

LA PERSPECTIVA MOLECULAR I LA MEDICINA. MALALTIES MOLECULARS

JOSEP CARRERAS

*Departament de Ciències Fisiològiques I. Unitat de Bioquímica. Facultat de Medicina.
Universitat de Barcelona*

Adreça per a la correspondència: Departament de Ciències Fisiològiques I. Unitat de Bioquímica. Facultat de Medicina. Universitat de Barcelona. Casanova, 143. 08036 Barcelona

1. INTRODUCCIÓ

L'any 1949, la prestigiosa revista *Science* va publicar un article de Linus Pauling i col·laboradors, que portava per títol «Sickle Cell Anemia, a Molecular Disease» (Pauling *et al.*, 1949), i que pot ésser considerat com la «presentació en societat» de la medicina molecular (figura 1). Ja quaranta anys enrere Garrod (Garrod, 1909) havia postulat que la manca d'un enzim que catalitzaria el trencament de l'anell benzènic de la fenilalanina i de la tirosina era responsable de l'alcaptonúria congènita. I des d'aleshores s'havien descrit altres malalties congènites del metabolisme atribuïdes a dèficits enzimàtics específics. D'altra banda, feia ja anys que es coneixien diverses malalties nutritives degudes a dèficits vitamínics. Però varen ésser Pauling i col·laboradors els primers a aplicar el nom de «malaltia molecular» a una malaltia deguda a alteracions de l'estructura d'una única molècula. Cinquanta anys després de l'article de Pauling,

el qualificatiu «molecular» aplicat a la medicina és utilitzat àmpliament, i cada cop són més freqüents els cursos de patologia molecular, i són més nombroses les revistes internacionals especialitzades i les monografies que inclouen aquell qualificatiu en el títol (Van Lancker, 1977; Woolf, 1986; Davies, 1988; Scriver *et al.*, 1995; Ross, 1996).

En les línies que segueixen pretenem fer una breu revisió dels orígens de la medicina molecular i unes consideracions sobre la repercussió que la «molecularització» de la medicina té sobre la formació dels professionals de la salut. Farem, també, una classificació de les malalties des de la perspectiva molecular, prenent com a base l'esquema exposat en diverses ocasions per Alberto Sols (Sols, 1983; 1984; 1989; 1997) (figura 2), pioner de la introducció del concepte de medicina molecular a Espanya, i a qui dediquem aquest article com a modest homenatge i com a mostra d'agraïment pel seu mestratge.

Sickle Cell Anemia, a Molecular Disease¹Linus Pauling, Harvey A. Itano,² S. J. Singer,² and Ibert C. Wells³*Gates and Crellin Laboratories of Chemistry, California Institute of Technology, Pasadena, California⁴*

THE ERYTHROCYTES of certain individuals possess the capacity to undergo reversible changes in shape in response to changes in the partial pressure of oxygen. When the oxygen pressure is lowered, these cells change their form from the normal biconcave disk to crescent, holly wreath, and other forms. This process is known as sickling. About 8 percent of American Negroes possess this characteristic; usually they exhibit no pathological consequences ascribable to it. These people are said to have sickle cell anemia, or sickle cell trait. However, about 1 in 40 (4) of these individuals whose cells are capable of sickling suffer from a severe chronic anemia resulting from excessive destruction of their erythrocytes; the term sickle cell anemia is applied to their condition.

The main observable difference between the erythrocytes of sickle cell trait and sickle cell anemia has been that a considerably greater reduction in the partial pressure of oxygen is required for a major fraction of the trait cells to sickle than for the anemia cells (12). Tests *in vivo* have demonstrated that between 30 and 60 percent of the erythrocytes in the venous circulation of sickle cell anemia individuals, but less than 1 percent of those in the venous circulation of sickle cell trait individuals, are normally sickled. Experiments *in vitro* indicate that under sufficiently low oxygen pressure, however, all the cells of both types assume the sickled form.

The evidence available at the time that our investigation was begun indicated that the process of sickling might be intimately associated with the state and the nature of the hemoglobin within the erythrocyte. Sickle cell erythrocytes in which the hemoglobin is combined with oxygen or carbon monoxide have the biconcave disk contour and are indistinguishable in

¹This research was carried out with the aid of a grant from the United States Public Health Service. The authors are grateful to Professor Ray D. Owen, of the Biology Division of this Institute, for his helpful suggestions. We are indebted to Dr. Edward H. Ryan, of Pasadena, Dr. Travis Winger, of Los Angeles, and Dr. G. H. Beach, of the Tulane University School of Medicine, New Orleans, for their aid in obtaining the blood used in these experiments.

