

Comentarios de Literatura Destacada

Artículo

Maternally Administered Cyclic Glycine-Proline Increases Insulin-Like Growth Factor-1 Bioavailability and Novelty Recognition in Developing Offspring. Gagandeep Singh-Mallah, Kuljeet Singh, Christopher D. McMahon, Paul Harris, Margaret A. Brimble, Eric Thorstensen, and Jian Guan. *Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, School of Medical Sciences, Faculty of Medical and Health Sciences, University of Auckland, 85 Park Road, Grafton, 1142 Auckland, New Zealand.* *Endocrinology* 2016; 157 (8): 3130-3139.

La homeostasis de IGF-I es esencial para el metabolismo, desarrollo y supervivencia en mamíferos. Un aumento en IGF-I se asocia a sobrecrecimiento (gigantismo, acromegalia, tumores) una baja talla y mala recuperación de heridas entre otras. Estudios previos han mostrado que la Prolina-Glicina cíclica (cGP), metabolito endógeno de IGF-I, normalizaría la función de IGF-I, mejorando el daño provocado por una isquemia cerebral. Recientemente se ha planteado la importancia de IGF-I en el desarrollo y maduración cerebral postnatal, lo que tendría un marcado impacto en el comportamiento cognitivo. Los autores del presente trabajo se proponen investigar la presencia y los cambios en las concentraciones endógenas de cGP en relación a las concentraciones de IGF-I e IGFBP-3 en leche y plasma sanguíneo durante la lactancia y el desarrollo postnatal en ratas. Además, estudian el paso de la madre a la cría y la farmacodinamia de la administración materna de cGP durante la lactancia.

El IGF-I tiene un importante rol en el desarrollo postnatal en mamíferos, incluyendo el desarrollo postnatal en roedores y humanos. Es sabido IGF-I se puede unir a proteínas (IGFBPs/ALS) las cuales modulan las acciones de este péptido aumentando su vida media y determinando la bioactividad neta de IGF-I. Se ha reportado que IGF-I en su forma libre puede ser enzimáticamente metabolizado a nivel del N-terminal en des-(1-3) IGF-I y glicina-prolina-glutamato (GPE). Este GPE es inestable y es rápidamente metabolizado a glicina-prolina cíclica (cGP). Al igual que IGF-I se ha sugerido una acción neuroprotectora para cGP y si bien la acción de IGF-I se ha asociado a su interacción con su receptor (IGF-IR), el modo de acción de cGP no se encuentra completamente comprendida, si bien es cierto se ha sugerido cGT competiría con IGF-I por la unión a IGFBP-3 lo que favorecería la biodisponibilidad de IGF-I (IGF-I libre), lo cual explicaría el efecto neuro-

protector observado al administrar localmente cGP (similar a lo observado con IGF-I).

La mejora en el desarrollo postnatal del cerebro puede tener efectos a largo plazo en la funcionalidad cerebral, lo cual podría asociarse con beneficios en el comportamiento cognitivo en mamíferos. Es así, que los autores del presente trabajo se plantean estudiar si cGP se encuentra presente en leche materna y si cambios en las concentraciones maternas durante la lactancia tienen un impacto en las conductas cognitivas de las crías. Para realizar esto los autores utilizan pruebas que permitan por ejemplo evaluar memoria de reconocimiento (*Nobel object recognition test*, NORT), además se aseguran de controlar posibles factores confundentes de la capacidad de memoria y aprendizaje como podrían ser la actividad locomotora y la ansiedad en estos animales. Para este estudio se utilizaron ratas hembras preñadas Sprague Dawley a las cuales se las suplementó oralmente con cGP (3 mg/kilo de peso corporal) disuelto en el agua de bebida (usando una cantidad equivalente de solución salina como control). Al día 23 los animales (16 por cada grupo) fueron destetados. Los tests de comportamiento fueron realizados en el período de adolescencia, los días 35 (actividad locomotora), 36-38 (NORT) y 39 (ansiedad). Se obtuvieron muestras de leche entre los días 7-23 postnatal y de sangre el día 23 y 82. Las concentraciones de cGP en leche y plasma sanguíneo fueron realizadas por HPLC/MS y las de IGF-I e IGFBP-3 en plasma por ELISA. Mayores concentraciones de cGP endógeno fueron encontradas en adolescencia (día 23) y adultos jóvenes (día 82) en comparación a las encontradas en las madres (> 100 días). Las concentraciones de cGP encontradas en la sangre de las crías cuyas madres fueron suplementadas durante la lactancia se encontraron 2,5 veces más altas al día 23 (respecto a las no suplementadas), sin embargo, al día 82 no se encontraron diferencias con las no suplementadas. Las concentraciones endógenas de cGP aumentan hasta 6 veces durante el peak de la lactancia (días 10-15). Se observó un aumento importante en las concentraciones de cGP en leche después de la administración de cGP (80-100 veces) en los días 10-15 de lactancia.

Con el propósito de comprender la relación entre IGF-I y cGP calcularon la razón cGP/IGF-I como medida de biodisponibilidad, encontrando que las concentraciones plasmáticas de IGF-I eran menores al día 23 de vida (en comparación a las de las madres y de los adultos jóvenes); sin embargo, debido a las mayores concentraciones de cGP a esta edad, la razón cGP/IGF-I fue mayor en estos animales. Similarmente, las concentraciones plasmáticas de IGFBP-3 fueron menores al día 23 en comparación a las de las madres y de los adultos jóvenes.

