



XLII LECCIÓN CONMEMORATIVA
JIMÉNEZ DÍAZ

Madrid, 18 Mayo 2010

**“Cáncer y envejecimiento:
nuevas claves genómicas y degradómicas”**

Prof. Carlos López-Otín

Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular
Universidad de Oviedo



Querida Ministra, queridos Patronos de la Fundación Conchita Rábago, queridos amigos, muchas gracias por el gran honor que representa para mí y para nuestro laboratorio, vuestra invitación a impartir esta Lección Conmemorativa Jiménez Díaz, honor en el que me precedieron científicos que han influido decisivamente en mi vida desde el profesor Severo Ochoa que pronunció la primera de estas lecciones en 1969, hasta la Dra. Margarita Salas, ejemplo continuo de compromiso con la Ciencia. Muchas gracias también a mis mentores y maestros especialmente a los que ya no están con nosotros (Enrique Méndez y Eladio Viñuela) y gracias a los Dres. Adolfo Ferrando, Alicia García Arroyo, Alberto Muñoz y Guido Kroemer, por compartir su excelente trabajo con todos nosotros en un día tan importante para mí. Hoy, en esta Lección Conmemorativa, trataré de exponer algunas ideas derivadas de nuestra labor experimental dirigida a la búsqueda de la lógica molecular subyacente a procesos tan complejos como el cáncer y el envejecimiento.

Nuestra aproximación a estos problemas comenzó hace cerca de 20 años de una manera muy sencilla, casi minimalista, al estar basada en el estudio de una sola familia de proteínas, las proteasas, un conjunto de enzimas que influyen decisivamente en la vida y en la enfermedad humanas y que pueden organizarse en 5 clases catalíticas: aspartil-, serín-, cisteín-, metalo-, y treonin-proteasas. Pese a su extraordinaria diversidad en formas y funciones, todas ellas tienen una propiedad común, su capacidad de hidrolizar eficazmente un enlace covalente de gran estabilidad: el enlace peptídico. Nuestra hipótesis inicial de trabajo estuvo basada en la idea de que las proteasas podían desempeñar una función decisiva en las propiedades invasivas de las células tumorales, a través de su capacidad de destruir las matrices extracelulares, facilitando así la liberación de las células tumorales y la generación de metástasis en sitios distintos y distantes del organismo. Para evaluar esta hipótesis comenzamos un estudio dirigido a identificar las posibles proteasas capaces de generar el potencial proteolítico tumoral que diferenciaría a los tumores invasivos de los no invasivos. Esta aproximación nos condujo a la sorprendente identificación y clonación de más de 60 nuevos genes de proteasas humanas cuya expresión estaba alterada en el cáncer. De esta manera, paso a paso, fuimos construyendo el mecano proteolítico del cáncer, pero sus dimensiones eran mucho mayores de lo esperado, por lo que llegó un momento en el que fue necesario poner orden en toda esta complejidad. Así, con el Dr. Chris Overall, introdujimos el término degradoma para definir el conjunto de genes de proteasas



