

La nueva técnica nos permitió entender las propiedades dinámicas y la composición del material eyectado por la supernova. Al impactar con la materia interestelar estacionaria circundante, dicho material genera un frente de choque. Dicho fenómeno resulta similar a la explosión sónica producida por los aviones a reacción, por lo que cabe esperar que en tales regiones las partículas adquieran energías muy elevadas.

Nuestro estudio sugiere que, inmersa en el gas que forma el frente de choque, existe una población considerable de protones que se desplazan a muy altas velocidades (denominados protones supratérmicos, ya que se mueven más rápido de

lo que cabría esperar a partir de la temperatura circundante). Al interactuar con el medio, esos protones pueden alcanzar la energía necesaria para saltar al espacio en forma de rayos cósmicos. Este resultado se deduce del análisis de la intensidad relativa y del grado de ensanchamiento de la línea espectral H α del hidrógeno en distintas zonas del frente de choque.

El estudio tridimensional de las condiciones de estos protones a lo largo del frente de choque ha permitido resolver, finalmente, el misterioso origen de los rayos cósmicos y su relación con las supernovas. El empleo de esta nueva técnica para detectar la presencia de protones en el remanente de la supernova SN1006, si-

tuado a 7200 años luz de la Tierra, abre las puertas a llevar a cabo estudios similares en otras fuentes lejanas de alta energía.

—*Jesús Falcón Barroso*
Instituto de Astrofísica de Canarias
—*Sladjana Nikolić y Glenn van de Ven*
Instituto Max Planck de Astronomía Heidelberg

PARA SABER MÁS

An integral view of fast shocks around supernova 1006. Sladjana Nikolić et al. en *Science*, vol. 340, abril de 2013.

BIOLOGÍA MOLECULAR

Aportaciones de la cristalografía a la medicina

De la comprensión de las armas moleculares de los patógenos al desarrollo de fármacos contra enfermedades infecciosas

JUAN A. HERMOSO

Tras el inesperado hallazgo de los rayos X por Wilhelm Conrad Röntgen a finales del siglo XIX, otro científico, Max von Laue, descubrió en 1912 que la interacción de esa extraña radiación con un cristal daba lugar a un patrón único. Ese patrón de difracción permitía, como vieron casi de inmediato William H. Bragg y su hijo William L. Bragg, la configuración espacial de los átomos o moléculas que componían el cristal [véase «El nacimiento de la cristalografía de rayos X», por John Meurig Thomas; INVESTIGACIÓN Y CIENCIA, junio de 2013]. Comenzaba así la cristalografía estructural que revolucionaría en pocos años muchas ramas de la ciencia, como la física y química de la materia condensada, la biología y la biomedicina. Max von Laue recibió el premio Nobel en 1914 por ese hallazgo.

Cien años después, las Naciones Unidas han declarado el 2014 Año Internacional de la Cristalografía, con el propósito de reconocer el desarrollo imparable de esta disciplina, que ha resultado fundamental para el conocimiento de la estructura tanto de la materia inerte como de la materia viva. Buena prueba de su

importancia la ofrece el hecho de que 29 investigadores han sido galardonados con el nóbél por sus trabajos en cristalografía; una larga lista que aumenta cada año y que demuestra la vitalidad de esta ciencia.

Penicilina: estructura y mecanismo de acción

En la lucha contra las enfermedades infecciosas causadas por virus y bacterias, la cristalografía ha sido, y sigue siendo, un aliado fundamental. El descubrimiento de la penicilina y su poder bactericida abrieron, por primera vez en la historia de la humanidad, el camino al control de las infecciones. Pero los intentos de Fleming para purificar y estabilizar la penicilina fracasaron. En julio de 1943, un grupo de químicos descubrieron por fin el ingrediente activo de la penicilina, una pequeña molécula de 27 átomos: 11 hidrógenos, 9 carbonos, 4 oxígenos, 2 nitrógenos y 1 azufre. Sin embargo, varias estructuras presentaban esa composición: ¿se trataba de la tiazolidin-oxazolona (un grupo de dos anillos de 5 átomos) o de la beta-lactama (un anillo de cuatro átomos fusionado con otro anillo de cinco)? La

solución vendría de los estudios de cristalografía de rayos X.

