



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
NUEVAS ESTRATEGIAS EN LA LUCHA
CONTRA LA RESISTENCIA A LOS
ANTIBIÓTICOS: INHIBICIÓN DEL QUORUM
SENSING**

Autor: Raquel Lozano Juzgado

Tutor: Lucía Monteoliva Díaz

Convocatoria: Junio

Índice.

1. Resumen.....	3
2. Introducción y antecedentes	3
2.1 Causas de la resistencia bacteriana	4
2.2 Estrategias frente a la resistencia bacteriana.....	5
3. Objetivos.....	7
4. Metodología.....	7
5. Resultados y discusión.....	8
5.1 Inhibidores del Quorum sensing como nuevas terapias antiinfecciosas.....	8
5.2 Ventajas e inconvenientes de los Inhibidores de la percepción del quorum.....	17
6. Conclusiones.....	19
7. Bibliografía.....	20

1. Resumen.

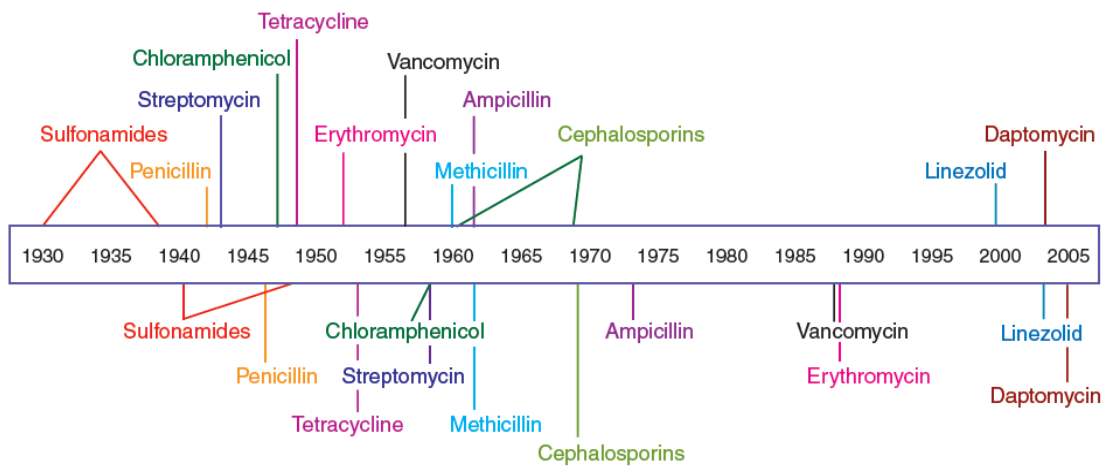
La creciente resistencia a los fármacos antimicrobianos supone un motivo de preocupación mundial. El uso generalizado de estos fármacos ha aumentado la resistencia a antibióticos en reservorios humanos, animales y en el medio ambiente, incluso entre bacterias que no eran dianas de los fármacos. En esta revisión se examinan diferentes estrategias terapéuticas que podrían ser empleadas en concierto con los antibióticos conocidos, ayudando a prolongar la vida útil de estos medicamentos y previniendo, o al menos retrasando la llegada de una era postantibiótica. Un ejemplo de ello son los Inhibidores de la percepción del quorum, fármacos dirigidos contra los factores de virulencia. Se revisan a continuación los sistemas de quorum sensing en bacterias Gram-positivas y Gram-negativas y se discuten distintas estrategias basadas en el bloqueo de diferentes componentes del circuito Quorum sensing de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

2. Introducción y antecedentes.

La historia de los antibióticos se remonta a principios del siglo XX, cuando la era de la quimioterapia cambió el mundo. Los antibióticos supusieron el éxito en el tratamiento de millones de pacientes que no podrían haber sobrevivido sin este descubrimiento. Sin embargo, el lustre de la era antimicrobiana pronto comenzó a decaer en la medida en que primero bacterias, luego hongos y posteriormente virus, comenzaron a desarrollar resistencias (1).

La penicilina, el primer antibiótico comercializado, fue descubierto en 1928 por Alexander Fleming, y aunque no fue distribuido hasta 1945, fue ampliamente utilizado en la Segunda Guerra Mundial, lo que explica la aparición de bacterias resistentes a la penicilina antes incluso de su comercialización. Tras la aparición de bacterias resistentes a la penicilina, se descubrieron, desarrollaron y desplegaron nuevos antibióticos, sin embargo, como se observa en la Figura 1, las resistencias siempre parecen estar al acecho.

Antibiotic deployment



Antibiotic resistance observed

Figura 1. Resistencia a antibióticos (19)

En efecto, décadas después de los primeros tratamientos antibióticos, las infecciones bacterianas vuelven a ser una amenaza, constituyendo una de las primeras causas de muerte a nivel mundial. Cada año en EE.UU., al menos dos millones de personas adquieren infecciones graves con bacterias resistentes, y veintitrés mil de ellas mueren como resultado directo de estas infecciones. En particular, la difusión de organismos multirresistentes “ESKAPE” (*Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* spp., *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Enterobacter* spp.) supone un gran desafío.

2.1 Causas de la resistencia bacteriana.

El desarrollo de la resistencia bacteriana ocurre naturalmente, como parte del proceso de adaptación biológica de las bacterias, sin embargo, el uso excesivo y/o inadecuado de los antimicrobianos en salud humana, sanidad animal y producción agroalimentaria ha acelerado notablemente este proceso.

El uso indiscriminado de antibióticos favorece la aparición y diseminación de cepas bacterianas resistentes. Sin embargo, el antibiótico no induce resistencia, solamente selecciona. La prescripción de antibióticos es inapropiada en un 30 – 50% de los casos, ya sea por la indicación, la elección del antibiótico o la duración del tratamiento. La primera fuente de uso excesivo es el uso empírico por parte de los clínicos, que se debe en gran parte a las deficiencias en el diagnóstico rápido y preciso de las enfermedades infecciosas y su patógeno causante, y lo más importante, la susceptibilidad del patógeno a la terapia antimicrobiana. Por otro lado, la automedicación sumada al incumplimiento de

la pauta terapéutica puede no afectar el resultado clínico inmediato, sin embargo, afectará a necesidades futuras cuando la tasa de microorganismos no susceptibles se vea aumentada.

En sanidad animal, los antibióticos son ampliamente utilizados para promover el crecimiento y prevenir infecciones en el ganado. Sin embargo, el uso de antibióticos en los animales mata o suprime las bacterias susceptibles mientras que las bacterias resistentes a los antibióticos prosperan, se transmiten a los seres humanos a través del consumo de alimentos, y causan infecciones que quizá no puedan ser tratadas con los antibióticos habituales.

