

Tuberculosis: un viejo enemigo

Hector Ricardo Morbidoni

Cátedra de Microbiología- Facultad de Ciencias Médicas- Universidad Nacional de Rosario (UNR)- Santa Fe 3100 (2000) Rosario

Recibido:

Recibido en: 11/08/2004

| Aceptado:

Aceptado en: 25/08/2004

Contacto: Hector Ricardo Morbidoni - morbiatny@yahoo.com

La tuberculosis (TB), causada por el bacilo *Mycobacterium tuberculosis* (MTb) es una “vieja” enfermedad en términos de su documentación histórica y es todavía un serio problema de salud pública, no solo para países sub-desarrollados, si no también para países industrializados que se consideraban hasta hace poco tiempo a salvo de ella. Las cifras actuales indican que cada año hay alrededor de 50 millones de nuevos casos de TB en el mundo, con aproximadamente tres millones de muertos, lo que lo convierte en el agente infeccioso predominante (1).

Fig. 1: Micrografía electronica de células de *Mycobacterium tuberculosis* tratadas con la droga anti-tuberculosa Isoniacida (48 h de tratamiento).

La aparición del virus de la Inmuno Deficiencia Humana (HIV) empeoró la situación descripta, debido a que los pacientes con serología positiva para HIV en las categorías A3, B3, C1, C2 y C3 (SIDA) a menudo sufren infecciones diseminadas por MTb o por *M. avium* (una micobacteria patógena oportunista) constituyendo una causa frecuente de muerte. El resurgimiento de la TB en países industrializados a mediados de los años 80 demostró que, lejos de estar terminada, la batalla comenzaba nuevamente y que era necesario estudiar la fisiología de *M. tuberculosis* para comprender sus mecanismos de virulencia e identificar los blancos moleculares susceptibles de ser utilizados en el diseño de nuevas drogas.

Drogas anti-tuberculosas en uso: cuánto sabemos y cuánto falta por saber

Hasta el presente, las drogas empleadas para el tratamiento de la tuberculosis son limitadas, tanto en número y eficacia, como en los blancos moleculares sobre los que actúan. La larga duración del tratamiento antibacilar y la presencia de efectos colaterales determinan una mayor complejidad en la terapéutica. De hecho, el incumplimiento del tratamiento es una de las causas implicadas en la aparición de cepas multi-resistentes (definidas como resistentes a dos o más fármacos), justificando los esfuerzos en la obtención de nuevas drogas para el tratamiento de esta enfermedad (3). El régimen óptimo de tratamiento de cepas no resistentes de *M. tuberculosis* consiste en un cóctel de tres, cuatro o cinco agentes de primera línea, según la categorización clínica, radiológica y bacteriológica del paciente (2): Isoniacida (INH), Rifampicina (RIF), Pirazinamida (PZA), Etambutol (ETB) y Estreptomicina (SM). El tratamiento habitual consiste en una primera fase de dos meses de duración con INH, RIF, PZA y EMB seguida de una segunda fase, de cuatro meses de duración con INH y RIF. Esta combinación de tratamientos es generalmente efectiva aún si el microorganismo es resistente a una de las drogas usadas. Es interesante destacar que a excepción de RIF (un inhibidor de RNA polimerasas procarióticas) y SM (un inhibidor de síntesis de proteínas), los demás quimioterápicos usados actúan sobre la síntesis de ácidos grasos complejos de las micobacterias (4). A continuación se detallarán los mecanismos de acción de los mismos:

Rifampicina (RIF) es un antimicrobiano de amplio espectro, introducido en la terapia anti-tubercular en la década del 70. Se ha demostrado que RIF es capaz de inhibir específicamente el proceso de transcripción mediante la inhibición de la subunidad β de la RNA polimerasa (5). El hallazgo de mutaciones en el gen *rpoB* (que codifica la subunidad mencionada) en cepas de MTb RIF^R confirmó su mecanismo de acción (6).

Estreptomicina (SM) es un producto de la bacteria *Streptomyces griseus* (un microorganismo emparentado con las micobacterias) con actividad sobre bacterias Gram (+) y Gram (-). Este antibiótico se une a un sitio en la subunidad 30S del ribosoma impidiendo la iniciación de la síntesis proteica. Uno de los mecanismos más frecuentes de resistencia a SM consiste en la acilación de la droga por enzimas modificadoras de aminoglucósidos, sin embargo, la resistencia a SM en micobacterias se origina en gran medida en mutaciones en la subunidad 30S, incluyendo mutaciones puntuales en el gen *rpsL* que codifica la proteína ribosomal S12 (7) y en el operón *rrs* que codifica el 16S rARN. La ausencia de mutaciones en estos genes en cepas MTb SM^R indica que posiblemente haya otros mecanismos de resistencia.

