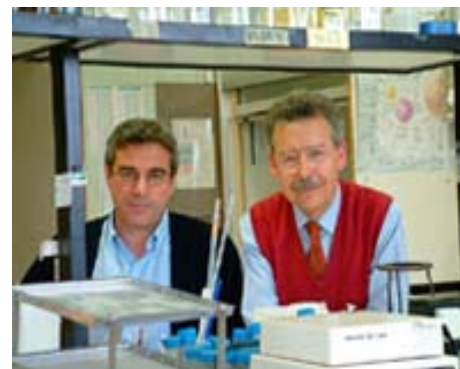


## Avance español ante la intolerancia a la lactosa

Investigadores del CSIC y de la Universidad Autónoma de Madrid desarrollan una nueva herramienta para el diagnóstico no invasivo de la intolerancia a la lactosa

La intolerancia humana a la lactosa es una alteración ampliamente extendida en todo el mundo. Aunque por lo general no reviste gravedad, al menos en adultos, origina considerables molestias y puede llegar a condicionar severamente la alimentación, especialmente en niños, cuya dieta se basa en el consumo de leche. El problema está en cómo llegar al diagnóstico de forma eficaz, rápida, carente de molestias para el paciente y a un coste asequible. Investigadores de la UAM y del CSIC han desarrollado un método que cumple con estos requisitos.



Alfonso Fernández-Mayolaras y Juan José Aragón

Xavier Pujol Gebellí

Cuando el gobierno norteamericano comenzó a distribuir leche en polvo destinada a la alimentación infantil en los países subdesarrollados y en vías de desarrollo, a mediados los años cincuenta, se apercibieron casi de inmediato de un problema inesperado. Buena parte de los destinatarios, y mayoritariamente en poblaciones del África central, empezaron a manifestar desde ruidos y dolores abdominales hasta diarreas intensas que, eventualmente, podían llevar a la deshidratación. El problema, como se temió en un principio, no estaba en los preparados nutritivos, sino en el propio organismo de los niños. Un análisis detallado de su sistema digestivo reveló que eran incapaces de asimilar la lactosa, el azúcar presente de forma natural en la leche.

Hoy se sabe, casi medio siglo después, que esta alteración está mucho más extendida de lo que imaginaron los primeros estudiosos que la describieron. En torno al 50% de la población mundial, según diversas estimaciones, padece este trastorno digestivo, lo cual, en mayor o menor medida, limita su consumo de leche. El porcentaje aumenta si se suman los enfermos que presentan también intolerancia a la lactosa, pero de forma secundaria a una variedad amplia de alteraciones de la mucosa intestinal, como puede ser en la enfermedad celíaca, tras intervenciones gastrointestinales, tratamientos quimioterápicos, en la población anciana, y otras.

El problema, descrito hace años, tiene su origen en los enterocitos, las células que dan forma a las microvellosidades intestinales. A través de ellas se produce la absorción de alimentos y, en condiciones normales, en su membrana se localiza la lactasa, el enzima que rompe literalmente la lactosa para formar glucosa y galactosa, dos azúcares de fácil asimilación para el organismo. En personas con intolerancia a la lactosa, este enzima no está presente o, si lo está, lo es en proporciones insuficientes. De ahí que a los individuos que padecen esta deficiencia se les denomine también hipolactásicos.

“La caída de la actividad lactasa”, resume Juan José Aragón, catedrático del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid e Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols (UAM-

A pesar de afectar a la mitad de la población mundial, la intolerancia a la lactosa se diagnostica poco y de forma imprecisa debido a la falta de herramientas de detección adecuadas

CSIC), “es un fenómeno completamente natural”. De hecho, se manifiesta en todos los mamíferos prácticamente después del destete, incluida gran parte de la especie humana. En la mitad o más de los humanos, aunque esto varía mucho de unas poblaciones a otras, la actividad lactasa también se reduce posteriormente de forma marcada, presentándose entonces intolerancia a la lactosa incluso desde edades infantiles. El problema sería menor de no ser porque la leche es hoy un alimento omnipresente, respecto del cual nadie pone en duda su condición de básico hasta edades mucho más avanzadas. Existe también una forma congénita de deficiencia de lactasa intestinal que se manifiesta en las primeras horas o días de la vida, bastante más severa pero muy poco frecuente, que lógicamente requiere diagnóstico rápido y el cambio a una leche carente de lactosa.

