

17 DE AGOSTO DE 2000

Una enzima ofrece un blanco para atacar a la tuberculosis resistente a los medicamentos

Investigadores han descubierto una enzima que le permite a la bacteria de la tuberculosis (TB) metabolizar nutrientes y persistir por meses, mientras se defiende del ataque del sistema inmune, ocultándose en el interior de los macrófagos.

Según los investigadores, la enzima llamada isocitrato ligasa (ICL) ofrece un blanco de ataque excelente para drogas que maten a las cepas persistentes de las bacterias de la TB, que pueden evadir a los antibióticos y causar una infección crónica. Una droga que apunte a la ICL, dice el investigador del HHMI William R. Jacobs, júnior, puede ser capaz de reducir el tiempo requerido para tratar la infección de TB. Jacobs y sus colegas también han determinado la estructura cristalina de la ICL unida a inhibidores de la enzima, lo que les da la delantera para el desarrollo de tales tratamientos con drogas.

"Esta extraordinaria persistencia es la razón por la cual la tuberculosis quita más vidas humanas por año que cualquier otro patógeno bacteriano."

— William R. Jacobs Jr.

Los equipos que colaboran en la investigación, conducidos por Jacobs, quien se encuentra en la Colegio de Medicina Albert Einstein, el investigador David Russell de Cornell y el investigador James Sacchettini de A de Tejas, anunciaron sus resultados en artículos en el número del 17 de agosto de 2000, de la revista *Nature* y en el número de agosto de 2000 de *Nature Structural Biology*.

"La tuberculosis tiene una capacidad asombrosa de crecer exponencialmente hasta que el sistema inmune cede", dijo Jacobs. "Una vez que el sistema inmune se pone en acción, la tuberculosis detiene su crecimiento pero puede persistir a pesar del ataque del sistema inmune y del tratamiento con antibióticos. Esta extraordinaria persistencia es la razón por la cual la

tuberculosis quita más vidas humanas por año que cualquier otro patógeno bacteriano. Y es la razón por la que nos hemos concentrado en entender los factores subyacentes a la persistencia".

Los investigadores comenzaron la búsqueda de los factores de persistencia cuando vieron estudios realizados por otros científicos, que demostraban que una forma persistente de TB parecía depender sólo de lípidos, como fuente de energía y de carbón. La dependencia de lípidos implicó que esta cepa de TB depende de la vía alternativa del glioxilato, vía metabólica que ayuda en la producción de compuestos tetracarboxilados para ser usados en la fabricación de vitaminas y en el reciclaje de aminoácidos, que son los ladrillos con los que se construyen las proteínas.

"Las enzimas que constituyen la vía alternativa del glioxilato son blancos de ataque atractivos para drogas, porque esa vía no se encuentra en mamíferos", explicó Jacobs. "De este modo, si se hace una droga que inhiba la vía, ésta no afectará a las células humanas".

El autor principal del artículo de *Nature* John McKinney, becario postdoctoral en el laboratorio de Jacobs, procedió a desarrollar cepas de TB mutantes en las cuales la ICL, enzima clave de la vía alternativa del glioxilato, fue suprimida. "Fue asombroso que, durante las primeras tres semanas, las bacterias mutantes crecieran tan bien como las bacterias de tipo salvaje", dijo Jacobs. "Más tarde, las mutantes no pudieron persistir ni matar a los ratones, como lo hace la bacteria de tipo salvaje".

Mientras tanto, Russell y sus colegas, trabajando por separado del equipo de Jacobs, encontraron que la ICL era la proteína que más aumentaba en las bacterias persistentes de TB, cuando éstas habían sido aisladas de macrófagos. Los macrófagos son las células predadoras del sistema inmune que merodean por los pulmones, fagocitando y digiriendo a las bacterias invasoras. Normalmente, en estado de reposo, los macrófagos son activados por la respuesta inmune del huésped, que se desarrolla luego de la invasión bacteriana. El bacilo de la TB, sin embargo, posee la peligrosa capacidad de entrar a los macrófagos y de utilizarlos como refugios, durante el estado de persistencia.

"Dado que está generalmente aceptado que los macrófagos son el reservorio de la infección de TB, el encontrar el aumento de ICL nos llevó a incursionar en el entendimiento de las vías metabólicas requeridas para la supervivencia intracelular", dijo Russell. "De esta manera, clonamos y expresamos la enzima, y comenzamos a caracterizarla bioquímicamente".

Cuando los dos grupos de investigación se enteraron de los resultados del otro, comenzaron una colaboración para explorar el papel de la enzima. Los estudios realizados en colaboración revelaron que la mutante de TB que carecía de ICL crecía adecuadamente en macrófagos en estado de reposo, pero eran dañadas seriamente en macrófagos activados.

"Estos resultados nos llevaron a pensar que si podíamos inactivar a la ICL, tendríamos la capacidad de eliminar la TB persistente", dijo Jacobs. "En este

mismo momento, el curso de la quimioterapia para la TB es de seis meses, debido a la incapacidad para matar a las bacterias persistentes, así que tales drogas podrían hacer una gran diferencia".

Un tercer grupo en colaboración, conducido por Sacchettini, utilizó cristalografía de rayos X para obtener una estructura detallada de la proteína ICL. En particular, los científicos determinaron las estructuras de la proteína unida a los compuestos inhibidores identificados por el laboratorio de Jacobs. Los autores principales de ese artículo son Vivek Sharma y Sujata Sharma, en el A de Tejas. Según Sacchettini, la estructura del complejo entre la enzima y el inhibidor, publicada en el artículo de *Nature Structural Biology*, ofrece pistas importantes en el diseño de drogas para atacar las bacterias de TB persistentes.

"Esta estructura nos provee de un modelo para experimentos futuros de diseño de drogas", dijo. "Hemos aprendido que cuando la enzima se une a un sustrato o a un inhibidor, experimenta grandes cambios conformacionales que bloquean su sitio activo. Ahora que sabemos esto, podemos diseñar compuestos que atrapen a la proteína en este estado conformacional bloqueado y que inhiban a la enzima". En colaboración con la Glaxo Wellcome, los investigadores ya han lanzado una búsqueda de tales compuestos.

La ICL es la segunda enzima identificada por Jacobs y sus colegas, que es crucial en el estado persistente del bacilo de la TB. En abril de 2000, Jacobs y sus colegas informaron que una enzima llamada un ciclopropanasa era crucial para la capacidad de las bacterias de formar las colonias con forma de sogas, que son características de la forma virulenta. Según Jacobs, la ICL y la ciclopropanasa ofrecen una importante comprensión sobre el estado persistente de la infección de TB, así como también nuevos caminos hacia una mejor terapia para la TB.