Los primeros cristales de penicilina producidos por una empresa farmacéutica estadounidense fueron entregados a una joven cristalógrafa de la Universidad de Oxford, Dorothy C. Hodgkin, en otoño de 1943. Su genialidad, unida a una enorme tenacidad, permitió que en 1945, a pesar de la precariedad de las técnicas de aquel entonces —y mientras la gente en las calles celebraba el fin de la guerra en Europa—, Hodgkin llevara en sus manos un modelo de alambres y corchos que representaba, por fin, la estructura de la penicilina: una beta-lactama. Esta fue la primera estructura de una molécula completa obtenida por cristalografía y abrió el camino al desarrollo de derivados semisintéticos de la penicilina (como la cefalosporina) y, por tanto, al uso generalizado de los antibióticos [véase «Antibióticos beta-lactámicos», por E. P. Abraham; INVESTIGACIÓN Y CIENCIA, agosto de 1981]. La contribución de Hodgkin en cristalografía no se limitó a la penicilina; vinieron después la insulina, la vitamina B12 y otras muchas moléculas de interés biomédico, lo

que mereció su distinción con el premio Nobel de química en 1964.

Hubieron de transcurrir diez años para que la cristalografía diera el salto a las macromoléculas biológicas. En 1953, el estudio mediante difracción de rayos X de las fibras de ADN, obtenido por Rosalind Franklin, permitió a Watson y Crick construir su famoso modelo de la doble hélice, que hizo posible la comprensión de la herencia.

En 1958 se obtuvo la primera estructura tridimensional de una proteína, la mioglobina (1261 átomos). Este hallazgo, junto con la determinación de la hemoglobina, dos años después, marcó el nacimiento de la biología estructural. A partir de ese momento, la cristalografía no ha encontrado límites en el tamaño de las macromoléculas.

El estudio estructural de distintas proteínas bacterianas ha permitido ahondar en el mecanismo molecular de la actividad bacteriolítica de la penicilina. Las bacterias presentan una membrana lipídica y una pared celular formada por cadenas de azúcares y péptidos (peptidoglicano) que resulta crítica para mantener su integridad. Durante la síntesis de la pared, estas cadenas deben enlazarse entre sí; de ello se encargan unas enzimas responsables de la unión entre cadenas peptídicas (transpeptidasas) y otras que unen las cadenas de azúcares (transglicosilasas). Los rayos X han mostrado que la penicilina (y otros antibióticos derivados) se une al sitio activo de las transpeptidasas, bloqueándolas. Esta inhibición debilita la membrana de lípidos, que termina por romperse, lo que provoca la muerte del patógeno.

La resistencia a los antibióticos

La introducción clínica de los antibióticos supuso una revolución social, hasta el punto que en los años sesenta se pensaba que las enfermedades bacterianas se erradicarían. «Escribir sobre enfermedades

infecciosas es casi escribir de algo que ha pasado a la historia», comentaba el nóbél de 1960 Frank MacFarlane Burnet. Los científicos no tardaron en darse cuenta de que la situación era mucho más compleja y no tan halagüeña.

El uso —y abuso— de los antibióticos ha provocado la aparición de poblaciones de bacterias resistentes, inmunes a los efectos de los antibióticos. La situación de la resistencia bacteriana es hoy en día muy preocupante. La Organización Mundial de la Salud advierte en su informe *Antimicrobial resistance: Global report on surveillance 2014* de la amenaza de este problema: un altísimo porcentaje de las infecciones adquiridas en hospitales están causadas por bacterias altamente resistentes tales como *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) o bacterias Gram-negativas multirresistentes. En infecciones graves tratadas en hospitales, la mortalidad debida a bacterias resistentes es el doble de la asociada a bacterias no resistentes. Ello podría suponer la vuelta a la era preantibiótica. De hecho, numerosas enfermedades infecciosas están resultando ahora intratables, incluso con los nuevos antibióticos, y la multiresistencia amenaza seriamente los Objetivos de Desarrollo del Milenio relacionados con la salud planteados por las Naciones Unidas para 2015.

¿Qué ha aportado la cristalografía a la resolución de este problema? Las bacterias presentan numerosos mecanismos de resistencia: pueden bloquear el acceso del antibiótico, destruirlo, impedir que actúe o expulsarlo de la célula. Los rayos X han arrojado luz sobre estos procesos.

Se ha determinado la estructura de buena parte de las proteínas implicadas en la resistencia, como las β-lactamasas, así como de los inhibidores de estas biomolé-

culas, como el ácido clavulánico. Conocer la estructura del complejo que forman ambas moléculas (proteína e inhibidor) ha permitido ahondar en el mecanismo de acción de la droga, lo que ha facilitado el desarrollo de otros inhibidores más eficaces que el clavulánico.

