

ACT toxina eta mintzeko kolesterolaren arteko elkarrekintzen azterketa

Amuategi J¹., Benito A¹., González D., Alonso R¹., Martín C¹. eta Ostolaza H.¹

¹Biokimika eta Biologia Molekularra saila eta Biofisika Institutua (UPV/EHU, CSIC)

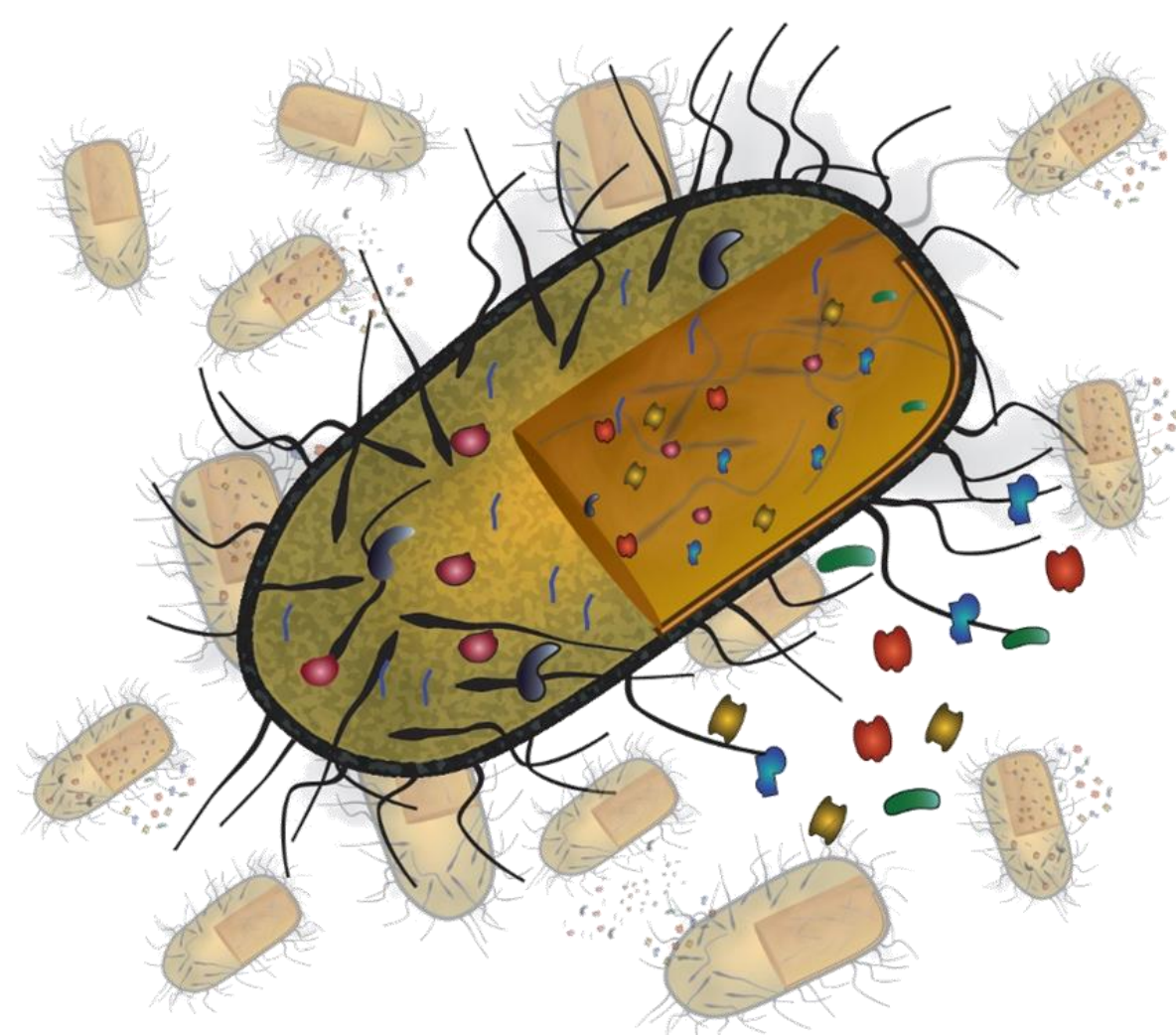
SARRERA

Gaixotasun kutsakorren artean, arnasbideetako infekzioak dira munduan heriotza gehien eragiten dituztenak, eta horren adibide da COVID-19 birusa. 2019an ia 3 milioi pertsona hil ziren behe arnasbideetako gaixotasunen ondorioz¹.