de un organismo y desarrollamos nuevos métodos, que denominamos degradómicos, para proceder a su análisis global. Esta labor nos condujo a establecer por primera vez las dimensiones del espacio proteolítico humano: un espacio ocupado por más de 560 genes codificantes de proteasas. Y como, de acuerdo con Dobzhansky, nada tiene sentido en Biología si no es a la luz de la evolución, extendimos nuestros estudios degradómicos a otros organismos relevantes en la investigación biomédica actual. De la comparación de estos degradomas hemos podido extraer algunas conclusiones acerca de la evolución humana. Por ejemplo, las enormes diferencias en proteasas inmunológicas y reproductivas avalan la idea de que ambos procesos han constituido fuerzas decisivas en la evolución. Además, el hallazgo de que ratas y ratones poseen un degradoma más complejo que el nuestro avalan el principio de *menos es más* aplicado a la biología, por el que en nuestra propia evolución ha sido necesario eliminar o inactivar una serie de genes para poder progresar en otras direcciones, como la propia adquisición del lenguaje, proceso fascinante a cuyo estudio nos hemos aproximado muy recientemente a través del estudio del genoma y del degradoma del pinzón cebra, una pequeña ave que conoce los secretos de la comunicación vocal aprendida con la ayuda de un tutor, lo que le acerca a nosotros y le distancia de otras aves. Pero más allá de estas diferencias específicas de especie en proteasas, cuya definición nos ha proporcionado algunas modestas claves moleculares sobre la recurrente cuestión acerca de qué nos hace humanos, estos estudios evolutivos nos han obligado a formularnos otra pregunta sin duda menos profunda, pero importante para nuestro laboratorio: ¿para qué son necesarias tantas proteasas en cualquier organismo? La respuesta más sencilla radica en el hecho de que hoy sabemos que además de sus funciones inespecíficas en el catabolismo proteico, las proteasas catalizan reacciones muy precisas de procesamiento proteolítico que influyen decisivamente en procesos de proliferación, diferenciación, angiogénesis, apoptosis y senescencia, todos ellos esenciales en la biología y la patología humanas. ¿Cómo podemos utilizar esta información generada sobre el degradoma humano y el de organismos modelo, para impulsar nuestro conocimiento sobre las funciones de las proteasas en procesos tan complejos como el cáncer y el envejecimiento?

En estos últimos años, en nuestro laboratorio hemos realizado un amplio esfuerzo dirigido a la generación de ratones deficientes en genes de proteasas con el fin de establecer relaciones causales entre cambios en actividades proteolíticas y progresión de enfermedades como el cáncer. Además, hemos tratado de definir los sustratos *in vivo* y las funciones biológicas de una serie de proteasas identificadas por su sobreexpresión en tumores pero virtualmente desconocidas en cualquier otro aspecto. Con este triple objetivo, nos adentramos



fundamentalmente en el estudio de la familia de las MMPs, o metaloproteasas de matriz extracelular, ya que múltiples datos previos apuntaban a su papel fundamental en el cáncer. Diversos laboratorios comenzamos un trabajo, en parte cooperativo en parte competitivo, con el fin de generar ratones deficientes en los distintos componentes de esta familia, además de algunos dobles mutantes. Los primeros estudios parecían ser unívocos en el hecho de que con la única excepción de MMP14, los ratones deficientes en MMPs mostraban fenotipos mínimos, probablemente por fenómenos de compensación y redundancia en una familia de 23 miembros distintos en ratón. Este hecho facilitó una serie de experimentos de carcinogénesis que también fueron inicialmente unívocos en el sentido de que la ausencia de MMPs específicas, dificultaba la progresión tumoral, avalando así las funciones protumorales de estas proteasas e impulsando el desarrollo de múltiples inhibidores, capaces de bloquear la invasión de células tumorales *in vitro*. Estos trabajos supusieron una gran esperanza para la Oncología médica, pero desafortunadamente, la práctica totalidad de ensayos clínicos con inhibidores de MMPs de amplio espectro y en pacientes con estadios avanzados de cáncer no mostraron beneficios apreciables. Ello condujo a la pérdida del interés en este campo por las compañías farmacéuticas, pero en nuestro laboratorio no abandonamos el tema y decidimos investigar en detalle las causas de estos inesperados fracasos terapéuticos. Una posibilidad en este sentido sería que algunas MMPs podían desempeñar funciones protectoras antitumorales, que quedarían anuladas por esta primera generación de inhibidores de amplio espectro.