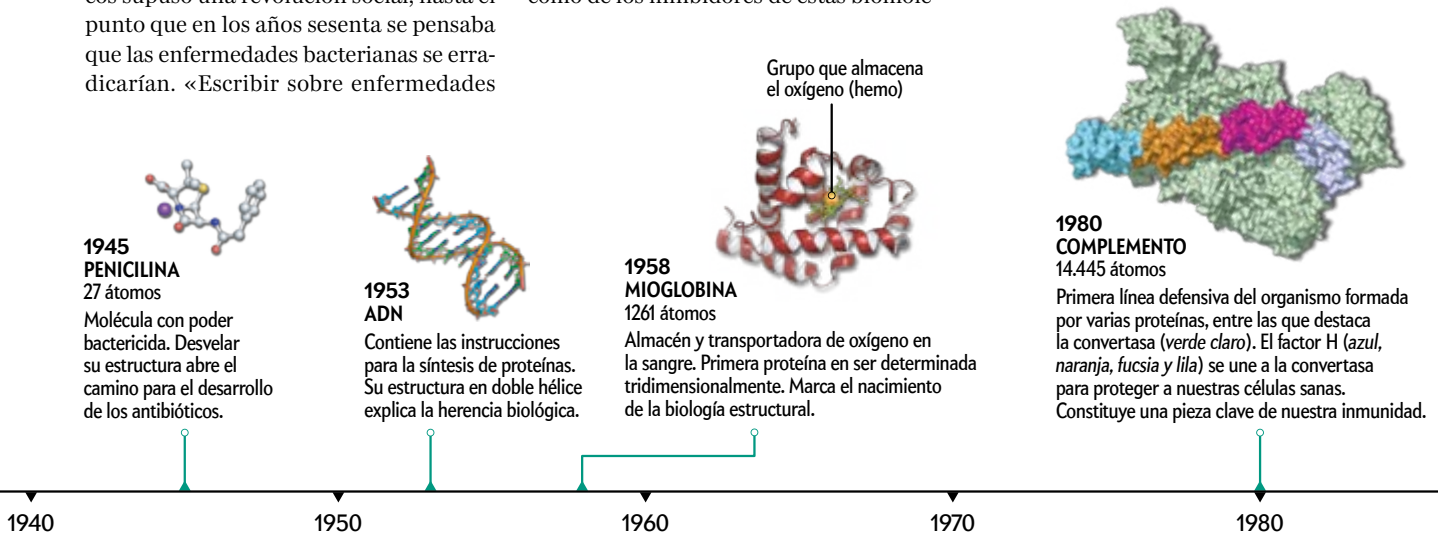
Asimismo, cada vez se comprende mejor el mecanismo de expulsión del antibiótico. En un trabajo reciente, publicado el pasado mes de abril en la edición en línea de *Nature*, Dijun Du, de la Universidad de Cambridge, y sus colaboradores describieron la bomba de expulsión completa. Su modelo define la organización de los componentes, las interacciones clave entre dominios y un mecanismo para la apertura del canal. Una buena base para la comprensión de la resistencia en numerosos patógenos bacterianos.

El talón de Aquiles del SARM

Las bacterias están demostrando una capacidad asombrosa para desarrollar nuevos mecanismos de resistencia. Se ha visto que el patógeno multirresistente SARM incorporó un gen de otra bacteria —hoy por hoy desconocida— que codificaba una proteína llamada PBP2a (de *penicillin binding protein*). Esta presenta actividad transpeptidasa, es decir, cataliza la unión de cadenas peptídicas en la pared bacteriana. Cuando tratamos una infección causada por SARM con antibióticos estándar (como la penicilina), todas las transpeptidasas del patógeno resultan bloqueadas por el antibiótico; todas menos la PBP2a, que sigue construyendo la pared bacteriana. De aquí la resistencia.

La cristalografía ha intentado desentrañar durante largo tiempo el secreto de esta proteína clave: ¿qué la hace invulne-

CORTESÍA DEL AUTOR (todas las figuras)



nable? En el año 2002, Daniel Lim y Natalie C. J. Strynadka, de la Universidad de la Columbia Británica, obtuvieron su estructura. Presentaba diferentes regiones o dominios; uno de ellos era el responsable de la actividad transpeptidasa y guardaba semejanza con el de otras PBP. El hallazgo constituyó un gran avance en el campo, pero no resolvió el misterio.