Gizakiak kaltetzen dituzten gaixotasunen artean, *Bordetella pertussis* bakterio patogenoak kukutxetula eragiten du². Helduen kasuan ez da oso arriskutsua izaten: etengabeko ezul gertakari zakarrak, arnasa hartzeko zailtasuna, goragalea edota sukarra eragiten ditu. Bestalde, haur jaioberrietan heriotza eragin dezake. Kukutxetula fase goiztiar batean gairitu ez duten gaixok bigarren mailako pneumonia bezalako konplikazioak garatu ditzakete, horixe izaten delarik kukutxetulaz hiltzen diren gehienek arrazoi nagusia³.

Biztanleriaren % 95 inguruk txertoa jaso duen arren, azken urteetan kukutxetul kasuen igoera nabarmena erregistratu da hainbat herrialdetan. Hori dela eta, Osasunaren Mundu Erakundeak (OME) gaixotasunaren gorakada mundu mailan gertatzen ari dela onartu behar izan du⁴. Espainiari dagokionez, 2015ean EAE izan zen kukutxetul kasu gehien erregistratu zituen autonomia erkidegoa⁵.

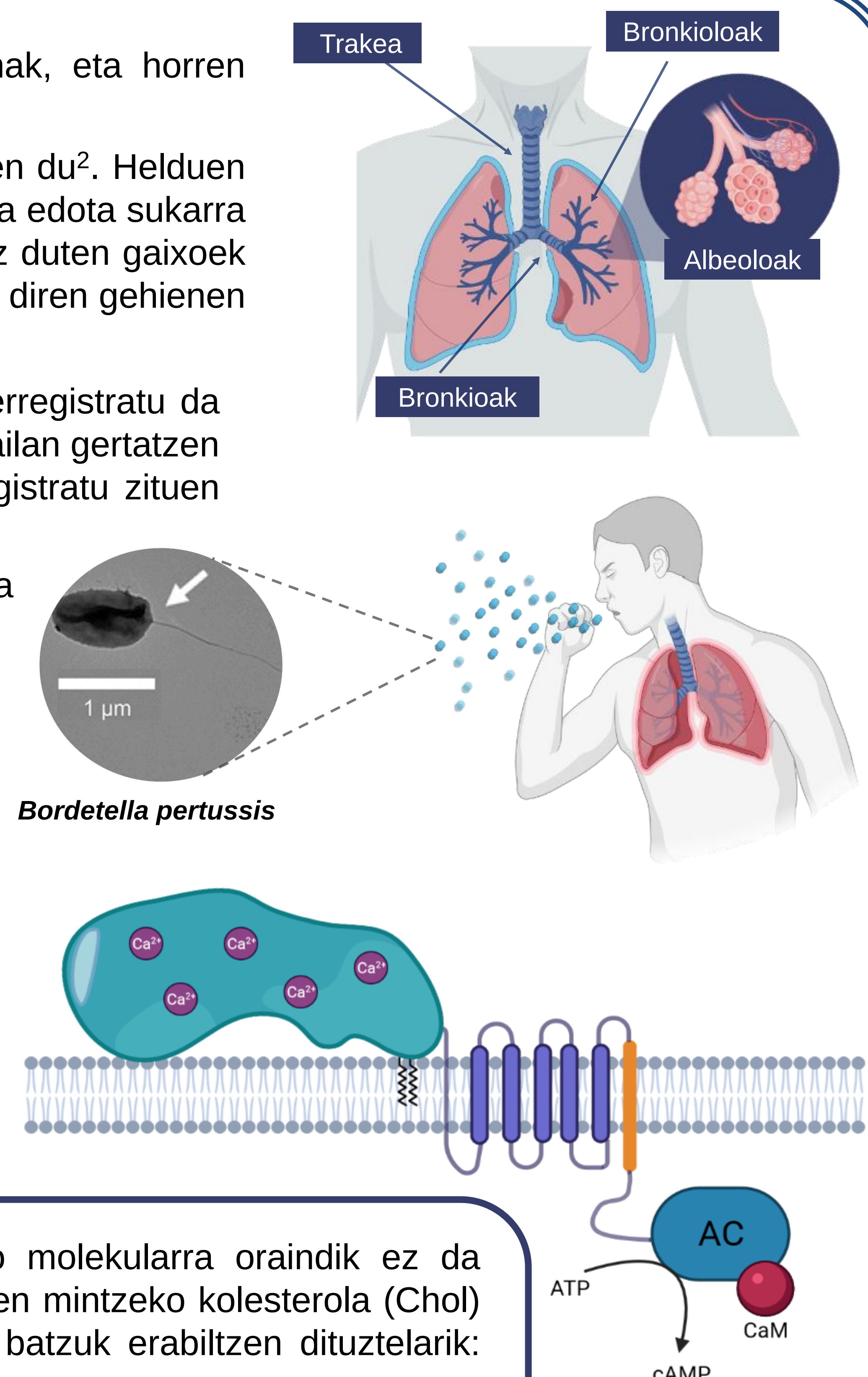
Bakterio honek infekzioarako erabiltzen dituen birulentzia faktoreetako bat Adenilato Ziklasa Toxina-hemolisina (ACTa) da. Immunitate sistemako zelula batzuk espezifikoki kaltetzeko daukan gaitasunari esker, ostalariaren erantzun immunea gutxitzen du.