El test de comportamiento NORT, buscó evaluar el tiempo gastado en explorar un objeto familiar (al cual vieron durante 2 días en tandas de 5/día) y un objeto (colocado

Comentarios de Literatura Destacada

al tercer día) mostró que si bien el tiempo total de exploración de los dos objetos no varió, sí se observó un aumento en la razón del tiempo de exploración del objeto nuevo/familiar en los animales cuyas madres fueron suplementadas con cGT durante la lactancia en comparación a los controles. El análisis de los test de ansiedad y de actividad locomotora no mostró diferencias entre los dos grupos sugiriendo que las diferencias encontradas en NORT fue debido fundamentalmente a la suplementación con cGT.

En resumen, este trabajo muestra que cGT se encuentra normalmente en el período de lactancia tanto en plasma sanguíneo como en leche, particularmente entre los días 10-15. En términos del desarrollo cerebral los días 23 y 82 en la rata son comparables con la infancia y adolescencia en humanos, por lo tanto, las mayores concentraciones de cGT encontradas en este período sugieren un rol específico de cGP durante el desarrollo postnatal. Es sabido que durante la infancia las concentraciones son bajas en humanos, similar situación a lo encontrada en ratas; es por esto que la mayor razón molar cGT/IGF-I encontrada en plasma durante la infancia podría ser una respuesta autocrina a las bajas concentraciones de IGF-I para aumentar su biodisponibilidad lo cual es esencial para asegurar un buen crecimiento y desarrollo postnatal.

La suplementación materna de CGT llevó a un incremento de hasta 100 veces las concentraciones en leche. La eficacia de la transferencia materna de cGP a través de la leche fue probada través del test de reconocimiento de objetos nuevos (NORT). Las ratas adolescentes cuyas madres fueron suplementadas con cGT, dedicaron más tiempo para explorar el nuevo objeto con respecto a las ratas controles, lo cual no se debió a cambios en la actividad locomotora o en la ansiedad de los animales.

Este es el primer estudio que muestra que cGP (metabolito de IGF-I) es un péptido endógeno que se encuentra presente tanto en leche como en sangre en ratas durante el período posnatal y que podría estar implicado en un aumento de la biodisponibilidad de IGF-I durante la infancia; además, la suplementación oral con cGP en madres, durante la lactancia, ofrece una vía de administración natural y efectiva para mejorar cualidades cognitivas, como el reconocimiento de objetos nuevos por parte de las crías.

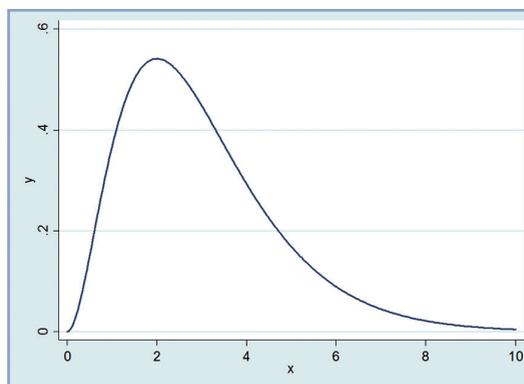
Análisis Estadístico

Si bien, desde el punto de vista estadístico el trabajo está bien analizado, pues para comparar una respuesta continua entre varios grupos y tradicionalmente para este propósito se usa el test ANOVA, no es menos cierto que se confía mucho en la robustez del mismo (es decir, relajando los supuestos, aún los resultados del test son aceptables). Quienes toman conciencia de este postulado, usan en subsidio un test no paramétrico (tradicionalmente el test de Kruskal-Wallis), sin embargo, no es muy difundido el

hecho de que los test no paramétricos son menos potentes que los test paramétricos: esto es, que necesitan más tamaño de muestra para detectar las diferencias significativas. Dicho esto podría pensarse que todo debería analizarse con el test ANOVA tradicional, el que supone que las respuestas a comparar deben seguir una distribución Gaussiana (Normal) y si esto no ocurre, comienza el tortuoso camino de transformar la respuesta mediante logaritmos, raíces cuadradas u otras funciones, y con ello, corriendo el serio riesgo de no poder interpretar las respuestas e incluso no acertando a la transformación adecuada que permita acercarnos a la feliz distribución normal.

Sin embargo, la estadística actual ofrece salidas paramétricas potentes, para estimar test ANOVA basados en otras distribuciones de probabilidades, que se adecúen a las respuestas a analizar, este propósito se consigue mediante los Modelos Lineales Generalizados (GLM), los que permiten calcular la significación estadística (p-values) entre valores medios de distribuciones distintas a la gaussiana.

Particularmente, las hormonas y en este artículo la IGF-I, siguen distribuciones positivas y por ende con un sesgo (cola más larga) hacia la derecha, como lo muestra la siguiente figura:



La distribución de probabilidades que ajusta bien a este tipo de forma se llama la Distribución Gamma, por lo tanto, un análisis innovador para este tipo de problemas es proponer un test ANOVA (diferencia de medias entre varios grupos) basado en esta distribución de probabilidades. Los GLM están implementados en todos los programas estadísticos de buen nivel, tales como SAS o STATA.

Germán Iñiguez Vila¹, Gabriel Cavada Ch.²

¹Jefe de Laboratorio de Endocrinología Infantil. Instituto de Investigaciones Materno Infantil (IDIMI). Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

²Facultad de Medicina. Universidad de los Andes y Escuela de Salud Pública. Universidad de Chile.