Para evaluar esta hipótesis escogimos en primer lugar la MMP8, una proteasa producida por neutrófilos y por tanto asociada a respuestas inflamatorias de función dual en el cáncer. Generamos ratones deficientes en MMP8 y para nuestra sorpresa tras la inducción de cáncer, dichos ratones mutantes mostraban una mayor incidencia tumoral que los correspondientes controles, lo cual indicaba que esta proteasa confería protección frente a la progresión del cáncer. Además, el trasplante de médula ósea de ratones control a ratones mutantes, permitió la recuperación de progenitores hematopoyéticos capaces de producir MMP8 y condujo a la restauración del potencial antitumoral mediado por esta proteasa. Estudios histopatológicos adicionales nos han permitido concluir que esta labor protectora deriva de su capacidad de regular la respuesta inflamatoria a carcinógenos químicos. En ausencia de MMP8, se produce un procesamiento proteolítico anómalo de quimioquinas como LIX, que provoca una inflamación crónica, que a su vez favorece la inestabilidad genómica y la progresión del cáncer. Además, trabajos muy recientes nos han permitido extender estos estudios y demostrar que la proteasa MMP8 también funciona como un supresor de metástasis. En efecto, y como resumen



de distintos experimentos realizados en este sentido, hemos observado que las células de melanoma que sobreexpresan MMP8 tienen una menor capacidad de generar metástasis pulmonares que los correspondientes controles, lo cual puede explicarse en parte por el hecho de que estas células son menos invasivas y se adhieren más eficazmente a distintos componentes de la matriz extracelular como el colágeno tipo I o la laminina. Además, estudios clínicos en distintos tumores y por distintos grupos han demostrado que la producción de MMP8 está asociada a una muy baja incidencia de metástasis y por tanto a un pronóstico clínico favorable. Finalmente, el grupo de Yardena Samuels en el NIH ha cerrado este círculo molecular al demostrar que el gen humano MMP8 está frecuentemente mutado e inactivado en melanoma maligno, proporcionando una prueba definitiva para avalar el concepto de que algunas MMPs desempeñan funciones antitumorales.

Podemos preguntarnos entonces si este hallazgo es una excepción o por el contrario es extensible a otras proteasas. Hemos tratado de responder a esta pregunta, primero experimentalmente, a través de estudios funcionales y genéticos con diversas proteasas identificadas en nuestro laboratorio. Este es el caso de la ADAMTS12, metaloproteasa con dominios trombospondina inhibidores de angiogénesis y por tanto con posibles funciones antitumorales, un aspecto que hemos demostrado *in vivo* en ratones deficientes en ADAMTS12, los cuales desarrollan tumores más angiogénicos. Además, y de manera análoga a muchos supresores tumorales, la expresión de ADAMTS12 está silenciada epigenéticamente en distintos tumores, a través de metilación de la isla CpG de su región promotora. Estudios paralelos nos han permitido demostrar que otros miembros de esta familia como la ADAMTS15, también poseen funciones antitumorales, pero los mecanismos que las inactivan en el cáncer son de naturaleza genética tal como comprobamos con el hallazgo de mutaciones inactivantes de este gen en carcinomas colorrectales. Además de este trabajo experimental, y en colaboración con la Dra. Lynn Matrisian, hemos extendido estos estudios a un terreno más teórico y predictivo, lo cual nos ha permitido anotar más de 30 proteasas de distintas clases catalíticas y con potencial importante para actuar como supresores tumorales, a través de su capacidad de procesar una variedad de sustratos con funciones reguladoras, incluyendo numerosas citoquinas, quimioquinas y factores de crecimiento.

El número creciente de proteasas que se acomodan a esta categoría nos ha llevado a plantearnos si todavía hay espacio real para la hipótesis clásica de que las proteasas tumorales contribuyen a la progresión del cáncer a través de su capacidad de degradar matrices extracelulares. La disponibilidad de esa colección de ratones mutantes deficientes en MMPs que



mostré anteriormente nos ha permitido responder con claridad a esta pregunta. Así, en un esfuerzo combinado de distintos grupos, dirigidos por el Dr. Steve Weiss, se ha podido demostrar que el tráfico celular a través de dichas matrices es dependiente en gran medida de una sola proteasa. En efecto, mientras los fibroblastos deficientes en cada una de estas MMPs destruyen fácilmente esta matriz de colágeno, los carentes de MT1-MMP son incapaces de atravesarla. Además, la capacidad invasiva se recupera mediante la introducción del cDNA completo de MT1-MMP pero no de formas mutantes de la misma, lo cual avala el papel crítico y no redundante de esta metaloproteasa en el proceso de invasión tumoral.