Hasta el 90% de los antibióticos administrados al ganado se excretan en orina y en heces, dispersándose a través de fertilizantes, agua subterránea y escorrentía superficial. Esta práctica también contribuye a la exposición de microorganismos a los antibióticos, alterando la ecología ambiental y aumentando la proporción de microorganismos resistentes frente a los susceptibles.

En resumen, el uso generalizado de estos medicamentos ha aumentado la resistencia a antibióticos en reservorios humanos, reservorios animales y en el medio ambiente, incluso entre bacterias que no eran dianas de los fármacos. Desafortunadamente, el ritmo de desarrollo de antibióticos se ha estancado debido a obstáculos económicos y regulatorios. Puesto que los antibióticos se utilizan durante períodos relativamente cortos y a menudo son curativos, no son tan rentables como otros fármacos que tratan afecciones crónicas. Además, una vez comercializado el nuevo antibiótico, los médicos, en lugar de prescribirlo, suelen reservarlo para los peores casos, lo que conduce a un menor retorno de la inversión (2, 3).

2.2 Estrategias frente a la resistencia bacteriana.

Mientras que algunos grupos trabajan sin demasiado éxito en el desarrollo de nuevos antibióticos eficaces contra estas bacterias resistentes, es quizás el momento de replantearse la estrategia global antibacteriana. Nuevas estrategias como desarrollar compuestos que actúen en concierto con los antibióticos conocidos, ayudando a prolongar la vida útil de estos medicamentos y previniendo, o al menos retrasando la llegada de una era postantibiótica (2). Diferentes alternativas se encuentran en investigación, como son las representadas en la figura 2.

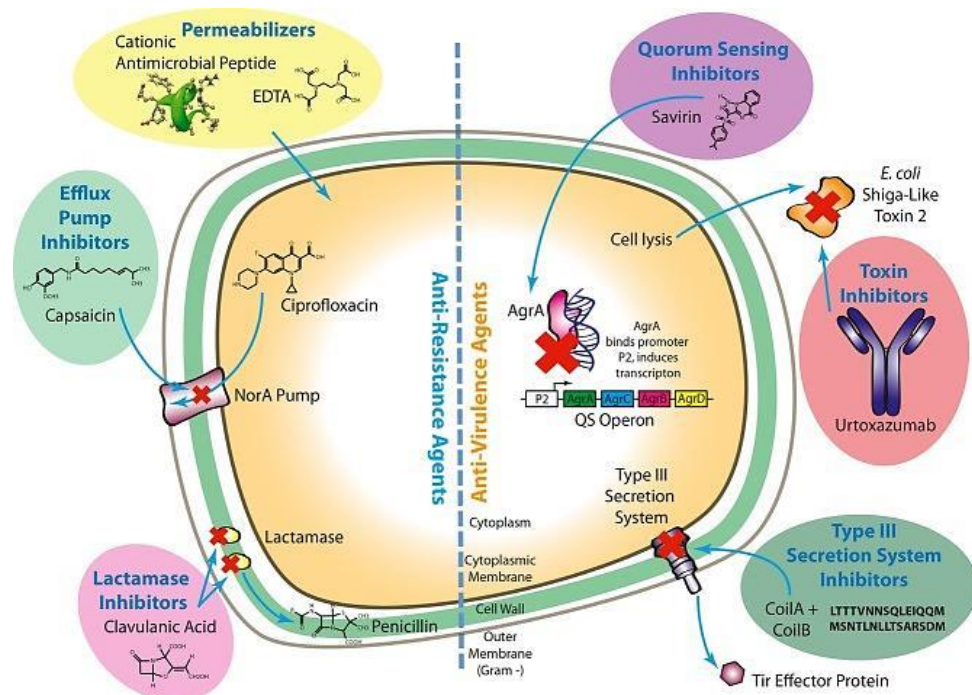


Figura 2. Diferentes alternativas a los antibióticos (2)

Los **fármacos antirresistencia**, administrados para potenciar los efectos de los antimicrobianos actuales que ya no son eficaces, como son:

- Inhibidores de β lactamasas, enzimas que hidrolizan el anillo β lactámico de antibióticos β lactámicos inactivándolos. Estos inhibidores se unen de forma irreversible a las β lactamasas impidiendo su actuación. Un ejemplo de ello es el ácido clavulánico.
- Inhibidores de bombas de eflujo, como la Capsaicina. La sobreexpresión de bombas de eflujo es un importante mecanismo de resistencia bacteriana, que resulta en la expulsión de los antibióticos desde las células bacterianas (2).
- Permeabilizantes de membrana externa, como los péptidos catiónicos. Agentes que debilitan la membrana externa bacteriana permitiendo la entrada de los antibióticos tradicionales (3).

Los **fármacos antivirulencia**, dirigidos contra factores de virulencia bacteriana:

- Inhibidores de la percepción del quorum, de los que se hablará ampliamente en el punto 5.
- Inhibidores de toxinas bacterianas, factores de virulencia capaces de matar células del huésped y/o modular múltiples sistemas de las células eucariotas como la transmisión de señales, el transporte, la integridad de la membrana y el citoesqueleto. Independientemente del método de acción de la toxina, la estrategia para detener la acción de estas toxinas se centra en el uso de anticuerpos específicos frente a dicha toxina. Un ejemplo de ellos es el Urtoxazumab (2).

Los **tratamientos alternativos**, como son:

- Terapia de fagos, basada en la capacidad de los bacteriófagos de infectar bacterias. Terapia ampliamente investigada durante la primera mitad del siglo XX, pero abandonada por el mundo occidental después de la introducción de los antibióticos. Los fagos se han utilizado con éxito en numerosos modelos animales, y en los últimos años se han notificado un gran número de ensayos clínicos en seres humanos (4).
- Uso de probióticos y prebióticos, su administración se vincula de forma directa a la salud humana, entre otras acciones, mejoran la inhibición concomitante del patógeno bacteriano, y la modulación del sistema inmune mediante la inducción del reclutamiento de células inmunes y la activación inflamatoria adecuada y las respuestas inmunitarias. Algunos probióticos son también capaces de inhibir el crecimiento de cepas patógenas por medio de la síntesis de sustancias antimicrobianas (2).

3. Objetivos.

El objetivo general de este trabajo es revisar y analizar nuevas estrategias para combatir la resistencia bacteriana. Estrategias que pretenden sustituir aquellos antibióticos actualmente ineficaces o bien actuar junto con los aún eficaces.

Los objetivos específicos son los siguientes:

- Revisar las posibles nuevas estrategias que se plantean para combatir la resistencia bacteriana, concretamente los Inhibidores de la Percepción del Quorum.
- Analizar las ventajas e inconvenientes de estas alternativas, así como sus perspectivas futuras.

