DETECCIÓN FENOTÍPICA A TRAVÉS DEL CRIBADO DE ALTA RESOLUCIÓN PARA EL DESCUBRIMIENTO DE FÁRMACOS

A pesar de la clara tendencia hacia la detección de dianas terapéuticas de forma masiva (*high throughput*) en el proceso de descubrimiento de fármacos durante los años 80 y 90 (debido al auge de la biología molecular y a los fuertes avances de la genómica), los cribados fenotípicos han sido y siguen siendo considerados una alternativa o un complemento a esas técnicas.

DR. JACOB TESDORPF,
Life Sciences Market Segment Leader, PerkinElmer.

En este artículo, el Dr. Jacob Tesdorpf ofrece su visión experta acerca del cribado de alto contenido (HCS, por sus siglas en inglés) que está detrás del descubrimiento de fármacos a través de la detección fenotípica, y de cómo optimizar los datos obtenidos a partir de los ensayos de HCS.

Fenotipos y cómo analizarlos

Un fenotipo es el conjunto de cualidades observables de un organismo. En el nivel mínimo de una célula, pueden ser propiedades como el tamaño, la forma o el contenido molecular. Taylor (2010) describe el cribado de alto contenido (HCS) como las "plataformas y métodos... utilizados para el cribado automático y el análisis de poblaciones celulares para definir las actividades y funciones temporales y espaciales de las células y sus componentes". El HCS es, por tanto, un método ideal para medir los fenotipos celulares. Una observación y descripción detallada y multiparamétrica de los fenotipos, sobre todo en las primeras fases del proceso de descubrimiento de fármacos, puede conducir, sin duda, a una mayor productividad de ese proceso.

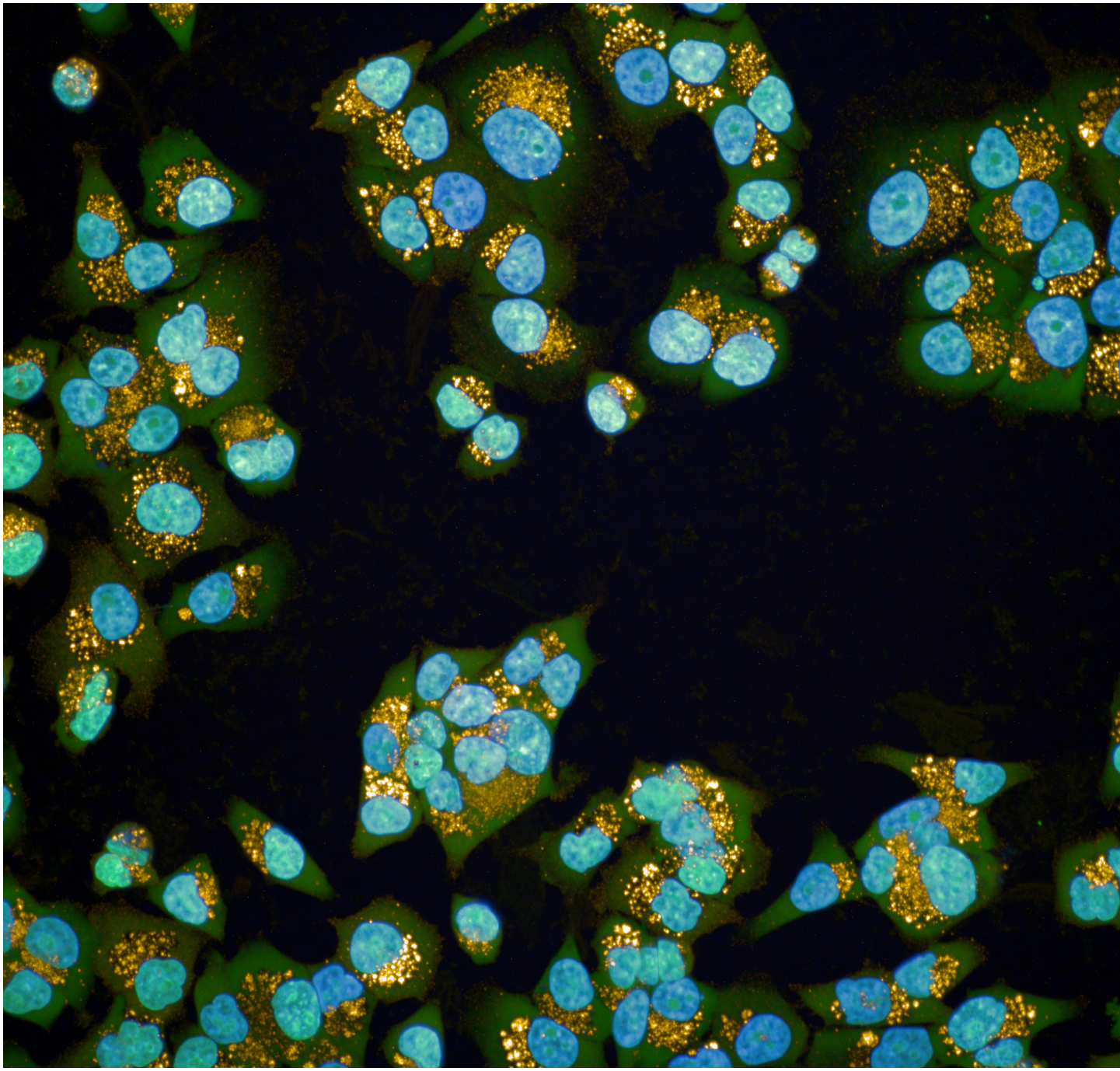
Los datos multiparamétricos generados por la tinción multiplexada y software de análisis de imágenes cada vez más sofisticados utilizados para describir la morfología celular, pueden incorporarse a la evaluación ponderada de, por ejemplo, el efecto global de un compuesto en un sistema. Estos ensayos son útiles en el contexto de una estrategia de descubrimiento de fármacos basada en objetivos (TDD por sus siglas en inglés, *target-based drug discovery*), ya que a través de ellos los investigadores pueden demostrar directamente que los compuestos tienen un efecto en un sistema representativo, no sólo en una proteína objetivo.

