

MECANISME DE ACTIUNE ALE ANTIBIOTICELOR

ANTIBIOTICS: MECHANISMS OF ACTION

S.L. dr. Anca Mărculescu

Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară Cluj-Napoca



Cuvinte cheie: *antibiotice, mecanisme de acțiune*
Key words: *antibiotics, mechanisms of action*

Abstract

The antibiotics are a very important class of chemotherapeutic agents that are capable to stop or even selectively destroy pathogens in man and animal. Antimicrobial agents affect susceptible organisms in various ways. The major mechanisms of action of antibiotics are: inhibition of cell wall synthesis, impairment of cell membrane function, inhibition of protein synthesis, inhibition of nucleic acids synthesis.

Rezumat

Antibioticele reprezintă o clasă foarte importantă de compuși utilizați în terapie, capabili să oprească sau chiar să distrugă selectiv unele microorganisme patogene pentru om și animale. Agenții antimicrobieni acționează asupra microorganismelor susceptibile în diverse moduri. Mecanismele majore prin care antibioticele își exercită acțiunea sunt: inhibarea sintezei peretelui celular, deteriorarea funcției membranei celulare, inhibarea sintezei proteice, inhibarea sintezei acizilor nucleici.

Antibioticele reprezintă o clasă foarte importantă de compuși utilizați în terapie, care s-a dezvoltat în ultima jumătate de secol, o perioadă caracterizată de progrese fără precedent în domeniul producției de medicamente (Boothe D., 2003).

În conceperea noilor agenți antimicrobieni, progresele realizate nu ar fi fost posibile fără identificarea unor ținte potențiale (enzime, membrane, acizi nucleici) implicate în metabolismul microbial, prin a căror inhibare sau afectare să apară efectul germicid dorit (Mărculescu Anca, 2007).

În funcție de proveniență, se poate face distincția dintre antibiotice (substanțe antimicrobiene extrase, în general, din culturi de mucegaiuri) și chimioterapice (substanțe antimicrobiene obținute prin sinteză chimică) (Levy B. Stuart, 2002).

În prezent, o delimitare netă între cele două categorii de substanțe antimicrobiene nu mai este nici posibilă, nici justificată.

Într-adevăr, în urma cunoașterii structurii chimice a extractului biologic, multe dintre antibioticele care inițial au fost obținute din microorganisme prin biosinteză, în momentul de față sunt preparate industrial prin sinteză sau semisinteză chimică.

Producerea unui antibiotic pe cale biologică (extracție) sau pe cale chimică (sinteză) este decisă astăzi mai mult pe considerente de rentabilitate (Angelescu M., 1998; Coman Mioara și col., 2003).

Din aceste motive, există tendința de a reuni sub termenul generic de "antibiotice" substanțele cu acțiune antimicrobiană care prezintă mecanisme de acțiune similare, se supun principiului toxicității selective, în doze terapeutice nu lezează celulele organismului-gazdă, iar rezistența bacteriilor la acțiunea lor se instalează prin mecanisme identice (O'Grady și col., 1997).

Utilizarea acestor substanțe antimicrobiene în terapeutică constituie antibioterapia.

Termenul de "antibioterapie", prin urmare, reprezintă tratamentul în cursul căruia sunt folosite substanțele antibiotice (Cristina R.T., 2007).

Antibioticele antibacteriene acționează prin diverse mecanisme, cele mai importante fiind bazate pe inhibiția biosintzei unor componente ale peretelui celular (peptidoglicanul), a unor etape din biosinteza unor macromolecule: ADN, ARN, proteine sau enzime (figura 1.).