4. Metodología.

Revisión bibliográfica con el objetivo de reunir información acerca de la aparición de bacterias resistentes a distintos antibióticos a lo largo de la historia, panorama actual, y posibles estrategias para combatir dichas bacterias. Para ello se consultaron distintos artículos y revistas científicas de bases de datos como el *National Center for Biotechnology Information*, principalmente PubMed, así como el buscador Google académico. También se consultaron webs como la Sociedad Española de Enfermedades infecciosas y Microbiología clínica (SEIMC), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), y la web de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

5. Resultados y discusión.

En su forma más simple, se podría definir el Quorum sensing (QS) o Percepción del Quorum como un mecanismo de comunicación entre células mediante el cual las bacterias son capaces de detectar cuando alcanzan una cierta densidad de población a través de la producción, secreción, captación y unión de moléculas de señalización, pudiendo conocer así el momento en el que deben actuar para desarrollar sus funciones de la forma más eficaz. Cuando la concentración bacteriana es reducida, estas moléculas de señalización también denominadas autoinductores se producen y excretan en baja cantidad, pero a medida que aumenta el número de bacterias, la concentración de autoinductores alcanza un nivel umbral, induciendo la expresión de una serie de genes que genera un cambio coordinado en el comportamiento del grupo bacteriano (5).

Los sistemas QS difieren entre bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. La mayoría de los sistemas QS de bacterias Gram-negativas utilizan N-acil homoserina lactonas (AHL) como moléculas de señalización (6). Sin embargo, los sistemas QS en bacterias Gram-positivas no utilizan autoinductores de tipo acil-homoserín lactonas, si no oligopéptidos modificados. Los oligopéptidos no difunden a través de la membrana plasmática, si no que necesitan un transportador específico. Además, necesitan dos receptores, una histidín-quinasa de membrana y una proteína que interaccione con el DNA y active la transcripción. Posteriormente, la señal producida se transmite por una cascada de fosforilación/defosforilación (7).

Parece probable que los organismos eucariotas susceptibles de ser infectados por bacterias hayan desarrollado terapias naturales para impedir la colonización/invasión mediante mecanismos de inhibición de las señales de QS. A esta interrupción de las señales de Quorum sensing se le denomina Quorum quenching. El descubrimiento de un amplio grupo de organismos que utilizan la detección de quórum para controlar la producción de factores de virulencia lo convierte en un objetivo muy atractivo de terapia antimicrobiana (5).

5.1 Inhibidores del Quorum sensing como nuevas terapias antiinfecciosas.

Todos los sistemas de Quorum sensing comparten un patrón general de señalización, en primer lugar, un autoinductor es sintetizado, el cual una vez alcanza un cierto umbral de concentración, se une a un regulador transcripcional, que posteriormente activa o reprime ciertos genes.

Este patrón común proporciona cuatro posibles estrategias para bloquear el QS:

- Suprimir la síntesis del autoinductor.
- Actuar sobre el autoinductor (degradación enzimática o inactivación por anticuerpos).

- Antagonizar el receptor de la señal.
- Bloquear la unión de la proteína reguladora al ADN.

A continuación, se describen los diferentes enfoques seguidos para interrumpir los sistemas bacterianos QS de *Pseudomonas aeruginosa*, patógeno oportunista causante de infecciones pulmonares crónicas principalmente en individuos inmunocomprometidos, y *Staphylococcus aureus*, bacteria de la microbiota normal del ser humano, que, en determinadas circunstancias se convierte en virulenta e invade los tejidos. Ambas bacterias presentan alta tasa de resistencia bacteriana, y, además, son productoras de numerosos factores de virulencia (8).

5.1.1 Estrategias de Quorum quenching en *P. aeruginosa*.

Pseudomonas aeruginosa presenta dos sistemas de detección de quórum homoserina lactona, el sistema Las, y el sistema Rhl, interconectados entre sí.

El sistema Las es el primero en actuar. Este sistema está constituido por dos genes, el gen LasI y el LasR. El primero, responsable de la síntesis del primer autoinductor, mientras que el segundo sintetiza el receptor correspondiente. Al inicio de la infección por *Pseudomonas aeruginosa*, su concentración es muy baja, y por lo tanto la cantidad de autoinductor producido es escaso y se excreta al medio extracelular. Cuando los niveles celulares aumentan, se produce un incremento de los niveles del autoinductor (3OC12 homoserin lactona), que difunde al medio extracelular, se acumula y vuelve a entrar a la célula por mecanismos de difusión. La 3OC12 homoserin lactona se une a su receptor intracitoplasmático (LasR) y genera dos respuestas: por un lado, se produce la inducción del sistema Las, reactivando el sistema, y por otro lado se induce la expresión del regulón Rhl, con la expresión de los genes RhlR y RhlI.

El gen RhlI es responsable de la síntesis de la proteína RhlI, encargada de la síntesis del segundo autoinductor, C4 homoserin lactona, mientras que el gen RhlR codifica para el receptor correspondiente. Al aumentar la concentración del autoinductor en el medio extracelular, este penetra en las células y se une al receptor RhlR, reactivando la expresión del regulón Rhl e induciendo la síntesis de los factores de adhesión y virulencia. Es en esta situación cuando *Pseudomonas aeruginosa* se vuelve patógena para su hospedador (7).

Además de los sistemas QS homoserina lactona, existe un tercer sistema, el sistema Pqs, con su respectivo autoinductor, 2-heptil-3- hidroxil-4-quinolona (PQS). La síntesis de PQS se lleva a cabo

por una serie de enzimas codificadas en el operón *pqsABCDE*. En primer lugar, PqsA produce la activación de la molécula de antranilato, que posteriormente por acción de PqsB, PqsC y PqsD se transforma en HHQ por incorporación de ácido β -cetodecanoico. Finalmente, HHQ es transformada en PQS por acción de PqsH. Cuando PQS alcanza cierta concentración umbral en el medio extracelular, se une a su receptor PqsR. El complejo resultante de esta interacción activa la expresión del operón *PqsABCDE*, aumentando la producción de factores de virulencia (9).

Los tres sistemas se encuentran interconectados, Las activa el circuito Rhl y Pqs, mientras que Rhl reprime la expresión de Pqs, y Pqs activa Rhl (10).