En resumen, las proteasas desempeñan funciones duales en el cáncer, algunas son enzimas protumorales y por tanto dianas de intervención terapéutica. La introducción de inhibidores del proteasoma para el tratamiento del mieloma múltiple o de inhibidores de la gamma secretasa para el tratamiento de leucemias son la mejor demostración de que algunas proteasas son dianas terapéuticas en el cáncer. Sin embargo, hay un conjunto creciente de enzimas con propiedades antitumorales, cuya existencia ha contribuido a explicar el fracaso de los ensayos clínicos con inhibidores de amplio espectro incapaces de distinguir entre proteasas pro- y antitumorales pertenecientes a una misma familia. Este problema implica la necesidad de introducir nuevos procedimientos para analizar el degradoma tumoral, y definir con precisión el conjunto de proteasas pro- o antitumorales que se encuentran desreguladas en cada tumor de cada paciente. Con el fin de avanzar en este objetivo, hemos diseñado dos tarjetas microfluidicas que permiten analizar simultáneamente mediante PCR cuantitativa la expresión de todos los genes de proteasas y de sus inhibidores endógenos. Recientemente, hemos utilizado esta estrategia para el análisis del degradoma del cáncer colorrectal, lo cual nos ha permitido detectar numerosos genes de proteasas sobre-expresados respecto al tejido normal del mismo paciente, y otros reprimidos en su expresión y que pueden representar nuevos supresores tumorales. Sin duda, estos análisis globales iluminan nuevas hipótesis de trabajo que tratan de paliar la falta de clarividencia científica con la que tantas veces nos enfrentamos a problemas tan complejos como el del cáncer. Este concepto aplica plenamente al campo de los sistemas proteolíticos cuya investigación en relación con el cáncer estuvo impulsada por una hipótesis (agentes pro-metastásicos que participan de manera inespecífica en la degradación de matrices extracelulares) que el paso del tiempo ha demostrado que era esencialmente incorrecta. Una forma adicional de paliar esta falta de clarividencia científica es utilizar nuevos y mejores sistemas generadores de hipótesis que vayan más allá de la intuición humana, y en este sentido nos hemos apoyado en la creación de ratones mutantes deficientes en proteasas cuya expresión



está alterada en el cáncer pero cuyas funciones normales son desconocidas. Estos modelos animales nos han permitido encontrar claves absolutamente inesperadas respecto a la participación de estas enzimas en procesos como el vértigo, el dolor, la anemia y finalmente el envejecimiento, en lo que ha supuesto nuestra incorporación imprevista a este campo de complejidad parecida si no mayor a la del cáncer, y con notables paralelismos en sus respectivas lógicas moleculares.

En efecto, ratones deficientes en autofagina-1, una cisteín-proteasa con actividad supresora tumoral, muestran una serie de fenotipos consistentes con la existencia de un profundo defecto en su sistema vestibular: su cabeza está ladeada, caminan con dificultad y muchas veces en círculos, y parecen desorientados, un defecto que se manifiesta todavía más claramente en un medio acuático, ya que son incapaces de nadar, algo que cualquier ratón hace de manera natural. El análisis histopatológico del oído interno de estos ratones ha revelado la existencia de graves alteraciones en los mecanismos de formación de otoconias, cristales de carbonato cálcico esenciales para percibir la gravedad y la aceleración lineal, y que están completamente ausentes o poseen una morfología aberrante en los ratones mutantes. Además, el análisis molecular de estos ratones ha demostrado la existencia de un defecto general en el procesamiento proteolítico de diversas proteínas implicadas en la formación de autofagosomas, defecto que se manifiesta de manera más intensa en el oído interno probablemente por la implicación de estas proteínas autofagosómicas en el transporte vesicular de iones y proteínas que permiten la formación de otolitos, un aspecto que hemos podido demostrar mediante análisis de inmunofluorescencia de proteínas como la otoconina o la otopetrina, que muestran una localización anómala en los ratones mutantes. Así, un ratón deficiente en una proteasa fundamental para el desarrollo de la autofagia, un proceso decisivo en el cáncer y en el envejecimiento, nos ha mostrado la inesperada función de este mismo proceso en los mecanismos de percepción de la gravedad.