### **Trastorno infradiagnosticado**

Pese a la altísima incidencia de esta alteración genética, la más frecuente en la población humana, que se corresponde con la pérdida total o parcial del enzima, el trastorno se diagnostica mucho menos de lo que sería esperable. A ello contribuye enormemente, explica Aragón, la falta de métodos precisos, fiables y sobre todo inocuos, fáciles de usar y a un coste razonable, para detectar la enfermedad.

Las herramientas diagnósticas actuales, corrobora Alfonso Fernández-Mayoralas, investigador científico del Instituto de Química Orgánica del CSIC, son “invasivas o molestas”, cuando no ambas cosas a la vez, y no siempre dan la medida exacta de la actividad lactasa en el intestino. Junto con la valoración del enzima en una muestra obtenida por biopsia intestinal, las pruebas más empleadas hoy día son los tests de aliento, que implican una marcada sobrecarga oral de lactosa, más o menos, el equivalente a un litro de leche que, en el caso de enfermos portadores del déficit, acarrea trastornos digestivos notables. Además de la molestia, estos métodos poseen también fiabilidad reducida, asegura Aragón, siendo frecuentes los “falsos positivos y falsos negativos”, y exigen un aparataje no siempre asequible.

¿Hay alguna forma de mejorar la eficiencia diagnóstica? Ambos investigadores sostienen que sí. Y no sólo eso: también pueden reducirse las molestias al mínimo y abaratar el coste de la operación para hacerlo asequible a cualquier laboratorio del mundo por poco dotado que esté. A tenor de los resultados obtenidos en su trabajo conjunto en esta materia, bastaría un simple análisis en orina, o bien en un par de gotas de sangre, para llegar a un diagnóstico “rápido y fiable”.

¿Cómo? Para entenderlo correctamente habría que remontarse hasta los trabajos desarrollados en los años setenta-ochenta por Alberto Sols, pionero de la bioquímica española. Sols propuso emplear un sustrato análogo a la lactosa que diera paso, tras ser metabolizado en el intestino, a un subproducto medible por lo menos en la orina.

El primer análogo que se diseñó fue 3-metil-lactosa, cuya síntesis se realizó en el laboratorio de Manuel Martín-Lomas, quien en una estrecha colaboración con Sols aportó las herramientas químicas al proyecto. El disacárido es de estructura similar a la lactosa y, por tanto, es hidrolizado por la lactasa intestinal produciendo 3-metil-glucosa, un compuesto poco metabolizable, por lo que, al menos en teoría, cumplía el objetivo de poder ser cuantificado en orina. A mayor presencia de 3-metil-glucosa, mayor cantidad de enzima debería haber en el organismo.



**Fernández-Mayoralas y Aragón en uno de los laboratorios donde se investiga la intolerancia a la lactosa.**

**El método de detección creado conjuntamente por estos dos investigadores es tan simple, rápido, fiable y barato como un análisis de sangre**

---

El producto se probó en animales con resultados aparentemente positivos. No obstante, el método tenía el inconveniente de que la medición de 3-metil-glucosa en orina requería el uso de cromatografía de gases. “A pesar de que el sistema no es nada sofisticado”, señala Aragón, “no puede considerarse una técnica rutinaria asequible en cualquier laboratorio clínico”. La síntesis de este compuesto era además compleja y su pureza final poco elevada.