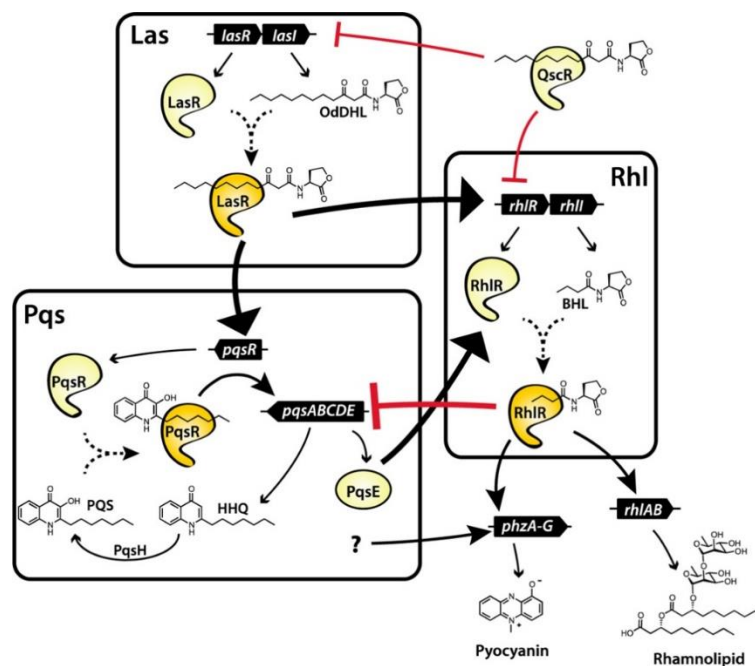


Figura 3. Sistema QS en *Pseudomonas aeruginosa*. (11)

Una vez explicado el sistema QS de *P. aeruginosa*, se exponen a continuación las distintas estrategias para interrumpir este sistema:

I. Estrategias dirigidas a la supresión de la síntesis del autoinductor:

En general, las AHL se sintetizan a partir de dos intermediarios metabólicos, S-adenosil-metionina (SAM) como donador del anillo homoserín-lactona, y ácidos grasos como donadores de la cadena acilo, en una reacción catalizada por una AHL-sintasa (figura 4). Se ha demostrado que compuestos como la **L/D-S-adenosilhomocisteina**, la **Sinefungina** y la **Butiril-SAM**, análogos estructurales de la SAM (figura 5), suprimen la síntesis de AHL, inhibiendo el primer paso del sistema QS in vitro de *P. aeruginosa*. Es importante mencionar que la SAM es utilizada por otros sistemas del

organismo por lo que estos análogos podrían producir ciertos efectos secundarios (14, 15).

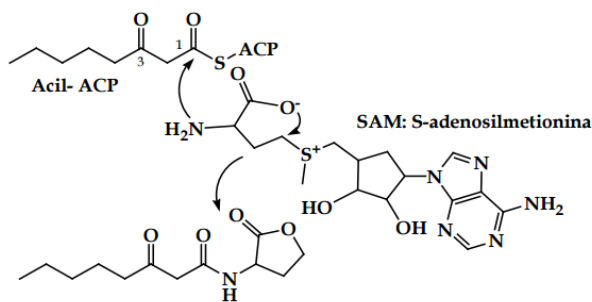


Figura 4. Biosíntesis de AHL (12).

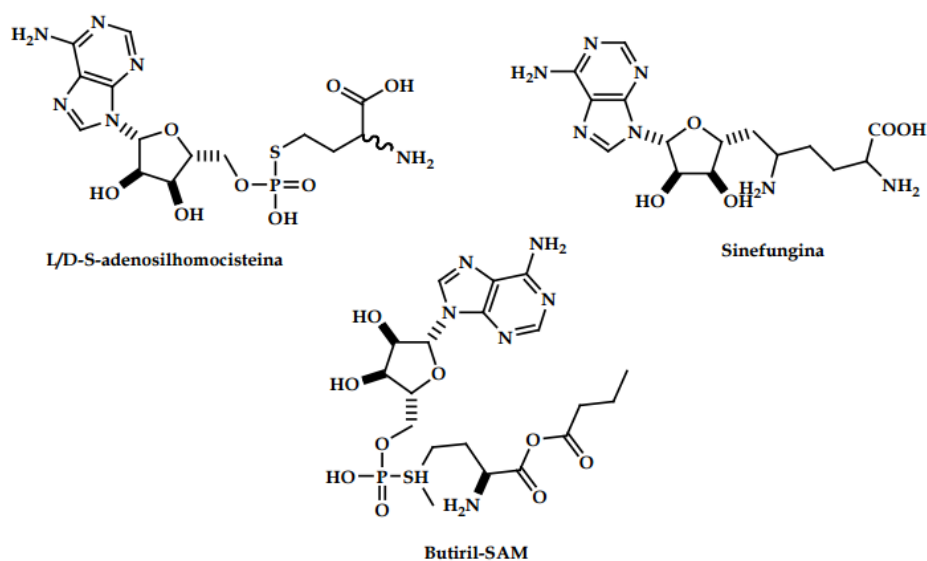


Figura 5. Análogos de SAM (12).

Por otro lado, PQS y su precursor HHQ resultan de una reacción de condensación entre un precursor de antranilato y un β -ceto-ácido graso (figura 6). Moléculas Análogas al Antranilato, como el **antranilato de metilo**, demostraron inhibir la producción de autoinductor ejerciendo un efecto negativo en la producción de elastasa por *P. aeruginosa*. Se presume que el Antranilato de metilo compite con el Antranilato en la reacción de condensación con el ácido β -cetodecanoico. Años más tarde se demostró que los **análogos de antranilato halogenados**, también inhibían la biosíntesis de PQS (13).

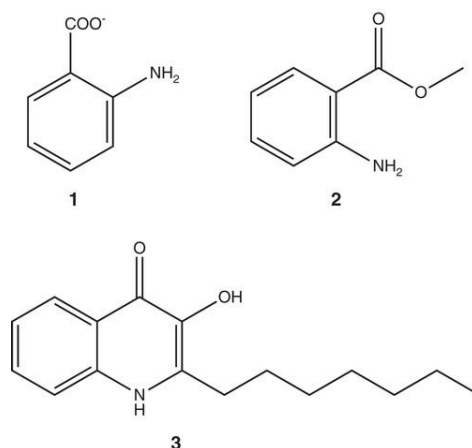


Figura 6. Antranilato (1), PQS (2), Antranilato de metilo (3) (13).

II. Estrategias dirigidas a la supresión del inductor:

En cuanto a la degradación enzimática del AI existen enzimas capaces de descomponer la molécula, como las lactonasas, y acilasas, o bien enzimas reductoras.