²U. S. Public Health Service postdoctoral fellow of the National Institutes of Health.

³Postdoctoral fellow of the Division of Medical Sciences of the National Research Council.

⁴Contribution No. 1282.

that form from normal erythrocytes. In this condition they are termed promesenchymocytes. The hemoglobin appears to be uniformly distributed and randomly oriented within normal cells and promesenchymocytes, and no birefringence is observed. Both types of cells are very flexible. If the oxygen or carbon monoxide is removed, however, transforming the hemoglobin to the uncombined state, the promesenchymocytes undergo sickling. The hemoglobin within the sickled cells appears to aggregate into one or more foci, and the cell membranes collapse. The cells become birefringent (12) and quite rigid. The addition of oxygen or carbon monoxide to these cells reverses these phenomena. Thus the physical effects just described depend on the state of combination of the hemoglobin, and only secondarily, if at all, on the cell membrane. This conclusion is supported by the observation that sickled cells when lysed with water produce discoidal, rather than sickle-shaped, ghosts (10).

It was decided, therefore, to examine the physical and chemical properties of the hemoglobins of individuals with sickle cell anemia and sickle cell trait, and to compare them with the hemoglobin of normal individuals to determine whether any significant differences might be observed.

EXPERIMENTAL METHODS

The experimental work reported in this paper deals largely with an electrophoretic study of these hemoglobins. In the first phase of the investigation, which concerned the comparison of normal and sickle cell anemia hemoglobins, three types of experiments were performed: 1) with carbonmonoxyhemoglobins; 2) with uncombined ferrohemoglobins in the presence of dithionite ion, to prevent oxidation to methemoglobin; and 3) with carbonmonoxyhemoglobins in the presence of dithionite ion. The experiments of type 3 were performed and compared with those of type 1 in order to ascertain whether the dithionite ion itself causes any specific electrophoretic effect.

Samples of blood were obtained from sickle cell anemia individuals who had not been transfused within three months prior to the time of sampling. Strains of concentrated solutions of human adult hemoglobin were prepared by the method used by Drabkin (3). These solutions were diluted just before use with the

vació emprat en biologia va ésser l'ull humà, ajudat per alguns instruments molt senzills. L'experimentació es realitzava utilitzant dispositius molt grollers i rudimentaris. Per això, el coneixement científic dels éssers vius es limitava als aspectes morfològics i estructurals macroscòpics (anatomia) i a certs aspectes funcionals d'organismes, aparells o òrgans (fisiologia). L'invenció del microscopi, al segle XVII, va permetre l'observació del món cel·lular, fins aleshores inassequible, i els estudis morfològics arribaren a les estructures dels teixits (histologia) i de les cèl·lules (citologia). La introducció en la investigació biològica dels mètodes i dels conceptes propis de la química, a partir del segle XVIII, i de la física i la fisicoquímica, des de finals de segle XIX, va determinar que la fisiologia experimentés un avanç extraordinari i anés més enllà del món cel·lular (fisiologia cel·lular) i provoqués el naixement i desenvolupament de dues noves ciències biològiques, la bioquímica i la biofísica, que aprofundeixen fins a la perspectiva molecular i submolecular per estudiar, respectivament, els aspectes químics i físics de les activitats vitals.

Aquesta progressiva «molecularització» de la investigació i del saber biològics ha portat a una biologia molecular, que intenta comprendre la totalitat dels fenòmens vitals, en tant que poden ésser explicats sobre la base de les interaccions que es donen entre els components químics dels organismes vivents. La biologia dels nostres dies tracta d'entendre allò que Lehninger (Lehninger, 1970) ha anomenat «the molecular logic of the living state» i Jacob (Jacob, 1970) «la logique du vivant». I des d'aquesta nova biologia neixen nous intents per entendre la realitat humana, normal i patològica, en tota la seva profunditat.

Actualment la bioquímica i la biofísica, més que nous sectors de la fisiologia, han esdevingut una nova perspectiva d'investiga-

FIGURA 1. Primera pàgina de l'article de Pauling i col·laboradors.