- Hemaglutinina haritsua (FHA)
- Pertaktina (PRN)
- Lipopolisakaridoa
- Toxina Pertusikoa (PT)
- Adenilato Ziklasa Toxina (ACT)
- Toxina Dermonekrotikoa (DNT)
- Trakeako zitotoxina (TCT)

ACTak bere jardura zitotoxikoa emendatzeko bi funtzio independente dauka: aktibitate entzimatikoa eta poroak eratzeko gaitasuna⁶.

Aktibitate entzimatikoa gauzatzeko zelula eukariotoaren barneko itu molekularretara sarbidea izan behar du. Horretarako, domeinu katalitikoa zelula ostalariaren zitostolera zuzenean translokatzeko du⁶.



ARLOKO EGOERA

Hamarkada askotako ikerketaren ostean, toxina honek zelularen inbasiorako erabiltzen duen mekanismo molekularra oraindik ez da zehaztasunez deskribatu. Zenbait patogenok, eta haiek ekoiztutako birulentzia-faktore batzuek, zelula ostalariaren mintzeko kolesterola (Chol) ezagutu eta hari lotzeko abilezia garatu dute, horretarako kolesterolarekin elkar eragiten duten sekuentzia batzuk erabiltzen dituztelarik: *Cholesterol Recognition/interaction Amino acid Consensus* (CRAC)^{7,8,9}.