Anti-micobacterianos.jpg

Fig. 2. Estructura de las principales drogas usadas para el tratamiento de la tuberculosis.

Pirazinamida es un derivado de la nicotinamida que se utiliza desde los años 80, generalmente asociada a RIF e INH. A pesar de su buena actividad “*in vivo*” en humanos y modelos animales, PZA

muestra poca actividad “*in vitro*” a pH neutro, sin embargo esta actividad se manifiesta si el pH es ácido (5.6) sugiriendo una activación por ácidos (8). Este pH ácido es el existente dentro de los fagosomas de los macrófagos en donde usualmente reside Mtb. Interesantemente PZA es activo sobre MTb pero no sobre *M. bovis* ni la mayoría de las otras micobacterias, indicando la existencia de un blanco específico en el bacilo de Koch. El derivado de PZA, 5-Cl-PZA es sin embargo de rango más amplio (9). Se determinó que PZA es una pro-droga que requiere ser activada por una “pirazinamidasas” que la convierte en la molécula activa, el ácido pirazinoico (8). La identificación de mutaciones que confieren resistencia a PZA localizadas en el gen *pncA*, que codifican para la mencionada enzima, dieron soporte a esta hipótesis (8). El misterio de la resistencia a PZA en *M. bovis* fue aclarado al secuenciarse *pncA* en este bacilo, encontrándose mutaciones puntuales que eliminaban la actividad, es decir, *M. bovis* es naturalmente resistente a PZA. Aunque *pncA* es la enzima activadora, el blanco molecular se determinó recientemente al hallarse que el tratamiento con PZA inhibía la síntesis de ácidos grasos de cadena larga (C16-C24). De la misma manera, la super-expresión del gen *fasI* que codifica para la enzima FASI causó resistencia a PZA (10). Sin embargo todavía no se han descrito mutaciones en *fasI* asociadas a PZA^R.

Etambutol (EMB) es un inhibidor de la transferencia de los ácidos micólicos a la pared celular (11). Subsecuentemente se determinó que EMB inhibía la síntesis del arabino-galactano, un heteropolisacárido clave en la estructura de la pared celular y en donde se esterifican las moléculas de ácido micólico. Su análisis genético reveló que la resistencia a EMB se localizaba en el operón *emb* (compuesto por el regulador *embR* y las enzimas *embA*, *embB* y *embC*) por lo cual se postuló que los genes de este operón codificaban para arabinosil transferasas (12).

INH (hidrazida del ácido isonicotínico) es una de las drogas más usadas en el tratamiento de TB. Tiene una Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de 0,05 µg/ml para cepas susceptibles de MTb y de otras micobacterias del complejo de *M. tuberculosis* pero es mucho menos eficiente sobre cepas de *M. avium* y otras micobacterias del complejo no tuberculosis. INH es una pro-droga que debe ser activada por una catalasa –peroxidasa codificada por el gen *katG* (14). KatG cataliza la oxidación de INH generando radicales reactivos, por lo tanto mutaciones en dicho gen impiden la activación y causan resistencia a INH, siendo la causa más frecuente de resistencia a esta droga (13); por lo tanto, drogas como Triclosan (TRC) que no requieren activación (Morbidoni, HR y L. Kremer, resultados no publicados) son fundamentales para evitar este mecanismo de resistencia. INH inhibe a la enzima enoil-ACP-reductasa – codificada por el gen *inhA*– que es parte del sistema FASII involucrado en la elongación de ácidos grasos a ácidos micólicos (14). La importancia de esta enzima como blanco de la acción de drogas se demostró al hallar que otras drogas –TRC, Etionamida (ETH), Diazaborina (DZB)– actúan mediante inhibición de InhA. El mecanismo de acción de INH es muy complejo ya que aunque claramente InhA es el blanco inhibido, otros genes (*aphC*, *ndh*) se encuentran involucrados en la resistencia (14).