2. LA «MOLECULARITZACIÓ» DE LA MEDICINA

El ritme amb què s'ha produït el desenvolupament de la medicina al llarg del temps ha estat condicionat, en gran mesura, per l'avanç i el desenvolupament que han experimentat les anomenades ciències bàsiques i, molt especialment, les ciències biològiques (Carreras, 1984a). Al llarg de llur desenvolupament històric aquestes ciències han crescut en extensió, ampliant els sectors objecte d'estudi, i en profunditat, avançant progressivament del tot a la part i estudiant de manera successiva la morfologia, l'estructura, la composició i les funcions d'unitats cada cop més elementals.

Durant molt temps, l'únic mitjà d'obser-

ció i de comprensió de la biologia: la perspectiva molecular i submolecular. Comprenen l'estudi de tots els fenòmens vitals en tant que poden explicar-se a partir de processos químics i processos físics; com el resultat de les interaccions fisicoquímiques i químiques que tenen lloc entre els constituents de la matèria vivent. Gràcies als avenços de la bioquímica i de la biofísica, es coneixen els mecanismes i la naturalesa de les transformacions químiques que experimenten les biomolècules; les bases moleculars de la realització de les diverses formes de treball cel·lular i de les funcions cel·lulars; els canvis energètics que acompanyen aquests processos; la naturalesa íntima de les reaccions enzimàtiques, i la regulació coordinada de les diverses funcions cel·lulars. El progressiu afinament de l'anàlisi bioquímica i biofísica de les activitats vitals ha permès arribar, en molts casos, a llurs mecanismes moleculars; fins i tot ha fet possible, en certes ocasions, arribar fins al nivell quàntic del procés investigat.

La medicina, tot seguint aquests passos de la biologia, estudia cada cop més la problemàtica pròpia des de la perspectiva molecular. Així com la biologia cel·lular va donar origen a una patologia cel·lular, la biologia molecular està donant origen a una medicina molecular. Està naixent una nova medicina en què la perspectiva molecular és alhora un àmbit d'investigació i d'estudi dels processos fisiopatològics i un àmbit d'actuació diagnòstica, pronòstica i terapèutica.

3. REPERCUSSIONS EN LA FORMACIÓ DELS PROFESSIONALS DE LA SALUT

La introducció progressiva de la perspectiva molecular en la medicina i altres ciències de la salut requereix, cada cop més, professionals preparats adequadament. No-

més si tenim aquests professionals podrem fer front, amb èxit, al repte que ens presenta el futur. Per això, és especialment greu la responsabilitat dels encarregats de la formació d'aquests professionals. Cal proporcionar als estudiants d'avui, professionals de demà, els coneixements per entendre la fisiologia i la fisiopatologia des del punt de vista molecular; per comprendre des d'aquesta perspectiva les bases de les malalties, del diagnòstic, de la prevenció i del tractament. L'exercici professional del futur exigirà capacitat per abordar en l'àmbit molecular els problemes de la salut; professionals que tinguin els elements de llenguatge bioquímic necessaris per comprendre les bases moleculars de la salut i de la malaltia; professionals capaços d'adquirir constantment la informació bioquímica necessària

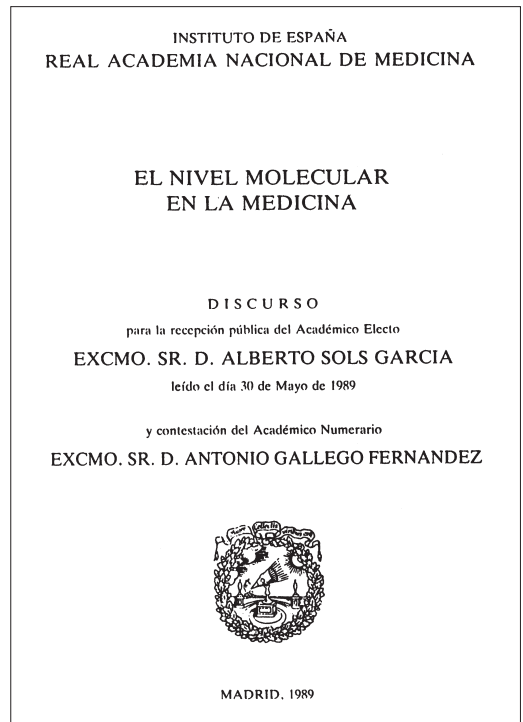


FIGURA 2. Portada del discurs d'ingrés d'Alberto Sols a la Real Academia Nacional de Medicina.