Los ensayos fenotípicos son también una vía muy útil cuando, por alguna razón, no puede realizarse una prueba basada en el objetivo, lo que puede ocurrir, por ejemplo, cuando dicho objetivo es desconocido o no puede aislarse para un ensayo in vitro. Pueden ayudar a observar no sólo el objetivo de interés, sino también cómo toda la vía metabólica o la biología del sistema se ven afectadas por dicho objetivo.

Datos del cribado de alto contenido

No es raro ver, incluso hoy en día, que no toda la información obtenida del HCS es utilizada por los investigadores. En el pasado, este aspecto tenía que ver con la limitada capacidad informática disponible y la falta de software adecuado. Los avances tecnológicos de la actualidad han hecho posible la creación de huellas fenotípicas de células individuales con cientos de características, que se utilizan cada vez más para realizar análisis poblacionales detallados.

Estos avances en HCS permiten a los científicos discriminar poblaciones de células que pueden llegar a responder de forma diferente al mismo tratamiento. Sin el cribado fenotípico de células individuales, estas respuestas se atribuirían a la variabilidad del ensayo.



Además de la falta de herramientas adecuadas mencionada anteriormente, a veces los científicos pueden no utilizar ciertos descriptores complejos por la dificultad que pueden acarrear a la hora de alinear con el significado biológico y comunicar los resultados. Sin embargo, la medición de muchos rasgos permite una mejor discriminación de los fenotipos, ya que estos rasgos pueden combinarse en colecciones de parámetros mediante programas informáticos que utilizan algoritmos de aprendizaje automático ("machine learning"), lo que luego facilita una compleja agrupación fenotípica. Como resultado de este enfoque, no sólo se reduce la posibilidad de que exista sesgo humano asociado a la observación de sólo unos pocos parámetros, sino que, además, los cambios fenotípicos muy sutiles en respuesta a diferentes dosis de un fármaco que se pueden detectar podrían contribuir a dilucidar el mecanismo de acción (MOA por sus siglas en inglés).

Descubrimiento de fármacos a través de cribado fenotípico

El cribado fenotípico es una estrategia utilizada para el descubrimiento de fármacos cuando el investigador tiene escaso conocimiento previo acerca del posible MOA para interferir en la enfermedad en cuestión y, por tanto, se basa en sistemas fisiológicamente relevantes y modelos predictivos. Esto abre la puerta a posibles descubrimientos inesperados procedentes de la criba.