FAS-I%20TB.jpg

Fig. 3. Mecanismo de acción de las principales drogas anti-tuberculosas citadas en el texto. “X” denota el sitio de inhibición. PZA inhibe FASI pero no se determinó cual es la reacción inhibida.

El futuro: Las técnicas de manipulación genética han permitido identificar una serie de blancos moleculares esenciales para la viabilidad y la virulencia de *M. tuberculosis*. A su vez, los progresos realizados con técnicas de química combinatoria brindan la posibilidad de producir bibliotecas de compuestos que posteriormente se prueban sobre *M. tuberculosis* tanto sobre el crecimiento de cultivos como en infecciones de macrófagos. También se determina la actividad “*in vitro*” utilizando ensayos enzimáticos basados en las enzimas identificadas como esenciales (15). Lo anteriormente mencionado, en conjunto con la aplicación de programas inter-disciplinarios involucrados en la búsqueda e identificación de principios anti-tuberculosos de origen natural (presentes en plantas, microorganismos, etc) constituyen al presente, las herramientas más promisorias para la obtención de nuevas drogas que puedan utilizarse en el tratamiento de la tuberculosis.

Referencias:

1. Enarson Da, Chretien J. 1999. Epidemiology of respiratory infectious diseases. Curr. Opin. Pulm. Med., 5(3):128-135.
2. Espinal M.A. *et al*, 2000. Standard short-course chemotherapy for drug-resistant tuberculosis. JAMA, 283(19):2537-2545.
3. Blanchard J, 1996. Molecular mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Ann. Rev. Biochem., 65:215-239.
4. Chopra I, Brennan P, 1997. Molecular action of anti-mycobacterial agents. Tuber. Lung Dis., 78(2):89-98.
5. Levin ME, Hatfull GF., 1993. *Mycobacterium smegmatis* RNA polymerase: DNA supercoiling, action of rifampicin and mechanism of rifampicin resistance. Mol. Microbiol., 8(2):277-285.
6. Telenti A. *et al.*, 1993. Detection of rifampicin-resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis*. Lancet, 341(8846):647-650.
7. Finken M. *et al.*, 1993. Molecular basis of streptomycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: alterations of the ribosomal protein S12 gene and point mutations within a functional 16S ribosomal RNA pseudoknot. Mol. Microbiol., 9(6):1239-1246.
8. Scorpio A, Zhang Y, 1996. Mutations in *pncA*, a gene encoding pyrazinamidase/ nicotinamidase, cause resistance to the antituberculous drug pyrazinamide in tubercle bacillus. Nat. Med., 2(6):662-667.
9. Cynamon MH, Speirs RJ, Welch JT, 1998. In vitro antimycobacterial activity of 5-chloropyrazinamide. Antimicrob. Agents Chemother. 42(2):462-463.
10. Zimhony O, Cox JS, Welch JT, Vilcheze C, Jacobs WR, Jr., 2000. Pyrazinamide inhibits the eukaryotic-like fatty acid synthetase I (FASI) of *Mycobacterium tuberculosis*. Nat. Med. 6(9):1043-1047.
11. Takayama K, Armstrong EL, Kunigi KA, Kilburn JO, 1979. Inhibition by ethambutol of mycolic acid transfer into the cell wall of *Mycobacterium smegmatis*. Antimicrob. Agents Chemother., 16(2):240-242.
12. Escuyer VE *et al.*, 2001. The role of the *embA* and *embB* gene products in the biosynthesis of the terminal hexa-arabinofuranosyl motif of *Mycobacterium smegmatis* arabinogalactan. J. Biol. Chem., 276(52):48854-48862.
13. Zhang Y, Heym B, Allen B, Young D, Cole S, 1992. The catalase-peroxidase gene and isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Nature, 358 (6387):591-593.
14. Vilcheze C, Morbidoni HR, *et al.*, 2000. Inactivation of the *inhA*-encoded fatty acid synthase II (FASII) enoyl-acyl carrier protein reductase induces accumulation of the FASI end products and cell lysis of *Mycobacterium*

smegmatis. J.Bacteriol., 182(14):4059-4067.

15. Besra GS, Kremer L., 2002. Re-emergence of tuberculosis: strategies and treatment. Expert Opin. Investig. Drugs, 11(2): 153-157.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista QuímicaViva

Volumen 3, Número 3, Diciembre de 2004

ID artículo:F0009

DOI: no disponible

[Versión online](#)