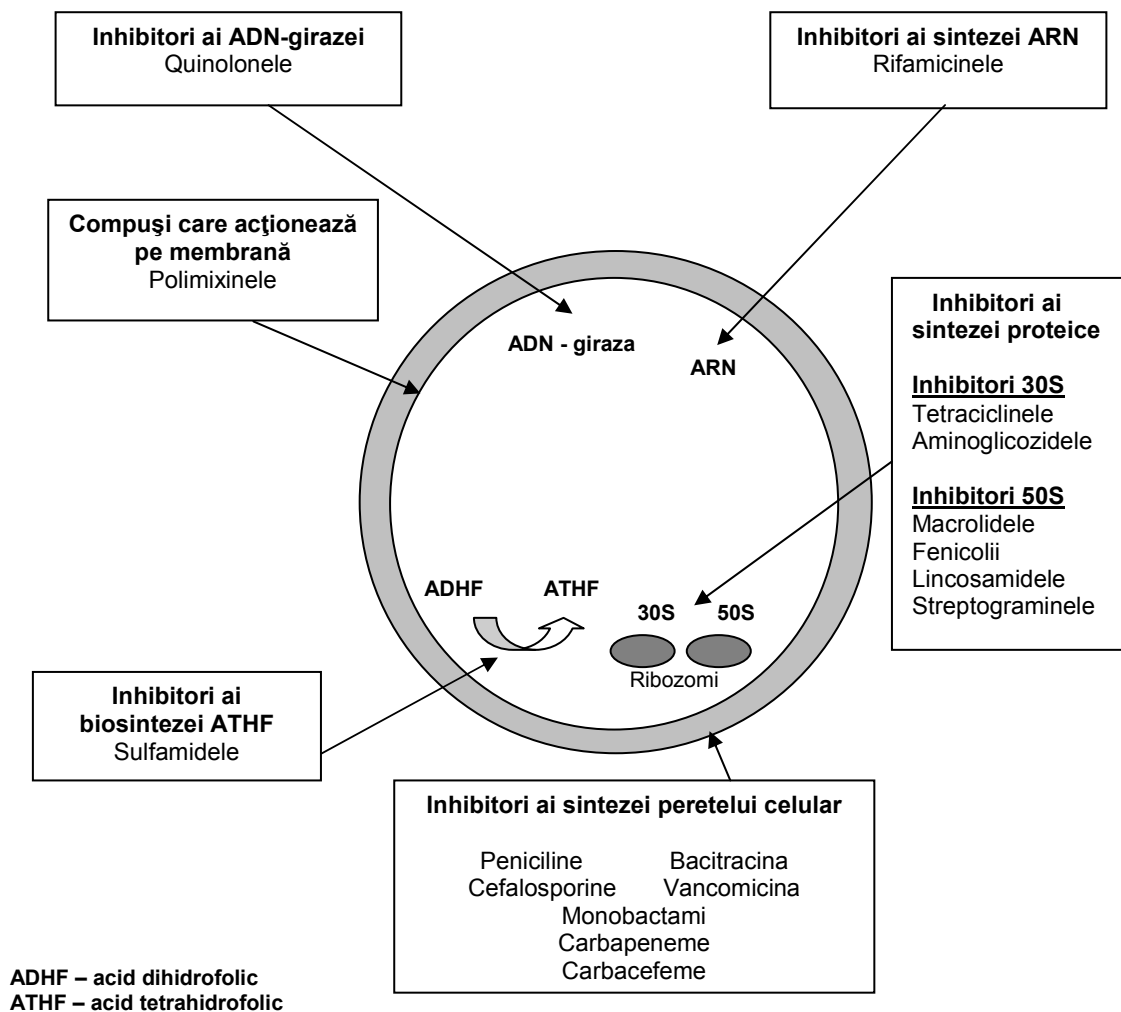


Fig. 1. Mecanisme de acțiune ale antibioticelor antibacteriene (după ONIGA și TIPERCIUC, 2003, modificat Mărculescu, 2007)

Clasificarea mecanismelor majore de acțiune ale agenților antimicrobieni se poate face în felul următor (Montoya Echeverri A. F., 2002; Merck Manual, 2005):

A. Inhibirea sintezei peretelui celular: peniciline, cefalosporine, cefamicine (cefoxitina, cefotetan), vancomicina, bacitracina

