

EFECTO DE LOS FRAGMENTOS C DE LA TOXINA DEL TÉTANO SOBRE ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

Johanna Montiel-Guzmán

Escuela de Biología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla,

Edif. 112A, Puebla, Pue. 72570, México

jojomntl@gmail.com

ABSTRACT

The central nervous system (CNS) is one of the most important and vital systems for living beings and for humans, where it is possible to see the amount of information that is transmitted by synapse. Because of its importance, diseases that may affect its performance are extremely serious and are painstakingly studied. These diseases are known as neurodegenerative diseases, and Alzheimer's disease, Huntington's disease, Lewy body disease, and Parkinson's disease are among the most frequent ones. It is necessary to get to know what they consist of and how they interact with tetanus toxin C fragment, which is an effective tool to fight against them or to repair the neurological mechanisms that have been damaged by them. Finally, the active areas and the expectations to fight against these neurodegenerative diseases will be analyzed.

Keywords: Disease, Neurodegenerative Diseases, Tetanus Toxin C Fragment, Central Nervous System, Defense, Mechanism

RESUMEN

El sistema nervioso central (SNC) es uno de los sistemas más importantes y vitales de los seres vivos y del ser humano, en el cual podemos observar la cantidad de información que es transmitida mediante la sinapsis. Dado que es un sistema importante, las enfermedades que puedan afectar su desempeño son de alta gravedad y por lo tanto son estudiadas

minuciosamente. A estas enfermedades se les denomina enfermedades neurodegenerativas y entre las más comunes tenemos enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, demencia con cuerpos de Lewy y mal de Parkinson. Es necesario conocer en qué consisten y cómo interactúan con el fragmento C de la toxina del tétano, que es una herramienta efectiva para combatir las o reactivar los mecanismos neurológicos que se han perdido a causa de la enfermedad. Finalmente, se analizarán los sitios activos y las esperanzas para poder combatir estas enfermedades neurodegenerativas.

Palabras clave: Enfermedad, Enfermedades Neurodegenerativas, Fragmento C de la Toxina del Tétano, Sistema Nervioso Central, Defensa, Mecanismo

INTRODUCCIÓN

El sistema nervioso central (SNC) es esencial en la vida de los seres vivos. En los seres humanos está constituido por el encéfalo y la médula espinal. Este sistema es sumamente delicado y por eso se encuentra protegido por tres membranas: duramadre, aracnoides y piamadre. La duramadre es de naturaleza fibrosa, está profundamente relacionada con la parte ósea de la cavidad craneana y es la membrana más gruesa de las tres. La aracnoides es una membrana muy delgada y delicada que se sitúa entre la duramadre y la piamadre. La piamadre desarrolla funciones como el intercambio de sustancias por medio de un líquido incoloro y también es la vía para desechar

productos residuales. Cuando podemos observarlo, el sistema nervioso central se divide en dos colores, gris y blanco. La sustancia gris compone los cuerpos neuronales y la sustancia blanca constituye las prolongaciones nerviosas como las dendritas y los axones. Su función principal es recibir y procesar sensaciones recogidas de los diferentes sentidos del cuerpo. Este es uno de los sistemas vitales para los seres humanos, así que al hablar de las enfermedades que lo afectan y de la pérdida de su equilibrio, al igual que en otros sistemas que constituyen al cuerpo, se proporciona la definición de neurodegeneración.

La neurodegeneración es un proceso de muerte neuronal idiopática progresiva,

que generalmente ocurre en una distribución selectiva que a menudo implica vías funcionalmente relacionadas (William & Young, 1992). Esto implica la pérdida o muerte neuronal desde la etapa fetal hasta el envejecimiento de un organismo. El término también ha sido asociado con la anormalidad, dado que es un proceso que no sucede en todos los seres humanos y que puede ocurrir de manera inexplicable.

