al índice de refracción de la lente.

Su función moon, es como chaperona molecular en el plegamiento de proteínas. Actúa como si fuera una proteína chaperona molecular frente a estrés por “choque térmico”.

Las proteínas chaperonas están presentes en todas las células y muchas son proteínas de choque térmico, cuya función es la de ayudar al plegamiento de otras proteínas recién formadas en la síntesis de proteínas. No forman parte de la estructura primaria de estas otras proteínas, sino que se unen a ellas para ayudar en su plegamiento, ensamblaje y transporte celular a otra parte de la célula donde la proteína realizará su función. Las proteínas de choque térmico son

unas proteínas que producen las células cuando se encuentran en un medio ambiente que le provoca cualquier tipo de estrés, aunque la literatura las llama proteínas del choque térmico. Por ejemplo, un aumento de temperatura de unos 5 grados de la normal (condición que supera las fluctuaciones normales de homeostasis: condición interna estable) para la célula desencadena una rápida síntesis de proteínas de choque térmico.

Enfermedades

Se asocia a varias patologías de cataratas (Ref. OMIM 604219) y al síndrome de microcórnea. Todas parecen involucrar la función moon.

Resultados

La función canónica no parece asociada a enfermedades, por lo que no se considera que esta proteína sea un caso óptimo.

II.5 Dynamin-2 (P50570)

La dinamina-2 es una GTPasa responsable de la endocitosis en las células eucariotas. También es una proteína multifuncional de *Homo sapiens*, pero sin fármacos asociados según DrugBank.

Funciones

Como función canónica está involucrada en la fisión de la membrana (escisión de las vesículas recién formadas de la membrana).

Tiene identificadas varias funciones moon: 1. Inestabilidad dinámica de los microtúbulos en interfase, 2. La cohesión centrosoma; 3. Papel en la citocinesis; 4. Polimerización de la actina.

Las dinaminas están involucradas en la escisión de las vesículas recién formadas de la membrana de cualquier compartimento celular, su orientación y su fusión con cualquier otro compartimento, tanto en la superficie de la célula como en el aparato de Golgi. Regulan diversas funciones biológicas, y están involucradas en la endocitosis que es un mecanismo por el cual las células introducen moléculas extracelulares, englobándolas en una invaginación de la membrana citoplasmática, formando una vesícula que termina desprendiéndose de la membrana para incorporarse al citosol. Cuando una vesícula invagina, la dinamina forma una espiral alrededor del cuello de la vesícula. Las dinaminas también desempeñan un papel importante en muchos procesos incluyendo, la división de orgánulos, citocinesis y resistencia a patógenos microbianos.

Enfermedades

Parece que está involucrada sólo en la miopatía centronuclear 1, con referencia OMIM 160150.

Resultados

Tampoco sería un caso para estudiar su drugabilidad.

Anexo III Materiales Suplementarios

III.1 Material Suplementario S1

El fichero disponible en el siguiente icono contiene los listados descargados de las bases de datos utilizadas:



Material
Suplementario S1.xlsx

A continuación se describe la información disponible:

- Pestaña “proteins-MultitaskProtDB”: contiene listado de proteínas multifuncionales descargado de la base de datos MultitaskProtDB.
- Pestaña “carrier-DrugBank”: contiene listado de fármacos asociados a proteínas en el grupo funcional carrier, descargado de la base de datos DrugBank.
- Pestaña “enzyme-DrugBank”: contiene listado de fármacos asociados a proteínas en el grupo funcional enzyme, descargado de la base de datos DrugBank.
- Pestaña “target-DrugBank”: contiene listado de fármacos asociados a proteínas en el grupo funcional target, descargado de la base de datos DrugBank.
- Pestaña “transporter-DrugBank”: contiene listado de fármacos asociados a proteínas en el grupo funcional transporter, descargado de la base de datos DrugBank.
- Pestaña “approved-DrugBank”: contiene listado de fármacos asociados a proteínas en estado de aprobación, descargado de la base de datos DrugBank.
- Pestaña “nutraceutical-DrugBank”: contiene listado de fármacos nutracéuticos asociados a proteínas, descargado de la base de datos DrugBank.
- Pestaña “investigational-DrugBank”: contiene listado de fármacos asociados a proteínas en estado de investigación, descargado de la base de datos DrugBank.
- Pestaña “experimental-DrugBank”: contiene listado de fármacos asociados a proteínas en estado de experimentación, descargado de la base de datos DrugBank.
- Pestaña “illicit-DrugBank”: contiene listado de fármacos asociados a proteínas considerados ilícitos, descargado de la base de datos DrugBank.
- Pestaña “withdrawn-DrugBank”: contiene listado de fármacos retirados del mercado asociados a proteínas, descargado de la base de datos DrugBank.

III.2 Material Suplementario S2

El fichero disponible en el siguiente icono contiene el listado con la información de enfermedades asociadas a proteínas, extraída de los repositorios OMIM y MalaCards, y anotadas manualmente:



Material
Suplementario S2.xlsx

A continuación se describe la información disponible:

- Pestaña “moons-Homosapiens”: contiene el resultado de la selección con las 89 proteínas multifuncionales que se expresan en seres humanos.
- Pestaña “moons-Homosapiens-dianas”: contiene el resultado de la selección con las 41 proteínas multifuncionales, humanas, dianas farmacológicas, con sus fármacos asociados clasificados por función.
- Pestaña “OMIM-MalaCards”: contiene listado de proteínas multifuncionales, humanas, dianas farmacológicas con sus enfermedades asociadas extraídas de las bases de datos OMIM y MalaCards.

III.3 Material Suplementario S3

El fichero disponible en el siguiente icono contiene el resultado del análisis de drugabilidad en el motor de predicción Pock-Drug:



Material
Suplementario S3.xlsx