per mantenir llur competència i que siguin capaços d'aplicar aquesta informació per encarar la seva problemàtica professional. Aquest és l'objectiu essencial de l'ensenyament de la bioquímica i de la biologia molecular: aconseguir que els estudiants aprenguin el llenguatge molecular, el seu vocabulari i la seva lògica, i es familiaritzin amb el seu ús, per aplicar-lo, més tard, a la patologia. L'adquisició d'informació bioquímica actualitzada té una importància secundària, atesa la rapidesa amb què s'oblida i la velocitat amb què queda desfasada. És molt més important que l'estudiant adquireixi la capacitat d'autoaprenentatge, per poder substituir els conceptes vells per altres d'actualitzats, fent ús de les diverses possibilitats que les noves tecnologies de la informació li posen a l'abast. Creiem que cal tenir clares aquestes idees a l'hora de decidir les estratègies i els continguts dels plans d'estudi de medicina i d'altres professions de la salut (Carreras, 1984b).

4. LES MALALTIES MOLECULARS

Segons la seva etiologia i des d'una perspectiva molecular, les malalties poden classificar-se en dues categories: malalties moleculars i malalties no moleculars. Les malalties de *causa no molecular* resulten de l'acció d'agents físics: increment de la temperatura ambiental o calor localitzada, hipotèrmia o fred localitzat, canvis de pressió baromètrica, radiacions, electricitat, elements meteòrics, moviment i acceleració, agents mecànics. Aquestes malalties representen una minoria dins de la patologia; si bé algunes d'elles, com els traumatismes resultants dels accidents laborals i de trànsit, han adquirit una importància creixent en els països més desenvolupats. En canvi, les malalties actualment considerades de causa molecular són molt nombroses i abasten les

àrees més diverses de la patologia. D'altra banda, és probable que la majoria de malalties actualment de causa indefinida passin a engruixir el grup de les malalties moleculars.

Dintre les *malalties moleculars* poden distingir-se tres subcategories: malalties exògenes, malalties genètiques i malalties mixtes. Un primer grup de *malalties exògenes* són les produïdes per toxines. Entre elles es troben les intoxicacions ocasionades per productes químics diversos (industrials, agrícoles i domèstics), les intoxicacions produïdes per drogues d'abús i les intoxicacions medicamentoses; també formen part d'aquest grup les malalties produïdes per toxines d'origen biològic (microbianes, vegetals o animals). Si bé en la majoria dels casos els mecanismes patogènics són poc coneguts, s'ha avançat molt en l'aclariment dels mecanismes íntims de la patologia d'un nombre creixent d'intoxicacions. Serien casos paradigmàtics el de la toxina colèrica i el de la toxina diftèrica en què s'altera l'adenilat ciclasi i el factor d'elongació 2, respectivament, via ADP ribosilació.

El segon grup de malalties moleculars exògenes són les produïdes per virus, de DNA o de RNA. Constitueixen una gran proporció de les malalties infeccioses i representen un conjunt important i força ben conegut.

Les malalties ocasionades per prions constitueixen un altre dels grups, relativament poc estudiats, de les malalties exògenes. Actualment, sabem que els prions (o partícules proteíniques infeccioses) són responsables tant d'afeccions contagioses com de malalties esporàdiques i de malalties hereditàries. Semblen variants de proteïnes normals amb una conformació alterada que, en interaccionar amb aquelles, els indueixen un canvi conformacional en cascada que produeix, per un mecanisme mal conegut, la malaltia.

Finalment, un quart grup nombrós i significatiu de malalties exògenes és el que resulta d'alteracions nutritives, tant qualitatives com quantitatives, per excés o, més freqüentment, per defecte de determinats compostos inorgànics (sals, oligoelements) o orgànics (vitamines, àcids grassos i aminoàcids essencials). Gran part d'aquestes malalties per carència són conegudes des de fa molt temps; però en la majoria d'elles els mecanismes moleculars implicats no s'han començat a aclarir fins fa relativament poc. No fa gaire que es coneix la funció coenzimàtica dels derivats de les vitamines hidrosolubles o el caràcter prohormonal dels derivats de les vitamines D.