### **Cambio de estrategia**

Fue entonces cuando desarrollamos la idea de usar un análogo estructural diferente, galactosil-xilosa, cuya hidrólisis enzimática por la lactasa, una vez ingerido, origina xilosa, un azúcar fisiológico que se viene determinando en clínica desde hace años y para lo que basta un simple colorímetro. Se trata de una “medida simple, sencilla y practicable en cualquier laboratorio clínico, por pobre que sea”, asevera Aragón.

De la hipótesis de partida pasaron al experimento. Llevaron a cabo la síntesis de los tres regioisómeros (2, 3 y 4-galactosil-xilosa) y se probaron in vitro e in vivo en ratas lactantes con resultados satisfactorios. Es decir: la mayor o menor aparición de xilosa en orina refleja la actividad lactasa in vivo, permitiendo por tanto, valorar la actividad global del enzima en el sujeto.

El estudio de la eficacia de cada uno de los regioisómeros mostró que “el que mejor se correlaciona con la actividad lactasa es 4-galactosil-xilosa, justo el peor sustrato”, dice Fernández-Mayoralas. Aragón cuenta el por qué: “Cuando hay poca lactasa, si se administra un sustrato muy bueno, aun con la poca que hay, la capacidad del enzima de hidrolizar el disacárido es tan alta que al final se produce mucha xilosa y en consecuencia la correlación es más pobre”. Por ello, el sustrato que resulta más idóneo es el que tiene menor eficacia catalítica.

Una vez obtenidos estos resultados se plantearon probarlo en humanos o, lo que es lo mismo, evaluar cuestiones de toxicidad, pureza y de facilidad de medida. Ahí, recuerda Fernández-Mayoralas, empezaron a surgir dificultades de cierto calibre relacionadas con la síntesis del compuesto. “Cualquier carbohidrato implica una serie grande de etapas químicas”, dice. Y este en particular, tantas como para que el proceso sea demasiado largo y tedioso para escalarlo a cualquier planta industrial. “La síntesis se estaba viendo muy complicada”, concluye el investigador.

Finalmente se consiguió un procedimiento de síntesis que requiere sólo una etapa de reacción enzimática (emplea un enzima,  $\beta$ -galactosidasa) considerablemente más simple que las síntesis químicas anteriormente desarrolladas.

### **De orina a sangre**

En paralelo a la resolución de la síntesis del disacárido, los investigadores empezaron a plantearse su adaptación como potencial método diagnóstico. Pero se toparon con problemas casi mecánicos: recoger la orina de varias horas en adultos no representa mayor problema, pero en niños de corta edad o en lactantes la incomodidad es máxima. Por ello, “los pediatras suelen ser remisos a la hora de prescribir pruebas que exijan recogida total de orina en niños, prefiriendo un análisis en sangre si el volumen de la muestra es mínimo”, describe Aragón. Se les ocurrió

examinar su aparición en sangre. No tardaron demasiado en comprobar que la relación era idéntica, siendo además suficiente un par de gotas de sangre para llevar a cabo la prueba.

El inicio del epílogo de esta historia cuenta que ambos grupos de investigación han logrado un compuesto con un sistema relativamente simple y barato de síntesis con pureza de más del 98% que no supone el empleo de reactivos tóxicos (mínimo impacto ambiental). Además, las pruebas toxicológicas realizadas en animales descartan cualquier riesgo y la dosis necesaria puede ser del orden de 200 veces menor que la cantidad de lactosa que se administra a un sujeto sospechoso de hipolactasia en las pruebas diagnósticas actuales. Las pruebas piloto a voluntarios humanos no hacen sino confirmar los resultados que, por otra parte, pueden medirse de forma “simple, rápida, inocua y barata”.

“Además, la utilización de 4-galactosil-xilosa puede contribuir al seguimiento clínico de otras enfermedades en las que conocer la actividad de este enzima permite valorar la integridad funcional de la mucosa intestinal”, como son aquellos procesos mencionados anteriormente que conllevan una deficiencia secundaria de lactasa intestinal.