TIPOS DE ENFERMEDADES

NEURODEGENERATIVAS

Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por el lugar en donde la muerte neuronal ocurre. Esta característica afecta a diferentes partes del SNC causando múltiples síntomas y atrofiando actividades y funcionalidades que realizaban dichas partes del sistema. Muchas de estas enfermedades pueden ser hereditarias, pero aún no existe un diagnóstico exacto aparte de la secuenciación del genoma de la persona para saber si existe o no el gen de dicha enfermedad en el organismo. Entre las enfermedades más comunes están:

- Enfermedad de Alzheimer
- Enfermedad de Huntington
- Demencia con cuerpos de Lewy
- Mal de Parkinson

Enfermedad de Alzheimer

Esta enfermedad sucede a partir de la formación de placas seniles y ovillos neurofibrilares que se ubican en la corteza cerebral y consiste en la pérdida neuronal y sináptica. La demencia es el efecto de la pérdida neuronal e implica el desarrollo de varios déficits cognoscitivos, los cuales pueden ser lenguaje, praxis, funciones ejecutivas y memoria. La demencia es el resultado más común de esta enfermedad generando del 60 al 80% de los casos que están relacionados con Alzheimer. Esta enfermedad no es considerada como parte normal del envejecimiento. Una de sus características es el empeoramiento del deterioro a medida que pasa el tiempo y por ello se le considera una enfermedad progresiva. En imágenes que se han obtenido de pacientes con Alzheimer (Figura 1) se puede notar el deterioro y las partes del cerebro afectadas, ofreciendo un panorama más amplio.

Alzheimer's disease

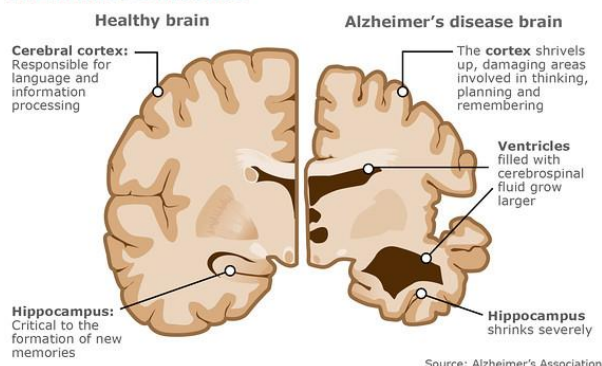


Figura 1. Ilustración del deterioro en el cerebro. Enfermedad de Alzheimer—Cerebro saludable—Corteza cerebral: Responsable del lenguaje y del procesamiento de información—Hipocampo: Importante para la formación de recuerdos nuevos—Cerebro con enfermedad de Alzheimer—La corteza se marchita, afectando áreas involucradas en el pensamiento, la planeación y los recuerdos—Los ventrículos llenos de líquido cerebrospinal se hacen más grandes—El hipocampo se encoge de manera severa—Fuente: Asociación en contra de la Enfermedad de Alzheimer

Enfermedad de Huntington

Esta enfermedad es causada por un defecto genético en el cromosoma 4, así

que es hereditaria. Afecta a las células del núcleo caudado y el putamen (Figura 2). Puesto que esta enfermedad afecta la capacidad de movimiento desde el rostro hasta las piernas, es considerada una enfermedad neurodegenerativa motora.

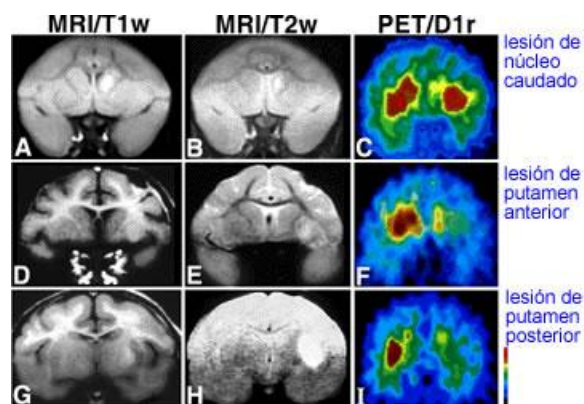


Figura 2. Imágenes en RNM en T1 (Tiempo 1) y T2 (Tiempo 2) y en PET de la enfermedad de Huntington tomadas en Corea, en las que se aprecian las lesiones del núcleo caudado y del putamen. Imágenes reproducidas de: Anna-Liisa Brownell, Physics Research, Edwards-5. Massachusetts General Hospital. Boston, Estados Unidos. ABrownell@Partners.org

