

22 DE AGOSTO DE 2007

Lectura de hojas para obtener pistas del origen de una rara epilepsia

Por un siglo, los científicos han sabido que la enfermedad de Lafora es una forma progresiva y mortal de epilepsia causada por la acumulación de carbohidratos en el cerebro. Aunque este tipo de epilepsia se ha descrito bien en pacientes, los investigadores no han sabido como explicar precisamente porqué -a nivel molecular- las neuronas comienzan a acumular cantidades tóxicas de carbohidratos.

Una pista sobre la naturaleza de este malfuncionamiento se publica en el número de julio de 2007 de *Journal of Cellular Biology*. Un equipo de investigación conducido por Jack Dixon, profesor y Decano de Asuntos Científicos de la Universidad de California en San Diego (UCSD), ha demostrado que los seres humanos, las plantas y los protozoarios parecen depender de la misma maquinaria celular básica para solucionar el problema de la acumulación de carbohidratos.

"Nos damos cuenta de que este es un problema muy difícil, pero nos gustan los problemas difíciles y no nos asusta afrontarlos."

— Jack E. Dixon

El artículo publicado por Dixon, que es vicepresidente y oficial científico principal en el Instituto Médico Howard Hughes, y sus colegas en UCSD y el Instituto Salk para Estudios Biológicos resume el mecanismo común que los seres humanos y otros organismos utilizan para purgar el exceso de carbohidratos, y cómo esta información podría ayudar a desarrollar tratamientos para la Lafora. Si bien Dixon sospecha que la acumulación de carbohidratos también puede tener efectos perjudiciales en otras especies, sus efectos dañinos en los seres humanos están muy claros.

Los niños con la enfermedad de Lafora no tienen ningún síntoma hasta que tiene lugar un ataque epiléptico inicial alrededor de los 10 años de edad. Los niños luego padecen de frecuentes convulsiones y en última instancia desarrollan demencia. Los pacientes raramente sobreviven una década después del diagnóstico.

La enfermedad de Lafora es causada por una mutación en el gen que codifica para la enzima laforina, que pertenece a un grupo de proteínas llamadas fosfatasa que quitan grupos fosfatos. Es la única fosfatasa de vertebrados que se sabe se une a carbohidratos, usando un código postal molecular llamado dominio de unión a carbohidratos.

Normalmente, las neuronas contienen relativamente pocos carbohidratos. En la gente que no puede producir laforina, sin embargo, los carbohidratos se acumulan en el cerebro y llegan a ser tóxicos. Los científicos todavía no saben por qué el quitar un grupo fosfato previene esta acumulación mortal. De hecho, los científicos no han sabido mucho más sobre la laforina por bastante tiempo.

Mirar en la basura

Nueva información sobre la laforina provino de un grupo de pistas descubiertas por casualidad. El laboratorio de Dixon probablemente no habría buscado la laforina en otros organismos de no ser por Matthew y Gentry, uno de los becarios postdoctorales de Dixon. En los inicios de su carrera académica, Gentry había trabajado con *Toxoplasmodium gondii*, organismo unicelular transportado por los gatos que causa toxoplasmosis en los seres humanos. La enfermedad puede ser fatal para los fetos humanos y los adultos con sistemas inmunes débiles. Recientemente, Gentry se topó con imágenes de protozoos con depósitos de un carbohidrato llamado almidón florideano. *T. gondii* quema el almidón florideano cuando está activo y lo almacena cuando está inactivo. Notó que las imágenes de las células inactivas de *T. gondii* se parecían a las neuronas de pacientes con Lafora.

Gentry se preguntó si el protozoario producía una enzima de unión a carbohidratos semejante a la laforina para prevenir el exceso de acumulación de almidón. Después de mirar en vano en bases de datos del genoma de *T. gondii* del Centro Nacional para Información Biotecnológica (NCBI, por sus siglas en inglés) disponibles en Internet, Gentry decidió usar Google.

Gentry entonces comenzó lo que Dixon jocosamente llama, mirar en la basura. La basura se refiere a la masa de letras A, C, G y T con funciones desconocidas en los genomas secuenciados pero que no han sido anotados. Muchos de éstos están en Internet —así que buscar un pedazo del código genético de *T. gondii* que se parezca a la laforina significa mirar de arriba abajo los sitios Web—. Debo haber mirado aproximadamente 170 genomas distintos y analizado todas las fosfatasa para ver si tenían un dominio de unión a carbohidratos, dice Gentry. No fue muy divertido.