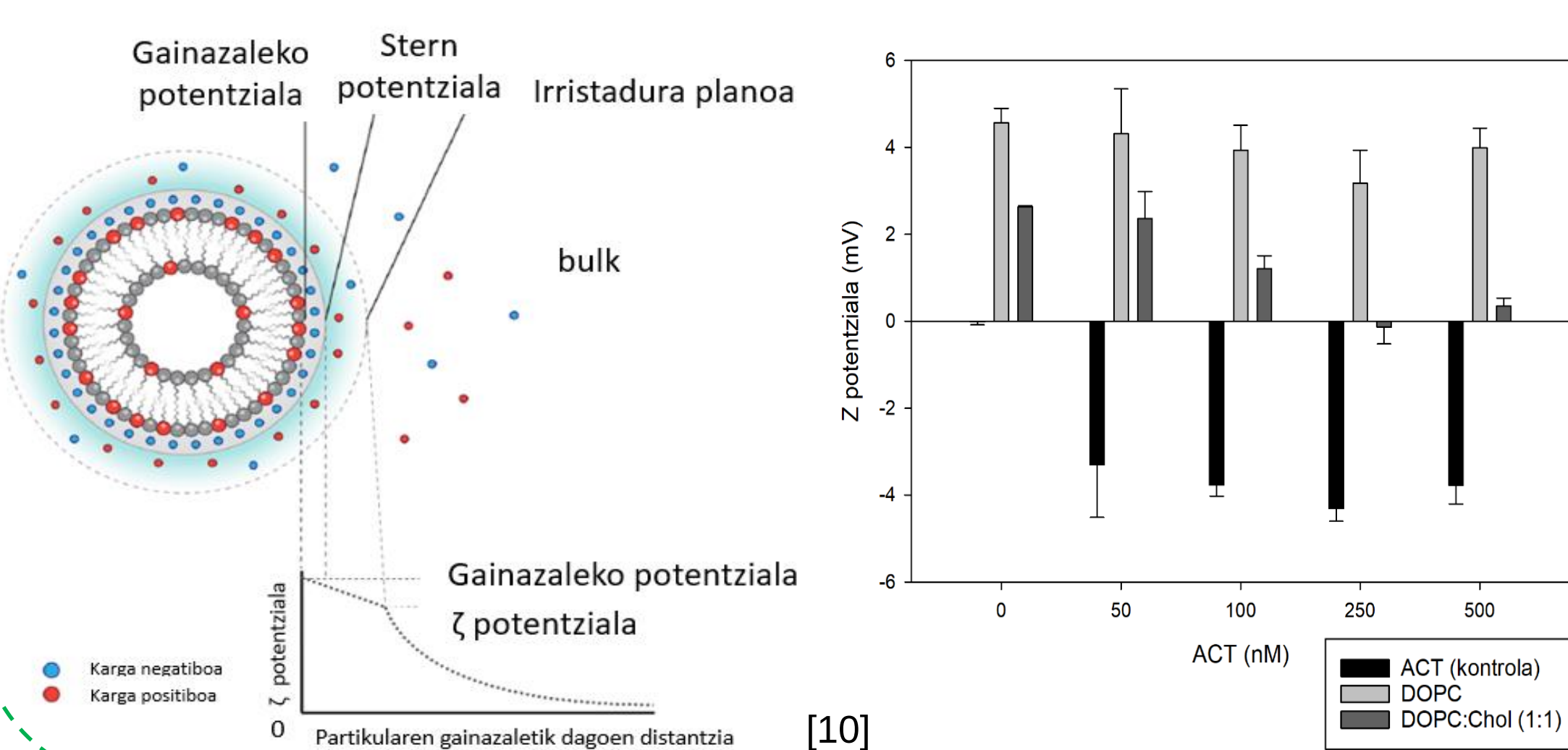
Hortaz, antzekotasunagatik ACTak ere CRAC motiboak izan ditzakeela iradoki genezake. Laborategiko aurretiazko emaitzei esker ondorioztatu genuen kolesterolak eragina zuela mintzaren eta ACTaren arteko elkarrekintzan. Gainera, kolesterolak AC domeinuaren translokazioa erraztu zezakeela iradoki genuen.

HELBURUAK

- Kolesterolak aktibitate poro-eragilean zein inplikazio duen aztertzea
- ACTaren eta mintzeko kolesterolaren artean elkarrekintza espezifikoa egon litekeela frogatzea.