Otro ejemplo de ratón mutante generador de nuevas hipótesis funcionales, es el deficiente en la metaloproteasa MT5-MMP, identificada y clonada en nuestro laboratorio por su sobreexpresión en tumores cerebrales. Estos ratones parecen normales pero tras múltiples pruebas con la ayuda de los Dres. Isabel Fariñas y Luis Menéndez, mostraron su fenotipo oculto: profundas alteraciones nociceptivas, incluyendo hipersensibilidad térmica, derivada de un aumento en la neuritogenesis asociado a un procesamiento deficiente de la N-cadherina.

El fenotipo de los ratones deficientes en matriptasa-2, una serín-proteasa de compleja estructura, ha sido mucho más evidente ya que muestran una clara alopecia que hemos



caracterizado como secundaria a un proceso de anemia microcítica. El análisis molecular ha demostrado que estos ratones son anémicos por un defecto en el procesamiento proteolítico de hemojuvelina, que conduce a un incremento de hepcidina, un regulador negativo del transporte del hierro, por lo que éste queda acumulado en los enterocitos y no es accesible en la circulación. La identificación de este mecanismo inmediatamente sugirió que esta forma de anemia podría tratarse con inyección parenteral de hierro en lugar de suplementar el hierro oralmente y efectivamente tras este tratamiento, se corrigen inmediatamente todas las deficiencias hematológicas de estos ratones y lo que es todavía más visible, recuperan el pelo. Esta historia molecular en ratones ha tenido el contrapunto perfecto en humanos tras la reciente identificación por parte de varios grupos, incluyendo el nuestro, de que una forma de anemia humana refractaria al tratamiento con hierro oral, y conocida como IRIDA, está causada por mutaciones en el gen de la matriptasa-2, lo cual añade una dimensión adicional al estudio de esta proteasa y avala una vez más el valor de estos ratones modificados genéticamente, como generadores de hipótesis sobre las enfermedades humanas.

Y finalmente, esta galería de ratones mutantes creados en nuestro laboratorio nos ha transportado al estudio del envejecimiento y de sus conexiones con el cáncer. Nuestra introducción en este tema ha derivado del análisis funcional de la proteasa humana FACE1, o Zmpste24 en ratón, identificada en nuestro grupo durante una búsqueda de proteasas implicadas en el procesamiento proteolítico de oncoproteínas Ras, caracterizadas por la presencia de secuencias CAAX en su extremo carboxilo-terminal. Con objeto de explorar la función in vivo de esta proteasa y definir su valor como diana antitumoral, generamos ratones deficientes en FACE1. Curiosamente, estos ratones no mostraban en principio ninguna alteración aparente hasta que a las 6 o 7 semanas de vida, comenzaban a desarrollar un fenotipo extraordinario de envejecimiento acelerado. Tras una serie de análisis bioquímicos pudimos concluir que esta proteasa no era esencial para el procesamiento de oncoproteínas Ras, pero sí para el de otra proteína prenilada, la prelamina A, un componente fundamental de la lámina nuclear, que en ausencia de la proteasa se acumula en la envuelta en forma de precursor tóxico y genera un daño nuclear que activa de manera crónica la ruta del supresor tumoral p53, tal como se demostró por el hallazgo de la inducción de la expresión de toda una serie de dianas transcripcionales de este supresor tumoral en distintos tejidos de los ratones mutantes. La activación de la ruta de p53 determina la inducción de senescencia celular ilustrada por tinción de b-galactosidasa a pH 6, de forma que las células envejecen, y los tejidos envejecen y el organismo entero envejece a un ritmo imparables. Es obvio que estos ratones no fueron nada útiles para el propósito con el que fueron creados, análisis de su susceptibilidad al cáncer, pero su estudio adquirió una