B. Deterioarea funcției membranei celulare: polimixina B, colistina, nistatina

C. Inhibirea sintezei proteice: aminoglicozide, macrolide, tetraciline, fenicoli, lincosamide

D. Inhibirea sintezei acizilor nucleici prin:
- Inhibirea sintezei ADN și a replicării: quinolone, novobiocina, metronidazol, griseofulvina
- Inhibirea ARN-polimerazei ADN-dependență: rifamicine
- Inhibirea sintezei acidului folic și consecutiv a sintezei ADN: trimetoprim, sulfamide

1. Inhibitori ai biosintezei peretelui celular bacterian

Peretele bacterian are o structură complexă. Atât la bacteriile gram-pozitive, cât și cele gram-negative apare ca și componentă comună peptidoglicanul (mureina). Toate betalactaminele împiedică biosinteza mureinei, componenta principală a peretelui celular bacterian (80-95 % la bacteriile gram-pozitive, 10-12 % la cele gram-negative), prin inhibirea unor sisteme enzimatică prezente în interiorul bacteriei (Oniga și Tiperciuc, 2003).

Tința de acțiune a betalactaminelor este reprezentată de PBP (penicillin binding proteins), proteine inserate pe fața externă a membranei celulare. Numărul și natura diferită a acestor polipeptide este în funcție de specia bacteriană, ceea ce permite înțelegerea diferențelor în acțiunea acestor antibiotice asupra diverselor populații

bacteriene. Funcția acestor PBP a fost determinată: ele sunt transpeptidaze și carboxipeptidaze, cu rol în menținerea formei celulei bacteriene și chiar în diviziunea celulară.

Pentru ca betalactaminele să-și exercite acțiunea antibacteriană este necesar ca aceste antibiotice să ajungă la ținta lor de acțiune (PBP) și să se lege de aceasta. Accesul către PBP este mai greu sau mai ușor în funcție de tipul de bacterie, datorită diferențelor în structura peretelui celular: în cazul bacteriilor gram-pozitive penetrarea este mai ușoară, decât în cazul bacteriilor gram-negative la care, pătrunderea antibioticului este limitată de membrana externă care face parte din structura peretelui celular, membrană care lipsește la bacteriile gram-pozitive.

Traversarea membranei externe de către betalactamine se face pe la nivelul porinelor, canale de natură proteică prezente la acest nivel (O'Grady și col., 1997).

Betalactaminele sunt active mai ales asupra celulelor care își sintetizează activ peptidoglicanul (se află în fază activă de multiplicare), etapele care conduc la liza bacteriană desfășurându-se în felul următor: după ce traversează peptidoglicanul, antibioticele se fixează pe anumite PBP-uri și inhibă sinteza peptidoglicanului care va duce la oprirea creșterii bacteriene, ceea ce reprezintă efectul bacteriostatic al antibioticului; în continuare, această inhibiție va determina eliberarea sistemului enzimatic autolitic al mureinhidrolazei care va permite distrugerea celulară prin hidroliza mureinei, distrugând punțile dizaharidului terminal și restul pentapeptidului din peptidoglican.

Bacitracina, care face parte din grupa peptidelor ciclice, inhibă, de asemenea, sinteza peptidoglicanului, prin combinarea cu bactoprenolul, lipidul transportor al nucleotidelor precursorare, pe care îl inhibă.

Alte antibiotice, cum sunt glicopeptidele (vancomicina) inhibă de asemenea sinteza peptidoglicanilor, acționând în etapele finale ale acestei sinteze. Ținta de acțiune a vancomicinei este transglicozilaza, enzimă care transferă dizaharidele peptidoglicanului precursor pe peptidoglicanul în formare, inhibând creșterea peretelui celular (Matinca Doina, 2002).

2. Compuși activi pe membrane

Aceste antibiotice dezorganizează structura sau inhibă funcționarea membranelor bacteriene. Integritatea membranei citoplasmatică și a membranei externe este vitală bacteriilor, iar compușii care dezorganizează membranele determină rapid distrugerea celulelor (Todar K., 2002).

