

27 DE ABRIL DE 2000

## Anillos que sirven de blanco de ataque para drogas contra la TB

Al suprimir un componente de forma anular de una molécula que se encuentra presente en la superficie de *Mycobacterium tuberculosis*, los investigadores han creado una cepa mutante de la mortal bacteria, que no puede establecer una infección crónica y mortal en ratones. La supresión del gen anula la capacidad de la bacteria de formar colonias entrelazadas y serpentinadas, que implican virulencia.

La investigación proporciona un nuevo blanco para el desarrollo de drogas que puedan acortar drásticamente el tratamiento para las infecciones por tuberculosis (TB), que afectan al 32 por ciento de la población mundial y matan a dos millones de personas por año, dice William R. Jacobs, hijo, investigador del Instituto Médico Howard Hughes en la Facultad de Medicina Albert Einstein.

---

"La principal razón por la cual la tuberculosis continúa siendo un problema importante de salud mundial -se predice que este año que matará a más personas que nunca- es su notable capacidad de persistir en el cuerpo."

---

En un artículo publicado en el número de abril de 2000 de *Molecular Cell*, Jacobs y sus colegas Michael S. Glickman y Jeffery S. Cox, informan que crearon una cepa mutante de TB al desarrollar y emplear con éxito una nueva y poderosa técnica que sirve para anular genes en la bacteria de la TB. Su técnica de "knock-out mediado por bacteriófago" reduce el tiempo requerido para anular genes en la bacteria de la TB. Tal economía de tiempo podría acelerar mucho el ritmo de la investigación sobre la enfermedad, dicen los científicos.

"La principal razón por la cual la tuberculosis continúa siendo un problema importante de salud mundial— se predice que este año que matará a más personas que nunca— es su notable capacidad de persistir en el cuerpo", dijo Jacobs. "Esta persistencia requiere seis meses de quimioterapia continua para que el tratamiento de la enfermedad sea exitoso. De esta manera, nuestro objetivo ha sido mejorar el tratamiento, al estudiar los factores que llevan a

esa persistencia".

Jacobs y sus colegas comenzaron sus experimentos usando un transposón (una secuencia ADN que puede insertarse en cualquier lugar del genoma) para crear un conjunto enorme de mutantes de *Mycobacterium bovis*. *M. bovis* está muy relacionada con *M. tuberculosis*, pero es mucho más segura de manipular. Cuando los científicos examinaron a las 3.500 colonias de mutantes que habían creado, encontraron dos cepas que no pudieron producir las colonias con estructuras que asemejan sogas, llamadas "cordones", que son características de las cepas virulentas de la bacteria. Los cordones fueron descritos por primera vez en 1882 por Robert Koch, cuando descubrió la *M. tuberculosis*.

Cuando Jacobs y sus colegas buscaron el gen que había sido inactivado por el transposón presente en una de las dos mutantes, encontraron que el gen interrumpido era uno de los que ya habían sido identificados por el proyecto de secuenciación del genoma de TB. El gen interrumpido codificaba para una enzima que modifica a los ácidos micólicos, moléculas de cadenas lipídicas extremadamente largas, que cubren las superficies de *M. bovis* y *M. tuberculosis*. La comparación de la secuencia del gen interrumpido con las secuencias presentes en las bases de datos genéticas, reveló que era probable que se tratara de una ciclopropano sintetasa, una enzima que cataliza la formación de una estructura anular de tres carbonos que se encuentra en el extremo del ácido micólico, alfa micolato. De este modo, Jacobs y sus colegas denominaron al gen *pcaA*, por "ciclopropanación proximal de alfa micolatos".

Para ver si *pcaA* desempeñaba el mismo papel en *M. tuberculosis* que en *M. bovis*, los investigadores inactivaron al gen *pcaA* en *M. tuberculosis*, usando la técnica de anulación mediada por bacteriófago. "Creo que esta técnica es un método muy poderoso que revolucionará la forma en la que hacemos los knock-outs en TB", dijo Jacobs. "Nos ha permitido reducir el tiempo requerido para producir knock-outs de seis meses a unas pocas semanas".

Utilizaron un bacteriófago que infecta al bacilo de la tuberculosis y que fue diseñado para inyectar en las bacterias de TB, segmentos de genes que carecían del gen *pcaA*. La supresión del gen *pcaA* en *M. tuberculosis* interrumpió los cordones de esas colonias bacterianas, como lo hizo en *M. bovis*. El análisis bioquímico reveló que el knock-out de *pcaA* en *M. tuberculosis* también tenía un alfa micolato alterado, que carecía del anillo ciclopropano.

La diferencia más dramática entre la tuberculosis de tipo salvaje y la bacteria knock-out, sin embargo, se evidenció cuando los científicos infectaron ratones con los dos organismos.

"Asombrosamente, mientras que la cepa de tipo salvaje mata a los ratones, la cepa knock-out que sólo carece de una única estructura anular en un ácido micólico, no lo hace", dijo Jacobs. "La cepa knock-out crece del mismo modo que la de tipo salvaje durante las primeras tres semanas, pero después no puede persistir normalmente dentro del animal".

De este modo, dijo Jacobs, el centrar la atención en *pcaA* y en otros genes que codifican para moléculas esenciales para la virulencia, podría tener un impacto profundo en el tratamiento.

"El desarrollo de drogas que apunten a esta ciclopropano sintetasa podría darnos una mayor capacidad para matar a este organismo persistente, posiblemente reduciendo el tiempo del tratamiento de seis meses a dos semanas", dijo. "A pesar de que no sabemos si esta enzima es *el blanco* de ataque ideal para drogas, ciertamente hemos encontrado al primero", agregó.