Lo que queda por hacer, zanján ambos científicos, es pasar a las posteriores fases de desarrollo, someter el producto a ensayo clínico y finalmente, si no surgen problemas en estas etapas, poner a punto el sistema de diagnóstico para su comercialización. La parte básica, dicen, “puede darse por concluida”.

## La dura experiencia de salir al mercado

Desde que Alberto Sols diera los primeros pasos en la búsqueda de un sustrato análogo a la lactosa hasta la fecha habrán transcurrido más de veinte años. Muy probablemente, el tiempo podría haberse reducido un tanto de no haberse visto obligados los investigadores a seguir un curso tipo Guadiana en el proceso, dependiente en exceso de la disponibilidad de recursos humanos y económicos. En este punto, ambos investigadores quieren resaltar la aportación de numerosas personas de ambos laboratorios, aparte de los mencionados Sols y Martín-Lomas, como han sido Mercedes Martínez-Pardo, Carmen Hermida, Guillermo Corrales, Javier Cañada, Daniel Villanueva, y Rosa López.

A lo largo de este tiempo de colaboración, los laboratorios que dirigen Juan José Aragón y Alfonso Fernández-Mayoralas han generado varias patentes que les han permitido salvaguardar, no obstante, el conocimiento adquirido y llegar en condiciones favorables a su posible transferencia a la industria.

Pero hete aquí un nuevo obstáculo a salvar. Aragón lo resume bien: “A las empresas españolas, salvo excepciones, les interesan los productos listos para su comercialización”. Y con respecto a las multinacionales con delegación en España “muy pocas investigan en nuestro país”, continúa Fernández-Mayoralas. “En las casas madre”, agrega, “cuesta dar con el interlocutor adecuado”.

El problema, harto conocido por los investigadores españoles, se ha resuelto con el nacimiento de una empresa, una spin off de origen académico que, además de resolver los problemas tecnológicos pendientes, de controlar los ensayos clínicos y diseñar un producto para su comercialización, deberá enfrentarse al reto de capitalizarse y dotarse de la estructura adecuada.

Lactest, así se llama la empresa, ya ha iniciado su andadura con el apoyo de la CAM y diversas entidades como la Fundación General de la UAM. La empresa se dedicará a poner en marcha la técnica de diagnóstico no invasivo de la intolerancia a la lactosa, el fruto de dos decenios largos de investigación.

#### **FICHA TÉCNICA**

- **Juan José Aragón Reyes**

**Centro:** Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid e Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols (UAM-CSIC)

**Dirección:** c/ Arturo Duperier, 4 28029 MADRID

**Teléfono:** 91585-497-5333

**Fax:** 91585-4401

**Email:** juanjose.aragon@uam.es

**Líneas de investigación:** La base molecular y fisiológica de la función enzimática relativa a la regulación del metabolismo de los carbohidratos; Relaciones estructura/función en el control alostérico de fosfofructoquinasas eucarióticas; Interacción de enzimas glicolíticos con la formación de microtúbulos; Evaluación in vivo de lactasa intestinal con galactosil-xilosa como prueba diagnóstica no invasiva para la intolerancia a la lactosa.; Análisis genético-molecular de la deficiencia del transporte intestinal de monosacáridos.

- **Alfonso Fernández-Mayoralas**

**Centro:** Instituto de Química Orgánica. CSIC

**Dirección:** C/ Juan de la Cierva, 3, 28006 Madrid

**Teléfono:** 91 562 29 00 (ext. 403)

**Fax:** 91 564 48 53

**Email:** iqofm68@iqog.csic.es

**Líneas de investigación:** Transformaciones selectivas en carbohidratos; Síntesis enzimáticas: lipasas, glicosidasas, glicosiltransferasas y aldolasas; Síntesis de glicoconjugados con productos naturales de interés biológico.