dimensión adicional tras el hallazgo, primero por los Dres. Nicolas Levy y Francis Collins, y después por otros grupos, de que mutaciones en esta proteasa o en el sustrato lamina A, son la causa de todo un conjunto de síndromes de envejecimiento acelerado en humanos, incluyendo el devastador síndrome de Hutchinson-Gilford. Más aún, los Dres. Paola Scaffidi y Tom Misteli han sido los primeros en demostrar que alteraciones similares en la lámina nuclear también acontecen durante el envejecimiento normal. Estos descubrimientos, inaugurados por la creación de un modesto ratón pero generador de excelentes hipótesis, nos han permitido avanzar en diversos aspectos incluyendo la validación del concepto de pleiotropía antagónica entre envejecimiento y supresión tumoral, de forma que las funciones beneficiosas de los supresores tumorales en la edad temprana pre-reproductiva, se tornan perjudiciales en la edad tardía si su expresión es desregulada o crónicamente hiperactivada. También hemos utilizado este modelo para evaluar si de manera similar al cáncer, alteraciones metabólicas y en las células stem, son acontecimientos cruciales en los síndromes de envejecimiento acelerado, y finalmente hemos utilizado los ratones mutantes para explorar posibles opciones terapéuticas para estas enfermedades por ahora incurables.

En relación a las células stem, hemos podido detectar graves anomalías en su estructura y comportamiento biológico, aquí reflejadas en la acumulación de células quiescentes en los nichos de células stem del folículo piloso de los ratones mutantes. Estas células muestran una arquitectura nuclear aberrante, con fusión de heterocromatina en una o dos masas que pierden sus contactos con la envuelta nuclear y se acumulan en la región central. Además de estos defectos intrínsecos hay notables deficiencias en vías de señalización, incluyendo la ruta de Notch que esta inactivada en los nichos estudiados, lo cual impide la adecuada movilización de las células fuera de sus nichos para acudir a la llamada de la renovación tisular. El hallazgo de que los defectos en la envuelta nuclear provocan alteraciones en células progenitoras abre la posibilidad de terapias regenerativas basadas por ejemplo en el empleo de células stem pluripotenciales inducidas o iPSs, aspecto que hemos empezado a explorar con la ayuda del Dr. Manuel Serrano en el CNIO. Pero mientras estas posibilidades todavía muy incipientes puedan llegar a concretarse en un futuro lejano, hemos comenzado otro tipo de aproximaciones derivadas de la identificación de los mecanismos moleculares subyacentes a estas enfermedades, causadas por la acumulación de fomas farnesiladas de prelamina A en la membrana nuclear. Así, y dado que los ratones haploinsuficientes para lamina A son normales, consideramos que la generación de ratones deficientes en la proteasa y haploinsuficientes para el sustrato, acumularían niveles reducidos de prelamina A en la envuelta nuclear y mejorarían su fenotipo progeroide. Y fue fascinante comprobar que la introducción de esta mutación adicional condujo al rescate total de dicho fenotipo de forma que la esperanza de vida de los triples mutantes pasó