Les *malalties genètiques* resulten de les alteracions del genoma, nuclear o, més rarament, mitocondrial. La causa pot ésser una simple mutació puntual que afecta un sol nucleòtid de la seqüència de DNA o una alteració cromosòmica més o menys important. L'alteració pot afectar tant els cromosomes sexuals com els cromosomes autosòmics, i pot produir-se tant a les cèl·lules somàtiques com a les cèl·lules sexuals. Les conseqüències de l'alteració depenen, d'una part, de la seva naturalesa i, d'altra banda, del tipus de cromosoma i del tipus de cèl·lula afectada. No tenen les mateixes conseqüències les alteracions dels gens nuclears, de la majoria dels quals existeix una sola o unes poques còpies (generalment de doble origen, patern i matern), que les alteracions dels gens mitocondrials, dels quals existeixen centenars o milers de còpies, la gran majoria d'origen matern.

Les mutacions genètiques poden afectar les regions codificadores del DNA (gens estructurals) o les regions no codificadores implicades en la regulació de l'expressió gènica. Aquesta darrera situació es traduirà en un augment o una disminució de la síntesi de la proteïna normal, amb la corresponent variació de la seva concentració.

Una mutació d'un gen estructural, tant si té lloc en un exó com si es produeix en un intró, pot determinar l'aparició d'un RNA missatger diferent del normal i, per tant, d'una cadena peptídica de seqüència i/o de longitud anormals. Aquest fet pot alterar els diversos nivells estructurals de la proteïna (estructura secundària, terciària i quaternària), la unió amb el grup prostètic en el cas d'una proteïna conjugada, la localització subcel·lular de la proteïna, i la seva associació amb d'altres proteïnes per a constituir complexos multiproteics. Des del punt de vista funcional, la proteïna resultant d'una mutació pot tenir una funció normal, però augmentada o disminuïda, o una funció anormal. També pot alterar-se alguna propietat no directament relacionada amb la funció de la proteïna, així com la seva estabilitat i velocitat de degradació, la qual cosa es traduiria en un canvi de la seva concentració.

Actualment s'han detectat mutacions que afecten molts tipus de proteïnes. Un grup molt important són les mutacions que alteren la funció dels enzims i ocasionen disenzímies. L'enzim afectat té modificades les característiques cinètiques o les propietats reguladores (sensibilitat als activadors i/o als inhibidors). En el cas d'una disminució de l'activitat enzimàtica, el trastorn metabòlic que en resulta deriva, en uns casos, de la disminució o de l'absència del producte produït per la reacció catalitzada per l'enzim, o de la consecutiva disminució o absència del producte final de la via metabòlica. En altres casos, el trastorn deriva de l'acumulació del substrat o d'un precursor.

Un segon grup de mutacions és el que afecta proteïnes implicades en els processos de pas a través de les membranes (plasmàtica o intracel·lulars) o de transport en el medi citosòlic, medi extracel·lular o plasma.

Un tercer grup de mutacions altera pro-

teïnes implicades en la biosíntesi o en la degradació d'altres proteïnes. La proteïna alterada pot participar en processos molt variats: transcripció o processament dels pre-mRNA, traducció, adquisició de la conformació activa per part de les cadenes peptídiques, processos de modificació post-traduccional, agrupació de les subunitats de les proteïnes oligomèriques, determinació de la localització subcel·lular, formació dels complexos multiproteics, incorporació o dissociació dels grups prostètics, procés de proteòlisi.

Un altre grup de mutacions afecta proteïnes implicades en els processos de transmissió i de transducció de senyals: hormones, factors de creixement, neurotransmissors i neuromoduladors, receptors de membrana o intracel·lulars, factors de transcripció.

Altres mutacions alteren proteïnes que participen en els processos d'homeòstasi i de defensa, tals com el sistema immunitari i els sistemes d'hemostàsia. Finalment, hi ha mutacions que afecten proteïnes de funció essencialment estructural; en l'àmbit de les membranes, del medi intracel·lular o del medi intersticial.

Les conseqüències que les alteracions resultants d'aquestes mutacions tenen per a la cèl·lula i per a l'organisme depenen, d'una part, de la magnitud de l'alteració funcional que produeixen, del tipus de funció alterada i del caràcter més o menys essencial d'aquesta funció. D'altra part, són de conseqüències molt diferents les mutacions que es produeixen a les cèl·lules germinals i les mutacions que es produeixen a les cèl·lules somàtiques.