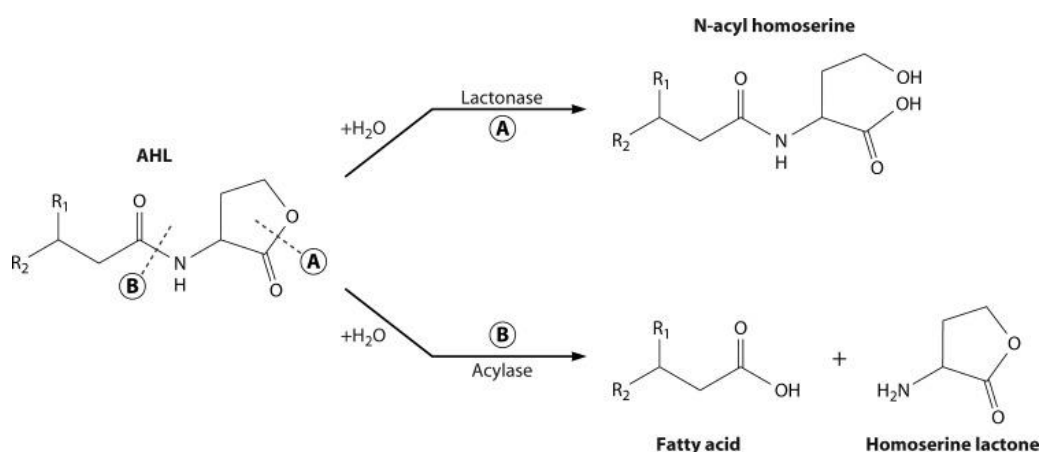


Figura 7. Mecanismo de acción de Lactonasas y Acilasas (14).

- Las lactonasas AHL, actúan hidrolizando el enlace ester del anillo homoserín-lactona dando lugar a la correspondiente molécula de acil-homoserina (figura 7A). Recientes estudios prueban la eficacia de la **Lactonasa AIIM** en un modelo de ratón con neumonía aguda causada por *P. aeruginosa*, demostrando ser un potente inhibidor de su sistema QS. Esto podría representar una nueva estrategia para curar infecciones pulmonares crónicas causadas por cepas multirresistentes (14, 17).
- Las acilasas AHL, hidrolizan el enlace acilamida entre el acilo y el anillo lactona de la AHL, de manera irreversible, resultando en la liberación de un ácido graso y un resto homoserín-lactona (figura 7B). **PvdQ**, una acil-homoserina lactona (AHL) acilasa, capaz de degradar la

molécula señal de *P. aeruginosa*, ha demostrado poseer un papel determinante tanto en estudios in vitro como in vivo, en un modelo de nematodo. El desarrollo de esta molécula ha alcanzado la etapa de producción de una formulación en polvo estable e inhalable para el tratamiento de infecciones pulmonares (14, 17).

- Por otro lado, las enzimas oxidorreductoras, inactivan AHL mediante la oxidación o reducción de su cadena lateral acilo. Por ejemplo, la oxidorreductasa **BpiB09**, redujo significativamente la producción de piocianina, motilidad bacteriana, y formación de biopelículas. De hecho, las bacterias resultaron no patogénicas en un modelo de nematodo infectado (14, 17).

III. Estrategias dirigidas a interrumpir la interacción Autoinductor – Receptor.

El ejemplo más ampliamente estudiado de inhibidores de quorum sensing en organismos marinos, es la producción de **Furanonas halogenadas** (figura 8A y 8B), aisladas del alga marina *Delisea pulchra*, las cuales presentan una estructura similar a las AHL naturales, salvo por el anillo furano, en lugar del anillo homoserín-lactona de los autoinductores naturales. Estas furanonas se unen a los receptores impidiendo la unión de los AHL naturales y por lo tanto la señalización del sistema QS. Sin embargo, las furanonas halogenadas presentan la desventaja de ser extremadamente reactivas, siendo tóxicas para las células humanas, lo que limita su potencial uso como inhibidores de QS (15).

Además de los antagonistas naturales, se han diseñado **análogos químicos** de la molécula AHL que actúan como inhibidores de los sistemas QS, ya sea por modificaciones en la cadena lateral acilo o en el anillo lactona de las AHL. Basándose en la actividad inhibidora de las furanonas halogenadas naturales (figura 8A y 8B), también se diseñaron diversos compuestos por síntesis química, como el compuesto 30 (figura 8C) y compuesto 56 (figura 8D) (16).

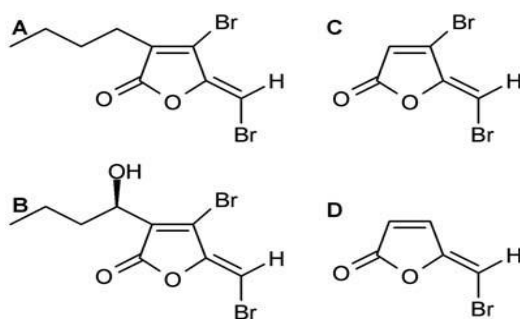


Figura 8. Furanonas halogenadas naturales (A y B) y sintéticas (C y D) (16).

Así mismo, se han descubierto antagonistas del receptor PqsR a partir de los ligandos naturales, PQS y HHQ, agonistas del receptor. Se sintetizaron un conjunto de **análogos de PQS y HHQ**,

variando la cadena lateral de la molécula e introduciendo sustituyentes en el anillo de benceno (figura 9). La introducción de grupos fuertemente atrayentes de electrones, tales como el nitrilo, trifluorometilo, o nitro, en la posición 6 del anillo de benceno dio como resultado una potente actividad antagonista (compuesto 13). Sin embargo, estos antagonistas demostraron tener una actividad agonista in vitro, que se atribuyen a una inversión funcional inesperada mediada por la enzima bacteriana PqsH. La superación de este problema dio lugar al antagonista de PqsR más potente hasta la fecha (compuesto 14). Otros autores reportaron una serie de nuevos antagonistas de PqsR basados en la molécula PQS (compuesto 15) (15).

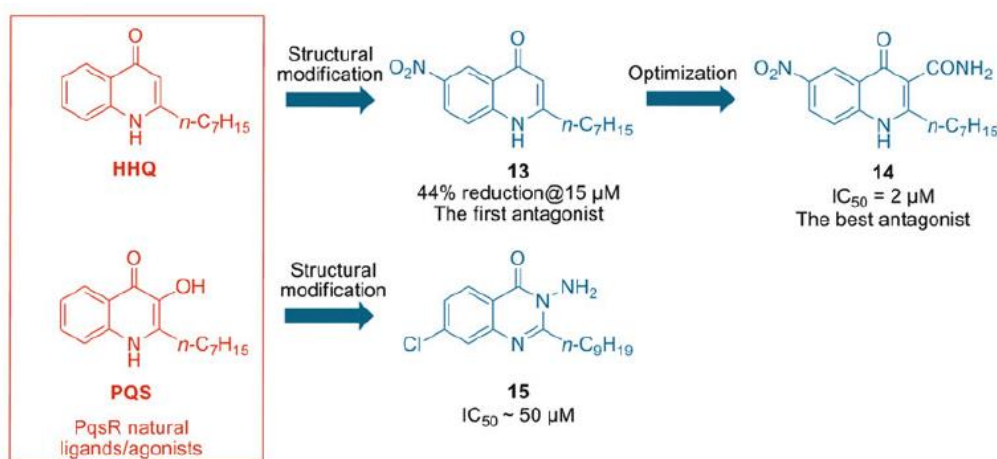


Figura 9. Antagonistas PqsR (15)

IV. Estrategias dirigidas a interrumpir la unión Molécula reguladora - ADN.

Recientemente se ha identificado un gen anti-activador, **QsIA**, que interactúa con LasR de tal forma que este no puede unirse a su promotor diana y por lo tanto evita la expresión de RhlR (8).