a ser indistinguible de la de los ratones control. Esta observación sugirió inmediatamente estrategias terapéuticas dirigidas a disminuir los niveles de prelamina farnesilada en los pacientes con progeria y basadas en el empleo de inhibidores de farnesil transferasas (FTIs), compuestos diseñados años atrás por el Dr. Mariano Barbacid para el tratamiento del cáncer. Sin embargo, un sencillo análisis de la ruta del mevalonato nos hizo ver que en presencia de FTIs la prelamina A podía sufrir una prenilación alternativa lo cual haría ineficaces los FTIs. En efecto, un detallado análisis por espectrometría de masas nos ha permitido demostrar la existencia de formas geranilgeraniladas de prelamina A en células de ratones mutantes y de pacientes con progeria de Hutchinson-Gilford. Tras el ensayo *in vitro* de numerosos compuestos, finalmente comprobamos la eficacia *in vivo* de una combinación de estatinas y bisfosfonatos, que actúan en distintas etapas de la ruta del mevalonato y bloquean tanto FT como GGT. Así, este tratamiento combinado condujo a una mejoría espectacular de alguno de los fenotipos progeroides como el de osteoporosis, y extendió la longevidad de los ratones mutantes hasta casi duplicarla.

Estos resultados han sido la base para el inicio de varios ensayos clínicos internacionales dirigidos al tratamiento de niños con progeria mediante esta combinación de estatinas y bisfosfonatos, ensayos que hasta el momento están siendo prometedores, aunque en el laboratorio ya hemos dado algunos pasos adicionales para intentar mejorar esta primera aproximación terapéutica a una enfermedad devastadora. Entre estas nuevas posibilidades que estamos ensayando podemos citar las dirigidas a corregir las profundas alteraciones que hemos observado en el perfil de microRNAs durante el envejecimiento prematuro de estos ratones y también en el envejecimiento normal; la atenuación de la respuesta inflamatoria excesiva característica de estos procesos, a través de la generación de ratones haploinsuficientes en la ruta de NFkB, o finalmente, el empleo de morfolinós que puedan corregir el splicing alternativo generado por las mutaciones en el gen de la prelamina A, y que conducen a la producción de la isoforma de lamina llamada progerina, que desencadena el proceso patológico de envejecimiento observado en los pacientes, y que contribuye también al envejecimiento normal.

En resumen, tras muchos años de estudio de los sistemas proteolíticos en el cáncer, hemos aprendido algunas lecciones acerca de la complejidad de estas proteínas en la vida y en las enfermedades humanas. Hemos comprobado que más allá de las hipótesis iniciales, las proteasas desempeñan funciones complejas y diversas en el cáncer, incluyendo las mediadas por la categoría creciente de proteasas anti-tumorales. Para navegar en esta complejidad, hemos tenido que desarrollar conceptos como el del degradoma y aproximaciones experimentales para las que nuestra formación previa y nuestras posibilidades técnicas eran muy limitadas, pero que hemos tenido que implementar para progresar. Durante esta exploración molecular del universo



