

6.1 Antimicrobianos basados en enzimas.

Diapositiva 1

En este tema, veremos cómo una proteína fágica, llamada endolisina, se ha convertido en un tratamiento antimicrobiano que es capaz de matar a bacterias multirresistentes. En primer lugar, se resaltarán por qué necesitamos nuevos tratamientos antimicrobianos. Seguidamente, explicaré cómo podemos modificar las endolisinas para convertirlas en un tratamiento antimicrobiano

Diapositiva 2

Un informe muy reciente del banco mundial intentó cuantificar lo que el desarrollo de resistencias a antimicrobianos podría significar. En total, se ha estimado que implicaría unas pérdidas globales de 100 trillones de dólares en el 2050 si no se toman serias medidas. Por ello, necesitamos una nueva e innovadora visión para desarrollar nuevos antibióticos para enfrentarnos a los microorganismos resistentes y los enzibióticos de diseño o antibióticos basados en enzimas pueden ser la solución.

Diapositiva 3

Como hemos visto en la sección 1.1, los virus de bacterias o bacteriófagos utilizan a las bacterias para replicarse. Una vez adsorbidos a una bacteria hospedadora viable, el fago inyectará su material genético, lo que convertirá a la bacteria en una máquina productora de virus. Sin embargo, en el último paso de replicación, la bacteria está completamente llena de nuevos fagos, pero estos no pueden escapar ya que la pared celular de la bacteria se mantiene todavía intacta. Por lo tanto, otras proteínas fágicas, llamadas holinas y endolisinas, entran en escena. Las endolisinas digieren la capa de peptidoglicano, provocando la lisis del hospedador y la liberación de la progenie viral.

Diapositiva 4

Así, los nuevos fagos son producidos, pero no pueden escapar del interior de la bacteria. Las endolisinas también se han producido pero tampoco pueden llegar hasta el peptidoglicano porque la membrana citoplasmática le impide el acceso. Por lo tanto, una proteína fágica, llamada holina, forma poros en la membrana citoplasmática a través de los cuales las endolisinas pueden pasar. Una vez que llegan a la capa de peptidoglicano, las endolisinas comienzan a degradarlo hasta que se debilita de tal modo que la célula lisa espontáneamente, y se liberan los nuevos fagos. En general, las endolisinas poseen dos dominios: un dominio de unión a la pared celular o CBD, que reconoce una diana específica en el peptidoglicano y que se representa como una mano. Si el CBD no se une, la mano estará abierta. Cuando el CBD reconoce una diana específica, se unirá a ella y la mano se cerrará. El segundo dominio es el dominio enzimático activo o EAD que degradará el peptidoglicano y se representa con un "come-cocos" o "pac-man". En la última figura, podéis apreciar las diferentes actividades enzimáticas de las endolisinas.

Diapositiva 5

Como ya hemos comentado, las bacterias se están volviendo más y más resistentes a los antibióticos. Por esta razón, se investigan nuevos tratamientos antibacterianos y el uso de las endolisinas es muy prometedor. Al inicio de este siglo, se descubrió que las endolisinas suministradas desde fuera podían lisar bacterias Gram positivas tan fácilmente como si lo

hiciesen desde dentro. En este caso, el concepto es el mismo, si la capa de peptidoglicano se degrada suficientemente, la bacteria se lisará. Se han observado en la naturaleza diversas arquitecturas: varios EADs o CBDs pueden estar presentes, EADs o CBDs pueden orientarse de forma diferente.

Diapositiva 6

Desafortunadamente, las endolisinas naturales tienen una actividad limitada frente a bacterias Gram negativas cuando se añaden desde fuera. Esto es debido a la otra membrana que forma una barrera impermeable a prácticamente cualquier cosa. Recientemente, esta barrera pudo ser abordada modificando las endolisinas mediante ingeniería de proteínas, combinando el mecanismo de auto-transporte de péptidos permeabilizantes de la membrana externa con las actividades degradadoras del peptidoglicano de las endolisinas y así ampliar el uso de las endolisinas. En este vídeo, podéis observar una Artilisina trabajando sobre una cepa de *Pseudomonas* multiresistente. El péptido permeabilizante de la membrana externa interferirá con las fuerzas que estabilizan la membrana externa y se encajará en la membrana. Así, arrastrará también la parte constituida por la endolisina con su EAD y CBD a través de la membrana externa. Una vez que alcanza la fina capa de peptidoglicano de la bacteria Gram negativa, la endolisina comenzará a degradarla, provocando la lisis y la muerte de la bacteria.

Diapositiva 7

Las endolisinas han demostrado tener beneficios adicionales: el más importante es que las bacterias no pueden volverse resistentes a ellas; las endolisinas trabajan muy deprisa, en cuestión de segundos y solo actúan sobre los microbios malos, sin causar ningún daño a los beneficiosos. Además, dado que las endolisinas disponen de varios módulos, podemos intercambiarlos y crear endolisinas con otros espectros de acción, incrementar su termoestabilidad o su vida útil.