En 2013, y tras varios años de trabajo en nuestro grupo, obtuvimos cristales del complejo que forma la PBP2a con la ceftarolina, uno de los pocos antibióticos que son hoy efectivos frente al SARM. El análisis reveló algo sorprendente: la proteína resistente actuaba mediante un mecanismo alostérico, es decir, basado en interacciones que ocurrían en un lugar distinto del punto de ataque habitual.

La PBP2a posee un «interruptor» alojado muy lejos del sitio activo. Si este se halla «apagado», la proteína permanece con su sitio activo cerrado y, por tanto, insensible al ataque de los antibióticos. Ahora bien, la ceftarolina es capaz de «encender» ese interruptor uniéndose al sitio alostérico. Esta interacción desencadena toda una serie de cambios que hacen que se abra el sitio activo, quedando entonces a merced del antibiótico. La estructura del complejo PBP2a-ceftarolina presenta, pues, dos moléculas de antibiótico: una unida al sitio alostérico y otra unida al centro activo (catalítico). El hallazgo reviste gran importancia, pues facilitará el desarrollo de nuevos fármacos más eficaces.

Nuevos fármacos

El conocimiento estructural detallado de las dianas farmacológicas (proteínas clave en el proceso patológico) que proporciona la cristalografía ha sentado las bases para el diseño de medicamentos. Ha permitido

entender cómo funcionan estas biomoléculas y diseñar fármacos que se unan a ellas y que bloqueen su funcionamiento. Se ha producido, pues, un gran avance en el desarrollo de medicamentos, que ha pasado de depender de la búsqueda de principios activos en plantas o producidos por bacterias, hongos o algas, a explotar al máximo el conocimiento estructural.

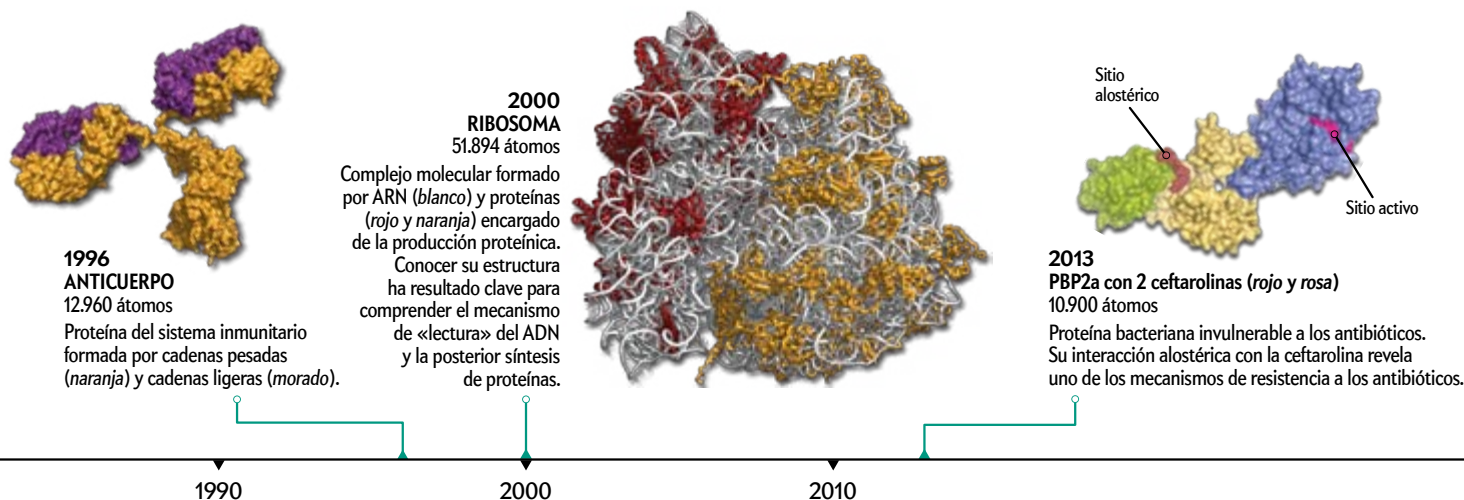
Pensemos en el desarrollo de los antivíricos contra el VIH, causante del sida. Se identificó una diana clave en el proceso infeccioso, una proteasa (enzima que rompe proteínas) necesaria para la construcción del virus. La determinación estructural de esta molécula reveló los detalles de su sitio activo. A partir de este conocimiento se diseñaron moléculas capaces de bloquearlo y evitar así el funcionamiento de la proteasa. En un tiempo récord, se consiguieron distintos antivíricos y con un coste muchos millones de euros inferior al que resultaría de buscar los medicamentos mediante el modelo tradicional de prueba y error.