Les mutacions que es donen a les cèl·lules no germinals i que són incompatibles amb la vida cel·lular condueixen a la mort de la cèl·lula. El consecutiu alliberament de substàncies de degradació al medi extracel·lular pot produir, com a màxim, una re-

acció de tipus inflamatori o autoimmunitari. Les mutacions viables ocasionen trastorns més o menys importants, i es propaguen a les cèl·lules filles. Si la mutació no afecta els processos de divisió i creixement cel·lular, podrà aparèixer una metaplàsia. Si l'alteració afecta els processos esmentats, pot originar-se un tumor; actualment es sap que moltes neoplàsies resulten del cúmul de mutacions que afecten gens (oncogens i antioncogens o gens supressors) que codifiquen proteïnes implicades en els processos de proliferació, diferenciació cel·lular i apoptosi (mort cel·lular programada). És probable que també certes malalties de tipus immunitari tinguin l'origen en mutacions produïdes en cèl·lules somàtiques que determinen la síntesi d'un anticòs específic en front de proteïnes importants.

Les mutacions que tenen lloc en cèl·lules germinals i que afecten funcions essencials condueixen a organismes inviables i determinen avortaments no detectats. Les mutacions que afecten funcions no essencials però importants condueixen a malalties congènites hereditàries, i les mutacions que afecten funcions marginals es tradueixen en subnormalitats.

Les *malalties moleculars mixtes* són aquelles en la patogènia de les quals es troben implicades, alhora, alteracions de tipus genètic i factors exògens. Un cas paradigmàtic el constitueix la diabetis insulino-dependent, la patogènia de la qual, a més de tenir una base hereditària de caràcter probablement multigènic, sembla comportar processos de tipus immunitari.

BIBLIOGRAFIA

- CARRERAS, J. (1984a). «Especialización en Ciencias Básicas de la Medicina. Las Ciencias Fisiológicas en las enseñanzas de pregrado y de postgrado». A: *Especialización científica y antropología*. Barcelona: Fundación Letamendi-Forns, pág. 67-87.

- CARRERAS, J. (1984b). «Niveles de enseñanza de la Bioquímica en la Licenciatura de Medicina. Objetivos y contenidos». A: *Jornadas sobre la enseñanza de la Bioquímica*. Málaga: Universidad de Málaga, pág. 5-16.
- DAVIES, K. E; P. READ (1988). *Molecular Basis of Inherited Disease*, Oxford: IRL Press.
- GARROD, A. E. (1909). *Inborn errors of Metabolism*. Reimprès el 1963 per Oxford University Press, London.
- JACOB, F. (1970). *La logique du vivant. Une histoire de l'hérédité*. Paris: Gallimard.
- LEHNINGER, A. L. (1970). *Biochemistry. The molecular basis of cell structure and function*. New York, Worth Publ.
- PAULING L.; H. A. Itano; S. J. SINGER; I. C. WELLS (1949). «Sickle cell anemia, a molecular disease», *Science*, núm. 110, pàg. 543-548.
- ROSS, D. N. (1996) *Introduction to Molecular Medicine*. 2a ed., New York: Springer-Verlag.
- SCRIVER Ch. R. et al, [ed.] (1995). *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7a ed. New York: McGraw-Hill.
- SOLS, A. (1997). «Los enzimas, agentes de la Vida». *Bol. Fund. J. March*, núm. 66, pàg. 3-19.
- SOLS, A. (1983). «Patología molecular prenatal». *Rev. Esp. Pediatr.* núm. 39, pàg. 270-276.
- SOLS, A. (1984). «Una nueva dimensión de la Medicina: la Patología Molecular». A: *Jornadas sobre la enseñanza de la Bioquímica*. Málaga: Universidad de Málaga, pàg. 51-62.
- SOLS, A. (1989). *El nivel molecular en la Medicina*. Madrid: Instituto de España, Real Academia de Medicina.
- VAN LANCKER, J. L. (1977). *Molecules, Cells and Disease*. New York: Springer-Verlag.
- WOOLF, N. (1986). *Cell, Tissue and Disease*. 2a ed., London: Bailliere Tindall.