Incluso así, se considera dentro de esta lista ya que el deterioro es mental y los efectos secundarios están relacionados con el movimiento. También existen déficits cognoscitivos que tienen que ver

con la memoria y la capacidad de aprendizaje, el razonamiento, la organización y la planificación. Esta enfermedad es sumamente estudiada debido a que los blancos terapéuticos se encuentran dentro del SNC, produciendo dificultades para encontrar la cura.

Demencia con Cuerpos de Lewy

Se le denomina así a la creación de estructuras proteicas redondas y lisas llamadas cuerpos de Lewy, que se encuentran en la parte del cerebro dañado (Figura 3). Normalmente se distribuyen por la capa exterior y en la zona profunda del cerebro medio o del tronco cerebral.

Esta enfermedad fue descrita por el Dr. Friederich Heinrich Lewy en 1912 como la causa más común de demencia. Esta enfermedad representa el 20% de los siete millones de casos de demencia que existen en los Estados Unidos de América.inglé

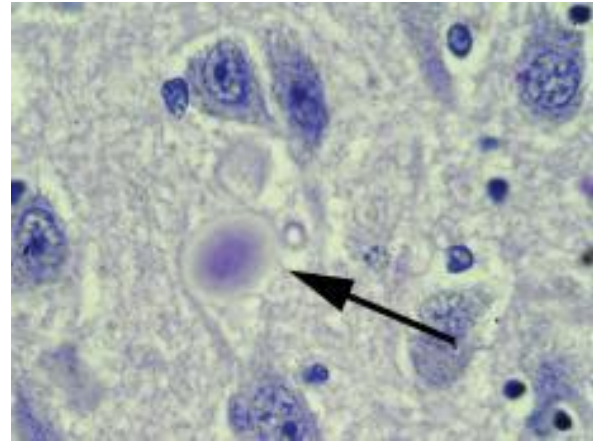


Figura 3. Cuerpos de Lewy

Mal de Parkinson

Esta enfermedad se define como un síndrome complejo simplificado por un enfoque científico como una deficiencia de dopamina (DA) causada por la degeneración de las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales (Moreno et al., 2009). Es una enfermedad que afecta a las células nerviosas, sucede en la sustancia negra (SN), tiene como característica generar cuerpos de inclusión (Figura 4) y se debe a la muerte progresiva de las neuronas en una parte del cerebro que se denomina parte compacta. Al tener estos cuerpos de inclusión, la producción de la síntesis de dopamina es afectada y tiene consecuencias como la disfunción o la desregulación de algunas estructuras

cerebrales que están implicadas en el control de movimiento.

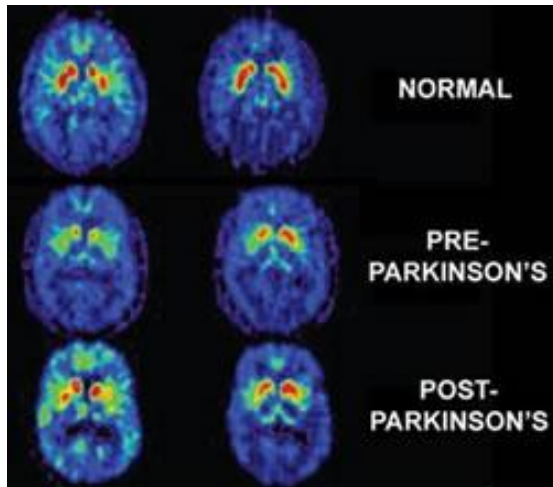


Figura 4. Comparación del cerebro mediante tomografía por emisión de positrones (PET, por sus siglas en inglés). Cerebro normal—Cerebro antes del mal de Parkinson—Cerebro después del mal de Parkinson.