5.1.2 Estrategias de Quorum quenching en *S. aureus*.

El sistema QS de *S. aureus*, conocido como Agr, está constituido por cuatro genes que codifican la expresión de cuatro proteínas:

- El gen AgrD, que sintetiza el autoinductor peptídico (AIP).
- El gen AgrC que sintetiza la histidín-quinasa encargada de transmitir la señal desde la membrana plasmática hasta la molécula reguladora de la respuesta transcripcional.
- El gen AgrA que sintetiza la molécula reguladora de la respuesta transcripcional.
- El gen AgrB, que sintetiza la proteína exportadora que modifica el anillo de AIP.

Debido a las variaciones alélicas dentro del sistema del gen agr, *S. aureus* puede subdividirse en cuatro grupos específicos de agr, agr I-IV, secretando cada uno péptidos autoinductivos distintos.

Cuando la concentración de *S. aureus* es muy baja, el sistema Agr funciona de forma constitutiva, produciéndose niveles basales del autoinductor proteico, el cual sale al medio extracelular, y se producen los factores de adhesión y colonización a superficies. Cuando los niveles de *S. aureus* aumentan, el autoinductor peptídico se une a la histidín-quinasa de membrana y produce su fosforilación. Esta produce a su vez la fosforilación del regulador transcripcional que se une al ADN con dos efectos, por un lado, induce la transcripción de un ARN de regulación, el ARN III que permite la expresión de los factores de virulencia y reprime la expresión de los factores de colonización y adhesión a superficie. Y, por otro lado, se induce la expresión del operón Agr con lo que se produce la reactivación del sistema (7, 6).

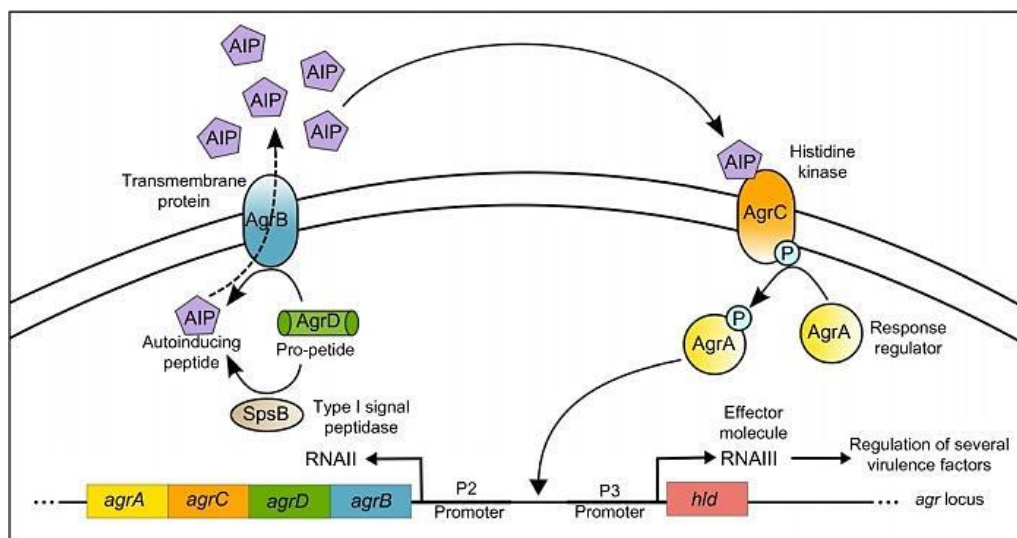


Figura 10. Sistema QS en *Staphylococcus aureus* (8)

Una vez expuesto el sistema QS de *S. aureus*, se explican a continuación las posibles estrategias de Quorum quenching para interrumpir este sistema:

I. Estrategias dirigidas a la supresión del inductor:

La inactivación del autoinductor mediada por anticuerpos, puede estar enfocada a la inducción de anticuerpos mediante la vacunación o bien, a la administración de anticuerpos preformados (17). Se diseñó el hapteno AP4-5 (figura 11), molécula similar a la señal QS natural AIP-4 utilizada por *S. aureus* (figura 12). Este hapteno provoca la generación de anticuerpos monoclonales anti-autoinductores denominados **AP4-24H11**, capaces de inhibir la patogenicidad de *S. aureus* en modelos de ratón proporcionando protección completa frente a una letal *S. aureus* (13).

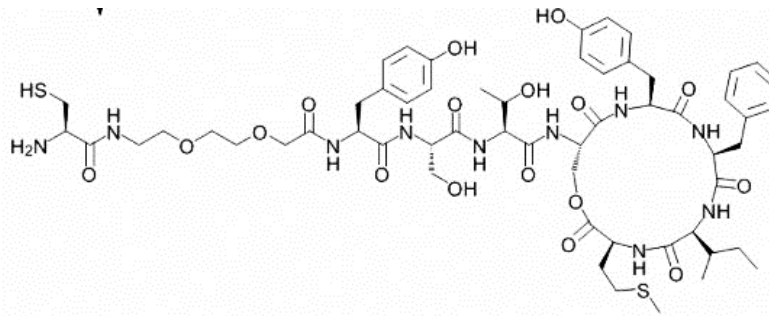


Figura 11. Hapteno AP4-5 (17).

II. Estrategias dirigidas a interrumpir la interacción Autoinductor-Receptor

Se ha investigado el potencial de bacterias marinas para disminuir la patogenicidad de *S. aureus* atacando su sistema agr. Estas investigaciones han demostrado que la fotobacteria estudiada produce dos antagonistas del IA denominados **Solonamida A y B** (figura 13). Estas moléculas presentan una elevada similitud estructural con el autoinductor natural, siendo capaces de inhibir competitivamente el receptor AgrC de una cepa altamente virulenta de *S. aureus* (8).