Polimixinele (antibiotice polipeptidice) se leagă de fosfolipidele din membrana citoplasmatică și astfel interferează cu funcția membranei, determinând tulburări de permeabilitate. Totuși, datorită similarității fosfolipidelor membranelor eubacteriene și eucariote, această acțiune este rareori suficientă pentru a permite acestor compuși să fie utilizați sistemic (Mărculescu Anca, 2007).

3. Inhibitori ai sintezei proteice

Ribozomii bacterieni au o serie de caracteristici care îi diferențiază de cei ai mamiferelor. Astfel, ribozomii bacterieni au un coeficient de sedimentare 70 (ribozomi 70S, cu subunitățile 50S și 30S), în timp ce ribozomii din celulele umane au un coeficient de sedimentare 80 (ribozomi 80S, cu subunitățile 60S și 40S) (Matinca Doina, 2002).

Majoritatea antibioticelor antibacteriene au specificitate de acțiune la nivelul ribozomilor 70S. Inhibiția selectivă a sintezei proteice bacteriene este explicată prin sistemul de transport activ prezent la bacterii, dependent de energie, absent în celulele mamiferelor. Acest sistem de transport specific permite intrarea antibioticului numai în celula bacteriilor (Todar K., 2002).

Sinteza proteinelor bacteriene este realizată pe ribozomii 70S. În esență, un aminoacid activat și atașat la ARNt (ARN de transfer), se leagă de locul acceptor al ribozomului. Peptida formată la nivel ribozomal este apoi transferată, sub acțiunea peptidil-transferazei, de la locul donator la un alt aminoacid de pe o poziție acceptor. Ulterior, transferul peptidei de la poziția acceptor la poziția donator are loc cu desprinderea ARNt, care își continuă rolul de transfer al noilor aminoacizi la locul sintezei proteice (Oniga O. și col., 2003). Multe antibiotice utile terapeutic își

datorează acțiunea inhibării în diferite etape ale procesului complex de sinteză proteică. Atacul lor este, întotdeauna, la nivelul unui eveniment care apare pe ribozom și niciodată în stadiul activării aminoacizilor sau atașării la un anumit ARNt. Cele mai multe substanțe antimicrobiene au afinitate sau specificitate pentru ribozomii 70S și își dobândesc toxicitatea selectivă în această manieră. Cele mai importante antibiotice cu acest mod de acțiune sunt tetraciclinele, fenicolii, macrolidele și aminoglicozidele (Todar K., 2002).

Tetraciclinele se leagă de subunitatea 30S și inhibă sinteza proteică, blocând introducerea de noi aminoacizi în lanțul polipeptidic, intervenind astfel în faza de elongare. După penetrarea prin membrana citoplasmatică prin transport activ care necesită energie, tetraciclina se acumulează în celula bacteriană, realizând concentrații foarte ridicate. Aceste antibiotice pot străbate și membrana celulei eucariote, ceea ce le permite să exercite acțiunea antibacteriană și asupra bacteriilor care se multiplică intracelular (ricketsii, chlamidii, micoplasme) (Matinca Doina, 2002).

Fenicolii inhibă sinteza proteică în celula bacteriană având drept țintă de acțiune subunitatea ribozomală 50S. Antibioticele se leagă de această subunitate și inhibă peptidil-transferaza, enzimă importantă pentru alungirea lanțului polipeptidic.

Macrolidele se fixează la nivelul subunității 50S, pentru a împiedica alungirea lanțului polipeptidic în timpul sintezei proteice. Lincomicina și clindamicina fac parte dintr-o grupă de antibiotice care sunt de asemenea inhibitori ai sintezei proteice cu activitate similară macrolidelor.

Aminoglicozidele au ca țintă de acțiune atât subunitatea 30S cât și 50S, legarea antibioticelor totuși realizându-se la prima dintre acestea, astfel antrenând inhibarea sintezei proteice prin împiedicarea fixării factorilor de inițiere, erori în citirea ARN mesager, care dau naștere proteinelor anormale sau/și o anomalie a translocării care se traduce prin eliberarea prematură a peptidil-transferazei (Mayer, 2003).