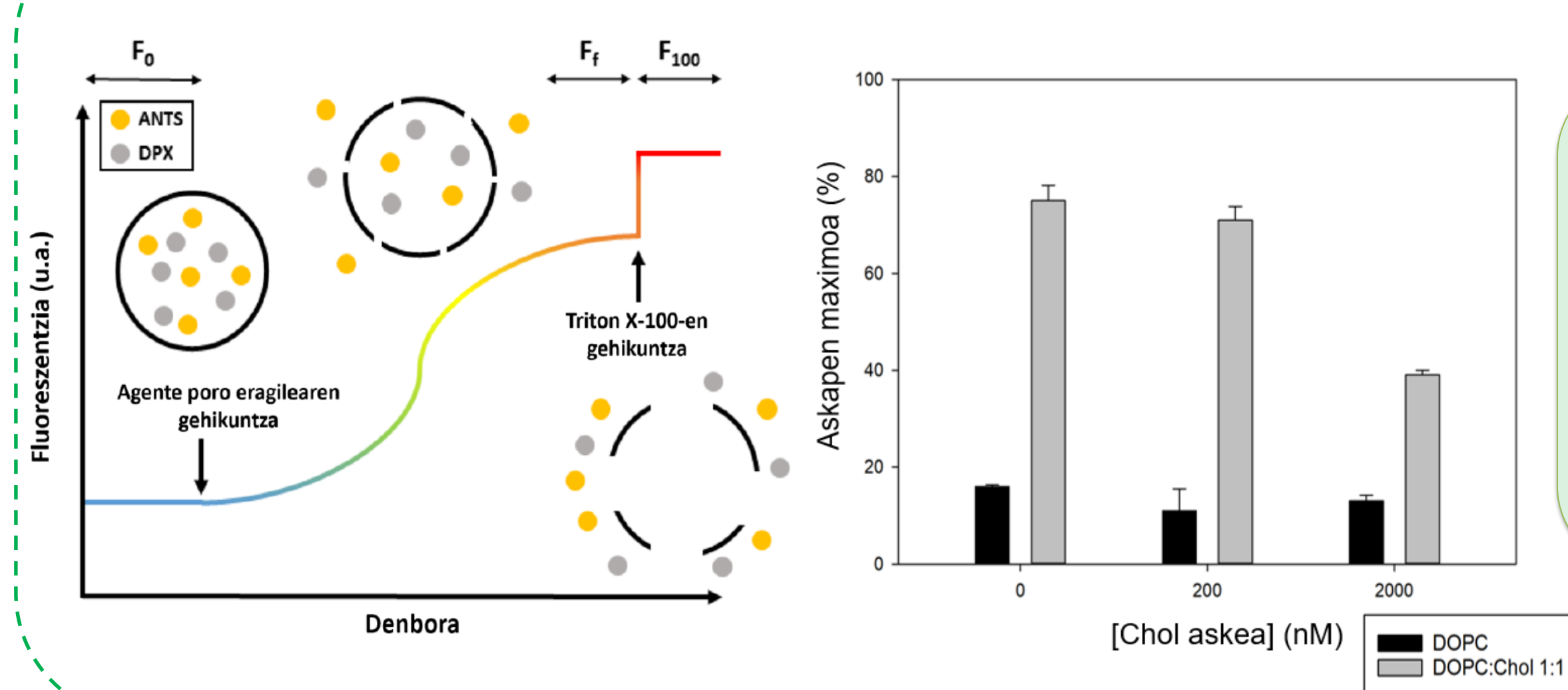
IKERKETAREN MUINA

1. ACTak kolesterola duten mintzekiko lehentasuna du



ACTa DOPC eta DOPC:Chol 1:1 konposizioan mintzekin elkarrekintzak izateko gai da. Baina kolesteroldun mintzekiko afinitate handiagoa du.

2. Kolesterol askeak ACTa eta LUVen arteko elkarrekintza oztopatzen du



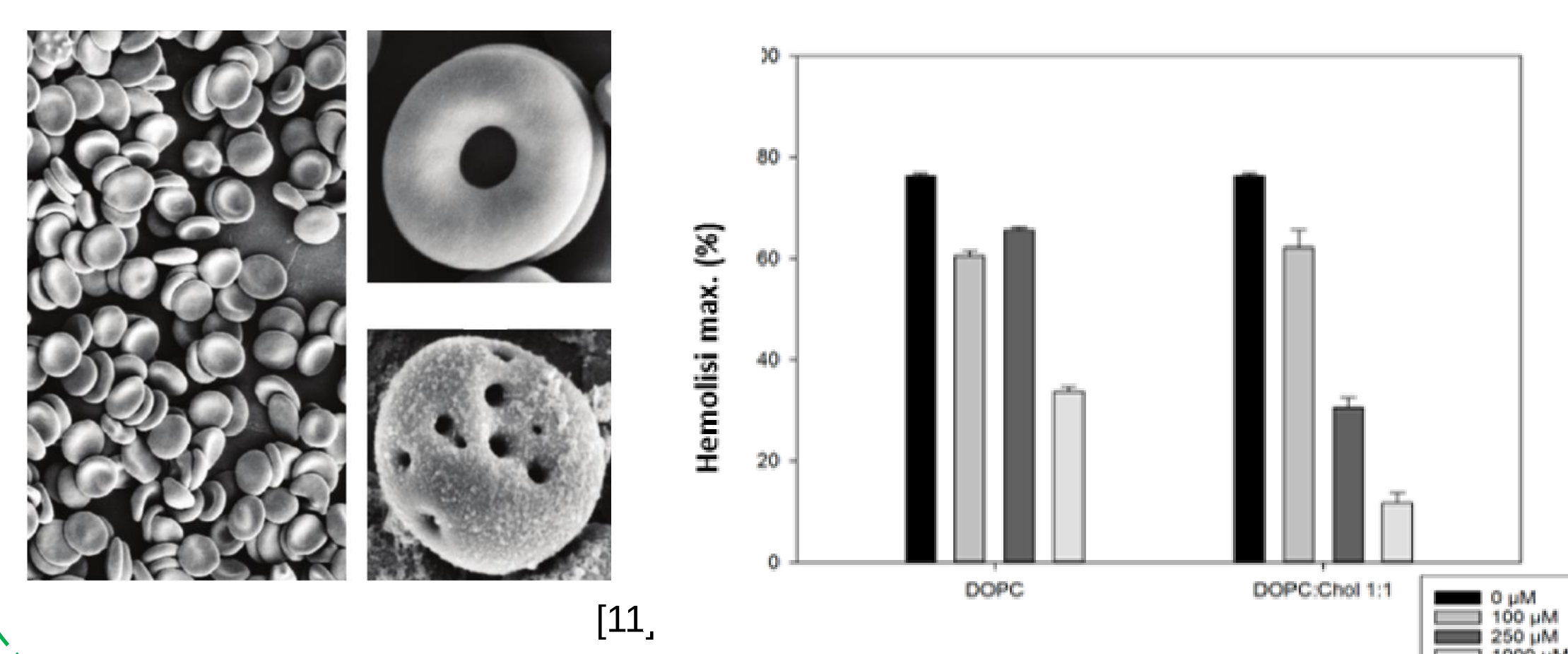
DOPC:Chol 1:1 konposizioan liposomak erabiliz askapen portzentaje altuagoak eskuratu dira. Baina kolesterol askeak ACTaren eta LUVen arteko elkarrekintza nabarmen oztopatzen du.