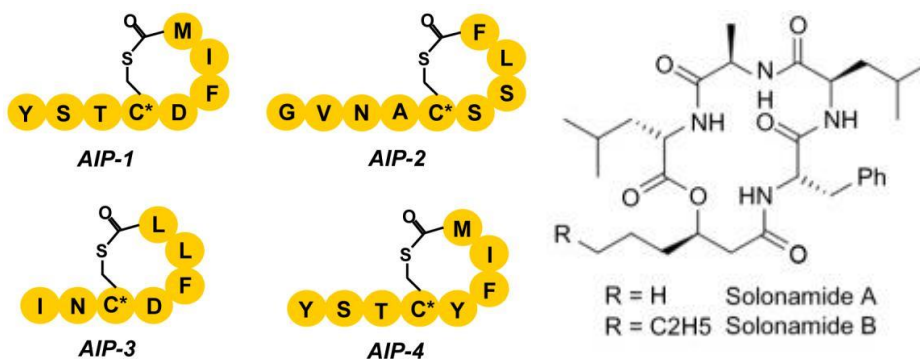


Figura 12. AIPs de *S. aureus*.

Figura 13. Solonamida A y Solonamida B (8)

Otro inhibidor natural es el **Hamamelitanino**, obtenido de la corteza de *Hamamelis virginiana*. Se trata de un inhibidor de la percepción del quorum de infecciones estafilocócicas resistentes a la meticilina, concretamente un inhibidor de la producción de RNA III, componente del sistema agr de *S. aureus* (13).

Algunos autores han identificado péptidos análogos a AIP capaces de inhibir los receptores AgrC en las cuatro variantes alélicas, como el **AIP-III D4A** (figura 14) (8). Del mismo modo, **Lipoproteínas de baja densidad oxidadas**, han demostrado in vitro unirse a los cuatro AIPs de *S. aureus*, antagonizando la señalización agr (13).

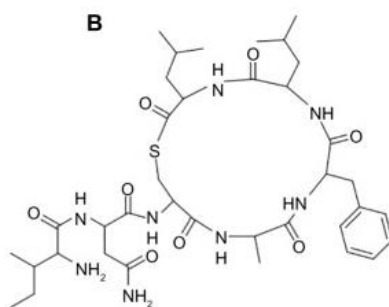


Figura 14. AIP-III D4A (8)

Además de los péptidos análogos a los autoinductores naturales, se han sintetizado moléculas no peptídicas que se comportan como inhibidores alostéricos no competitivos del receptor AgrC, impidiendo la interacción del AI con dicho receptor. Estas moléculas, **análogos del ácido 3-oxo-C12-HSL, ácido tetrámico y ácido tetrónico**, surgen de la modificación de la estructura de autoinductores tipo homoserín-lactona (18).

III. Estrategias dirigidas a interrumpir la interacción Molécula reguladora – ADN:

Se han identificado pequeñas moléculas capaces de interrumpir la cascada de señalización de *S. aureus*, como la **Savirina**, molécula capaz de bloquear la unión de AgrA a la región promotora del ADN. La Savirina debía ser específica para el sistema agr de *S. aureus*, pues en la microbiota de la piel humana existe otra especie del mismo género, *Staphylococcus epidermidis*, involucrada en mecanismos de defensa del huésped contra patógenos de la piel. El bloqueo selectivo de AgrA, lograría aumentar la defensa del huésped, preservando la microbiota normal, y limitando la inducción de resistencia (8).

Recientemente se descubrió otra molécula inhibitoria, una polihidroxi-antraquinona denominada **ω -hidroxemodina (OHM)**, capaz de impedir la señalización de Agr. OHM inhibió el sistema QS de *S. aureus* por unión directa a AgrA, evitando su interacción con el ADN, a concentraciones no tóxicas para células eucariotas y subinhibitorias al crecimiento bacteriano (8).

5.2 Ventajas e inconvenientes de los Inhibidores de la percepción del quorum.

Se exponen a continuación las principales ventajas e inconvenientes de los inhibidores de QS:

- ✓ Mientras los antibióticos actuales actúan tanto frente a microorganismos patógenos como no patógenos, los Inhibidores de QS, al estar dirigidos a vías de virulencia o factores específicos, actúan únicamente frente a las bacterias diana. Al no afectar la microbiota del paciente, ayudan a preservar los miembros beneficiosos de la microbiota humana (19, 20).

- ✓ Gracias a su estrecho espectro de acción, los Inhibidores de QS, son menos susceptibles de causar efectos adversos en el paciente, evitando alergias, desordenes intestinales, e infecciones secundarias causadas por la terapia antibiótica.
- ✓ Los Inhibidores de QS al no actuar sobre el crecimiento bacteriano, reducen la presión selectiva y en consecuencia los fenómenos de resistencia (19).
- ✗ No obstante, la elevada especificidad de los inhibidores de QS, puede suponer al mismo tiempo una desventaja, pues deberá identificarse la bacteria causante de la infección antes de iniciar dicha terapia. Por lo tanto, el desarrollo de los inhibidores de QS deberá ir de la mano con el desarrollo de rápidas herramientas de diagnóstico (19, 20).
- ✗ Puesto que los inhibidores del QS no actúan sobre el crecimiento bacteriano, no serán eficaces en monoterapia en individuos inmunocomprometidos, cuyo sistema inmune no pueda erradicar la infección (19).

Finalmente, en la Tabla 1, se resumen las principales características de los inhibidores de QS frente a los antibióticos.







<u>ANTIBIÓTICOS</u>	<u>INHIBIDORES QS</u>
 Amplio espectro de acción	 Estrecho espectro de acción
 Mayor tasa de efectos adversos	 Menor tasa de efectos adversos
 Mayor riesgo de resistencia bacteriana	 Menor riesgo de resistencia bacteriana

Tabla 1. Características de las diferentes estrategias

¿Está la comunidad científica preparada para la llegada de una era postantibiótica? ¿son los inhibidores de QS una alternativa eficaz a los antibióticos? Después de comentar los diferentes inhibidores de QS, sus mecanismos de actuación, así como sus ventajas y desventajas, la realidad es que no son una alternativa viable actualmente. Es cierto que se encuentran en investigación y que parecen ser muy prometedores debido a las ventajas que presentan sobre los antibióticos convencionales, sin embargo, aún no están preparados para ser utilizados como terapia antimicrobiana.

Por lo tanto, hoy en día, los esfuerzos deben dirigirse a extender la vida útil de nuestro arsenal de

antibióticos. Por ello son de vital importancia los planes de actuación emitidos por organizaciones mundiales, para prevenir y controlar la propagación de la resistencia bacteriana. Planes que deben llevarse a cabo a todos los niveles, a nivel de la población general, de los profesionales sanitarios, de los planificadores de políticas, del sector sanitario y también del agrícola.

Es junto a estos planes de actuación donde tienen cabida los adyuvantes de los antibióticos, terapias que permitirán utilizar los antibióticos existentes, tanto los que ya han desarrollado resistencia como los que no. La utilización conjunta de un adyuvante y un antimicrobiano es probable que reduzca el desarrollo de resistencias, permitiendo retrasar la llegada de esta era postantibiótica, frente a la cual la comunidad científica no está preparada. El uso de estrategias alternativas como son los Inhibidores de la Percepción del Quorum, permitirá controlar la virulencia de los potenciales patógenos posibilitando que el propio sistema inmunitario del huésped sea capaz de superar la infección.