4. Inhibitori ai sintezei acizilor nucleici

Unele antibiotice și agenți chemoterapeutici afectează sinteza ADN

sau ARN, sau se pot lega la ADN sau ARN astfel încât mesajul acestora nu poate fi citit. În ambele cazuri blochează creșterea celulelor. Majoritatea acestor medicamente nu sunt selective și afectează la fel celulele animalelor cât și celulele bacteriene, datorită acestui fapt neavând aplicare terapeutică. Totuși, două grupe de medicamente care au activitate selectivă împotriva procariotelor și unele utilizări medicale sunt quinolonele și rifamicinele (O'Grady și col., 1997).

4.1. Inhibitori ai sintezei ADN și ai replicării

Quinolonele inhibă sinteza acizilor nucleici prin inhibarea ADN topoisomerazei (ADN-giraza). Ținta de acțiune a acestor antibiotice este subunitatea A a ADN-girazei, enzimă esențială pentru viața bacteriei, care permite menținerea structurii superhelicoidale a ADN; prin fixarea pe subunitatea A a ADN-girazei, quinolonele împiedică sinteza ADN, având un efect bactericid (De Jong și Mörner, 1999).

ADN-giraza este o topoisomerază cu rol esențial în menținerea geometriei spațiale a moleculei circulare de ADN, în interiorul celulei bacteriene. Alterările funcției topoisomerazei au efect asupra reglării nu numai cantitative ci și calitative a exprimării genelor, alte procese ca transcrierea, replicarea, recombinarea și transpoziția suferind, de asemenea, modificări.

Enzima permite superîmpachetarea moleculei de ADN cromozomial impusă de dimensiunea celulei bacteriene. Inhibarea sintezei ADN determină, în celula bacteriană, intervenția unui sistem de reparare a acidului nucleic care are indirect un efect bactericid. Pentru a-și atinge ținta, quinolonele trebuie să traverseze peretele bacterian utilizând fie porinele, la fel ca betalactaminele și aminoglicozidele, fie lipozaharidul; în ambele cazuri este vorba de o difuzie pasivă (Matinca Doina, 2002).

Gradul de inhibare al ADN-girazei este diferit în funcție de specia bacteriană. ADN-giraza la *Escherichia coli* nu are aceeași structură cu cea de la *Staphylococcus aureus* și *Pseudomonas aeruginosa*, ceea ce face ca afinitatea acestora pentru quinolone să fie mai bună și rezultatul este o acțiune antibacteriană mai eficientă în cazul infecțiilor produse de *E. coli*. La bacteriile

gram-pozitive ținta primară de acțiune este topoizomeraza IV care, din punct de vedere structural, prezintă similitudini cu ADN-giraza, ținta de acțiune în cazul bacteriilor gram-negative.

Novobiocina, un antibiotic cu spectru îngust, care poate fi bacteriostatic sau bactericid în concentrații ridicate, inhibă ADN-giraza bacteriilor prin legarea de subunitatea B a acesteia. Activitatea antibacteriană a quinolonelor, care leagă subunitatea A, este inhibată de novobiocină, un antibiotic deosebit utilizat destul de rar, în prezent, în infecții stafilococice rezistente și atunci, în asociere cu alte antibiotice.

Modul de acțiune al metronidazolului, un chimioterapic antibacterian și antiprotozoaric, nu este foarte clar, totuși, se pare că, după ce medicamentul pătrunde în organismele susceptibile, suferă prima dată o reducere, apoi se leagă la ADN, determinând pierderea structurii helicoidale și ruperea acestuia, ducând la alterarea funcției ADN (Merck Manual, 2005).

4.2. Inhibitori ai ARN-polimerazei ADN-dependență

Câțiva derivați semisintetici (rifamicina, rifampinul – rifampicina –, rifamida) ai rifamicinelor naturale se utilizează ca antibiotice cu spectru extins. Rifamicinele acționează specific asupra ARN-polimerazei bacteriene. Ținta de acțiune a acestor antibiotice este transcriptaza (ARN-polimeraza ADN-dependență) a cărei activitate este inhibată, împiedicându-se astfel sinteza ARNm (ARN mesager) și prin urmare, transcrierea informației din molecula de ADN.