ONDORIOAK

ACTak kolesterol proportzio altuak dituzten mintzekiko afinitate handia du. Gainera, kanpotik kolesterol askea gehitzean, ACTak mintzak desegonkortzeko eta eritrozitoen hemolisia eragiteko daukan gaitasuna murrizten da. Hortaz, proteinak kolesterolarekiko duen afinitateak kolesterola ezagutu eta hari lotzen zaion sekuentziaren bat, gutxienez, izan dezakeela pentsarazten digu.

Etorkizunean motibo hauek toxina eta mintzaren arteko elkarrekintzan duten garrantzia ikertu nahi da.

3. Kolesterolaren lotura inhibitzeak ACTak eragindako hemolisia gutxitzen du



Kontzentrazioa igo ahala, kolesterola duten LUVen presentziak portzentajeak nabarmen murrizten ditu.

ERREFERENTZIAK

- The top 10 causes of death, World Health Organization (WHO): <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (2021-02-01)
- Argondizo-Correia, C., Rodrigues, A.K.S., and de Brito, C.A. (2019). Neonatal Immunity to *Bordetella pertussis* Infection and Current Prevention Strategies. *J. Immunol. Res.* 2019, 1–10.
- Kilgore, P. E., Salim, A. M., Zervos, M. J., & Schmitt, H.-J. (2016). Pertussis: Microbiology, Disease, Treatment, and Prevention. *Clinical Microbiology Reviews*, 29(3), 449–486.
- Pertussis, WHO: <https://www.who.int/immunization/diseases/pertussis/en/> (2021-02-01)
- Tosferina. Adaptación de los protocolos de la RENAVE, Osakidetza: https://www.osakidetza.euskadi.eus/contenidos/informacion/vigilancia_protocolos/es_def/adjuntos/Tosferina_cast_01-03-18.pdf (2021-02-01)
- Ladant, D., and Ullmann, A. (1999). *Bordetella pertussis* adenylate cyclase: A toxin with multiple talents. *Trends Microbiol.* 7, 172–176.
- Epand, R. F., Thomas, A., Brasseur, R., Vishwanathan, S. A., Hunter, E., & Epand, R. M. (2006). Juxtamembrane protein segments that contribute to recruitment of cholesterol into domains. *Biochemistry*, 45(19), 6105–6114.
- Fantini, J., Di Scala, C., Evans, L. S., Williamson, P. T. F., & Barrantes, F. J. (2016). A mirror code for protein-cholesterol interactions in the two leaflets of biological membranes. *Scientific Reports*, 6(1), 1–14.
- Fantini, J., & Barrantes, F. J. (2013). How cholesterol interacts with membrane proteins: an exploration of cholesterol-binding sites including CRAC, CARC, and tilted domains. *Frontiers in Physiology*, 4, 31.
- Smith, M.C., Crist, R.M., Clogston, J.D., and McNeil, S.E. (2017). Zeta potential: a case study of cationic, anionic, and neutral liposomes. *Anal. Bioanal. Chem.* 409, 5779–5787.
- Mustafa, I., Al Marwani, A., Mamdouh Nasr, K., Abdulla Kano, N., and Hadwan, T. (2016). Time Dependent Assessment of Morphological Changes: Leukodepleted Packed Red Blood Cells Stored in SAGM. *Biomed Res. Int.* 2016, 1–7.