Por esta razón, uno de los síntomas que caracteriza a esta enfermedad es la torpeza del movimiento de los músculos que puede conducir a la inmovilidad de algunos miembros. Sin embargo, no sólo es una enfermedad netamente de afectación del movimiento sino también afecta partes del cerebro que se encargan de las emociones, produciendo ansiedad, depresión y apatía. Asimismo, existe deterioro cognoscitivo y en algunos casos

la memoria del paciente sufre afectaciones.

INTERACCIÓN DEL FRAGMENTO C DE LA TOXINA DEL TÉTANO CON EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (SNC)

¿Qué es y dónde se produce?

El fragmento C de la Toxina del Tétano (TTC) es una parte no tóxica de la toxina que se obtiene a partir de la neurotoxina original. Ésta es producida en *Clostridium tetan* (Figura 5), que es una bacteria Gram positiva que tiene como hábitats el suelo y la materia orgánica. El TTC (Figura 6) es una neurotoxina potente responsable de los síntomas del tétano, ya sea proporcionada como una proteína o codificada por un plásmido de ADN desnudo no viral que une terminales de neuronas motoras pre-sinápticas y puede facilitar el transporte axonal retrógrado de la terapia de moléculas deseadas en el SNC (Toivonen, Oliván, y Osta, 2010).



Figura 5. *Clostridium tetani* con tinción de Gram.

Estructura de la TTC

La TTC está compuesta por dos cadenas polipeptídicas que se encuentran unidas por un enlace disulfuro. La cadena más pesada contiene dos sitios de interés para su estudio, los cuales son un sitio de unión con un dominio de translocación. El sitio de unión permite que la toxina sea aceptada o recibida por las neuronas sobre gangliosidos vinculantes (Sinha et al., 2000). El dominio de translocación funciona como transportador y permite que la toxina se mueva hacia el citosol. La cadena liviana es una endopeptidasa con zinc que es activada por enzimas que se sitúan en el citosol.

Interacciones de la TTC

La TTC tiene como objetivo interactuar con las proteínas integrales que existen en la membrana, tales como la sinaptobrevina, la cual participa en la liberación de neurotransmisores. En el caso de esta proteína, la cadena tiene actividad proteolítica en las sinapsis de las interneuronas inhibitorias. La importancia de esta toxina, o más bien fragmento, consiste en la gran utilidad que tiene en el SNC. Puede ser utilizada como marcador y portador de moléculas terapéuticas que pueden ser empleadas en diferentes enfermedades como la esclerosis lateral amiotrófica, la cual utiliza la TTC inyectada directamente al tejido intramuscular y muscular del cerebro como ADN desnudo (Moreno-Igoa et al., 2010), debido a que puede ser utilizada para dirigirse a una función específica o para ser marcador de la fisiología neuronal. La mayoría de estos experimentos se llevan a cabo in vitro o en modelos animales.

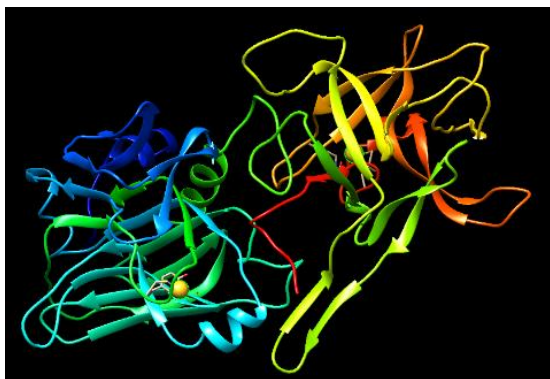


Figura 6. Toxina del Tétano vista mediante modelación, cristalizada con iones de oro. Las imágenes de las gráficas moleculares fueron producidas utilizando el paquete Chimera UCSF del Laboratorio Gráfico Computarizado de la Universidad de California en San Francisco (financiado por NIH P41 RR-01081).