La cristalografía ha proporcionado también excelentes ejemplos de cómo un conocimiento básico llega a ser una herramienta imprescindible para el desarrollo aplicado. En 2009, Venkatraman Ramakrishnan, Thomas A. Steitz y Ada E. Yonath fueron galardonados con el premio Nobel por sus estudios sobre la estructura y función del ribosoma, el enorme complejo molecular (compuesto por 3 o 4 cadenas de ARN y más de 50 proteínas) que se encarga de la producción de las proteínas codificadas en el ADN. Sus hallazgos ayudaron a comprender el modo en que esta maquinaria «lee» el lenguaje codificado en el ADN para sintetizar las proteínas que conforman un ser vivo. Puesto que los ribosomas bacterianos son muy diferentes de los humanos, ello ha abierto

una vía importante para el desarrollo de nuevos antibióticos como la tetraciclina o el cloranfenicol. También se ha visto que ciertos antibióticos glicosídicos, como la estreptomycin (el primer tratamiento efectivo contra la tuberculosis), se unen al ribosoma bacteriano incorporando errores en las proteínas de la bacteria, lo que en último término conduce a la muerte celular. Este conocimiento ha facilitado el desarrollo de drogas más eficaces.

La cristalografía también ha arrojado luz sobre el funcionamiento de las distintas proteínas clave en los mecanismos de virulencia y patogénesis bacteriana. Nos ha abierto los ojos a un mundo oculto hasta ahora y donde empezamos a comprender el complejo equilibrio entre una relación de simbiosis (como la que tenemos con muchas de las bacterias que habitan en el interior de nuestro organismo) y el proceso infeccioso [véase «El neumococo. Mecanismo patogénico», por Juan A. Hermoso; INVESTIGACIÓN Y CIENCIA, abril de 2007].

En este sentido, ha resultado fundamental conocer también las proteínas de nuestro sistema inmunitario, como las del complemento. El sistema del complemento corresponde a un antiguo mecanismo de defensa presente tanto en vertebrados como en invertebrados, que, como su nombre indica, complementa la destrucción de los patógenos invasores (bacterias y virus) y de células tumorales, iniciada por los anticuerpos. Constituye la primera línea defensiva presente en el plasma y otros fluidos que rodean a los tejidos. En humanos está formado por más de 30 proteínas y receptores voluminosos. Su finalidad es, en primer lugar, detectar con la mayor rapidez posible a los patógenos (o células tumorales) para proceder inmediatamente a su destruc-



ción. Desde la publicación en 1980 de la primera estructura de una proteína del complemento, la cristalografía ha proporcionado información estructural de cada una de las vías por las que nuestro organismo reconoce al patógeno y lo elimina. Ello ha permitido desvelar, paso a paso y con una gran precisión, cómo funciona esta complejísima maquinaria de la que depende nuestra existencia.

La cristalografía ha revolucionado la comprensión de las enfermedades infecciosas y ha supuesto también una herramienta esencial en el desarrollo de los fármacos contra ellas. Ha abierto una ventana a través de la cual los investigadores pueden ver los detalles más íntimos de la lucha que se produce entre nuestro cuerpo y los microorganismos. Ha permitido conocer la estructura de los fármacos, comprender por qué funcionan unos antibióticos y otros no.

Desde la determinación de la primera estructura tridimensional de una proteí-

na en 1958 (mioglobina), la cristalografía de proteínas ha crecido de manera exponencial hasta las 100.000 estructuras depositadas hasta ahora en la base de datos Protein Data Bank y las 700.000 estructuras de moléculas pequeñas almacenadas en el Cambridge Structural Database. La amenaza de bacterias y virus no se ha erradicado; ellos cuentan con una capacidad extraordinaria para multiplicarse y sobrevivir en prácticamente cualquier medio. Sin embargo, el conocimiento estructural nos ofrece un arma poderosísima, como nunca hasta ahora en la historia de la humanidad, que nos permite afrontar el futuro con optimismo. La solución, en el cristal.