Inhibarea enzimei este obținută rapid, prin legarea la subunitatea beta a polimerazei, în felul acesta blocând intrarea primei nucleotide necesare activării polimerazei, dar numai atunci când ARN-polimeraza este liberă. Rifamicinele nu se fixează pe transcriptaza deja fixată pe ADN (O'Grady și col., 1997).

4.3. Inhibitori competitivi

Mulți dintre agenții chemoterapeutici sintetici sunt inhibitori competitivi ai metaboliților esențiali sau ai factorilor de creștere care sunt necesari metabolismului bacterian. În consecință, aceste tipuri de

agenți antimicrobieni sunt denumiți antimetaboliți sau analogi ai factorilor de creștere, de vreme ce sunt concepuți pentru a inhiba specific o cale metabolică esențială a unui patogen bacterian.

Din punct de vedere chimic, inhibitorii competitivi sunt similari structural cu un factor de creștere bacteriană sau metabolit, dar ei nu îndeplinesc funcția lor metabolică în celulă. Unii sunt bacteriostatici, iar alții bactericizi. Toxicitatea lor selectivă este bazată pe premisa că, calea metabolică bacteriană nu apare la organismul-gazdă.

Sulfonamidele și trimetoprimul sunt inhibitori ai enzimelor bacteriene cerute de sinteza acidului tetrahidrofolat (THF), componentă esențială în structura coenzimei responsabilă de metabolismul carbonului în celulă.

Spre deosebire de eucariote, bacteriile nu asimilează folați exogeni, ele fiind cele care realizează sinteza acestora, proces care are loc în două etape: în prima etapă se sintetizează acidul dihidrofolat (acid folic) – ADHF - prin intervenția unei pteridine, a acidului paraaminobenzoic, a acidului glutamic și a unei enzime denumită dihidropteratsintetaza (DHPS); în a doua etapă acidul folic este folosit la sinteza tetrahidrofolatului (acid folinic) – ATHF – , etapă în care intervine o altă enzimă – dihidrofolatreductaza (DHFR).

Sulfamidele sunt analogi structurali ai acidului paraaminobenzoic (APAB), substratul primei enzime din calea metabolică a tetrahidrofolatului (THF) și inhibă competitiv etapa enzimatică în care intervine dihidropteratsintetaza, în timpul căreia APAB este încorporat în sinteza acidului folic. Datorită reducerii sintezei dihidrofolatului (DHF), nivelurile de THF (acid folinic) formate din DHF diminuează. Trimetoprimul este similar structural cu dihidrofolatul și inhibă competitiv etapa a doua din sinteza acidului folinic mediat de dihidrofolatreductază (Todar K., 2002).

Prin urmare, sulfamidele și trimetoprimul inhibă sinteza folaților, acționând ca inhibitori competitivi ai celor două enzime (DHPS și DHFR) implicate în sinteza acestora. Astfel, acești agenți antimicrobieni blochează activitatea enzimelor care sunt necesare în sinteza bazelor purinice, pentru biosinteza metioninei, glicinei. Ca urmare, este

suprimată sinteza proteinelor și a proceselor metabolice necesare în dezvoltarea și multiplicarea microorganismelor.

Celulele animale nu își sintetizează acidul folic propriu, ele obținându-l ca vitamină, prin aport exogen. Prin urmare, ele

nu sunt influențate de aceste medicamente, ceea ce determină toxicitatea selectivă a acestor antibiotice pentru bacterii (Mărculescu, Anca 2007). Reprezentarea sistematizată a modului de acțiune al antibioticelor este redată în tabelul 1.