ALCANCES TERAPÉUTICOS

Bassoon

La importancia de este método radica en que muchos sistemas sensoriales, tales como los sistemas vestibular (Arenz et al., 2008; Bagnall et al., 2008), propioceptivo (van Kan et al., 1993), somatosensorial (Jönntell y Ekerot, 2006), auditivo (Lorteije et al., 2009) y visual (Azouz et al., 1997), explotan una amplia banda ancha de frecuencias potenciales de acción para representar la información como códigos sustentados de clasificación (Fejtova et

al., 2010). Esto quiere decir que la mayoría de las reacciones o señalizaciones que ocurren en el cerebro son vistas mediante impulsos y normalmente se encuentran asociadas a proteínas. Hasta el año 2010, se habían encontrado cinco familias proteicas que participan en estas actividades neuronales (Kaeser et al., 2009; Schoch y Gundelfinger, 2006). Es allí donde interviene 'Bassoon' que es una proteína con un peso de alrededor de 400kDa que participa en el complejo del sitio activo de sinapsis excitatoria e inhibitoria. Esto ha conducido a que se generen estudios sobre los cuales se pueden observar las interacciones que esta proteína tiene en el proceso de sinapsis. En el 2010, Fejtova et al. realizaron estos estudios analizados mediante Western Blot y con simulación de las vías sinápticas. Los datos sugieren que dicha proteína ayuda a establecer una conexión más rápida, pero que también existen diferentes isoformas dentro de dichas vías, las cuales pueden cumplir la función, pero con menor efectividad. También se concluyó que el sistema auditivo sufre afectaciones al realizar un

‘knock out’¹ de los exones que codifican la proteína. Es por eso que en el caso de Bassoon se puede observar la importancia de los sitios activos proteicos y cómo estos influyen en diferentes procesos neurológicos, lo cual abre la posibilidad de ser una terapia o poder reconstruir enlaces sinápticos que a causa de diferentes enfermedades hayan desaparecido.

Homodímeros de APP

Estos se pueden definir como aquella acumulación de péptidos amiloides-b (Aβ), las enzimas proteolíticas de la proteína precursora amiloidea (APP, por sus siglas en inglés), que induce una variedad de disfunciones sinápticas que oscilan de la hiperactividad a la depresión que se cree causan deterioro cognoscitivo en la enfermedad de Alzheimer (Fogel et al., 2014). Este avance da una oportunidad para poder activar la sinapsis perdida en el caso específico de la enfermedad de Alzheimer, haciendo uso de una proteína en donde encontramos un componente proteico que se une a la proteína

precursora amiloidea (PPA), la cual se llama Aβ40 que es un monómero que se une a la proteína mencionada y forma un complejo que activa la expresión de APP. Ésta constituye un receptor pre-sináptico que traduce la señal producida por el homodímero Aβ40 y produce glutamato. Dicho proceso es benéfico para la retroalimentación que contribuye a la hiperactividad del hipocampo en la enfermedad de Alzheimer.

CONCLUSIÓN

Las enfermedades neurodegenerativas se encuentran dentro de un grupo de enfermedades que no tienen cura o sólo existen fármacos paliativos de los efectos que las mismas causan. Por esta razón, el fragmento C representa un gran avance científico puesto que proporciona un nuevo panorama de lo que se puede lograr con el tiempo y, a medida que éste avanza, se encuentran nuevos mecanismos de acción y, aunque no se pueda implementar la toxina directamente, ésta proporciona un mecanismo que podría dar como resultado una solución a dichas

¹ Silenciamiento de un gen mediante técnicas de biología molecular

enfermedades, ya que no sólo es importante saber qué es la toxina y cómo se produce, sino qué es lo que causa y cómo interactúa. Asimismo, muestra que no todas las moléculas actúan como un todo, sino que el uso específico del sitio activo tiene muchos beneficios.