—Juan A. Hermoso
Dpto. de cristalografía
y biología estructural
Instituto de Química-Física
Rocasolano, CSIC
Madrid

PARA SABER MÁS

Structural basis for the LETRA BETA lactam resistance of PBP2a from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Daniel Lim y Natalie C. J. Strynadka en *Nature Structural & Molecular Biology*, vol. 9, págs. 870-876, 2002.

How allosteric control of *Staphylococcus aureus* penicillin binding protein 2a enables methicillin resistance and physiological function. Lisandro H. Otero et al. en *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, vol. 110, n.º 42, págs. 16.808-16.813, 2013.

Structure of the AcrAB-TolC multidrug efflux pump. Eijoun Du et al. en *Nature*, abril de 2014, doi:10.1038/nature13205.

EN NUESTRO ARCHIVO

La estructura de la hemoglobina y el transporte respiratorio. M. F. Perutz en *lyC*, febrero de 1979.

Fármacos de diseño. Charles E. Bugg, William M. Carson y John A. Montgomery en *lyC*, febrero de 1994.

La proteómica en el horizonte. Carol Ezzell en *lyC*, junio de 2002.

BOTÁNICA

La geometría de las semillas

El análisis morfológico de las semillas de la alcaparra arroja luz sobre las estrategias adaptativas de esta planta

EMILIO CERVANTES, JOSÉ JAVIER MARTÍN Y EZZEDDINE SAADAOU

La forma es una propiedad fundamental de los objetos, incluidos los que encontramos en la naturaleza. La luna es redonda, los gusanos cilíndricos y los caracoles espirales. Definir estas formas mediante fórmulas matemáticas resulta de gran utilidad para la ciencia, puesto que permite llevar a cabo descripciones detalladas y comparaciones. Sin embargo, no siempre es fácil hallar la fórmula que mejor describe una forma natural.

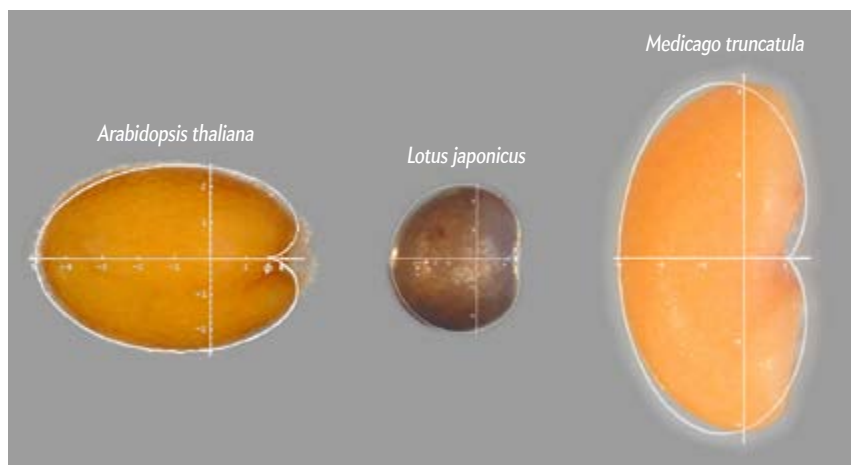
Los objetos redondos constituyen un caso sencillo. Puesto que la forma geométrica a la que mejor se ajustan es el círculo, para saber cuán redondo es un cuerpo basta calcular el índice de circularidad, que se expresa como 4π por el área dividida por su perímetro al cuadrado y tiene un valor igual a 1 para el círculo. Pero veamos qué ocurre cuando tratamos de describir formas menos simples, como las de ciertas semillas.

Elipses y cardioides

La forma de las semillas es variadísima. En muchos casos es redonda; pensemos

en la mostaza negra (*Brassica nigra*), el guisante (*Pisum sativum*), el cilantro (*Coriandrum sativum*) o el enebro (*Juniperus communis*). En otros, como *Jatropha*

curcas (euforbiácea muy utilizada en cultivos energéticos), elíptica. Pero muchas de las semillas que a primera vista guardan semejanza con una elipse, se parecen



SI BIEN PUEDE PARECER REDONDEADA O ELÍPTICA, la forma de las semillas de estas plantas modelo corresponde a una cardioide (línea blanca). En *A. thaliana*, la cardioide se alarga horizontalmente según un factor ϕ ; en *M. truncatula*, se produce el mismo alargamiento, pero en el eje vertical.