proteolítico, hemos podido encontrar algunas nuevas claves mecanísticas sobre el envejecimiento y sus conexiones con los supresores tumorales, y colateralmente, hemos tenido la fortuna de definir las bases moleculares subyacentes a algunas enfermedades, y en algún caso trasladar esta información a la clínica. Finalmente, las aproximaciones globales genómicas y degradómicas nos han acercado al estudio de la evolución humana. Y toda esta mezcla de proyectos y experimentos, en realidad nos ha servido por encima de cualquier otra consideración para darnos cuenta de que todavía queda mucho por hacer. Por eso, en los últimos meses hemos intentado poner toda la experiencia acumulada en estos años, al servicio de una gran iniciativa: el proyecto de los genomas del cáncer. En nuestro caso, y en un esfuerzo impulsado desde el Ministerio de Ciencia e Innovación, y en estrecha coordinación con otros grupos españoles pero especialmente con el del Dr. Elías Campo en el Hospital Clínico de Barcelona, hemos iniciado la colosal tarea de determinar la secuencia completa del genoma de 500 pacientes con leucemia linfática crónica, utilizando nuevas tecnologías de secuenciación como la basada en el empleo de la DNA polimerasa de $\phi 29$, producida por el laboratorio de la Dra. Margarita Salas. En estas últimas semanas hemos podido completar los genomas de los cinco primeros pacientes incluidos en el estudio. Una cifra mínima, pero sin duda simbólica para nosotros pues se trata de los primeros españoles para los que se ha podido determinar la secuencia completa de su genoma. Los resultados preliminares confirman la abrumadora complejidad del cáncer, al detectarse cerca de 3000 mutaciones en las células tumorales respecto a las correspondientes células normales de los distintos pacientes, y todavía es un número pequeño comparado con las cerca de 20.000 mutaciones que se pueden encontrar en los tumores sólidos. Otra conclusión que podemos aventurar es la gran diversidad dentro de la misma enfermedad ya que en estos cinco casos apenas hemos podido detectar mutaciones recurrentes en los cinco genomas secuenciados hasta el momento, lo cual nos obligará sin duda a definir rutas comunes alteradas más que genes concretos y a desarrollar terapias individualizadas para cada paciente, basadas en la combinación de fármacos dirigidos frente a las distintas rutas alteradas portadoras de mutaciones en los denominados genes conductores del proceso de la transformación maligna. En nuestro laboratorio también hemos intentado prepararnos para ese futuro post-genómico a través, por ejemplo, del análisis de la colisión intra o pericelular de dos mundos: el kinoma y el degradoma. Así, en un estudio muy reciente en colaboración con el Dr. Tony Hunter, hemos podido establecer que la actividad de más de 150 proteasas está regulada a través de procesos de fosforilación mediados por kinasas. Recíprocamente, otras tantas kinasas son activadas o inactivadas proteolíticamente a través de procesos regulados de proteólisis específica. Este fértil diálogo entre kinasas y proteasas tiene especial relevancia en el cáncer y hemos sugerido que su estudio puede conducir a la



introducción de nuevas terapias combinadas dirigidas frente a componentes específicos de ambas familias de enzimas reguladoras, aspecto que constituirá otro de los temas de exploración futura en nuestro laboratorio.

En definitiva, el avance imparable de la Biología Molecular ha sido capaz de desentrañar la lógica molecular de procesos tan complejos como el cáncer y el envejecimiento, que han pasado de inexorables a entendibles y susceptibles de intervención. Pero a medida que se ha progresado en el estudio de la vida y de la enfermedad humanas, ha sido necesario ampliar la mirada e introducir nuevas tecnologías que van a generar un volumen de información difícil de asimilar y que en el futuro van a obligar a una nueva forma de practicar la Medicina, que probablemente será una Medicina genómica, molecular, predictiva y personalizada. Este futuro se aproxima vertiginosamente y habrá que estar muy preparado para construirlo, entenderlo y explicarlo, primero apoyando a la Universidad para que siga siendo la cantera de la Ciencia y no una mera Academia, y después transmitiendo a la Sociedad los avances reales del conocimiento científico biomédico y también sus fronteras actuales, para que así, todos puedan opinar y decidir en libertad.

Desde nuestro laboratorio en la Universidad de Oviedo, todavía seguimos inmersos en este afán; gracias a todos los que me acompañan ahora en esta tarea, a los que estuvieron desde el principio, a los que acaban de llegar, y a los muchos que estuvieron en el pasado, todos nos enriquecieron con su talento y con su trabajo; gracias también a mi familia y a mis maestros en la Ciencia y en la vida y a todos los que con su colaboración científica nos han ayudado a paliar las limitaciones que conlleva el trabajar en la periferia, gracias a las Instituciones y Fundaciones que han financiado nuestro trabajo, y gracias a todos vosotros por acudir a escuchar esta Lección Conmemorativa Jiménez Díaz tan simbólica e importante para nosotros.

Carlos López-Otín
Universidad de Oviedo



Fundación Conchita Rábago de Jiménez Díaz

Avda. Reyes Católicos, 2. 28040 Madrid

www.fundacionconchitarabago.net

info@fundacionconchitarabago.net