6. Conclusiones.

Numerosas terapias antivirulencia están actualmente en investigación, entre las que se encuentran los Inhibidores del quorum sensing. El patrón general de señalización QS, ofrece cuatro posibles estrategias para interrumpir estos sistemas de comunicación bacteriana: la inhibición de la síntesis de autoinductor, utilizando para ello moléculas que compiten con los sustratos naturales de las enzimas encargadas de sintetizar el autoinductor; la eliminación del autoinductor producido, mediante su degradación enzimática, o su neutralización mediante anticuerpos; la interferencia de la interacción entre el autoinductor y sus respectivos receptores, utilizando para ello moléculas análogas a los autoinductores naturales; y, por último la inhibición de la interacción de las moléculas reguladoras con el ADN, impidiendo el paso final de señalización y por tanto la producción de factores de virulencia. Una vez controlada la virulencia, se espera que el sistema inmunitario del huésped sea capaz de superar la infección, sin embargo, también podrían ser utilizados de forma sinérgica con los antibióticos tradicionales, extendiendo la vida útil de estos fármacos y reduciendo las posibilidades de desarrollo de resistencia bacteriana.

Estas alternativas terapéuticas parecen ser prometedoras en el tratamiento de las infecciones bacterianas, sin embargo, aún deben investigarse a fondo para conocer todo su potencial. A pesar de las presentes incertidumbres, con las herramientas tecnológicas disponibles hoy en día, más el conocimiento acumulado en las últimas décadas, pueden ser vistos como retos superables, estando cada vez más cerca de ser capaces de recibir la inminente llegada de una era sin antibióticos.

7. Bibliografía.

1. *Impacto de la resistencia a los antibióticos en el desarrollo de la medicina contemporánea.* **Prada, Guillermo.** 1, 2008, Revista Med, Vol. 16, págs. 9-10.
2. *Antibiotic Adjuvants: Diverse Strategies for Controlling Drug-Resistant Pathogens.* **Gill, Erin E., Franco, Octavio L. y Hancock, Robert. E. W.** 2015, Chemical Biology & Drug Design, Vol. 85, págs. 56–78.
3. *Péptidos antimicrobianos.* **Télez, Germán Alberto y Castaño, Jhon Carlos.** 1, 2010, Infectio, Vol. 14, págs. 55-67.
4. *Fighting bacterial infections — Future treatment options.* **Fernebro, Jenny.** 2, 2011, Drug Resistance Updates, Vol. 14, págs. 125–139.
5. *Quorum sensing en bacterias y levaduras.* **March Rossello, G.A. y Eiros Bouza, J.M.** 8, 2013, Medicina Clínica, Vol. 141, págs. 353–357.
6. *Bacterial Quorum Sensing in Pathogenic Relationships.* **De Kievit, T. R. y Iglewski, B. H.** 9, 2000, Infection and Immunity, Vol. 68, págs. 4839–4849.
7. *Sistemas de quorum sensing en bacterias.* **Marquina Díaz, Domingo y Santos de la Sen, Antonio.** 5, 2010, Reduca (Biología). Serie Microbiología, Vol. 3, págs. 39-55.
8. *Interfering with Bacterial Quorum Sensing.* **Reuter, Kerstin, Steinbach, Anke y Helms, Volkhard.** 2016, Perspectives in Medicinal Chemistry, Vol. 8, págs. 1 - 15.
9. *The hierarchy quorum sensing network in Pseudomonas aeruginosa.* **Lee, Jasmine y Zhangcorresponding, Lianhui.** 1, 2015, Protein & Cell, Vol. 6, págs. 26–41.
10. *Cambios en la fisiología de Pseudomonas aeruginosa causados por la sobre-expresión del sistema múltiple de bombeo MexEF-OprN.* **Olivares Pacheco, Jorge.** 2013, Centro Nacional de Biotecnología.
11. *Small Molecule Disruption of Quorum Sensing Cross-Regulation in Pseudomonas aeruginosa Causes Major and Unexpected Alterations to Virulence Phenotypes.* **Welsh, Michael A., y otros.** 4, 2015, Journal of the American Chemical Society, Vol. 137, págs. 1510-1519.
12. *Búsqueda de Compuestos Inhibidores de Quorum Sensing (IQS) a Partir de Extractos de Origen Natural. Primera Fase .* **Feliciano Brango Vanegas, José.** Bogotá : Universidad Nacional de Colombia, 2011.
13. *Novel approaches for the design and discovery of quorum-sensing inhibitors.* **Scutera, Sara, Zucca, Mario y Savoia, Dianella.** 4, 2014, Expert Opinion on Drug Discovery , Vol. 9, págs. 353-366.
14. *Exploiting Quorum Sensing To Confuse Bacterial Pathogens.* **LaSarrea, Breah y Federle, Michael J.** 1, 2013, Microbiology and Molecular Biology Reviews, Vol. 77, págs. 73–111.
15. **Vipin, Chandra Kalia.** *Quorum Sensing vs Quorum Quenching: A Battle with No End in Sight.* Delhi : Springer India, 2015.
16. **Winans, Stephen C. y Bassler, Bonnie L.** *Chemical communication among bacteria.* Washington, DC : ASM Press, 2008.
17. *Infection control by antibody disruption of bacterial quorum sensing signaling.* **Park, J, y otros.** 14, 2007, Chemistry & Biology, Vol. 10, págs. 1119–1127.
18. *Targeting Staphylococcus aureus Quorum Sensing with Nonpeptidic Small Molecule Inhibitors.* **Murray, E. J., y otros.** 6, 2014, Journal of Medicinal Chemistry, Vol. 57, págs. 2813–2819.
19. *Targeting virulence: a new paradigm for antimicrobial therapy.* **Clatworthy, Anne E, Pierson, Emily y Hung, Deborah T.** 9, 2007, Nature Chemical Biology, Vol. 3, págs. 541 - 548.
20. *Anti-virulence strategies to combat bacteria-mediated disease.* **Rasko, David A. y Sperandio, Vanessa.** 2010, Nature Reviews Drug Discovery, Vol. 9, págs. 117-128.
21. *The Antibiotic Resistance Crisis: Part 1: Causes and Threats.* **Ventola, C. Lee.** 4, 2015, Pharmacy and Therapeutics, Vol. 40, págs. 277–283.
22. *The Antimicrobial Resistance Crisis: Causes, Consequences, and Management.* **Michael, Carolyn Anne, Dominey-Howes, Dale y Labbate, Maurizio.** 145, 2014, Frontiers in Public Health, Vol. 2.