Para ilustrar mejor lo que ocurre *in vivo* en el paciente, los modelos celulares son cada vez más complejos: muchos ensayos utilizan hoy en día células humanas primarias, modelos derivados de células madre pluripotentes inducidas (iPSC), co-cultivos, o incluso sistemas de cultivo tridimensionales. En consecuencia, para obtener un análisis más robusto se necesitan más imágenes de estos cultivos y de mayor calidad. Los sistemas de imagen confocal de alta gama permiten obtener imágenes de células vivas de forma rápida y cuidadosa, y proporcionan un rendimiento suficiente para realizar estudios de cribado eficaces mediante la adquisición simultánea de hasta cuatro canales. Especialmente en el caso de los modelos de cultivo en 3D, la combinación del uso de un sistema confocal con *spinning disk* y lentes de inmersión en agua permite a los sistemas de HCS ofrecer imágenes de alta calidad que admiten un análisis de imagen detallado. También la calidad de las microplacas y la elección de los revestimientos son variables importantes para tener en cuenta y obtener imágenes óptimas.

Sin embargo, con modelos celulares más complejos, como los esferoides, el reto para el investigador proviene de la incapacidad de ver en profundidad y obtener imágenes con suficiente resolución del núcleo, o ver todo el esferoide. En la actualidad, equipos interdisciplinarios están trabajando para hacer frente a este reto y para encontrar soluciones técnicas mejoradas que combinen lo mejor de las tecnologías de imagen disponibles.

Manejo de los datos obtenidos mediante cribado de alto contenido

El uso de sistemas de cribado de alto contenido proporciona un gran nivel de detalle adicional que permite discriminar fenotipos más sutiles a partir del gran número de parámetros analizados. Esto aporta un valor inmenso a la campaña de cribado, pero la gran cantidad de datos también puede dar lugar a enormes desafíos. Los investigadores deben tener en cuenta aspectos como el flujo de datos, el ancho de banda de la red, las políticas de almacenamiento y archivo y la capacidad informática.

El proceso de manejo de datos también requiere una estrecha integración, así como capacidades de automatización que incluyan la adquisición de imágenes, el almacenamiento, la copia de seguridad, el archivo, el análisis de imágenes, el control de calidad, la estratificación de dianas, el análisis secundario y la elaboración de informes para garantizar la integridad, la trazabilidad y la eficiencia de los datos.

Las herramientas de análisis de imágenes utilizadas para extraer una multitud de descriptores significativos de rasgos celulares deben ser fáciles de usar y a la vez potentes, debido a la enorme cantidad de datos generados por el cribado fenotípico. Las soluciones más avanzadas permiten a los biólogos extraer medidas clásicas como las intensidades de señal o los parámetros morfológicos, así como medidas avanzadas y estadísticamente robustas como los parámetros de textura (por ejemplo, *SER Features*; Sero, 2012).

Las huellas fenotípicas resultantes de este tipo de análisis de imágenes son una fuente robusta y realmente valiosa para la toma de decisiones.

Conclusión

Los investigadores deben invertir en la calidad de los modelos biológicos y en los datos obtenidos para predecir el éxito de los compuestos seleccionados en la siguiente fase con mayor probabilidad. Esto acelerará el descubrimiento de nuevos candidatos a fármacos, más que solo aumentar la capacidad de procesar más muestras. La toma de decisiones informadas sobre un determinado compuesto en una fase más temprana del proceso de descubrimiento de fármacos ahorra tiempo (de gran valor) y recursos económicos a los investigadores.

Probar los compuestos desde el principio en sistemas y modelos fisiológicamente relevantes y aprovechar toda la valiosísima y rica información obtenida de las cribas basadas en imágenes permite a los científicos centrarse en aquellos compuestos que generan los cambios fenotípicos adecuados sin efectos indeseables en el sistema. La creciente complejidad de los modelos celulares plantea algunos problemas, pero los expertos en tecnología de las ciencias de la vida están trabajando para resolverlos y seguir apoyando el proceso de descubrimiento de fármacos de forma innovadora y cada vez más eficiente.

Referencias bibliográficas

D.L Taylor (2010): A personal Perspective on High-Content Screening (HCS) From the Beginning, J. Biomol. Screening,15(7), 720.

J. Sero, C. Bakal, K. Bottcher, S. Piper (2012): Case Study: Phenotypic Characterization of Mitochondria in Breast Cancer Cells using Morphology and Texture Properties, PerkinElmer.

20 - 21 SEPTIEMBRE 2023

PABELLÓN 14
IFEMA
MADRID

Cosméticaforum

farmaforum

Labforum

CON LAS ÁREAS ESPECIALIZADAS

Health+Researchforum Biotechforum Innovaforum APIsforum
Cannabisforum Nutraforum

INFORMACIÓN +34 91 630 85 91 / +34 672 050 625 info@farmaforum.es farmaforum.es