Tabel 1.
Table 1

Acțiunea antibacteriană a antibioticelor (după Angelescu M., 1998, modificat Mărculescu, 2007)
Antibacterial action of antibiotics (from Angelescu M., 1998, modified Mărculescu, 2007)

Antibioticul	Mecanismul de acțiune	Efect antibacterian
Betalactamine	<i>Acțiune asupra peretelui celular</i> Se leagă de PBP, enzime din membrana citoplasmatică, inhibă sinteza peptidoglicanului	Bactericid
Vancomicină	Inhibă sinteza peptidoglicanului	Bactericid
Colistină	<i>Acțiune asupra membranei citoplasmatică</i>	
Vancomicină	Modifică bariera osmotică a membranei	Bactericid
Aminoglicozide	<i>Inhibare a sintezei proteinelor la nivel ribozomal</i> Se leagă la interferența dintre cele 2 unități ribozomale 30S și 50S	Bactericid
Tetraciclina	Se leagă la unitatea 30S	Bacteriostatic
Cloramfenicol	Se leagă la unitatea 50S	Bacteriostatic
Macrolide	Se leagă la unitatea 50S	Bacteriostatic
Lincosamide	Se leagă la unitatea 50S	Bacteriostatic
Rifampina	<i>Acțiune asupra aparatului nuclear</i> Inhibă ARN-polimeraza ADN-dependentă, blocând sinteza ARN _m , și, secundar, blocând sinteza proteinelor ribozomale	Bactericid
Quinolone	Inhibă ADN-giraza, enzimă care suprspiralează ADN, blocând diviziunea celulară Efect toxic direct asupra ADN	Bactericid
Metronidazol	Inhibă acidul folic și, consecutiv, sinteza ADN	Bactericid
Sulfonamide		Bacteriostatic

BIBLIOGRAFIE

1. Angelescu Mircea (1998) – Terapia cu antibiotice, Ed. Medicală, București
2. Boothe Dawn (2003) – Which antimicrobial should I use? Optimizing antibacterial therapy for small animals using the professional flexible label, Auburn University College of Veterinary Medicine
3. Coman Mioara, Cristina Bota, Carmen POP (2004) – Biotehnologia farmaceutică, Editura Medicală Universitară „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca
4. Cristina T. Romeo (2007) – Mic dicționar bio-medical, Editura IMPACTMEDIA, Timișoara
5. De Jong A. și Anne Mörner (1999) – Prudent use of fluoroquinolones in veterinary medicine, Proceedings of Agriculture's Role in managing Antimicrobial Resistance, Conference Toronto, Canada, 24-26 October, 190
6. Levy B. Stuart (2002) – The antibiotic paradox: How the misuse of antibiotics destroys their curative powers, 2nd Ed. Perseus Publishing, Cambridge, M.A.
7. Matinca Doina (2002) – Antibiotice, Editura Medicală Universitară „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca.
8. MAYER (2003) – Antibiotics - protein synthesis, nucleic acid synthesis and metabolism, Medical Microbiology, MBIM 650/720 – lecture 29.
9. Mărculescu Anca (2007) – Teză de doctorat: „Studiu privind evoluția fenomenului de antibioretistență și posibilitatea diminuării acestuia prin asocierea de antibiotice, pe baza relațiilor de sinergism”, USAMV, Cluj-Napoca.
10. Montoya Echeverri Flor Angela (2002) – Bases farmacologicas. Practicas, Avicultores FENAVI, 92;
11. O'Grady F., P.H. Lambert, G.R. Finch, D. Greenwood (1997) – Antibiotic and Chemotherapy: Anti-infective Agents and their Use in Therapy. Seventh Edition, Churchill Livingstone Inc., New York
12. Oniga O., Brîndușa Tipericiuc (2003) – Antibiotice Antibacteriene, Editura Medicală Universitară „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca
13. Todar Kenneth (2002) – Antimicrobial agents used in treatment of infectious disease, Textbook of Bacteriology, Wisconsin-Madison
14. ^{xxx} – The Merck Veterinary Manual. Ninth Edition (2005), Merck&Co., Inc. Whitehouse Station, N.J., USA.