Gentry finalmente encontró una fosfatasa de unión a carbohidratos en el genoma *T. gondii* que parecía ser idéntica a laforina. Entusiasmado con el éxito, Gentry, Carolyn Worby, científica de investigación en el laboratorio de Dixon, y Seema Mattoo, microbióloga y becaria postdoctoral en el laboratorio, encontraron la laforina en varios otros eucariontes unicelulares. Dado que mutaciones en la laforina causan la enfermedad de Lafora en seres humanos, Dixon presume, las mutaciones en la laforina de estos organismos probablemente también limiten su capacidad de funcionar también.

Para analizar más la universalidad de la enzima, los investigadores exploraron el reino que tiene a los mejores procesadores de carbohidratos del planeta —las plantas.

El experimento elegante

Dixon buscó en la literatura sobre flora con el fin de encontrar una enzima de unión a carbohidratos. Eventualmente descubrió la contraparte de la laforina en plantas en un artículo de 2006 escrito por Totte Niittyla, del laboratorio de Alison Smith en el Centro Juan Innes en Norwich, Reino Unido.

Niittyla había identificado una enzima mutada en la *Arabidopsis*, miembro de la familia de la mostaza. Los científicos utilizan la *Arabidopsis* para experimentos genéticos porque pueden quitar genes fácilmente, mutarlos y sustituirlos. La planta mutante que Niittyla estudió tenía muchos carbohidratos y tenía un gen mutado llamado *SEX4* (o exceso de almidón 4). *SEX4* parecía diferente a la laforina, pero tenía un código postal que indicaba que estaba dirigido al cloroplasto —área de alta producción carbohidratos—.

Dixon tenía la corazonada de que *SEX4* prevendría la acumulación de carbohidratos en plantas, como la laforina lo hacía en seres humanos. Para estudiar su hipótesis, Gentry y Robert Downen, un estudiante de doctorado en el laboratorio de Dixon que trabaja en *Arabidopsis* con la ayuda del biólogo vegetal Joseph Ecker del Instituto Salk, supervisaron la producción de carbohidratos de las plantas *Arabidopsis* usando una simple tinción con yodo. Durante el día, las plantas teñidas seguían siendo negras debido a los altos niveles de carbohidratos de los cloroplastos. En la noche, cuando las plantas habían metabolizado los carbohidratos, las hojas se volvían blancas. Las plantas con mutaciones en el gen *SEX4* desarrollaron el equivalente de la planta a la enfermedad de Lafora —mantuvieron sus carbohidratos y retuvieron el color oscuro durante la noche—.

Dixon reconoce que plantas mutantes con alto contenido en carbohidratos podrían interesarle a la gente interesada en producir un etanol más eficiente para combustible. Pero desde nuestro punto de vista, dice, es un ejemplo encantador de cómo la naturaleza reinventa las cosas se requieren.

Investigadores en el laboratorio de Dixon llevaron al límite el grado de flexibilidad de estas enzimas. Decidieron probar si el gen humano para la laforina podía funcionar en plantas. Dixon dice, hicimos apuestas en el laboratorio —sobre si funcionaría o no— y estábamos divididos en 50 y 50.

Los resultados, sin embargo, fueron literalmente blancos y negros. Mientras que ambas enzimas estuvieran conectadas con el código postal molecular correcto, quitaban los carbohidratos igualmente bien. La laforina, unida a un dominio que la llevaba al cloroplasto, mantenía a los carbohidratos bajo control en las plantas con las mutaciones en *SEX4*, haciendo que las hojas fueran blancas al anochecer. Laforin y *SEX4* eran ineficaces, sin embargo, sin el dominio. En ambos ensayos, las hojas de *Arabidopsis* permanecían negras y llenas de carbohidratos.

Los resultados hablan a la creencia de Dixon sobre una metodología de transreino en la ciencia. Gentry comenta que, su capacidad de tomar información a partir de un organismo y de aplicarla a otro, junto a su capacidad para juntar a investigadores con distintas habilidades, realmente acelera cuán rápido se puede aprender sobre procesos biológicos. Pienso que esto nos ha dado una gran comprensión de la enfermedad de Lafora.

El mecanismo de eliminación de carbohidratos en otras especies podía proporcionar pistas para el tratamiento de Lafora en seres humanos. A pesar del valor de la nueva información sobre la laforina, la reintroducción del gen en el cerebro presenta obstáculos complicados. No obstante, Dixon tiene esperanza: Nos damos cuenta de que este es un problema muy difícil, pero nos gustan los problemas difíciles y no nos asusta afrontarlos.