El fragmento C de la toxina del tétano es una herramienta más que permite comenzar a construir las bases para un futuro con más posibilidades de hallar una cura.

REFERENCIAS

- Colhado, O. C. G.; Boeing, M.; y Ortega, L. B. (2009). Botulinum Toxin in Pain Treatment. *Brazilian Journal of Anesthesiology*, 59 (3), 366–381. <http://doi.org/10.1590/S0034-70942009000300013>
- Coppola, J. M.; Bhojani, M. S.; Ross, B. D.; y Rehemtulla, A. (2008). A Small-Molecule Furin Inhibitor Inhibits Cancer Cell Motility and Invasiveness. *Neoplasia*, 10 (4), 363–370. <http://doi.org/10.1593/neo.08166>
- Fejtova, A.; Schmidt, H.; Weyhersmüller, A.; Silver, R. A.; Gundelfinger, E. D.; y Eilers, J. (2010). Bassoon speeds vesicle reloading at a central excitatory synapse. *Neuron*, 68 (4), 710–723. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.10.026>
- Fogel, H.; Frere, S.; Segev, O.; Bharill, S.; Shapira, I.; Gazit, N.; ... Slutsky, I. (2014). APP homodimers transduce an amyloid- β -mediated increase in release probability at excitatory synapses. *Cell Reports*, 7 (5), 1560–1576. <http://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.04.024>
- Foster, E.; Wildner, H.; Tudeau, L.; Haueter, S.; William, T.; Jegen, M.; ... Zeilhofer, H. U. U. (2015). Targeted Ablation, Silencing, and Activation Establish Glycinergic Dorsal Horn Neurons as Key Components of a Spinal Gate for Pain and Itch. *Neuron*, 85 (6), 1289–1304. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.02.028>
- Herreros, J.; Lalli, G.; y Schiavo, G. (2000). C-terminal half of tetanus toxin fragment C is sufficient for neuronal

- binding and interaction with a putative protein receptor. *The Biochemical Journal*, 347 Pt 1, 199–204. Recuperado de <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1220948&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Huber, A. K., e Irani, D. N. (2015). Is the concept of central nervous system immune privilege irrelevant in the setting of acute infection? *Frontiers in Oncology*, 5, 99. <http://doi.org/10.3389/fonc.2015.00099>
- Hussain, S., y Davanger, S. (2011). The discovery of the soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor complex and the molecular regulation of synaptic vesicle transmitter release: the 2010 Kavli Prize in neuroscience. *Neuroscience*, 190, 12–20. <http://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.05.057>
- Ino, D.; Sagara, H.; Suzuki, J.; Kanemaru, K.; Okubo, Y., e Iino, M. (2015). Neuronal Regulation of Schwann Cell Mitochondrial Ca²⁺ Signaling during Myelination. *Cell Reports*, 12 (12), 1951–1959. <http://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.08.039>
- Mendieta, L.; Venegas, B.; Moreno, N.; Patricio, A.; Martínez, I.; Aguilera, J.; y Limón, I. D. (2009). The carboxyl-terminal domain of the heavy chain of tetanus toxin prevents dopaminergic degeneration and improves motor behavior in rats with striatal MPP⁺-lesions. *Neuroscience Research*, 65, 98–106. <http://doi.org/10.1016/j.neures.2009.06.001>
- Moreno-Igoa, M.; Calvo, A. C; Penas, C.; Manzano, R.; Oliván, S.; Muñoz, M. J.; ... Osta Pinzolas, R. (2010). Fragment C of tetanus toxin, more than a carrier. Novel perspectives in non-viral ALS gene therapy. *Journal of Molecular Medicine*, 88 (3), 297–308. <http://doi.org/10.1007/s00109-009-0556-y>
- Ramakrishnan, G.; Pedersen, K.; Guenette, D.; Sink, J.; Haque, R.; Petri, W. A.; ... Gilchrist, C. A. (2015).

