

12 DE DICIEMBRE DE 2004

## Toxina botulínica atrapa a su blanco de ataque

La primera estructura detallada de una toxina botulínica unida a su proteína diana revela que la toxina enrolla a la proteína alrededor de sí misma -un tipo de "anaconda inversa"- para reconocer al receptor. Los nuevos estudios muestran la forma en la que las toxinas que causan el botulismo y el tétano pueden reconocer y atacar a proteínas particulares de las células nerviosas que se encuentran en la unión neuromuscular, lo que lleva a la parálisis.

Los investigadores dijeron que los resultados podrían generar nuevo conocimiento que aceleraría el desarrollo de drogas para bloquear las toxinas del botulismo o del tétano más rápidamente en los casos en los que se llega a una etapa en la cual los antibióticos no son eficaces.

---

"Estas bacterias han desarrollado máquinas enzimáticas muy inteligentes para reconocer proteínas, y sería posible, dado nuestro conocimiento estructural, modificar estas proteasas para el uso clínico."

— Axel T. Brunger

---

El investigador del Instituto Médico Howard Hughes, Axel T. Brunger y el estudiante de doctorado Mark Breidenbach de la Universidad de Stanford publicaron sus resultados en el número del 12 de diciembre de 2004, en una publicación adelantada en Internet de la revista *Nature*.

Las neurotoxinas de las bacterias que causan la parálisis asociada al botulismo y al tétano contienen enzimas llamadas proteasas que cortan a proteínas específicas de las células nerviosas. Estas proteínas de las células nerviosas, llamadas SNAREs, son componentes claves de la maquinaria que utilizan las células nerviosas para liberar los neurotransmisores que activan los nervios vecinos o que activan las células musculares. La función nerviosa se bloquea si no hay SNAREs.

Las proteasas de neurotoxinas que actúan al cortar las proteínas SNARE son altamente específicas para sus dianas -lo que significa que cada toxina

reconoce y ataca específicamente a una de las tres proteínas neuronales SNAREs diferentes-. Dado que la mayoría de estas proteasas de toxinas tienen virtualmente las mismas estructuras en las regiones que realizan el corte, o sitios activos, un interrogante clave ha sido la forma en la que reconocen a sus dianas específicas, dijo Brunger.

Se sabía era que otros sitios de la neurotoxina, que fueron llamados “exositios”, podían estar involucradas en el reconocimiento de la diana. Sin embargo, se desconocía la localización y la forma de estos exositios. Para buscar la localización de los exositios, Breidenbach creó cristales de una neurotoxina botulínica particular unida a su SNARE diana. Los investigadores determinaron la estructura de las proteínas unidas utilizando difracción de rayos X, técnica analítica utilizada extensamente mediante la cual se dirigen haces de rayos X a través de proteínas cristalizadas. El patrón que resulta de la difracción se analiza para deducir la estructura atómica de la proteína.

El análisis estructural reveló que la neurotoxina se envuelve en un segmento de la proteína SNARE al unirse a numerosos exositios. Esta interacción permite que la toxina reconozca a la proteína SNARE con alta especificidad, dijo Brunger.

“Nuestra estructura ha mostrado por primera vez que una gran interacción en la superficie de la proteína, lejos del sitio activo, es la que en realidad determina la especificidad”, dijo Brunger. “Esta alta interacción es muy inusual para una proteasa. Hasta este momento, es el área de interfaz más grande que se conoce para tal complejo, con numerosos puntos de contacto”.

Brunger dijo que otro resultado notable fue que la unión de la toxina a su diana produce cambios conformacionales significativos en la enzima, lo que muy probablemente activa la capacidad de cortar la proteína.

Cuando los investigadores compararon las secuencias de aminoácidos del tipo de toxina botulínica que estudiaron con las secuencias de otras toxinas conocidas, encontraron que la región que habían encontrado que se conectaba con la SNARE era variable. Los investigadores teorizan que tales diferencias entre las toxinas les dan la especificidad para las SNAREs dianas; entre las toxinas que reconocen a la misma SNARE, variaciones de aminoácidos en la región de contacto podrían permitir que cada una corte a la diana en distintos sitios.

Según Brunger, el descubrimiento del mecanismo por el cual las toxinas reconocen sus proteínas dianas podría proporcionar nueva información que ayudará en el desarrollo de drogas que puedan bloquear a las toxinas más rápidamente. “El descubrimiento de estos exositios remotos abre la posibilidad de desarrollar drogas que puedan competir con la toxina por un exosito y que puedan perturbar la capacidad de la proteasa de atacar a su diana”, dijo. “Tal droga actuaría instantáneamente una vez que cruce hacia el interior de la célula. Y no interferiría con otras proteasas esenciales similares de la célula, porque no estaría atacando el sitio activo de la enzima misma”.

A pesar de que esta clase de droga podría resultar útil en el tratamiento de los periodos tardíos del botulismo o del tétano, indicó Brunger, ya existen antibióticos y vacunas eficaces para tratar las enfermedades en la mayoría de los casos, si se las detecta rápidamente.

En estudios futuros, los investigadores extenderán su análisis a toxinas de tétano y a los otros tipos de toxinas botulínicas. Dijo que tales estudios podrían revelar diferencias sobre la forma en la que las toxinas reconocen a sus dianas.

“Estas bacterias han desarrollado máquinas enzimáticas muy inteligentes para reconocer proteínas, y sería posible, dado nuestro conocimiento estructural, modificar estas proteasas para el uso clínico”, dijo Brunger. “Una posibilidad interesante sería utilizar su especificidad como base para enzimas diseñadas para que ataquen a proteínas involucradas en enfermedades”.