Utility of recombinant fragment C for assessment of anti-tetanus antibodies in plasma. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 82 (1), 11–3. <http://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.01.016>

Sánchez-González, A.; Mendieta, L.; Palafox, V.; Candalija, A.; Luna, F.; Aguilera, J.; y Limón, D. (2014). The restorative effect of intramuscular injection of tetanus toxin C-fragment in hemiparkinsonian rats. *Neuroscience Research*, 84, 1–9. <http://doi.org/10.1016/j.neures.2014.04.008>

Siderowf, A.; Pontecorvo, M. J.; Shill, H. A.; Mintun, M. A.; Arora, A.; Joshi, A. D.; ... Sabbagh, M. N. (2014). PET imaging of amyloid with Florbetapir F 18 and PET imaging of dopamine degeneration with 18F-AV-133 (florbenazine) in patients with Alzheimer's disease and Lewy body disorders. *BMC Neurology*, 14, 79. <http://doi.org/10.1186/1471-2377-14-79>

Sinha, K.; Box, M.; Lalli, G.; Schiavo, G.;

Schneider, H.; Groves, M.; ... Fairweather, N. (2000). Analysis of mutants of tetanus toxin HC fragment: ganglioside binding, cell binding and retrograde axonal transport properties. *Molecular Microbiology*, 37 (5), 1041–1051. <http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2000.02091.x>

Toivonen, J. M.; Oliván, S.; y Osta, R. (2010). Tetanus Toxin C-Fragment: The Courier and the Cure? *Toxins*, 2 (11), 2622–2644. <http://doi.org/10.3390/toxins2112622>

Wood, P. L. (2006). Neurodegeneration and aldehyde load: from concept to therapeutics. *Journal of Psychiatry & Neuroscience: JPN*, 31 (5), 296–7. Recuperado de <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1557683&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

REFERENCIAS DE FIGURAS

Figura 1. Imagen de Enfermedad de Alzheimer.

The Morning Whistle Group. (2015). Alzheimer's Month. Recuperada de: <http://www.morningwhistle.com/website/news/2/47275.html> el 15 de septiembre de 2016 a las 19:15 horas.

Figura 2. Imagen de Huntington PET.

De la Vega, R. y Zambrano, A. (2015) RNM (Resonancia Nuclear Magnética) y PET (Tomografía por Emisión de Positrones) en enfermedad de Huntington. Recuperada de: <http://www.hipocampo.org/galeria/galeriaHuntington.asp> el 15 de septiembre de 2016 a las 19:20 horas.

Figura 3. Cuerpos de Lewy.

Family Caregiver Aliance. (2014). La Demencia con Cuerpos de Lewy (Dementia with Lewy Bodies). Recuperado de: <https://www.caregiver.org/la-demencia-con-cuerpos-de-lewy> el 15 de septiembre de 2016 a las 19:30 horas.

Figura 4. Imagen Cerebral de Parkinson.

REUTERS. (2012). More evidence ties diabetes to Parkinson's risk. Recuperado de: <http://www.reuters.com/article/2012/04/04/us-diabetes-parkinsons-idUSBRE8330TY20120404#xGhoWuj36GB>

[KByj1.97](#) el 15 de septiembre de 2016 a las 19:40 horas.

Figura 5. *Clostridium tetani* con tinción de Gram.

Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. (2012). *Clostridium tetani*. Recuperado de: <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Bacterias/Ficha%20Clostridium%20tetani.pdf> el 15 de septiembre de 2016 a las 19:50 horas.

Figura 6. Fragmento C de la Toxina del Tétano en Chimera.

Pettersen, E.F.; Goddard, T.D.; Huang, C.C.; Couch, G.S.; Greenblatt, D.M.; Meng, E.C.; y Ferrin, T.E. "UCSF Chimera—A Visualization System for Exploratory Research and Analysis." *J. Comput. Chem.* 25: 1605-1612 (2004). Código PDB: 1A8D. Recuperado de: <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explorable.do?structureId=1a8d> el 13 de septiembre de 2016 a las 17:00 horas.